Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

Evaluación microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación en hogares de Culiacán

Por:

José Andrés Medrano Félix

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN CULIACÁN DEL CIAD EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS AGRÍCOLAS DE ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

CULIACÁN, SINALOA AGOSTO DE 2010

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis del C. José Andrés Medrano Félix, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS.

Dr. Cristóbal Chaidez Quiroz

Director de tesis

Nohelia Castro del Campo

Asesor

Josefina León Félix

Asesor

Felipe de Jesús Peraza Garay

Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar créditos al CIAD, previa autorización escrita del director o directora del trabajo de tesis.

Ramón Pacheco Aguilar

Director General

DEDICATORIA

A mis señores padres Hermelinda Félix Piña y Andrés Medrano Torres, quienes con sus sabios consejos me han inculcado el espíritu de lucha y dedicación en todos los aspectos de la vida.

A mis hermanos Jesús Alfredo, Sandra Georgina y Jesús Miguel por su tolerancia y comprensión hacia mi persona, pero principalmente, por su amistad y cariño.

AGRADECIMIENTOS

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por haber permitido a través de su apoyo económico la realización de mis estudios de posgrado.
- Al Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo A. C. Coordinación Culiacán, por aceptarme en su programa de Maestría en Ciencias y por ser una institución seria, en la cual se promueven los principios éticos.
- Al Dr. Cristóbal Cháidez Quiroz, por brindarme una vez más la oportunidad de incursionar en esta área del conocimiento, por su apoyo incondicional para el desarrollo de este proyecto y por compartir sus conocimientos y experiencia, además de una invaluable amistad.
- A la Dra. Josefina León Félix, por aceptar ser parte del comité de tesis, además por sus aportaciones y sugerencias en el área molecular durante el desarrollo del trabajo, así como en la escritura del documento de tesis y artículo científico.
- A la Dra. Nohelia Castro del Campo, por aceptar ser parte del comité de tesis, así como su valioso apoyo en el desarrollo del trabajo, así como en la escritura del documento de tesis y artículo científico.
- Al Dr. Felipe de Jesús Peraza Garay, por aceptar ser parte del comité de tesis, así como su invaluable apoyo en el área de estadística, por compartir su experiencia y conocimiento, mediante el cual fue posible apreciar más allá de los números y comprender la importancia de un estudio.
- Muy especialmente a la QFB. Célida Isabel Martínez Rodríguez, quien fue pieza esencial en el desarrollo del proyecto, por su invaluable e incondicional apoyo en el laboratorio y por tantas horas de esfuerzo compartido para lograr el objetivo planteado.

- A los integrantes del Laboratorio de microbiología Ambiental y de Alimentos, IBT. Martha Gabriela Gaxiola Landeros, MC. Ariel Ramírez Valencia y MC. Yadira Lugo Melchor, por ser un equipo capaz y resuelto, que en conjunto logran cualquier reto por imposible que parezca.
- A los MC. Maribel Jiménez Edeza y Osvaldo López Cuevas por orientarme con sus conocimientos, cada ocasión que fuera necesario.
- A mis compañeros de generación 2008-2010 con quienes viví momentos inolvidables que marcan un episodio especial en mi memoria.
- A toda la planta docente e investigadores de CIAD Coordinación Culiacán, que en base a su aporte de conocimientos, favorecen el desarrollo profesional de sus alumnos.
- Muy especialmente al Sr. Víctor Arana, a los LCP. Mayra Ibarra, Xiomara Urrea y Basilio Beltrán por formar un gran equipo administrativo, en conjunto con la IBQ. Evelia Araiza.
- En general, a todo el personal de CIAD Coordinación Culiacán, ya que cada uno de ellos contribuye de manera esencial en el desarrollo de cada persona que pase por esta noble institución.
- Finalmente, pero no menos importante, a la MCD. Elvira Uriarte Benítez, por su cariño y paciencia, además de su apoyo incondicional durante este periodo de estudios.

ÍNDICE

APROBACIÓN i

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL ii

ÍNDICE vi

ÍNDICE DE FIGURAS ix

ÍNDICE DE CUADROS x

RESUMEN xi

ABSTRACT xiii

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS 3

Objetivo General 3

Objetivos Específicos 3

HIPÓTESIS 4

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 5

Enfermedades Transmitidas por Alimentos 5

Escherichia coli 7

Generalidades 7

Epidemiología 8

Salmonella 9

Generalidades 9

Epidemiología 11

Staphylococcus aureus 12

Generalidades 12

Epidemiología 13
Hepatitis A 14
Generalidades 14
Epidemiología 15
Norovirus 16
Generalidades 16
Epidemiología 17
Presencia de Microorganismos en el Hogar 19
Interacción con Microorganismos Patógenos 20
Higiene en el Hogar 21
Desinfección 21
Características Deseables para un Desinfectante 22
Cloro 23
Generalidades 23
Modo de Acción del Cloro 24
Empleo de Cloro como Agente Desinfectante 26
Compuestos Cuaternarios de Amonio 28
Generalidades 28
Modo de Acción de Cuaternarios de Amonio 29
Usos de Compuestos Cuaternarios de Amonio como Desinfectantes 29
MATERIALES Y MÉTODOS 32
Selección de Hogares 32
Toma de Muestra 35
Análisis Microbiológico 36
Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* 36

Salmonella sp. 37
Confirmación de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* por PCR..... 38
Detección de Hepatitis A y Norovirus 40
Diseño Estadístico..... 42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 43
Presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en el Hogar 43
Presencia de *Salmonella* sp. en Esponjas y Trapos 45
Presencia de Hepatitis A y Norovirus en Esponjas y Trapos 46
Evaluación de la Actividad Microbicida de Productos Desinfectantes en base a Protocolos de Aplicación en Hogares..... 50
CONCLUSIONES 59
REFERENCIAS 60
GLOSARIO 74
Definición de Términos..... 74
Limpieza 74
Descontaminación 74
Desinfección 74
Esterilización..... 74
PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES..... 75
LISTADO DE ABREVIATURAS 77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Relación entre pH y liberación de OCl- y HOCl. 25
Figura 2.-Estrategia de trabajo para el desarrollo del proyecto..... 34
Figura 3.- Concentración de *Escherichia coli* por área, grupo y tiempo en hogares. 48
Figura 4 Concentración de *Staphylococcus aureus* por área, grupo y tiempo en hogares. 49
Figura 5.- Comparación de los grupos de hogares en estudio, basados en la reducción microbiana presente en el hogar. 50
Figura 6. Comportamiento de la carga microbiana durante el tiempo de estudio. 55
Figura 7. Disminución de muestras positivas de *Escherichia coli* por área, grupo y tiempo en hogares 57
Figura 8. Disminución de muestras positivas de *Staphylococcus aureus* por área, grupo y tiempo en hogares 58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Desinfectantes mayormente empleados en la industria alimentaria 23
Cuadro 2.- Protocolo de aplicación de productos desinfectantes. 35
Cuadro 3.-Presencia de *Salmonella* en esponjas y trapos de cocina 45
Cuadro 4.- Serotipos de *Salmonella* identificados en utensilios..... 45
Cuadro 5.- Concentración de *Escherichia. coli* (Media y Rango)..... 52
Cuadro 6.- Concentración de *Staphylococcus aureus* (Media y Rango)..... 53

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de determinar y cuantificar la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, así como virus de Hepatitis A y Norovirus en baño y cocina en hogares de Culiacán, Sinaloa, México; así como, evaluar la actividad microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación. Sesenta hogares de Culiacán fueron seleccionados en base a los siguientes criterios de selección: Hogar con cocina, hogar con baño, ama de casa presente en el hogar, hijos menores de 12 años y presencia de mascotas. Estos hogares fueron divididos en dos grupos de 30 cada uno, designando como grupo control a aquellos que realizaban prácticas de limpieza de manera empírica, mientras que para el grupo caso fueron los que usaron productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación específicos para cada área en estudio, las cuales fueron cocina (cubierta, tarja, esponja, trapo y tabla), baño (lavamanos, piso en regadera, inodoro y tapa de inodoro), juguetes de niños, y áreas de mascotas. La toma de muestras, se llevó a cabo con una periodicidad semanal y fueron procesadas para la determinación y cuantificación de la presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* mediante la técnica de extensión en placa. La determinación y cuantificación de *Salmonella* sp. se realizó por la técnica del Numero Más Probable (NMP).La confirmación de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, se realizó mediante la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR siglas en inglés). La determinación de la presencia de virus Hepatitis A y Norovirus se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa, en su modalidad RT-PCR. Los resultados obtenidos muestran la presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en concentraciones de hasta 10 Log_{10} y 9.3 Log_{10}, respectivamente, las cuales superan las dosis infecciosas de estos microorganismos.

Salmonella se presentó en menor número de muestras y con valores de hasta 110, 000 NMP, mientras que *Hepatitis* A solo se presentó en dos muestras y la ausencia de Norovirus para las muestras analizadas. Por otra parte, el empleo de productos desinfectantes basados en protocolos de aplicación reduce desde 2 Log_{10} hasta 6 log_{10} (99% a 99.9999%) la carga microbiana presente en el hogar. Finalmente, se sugiere aumentar el uso cotidiano de desinfectantes que permitan disminuir al mínimo la presencia de microorganismos en el hogar, y con esto generar condiciones más saludables hacia el interior del mismo.

ABSTRACT

To identify and quantify the presence of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, Hepatitis A and Norovirus in households in Mexico and to assess the effect of chlorine and quaternary ammonium -based disinfectants following a prescribed use, eleven sites distributed in the kitchen, bathroom, pet and children´s areas of 60 homes were selected and separated into two groups of 30 homes each: 1) a non- prescribed disinfectant user group, and 2) a disinfectant-protocol user group. Home owners in the prescribed disinfectant protocol user group were instructed in the proper use of disinfectants and provided a specific protocol for their use. During the six-week study, samples were collected once a week except for week one when sample collection occurred immediately before and after disinfectant application in orders to evaluate the efficacy of the disinfectant protocol. Overall, kitchen sponge, dishcloth and counter top were among the eleven sites most contaminated for both groups. The concentration of and occurrence of the studied bacteria were less in the households using the prescribed use of disinfectants. The greatest reductions were for *E. coli* (99%) and *S. aureus* (99.9999%*),* respectively. Only two samples were positive for HAV while Norovirus was absent. Disinfection protocols resulted a significant ($p<0.05$) microbial reduction in all areas of the homes tested compared to homes not using a prescribed protocol. The study suggests that disinfectant product application, under specific cleaning and

disinfecting protocols is necessary to achieve an efficient microbial reduction, which constitutes an important tool to reduce the occurrence of potential disease causing microorganisms in households.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades gastrointestinales son un problema de salud mundial, frecuentemente asociado a la contaminación de los alimentos durante su preparación (Scott, 1996).

Los manipuladores de alimentos o bien, alimentos contaminados pueden distribuir microorganismos patógenos como *Salmonella*, virus de Hepatitis A y Norovirus hacia las manos y superficies de contacto, así como los utensilios empleados para su preparación (Cogan *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2009). Lo anterior, sucede en el hogar, en donde los microorganismos se pueden encontrar en áreas del hogar como cocinas, baños, juguetes de niños y en el área de la mascota, los cuales sirven como reservorio para diferentes microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Rusin *et al.*, 1998; Davies *et al.*, 2000; Lorenzini *et al.*, 2007). Aún cuando la contaminación en baños puede resultar evidente, las cocinas presentan mayor carga microbiana, particularmente en trapos para limpieza y esponjas para lavado de utensilios (Rusin *et al.*, 1998; Carrasco *et al.*, 2008).

De manera convencional, en los hogares se emplean detergentes para limpiar, pero su efecto resulta insuficiente para eliminar la carga microbiana. (Cogan *et al.*, 1999; Barker *et al.*, 2003), lo cual genera mayor probabilidad de contaminación en hogares, esto comparado con cafés, bares y restaurantes, los cuales aplican los programas de buenas prácticas higiénicas (Barker *et al.*, 2003).

El empleo de productos desinfectantes en superficies de contacto previo a la preparación de alimentos, tiene un impacto significativo en la reducción de

microorganismos patógenos (Ej. *Salmonella*). Y por ende menor probabilidad de infecciones gastrointestinales (Cogan *et al.*, 2002). Sin embargo, la importancia de los procesos de desinfección se ha subestimado, principalmente por desconocimiento del uso adecuado de los mismos, así como la concentración de desinfectante a utilizar, lo que ocasiona una aplicación errática y como consecuencia se afecta su efecto microbicida. McElhatton y Marshall (2007) definen los protocolos de limpieza y desinfección como procedimientos ordenados de lavado, empleo de detergentes y remoción de los mismos en la etapa de limpieza; mientras que, para desinfección se requiere la aplicación de productos desinfectantes y posteriormente un lavado final para remover residuos de producto.

El uso de productos desinfectantes empleando protocolos de aplicación reduce de manera homogénea la contaminación microbiana en superficies de contacto (Barker *et al*., 2003). Por tal motivo, es necesario evaluar protocolos de limpieza y desinfección que favorezcan la adecuada acción de los desinfectantes y como resultado una mejor eficiencia para prevenir la contaminación en el hogar (Barker *et al.*, 2003; Exner *et al.*, 2004; de Jong *et al.*, 2008).

El presente trabajo, se llevó a cabo con el objetivo de determinar la presencia de bacterias patógenas (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp. y *Staphylococcus aureus*) así como virus (Hepatitis A y Norovirus) en las diferentes áreas del hogar, así como evaluar la actividad microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación en diferentes áreas de hogares de Culiacán, Sinaloa, México.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la actividad microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación, en hogares de Culiacán, Sinaloa, México, mediante el estudio de puntos localizados y la distribución de *Escherichia coli,* Coliformes fecales*, Staphylococcus aureus y Salmonella* sp., Norovirus y Virus de hepatitis A durante el tiempo de evaluación.

Objetivos Específicos

Determinar la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., Norovirus y Virus de hepatitis A en cocina, baño, área de mascota y juguetes.

Evaluar la actividad microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación en cocina.

Evaluar la actividad microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación en baño.

Evaluar la actividad microbicida de productos desinfectantes en base a protocolos de aplicación en juguetes y área de mascota.

HIPÓTESIS

En los hogares en estudio, existe la presencia de al menos uno de los microorganismos de interés (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella* sp., Norovirus y Virus de hepatitis A).

El empleo de productos desinfectantes en base a un protocolo de aplicación, reduce al menos 2 logaritmos la carga microbiana en cocina.

El empleo de productos desinfectantes en base a un protocolo de aplicación, reduce al menos 2 logaritmos la carga microbiana en baño.

El empleo de productos desinfectantes en base a un protocolo de aplicación, reduce al menos 2 logaritmos la carga microbiana en juguetes y área de mascota.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Enfermedades Transmitidas por Alimentos

La exposición a microorganismos patógenos mediante la ingesta de alimentos contaminados, es una de las principales causas de enfermedades gastrointestinales y del sistema respiratorio a nivel mundial. Se estima que alrededor de 1.8 millones de muertes en niños se encuentran asociadas con la adquisición de microorganismos vía consumo de alimentos, generando un gran número de casos los cuales se presentan principalmente en países en vías de desarrollo y países en pobreza extrema (WHO, 2008).

Por otra parte, los países desarrollados no se encuentran exentos de esta problemática ya que también padecen el impacto de las enfermedades diarreicas, y más de 130 millones de personas por año en la Unión Europea sufren enfermedades causadas por alimentos, mientras que en Australia el número de casos es de 17,457,098 casos anuales, siendo la diarrea el síntoma más común (Scallan, 2005; WHO, 2008).

En los Estados Unidos de América, los microorganismos patógenos transmitidos por alimentos causan 76 millones de casos de enfermedades, 325,000 hospitalizaciones y 5,020 muertes anualmente (Mead *et al.*, 1999; Scott 1996). Esto ocasiona pérdidas a nivel laboral, medicaciones así como gastos por hospitalización, los cuales en suma generan un costo anual de $ 6,900 millones de dólares. A su vez, la diarrea aguda ejerce un alto impacto en la salud, promediando 0.72 episodios diarreicos por año estimando 195 millones de episodios diarreicos anualmente (Allos *et al.*, 2004; Imhoff *et al.*, 2004).

En los Estados Unidos Mexicanos, durante los últimos 25 años se ha venido reportando un continuo y favorable descenso en la mortalidad de niños menores de 5 años, la cual ha disminuido de 64 a 23 muertes por cada 1000 nacidos vivos. Sin embargo, el número de episodios diarreicos es similar a otras regiones del mundo y es en el hogar en donde puede encontrarse una amplia variedad de microorganismos patógenos, tales como bacterias y virus (Terrés-Speziale *et al.*, 2002; Sepulveda *et al.*, 2007).

Los microorganismos aislados de manera más común en el hogar, corresponden a las bacterias, dentro de las cuales se destacan *Campylobacter jejuni, Clostridium perfringens, Escherichia coli* O157:H7*, Listeria monocytogenes,* serotipos de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, que en conjunto ocasionan un rango de entre 3, 603,526 y 7, 130,767 casos asociados a alimentos y entre 2, 564 y 6, 546 muertes anualmente en los Estados Unidos de América. (Buzby, 1996).

La presencia de virus es un factor importante de riesgo de contraer o padecer enfermedades gastrointestinales, tal es el caso del virus Hepatitis A, el cual es capaz de generar brotes, ya que este puede ser adquirido principalmente mediante consumo de alimentos o agua contaminada así como en el hogar debido a que se disemina comúnmente por la ruta fecal-oral afectando principalmente a comunidades mayormente susceptibles (Koehler, 2009; Robesyn *et al.*, 2009).

Otro virus que causa importantes daños a la salud generando múltiples episodios diarreicos es el Norovirus, cuya interacción con el ser humano se da principalmente mediante la exposición con alimentos contaminados con este virus (Becker *et al.*, 2000). Por otra parte, la presencia de virus representa un elevado riesgo de infección, esto debido a las bajas concentraciones necesarias

para desencadenar el proceso infeccioso, ya que en el caso de Hepatitis A y Norovirus se requieren de 1 a 100 partículas virales y un tiempo de incubación de 15 a 50 h en un individuo sano para desarrollar la enfermedad (WHO, 2008).

El grado de afectación por la infección con este virus está relacionado con el estado en que se encuentre el sistema inmunológico de las personas, motivo por el cual este virus afecta de manera importante a grupos de personas de edad avanzada generando brotes de gastroenteritis (Almagro-Conti *et al.*, 2003).

Escherichia coli

Generalidades

El género *Escherichia* consiste de cinco especies, siendo *Escherichia coli* la aislada con mayor frecuencia además de ser la principal bacteria asociada con gastroenteritis en viajeros hacia países con higiene deficiente (Murray, 1999).

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, esta bacteria coloniza el intestino del humano pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de la microbiota normal. Sin embargo, existen cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos debido a que su composición antigénica es compleja (Murray, 1999).

Para determinar el grupo patogénico al que pertenecen, Kauffman y White desarrolló un esquema de serotipificación que continuamente varia y que actualmente consta de 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K). El antígeno O determina el serogrupo mientras que la determinación del antígeno somático y flagelar (O:H) indica el serotipo y con base en su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico, las cepas de *Escherichia coli* causantes de diarrea se clasifican en seis grupos: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica conocida también como productora de toxina vero o toxina semejante a Shiga (EHEC o VTEC o STEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y adherente difusa (DAEC) (Rodriguez-Angeles, 2002).

Epidemiología

Escherichia coli es uno de los microorganismos comunes involucrados en infección por Gram negativos y shock inducido por endotoxinas. Infecciones en vías urinarias y heridas, neumonía en pacientes inmunosuprimidos y meningitis en neonatos son otras infecciones comunes causadas por *Escherichia coli* (Koneman, 1999). Cabe mencionar que dentro de los diferentes grupos de *Escherichia coli* causantes de diarrea sobresale *Escherichia coli* O157:H7, la cual fue reconocida como el primer patógeno en 1982 durante una investigación sobre brotes de colitis hemorrágica (Olsen *et al.*, 2002).

Escherichia coli O157:H7 es uno de los microorganismos mayormente relacionados con brotes de enfermedades asociadas con el consumo de alimentos cárnicos así como vegetales frescos, tal es el caso de un brote generado en 1995, el cual arrojó un total de 42 casos en una comunidad de Montana, Estados Unidos (Ackers *et al.*, 1998). Sin embargo existen reportes que señalan el desarrollo no solo de manera aislada, sino que la extensión de

estos puede abarcar diferentes ciudades e incluso diferentes estados de manera simultánea, aumentando con esto el riesgo de exposición con microorganismos patógenos y como consecuencia un mayor número de casos de personas afectadas (Hilborn *et al.*, 1999).

Escherichia coli O157:H7 causa 73,000 casos en Estados Unidos de América anualmente, durante el periodo de 1982 a 2002 en 49 estados se reportaron 350 brotes, generando 8,598 casos, 1,493 hospitalizaciones, 354 casos de síndrome urémico hemolítico y 40 muertes. La ruta de transmisión por agua representó el 9%, mientras que la transmisión por alimentos presentó el mayor número de casos con el 52% (Rangel *et al.*, 2005).

Oundo *et al*. (2008) sugieren que las personas asociadas con la preparación de alimentos en hoteles juegan un papel muy importante en la contaminación de alimentos por *Escherichia coli* O157:H7, mediante la transmisión del microorganismo y el desarrollo de infecciones por parte de los consumidores finales. Las deficiencias en las practicas de higiene frecuentemente se asocian con la contaminación cruzada de los alimentos, mediante la cual se lleva a cabo la transferencia microbiana entre utensilios, superficies de contacto y alimentos (de Jong *et al*., 2008)

Salmonella

Generalidades

El género *Salmonella* pertenece a la familia *enterobacteriaceae* y se caracteriza por bacilos móviles Gram negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, además de ser ubicuos en humanos, ganado, reptiles y

aves (Davis, 1990). Son considerados como habitantes de la microbiota normal, sin embargo, casi todos los miembros del género *Salmonella* son potencialmente patógenos, y en ocasiones bajo condiciones de higiene inapropiadas pueden presentarse contaminando alimentos y causar Salmonelosis que actualmente es el padecimiento asociado al consumo de alimentos mayormente reportado en los Estados Unidos. Esta enfermedad se desencadena posterior a un periodo de incubación de 6 a 48 horas, en las cuales el microorganismo se multiplica y coloniza el tracto digestivo (Tortora, 1995; Pommerville, 2004).

El género *Salmonella* se divide taxonómicamente en alrededor de 2000 serotipos, siendo *Salmonella* Typhimurium el serotipo más asociado a problemas de gastroenteritis a nivel mundial, además de los serotipos *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Newport (Davis, 1990; Tortora, 1995).

La alta capacidad invasiva de *Salmonella* se da en base a la movilidad, debido a que este es considerado un factor muy importante para el crecimiento del microorganismo; tal es el caso de *Salmonella* Enteritidis la cual tiene la capacidad de desarrollarse en alimentos como el huevo, mientras que cepas no móviles, tales como *Salmonella* Gallinarum y *Salmonella* Pollorum resultan incapaces de multiplicarse en este alimento ya que la ausencia de flagelos impide el movimiento hacia la yema del huevo, que es la región propicia para el desarrollo del microorganismo (Cogan *et al.*, 2004).

Epidemiología

Salmonella es considerado el principal microorganismo causante de enfermedades asociadas al consumo de alimentos principalmente huevo, productos cárnicos y lácteos, mientras que en menor proporción los de origen vegetal, frutas y pescado generando un rango de entre 800, 000 a 4, 000, 000 casos y 800 a 4, 000 muertes anualmente en los Estados Unidos (Buzby, 1996). Esto se debe a que el microorganismo tiene la cualidad de presentar un amplio rango de hospederos tales como el ser humano, animales domésticos así como animales silvestres y de esta manera diseminarse rápidamente en el ambiente (WHO, 2008).

Una de las principales fuentes de infección por *Salmonella* es mediante la ingesta de alimentos cárnicos, tal es el caso de un brote generado por consumo de carne de conejo, la cual presentaba contaminación por el serotipo *Salmonella* Hadar; dicho brote causó 29 casos y 3 muertes (Bisbini *et al.*, 2000).

De acuerdo con Pommerville (2004) la aparición de brotes de Salmonelosis afecta cada vez con mayor frecuencia a poblaciones de diferentes edades y diferentes escenarios, tal es el caso de un brote reportado por Anil *et al.* (2009) en Turquía quienes detectaron la aparición de casos de Salmonelosis en niños, determinando que la fuente de contaminación del microorganismo era de origen nosocomial, lo cual incrementa el riesgo ya que puede tratarse de cepas resistentes a antibióticos.

Otro grupo importante para *Salmonella* es el de personas inmunosuprimidas o inmunocomprometidas, quienes no únicamente presentan problemas de gastroenteritis sino que en ocasiones el cuadro infeccioso avanza hasta generar problemas de bacteriemia, lo cual se presenta en un alto porcentaje en este tipo de pacientes (WHO, 2008), esto coincide con Dhanoa y

Fatt (2009) quienes sugieren que el serotipo *Salmonella* Enteritidis predomina en este tipo de casos.

En México, de manera ocasional se han reportado casos de Salmonelosis asociados con el consumo de alimentos contaminados, Chávez-De la Peña *et al*. (2001) reportaron un brote de Salmonelosis asociado al consumo de alimentos contaminados, generando alrededor de 129 casos; siendo *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium los serotipos principalmente detectados.

La determinación de los diferentes serotipos circulantes en el ambiente es una herramienta de gran utilidad que nos permite conocer de manera acertada cuales son los serotipos que es común encontrar en determinadas regiones y de esta manera conocer los microorganismos de nueva introducción. En el caso de México, se han detectado 199 diferentes serotipos de *Salmonella*, siendo *Salmonella* Enteritidis, Typhimurium, Derby, Agona y Anatum, respectivamente, los serotipos más detectados (Gutiérrez-Cogco *et al.*, 2000).

Staphylococcus aureus

Generalidades

El género *Staphylococcus* abarca diferentes microorganismos patógenos para el humano, produciendo un amplio espectro de enfermedades sistémicas tales como infecciones de la piel, en tejidos blandos, huesos y tracto urinario así como infecciones oportunistas siendo *Staphylococcus aureus* la especie más virulenta y mejor conocida de este género (Murray, 1999).

Staphylococcus aureus en una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa, positiva a la reacción con catalasa y productora de pigmentos carotenoides que le proveen un color dorado. Es también la única especie encontrada en humanos que produce la enzima coagulasa, por esta razón a otras especies se les denomina *Staphylococcus* coagulasa-negativos (Davis, 1990; Murray, 1999).

La parte externa de *Staphylococcus aureus*, consta de una pared de peptidoglicanos la cual es una característica común de los microorganismos Gram positivos. Sin embargo, en este caso el peptidoglicano tiene una actividad del tipo endotoxina que promueve la producción de pirógenos endógenos con lo cual, en asociación con la proteína A, desencadenan la respuesta celular por parte del sistema inmunitario, mientras que los ácidos teicoicos promueven la unión de la bacteria con las superficies mucosas de los epitelios (Murray, 1999). Otro factor asociado a la virulencia de este microorganismo, es el desarrollo de resistencia a múltiples antibióticos mediada por la producción de enzimas; por lo cual se dificulta el tratamiento de este tipo de infecciones (Davis, 1990).

Epidemiología

Staphylococcus aureus es uno de los principales microorganismos asociados a la intoxicación por alimentos tales como leche, huevo, carne y ensaladas entre otros. En los Estados Unidos de América, este microorganismo en base a la endotoxina que produce, causa alrededor de 8, 900, 000 casos y 7, 120 muertes (WHO, 2008); mientras que en países como Francia durante el periodo de 1999 a 2000 ocurrieron alrededor de 85 brotes, produciéndose 1,651 casos y 149 hospitalizaciones, esto debido a la capacidad de este microorganismo para alojarse en los tejidos de humanos, por lo cual es

considerado agente causal de infecciones nosocomiales así como de enfermedades en comunidades (Le Loir *et al.*, 2003).

Uno de los problemas actuales es la aparición de nuevos brotes generados por cepas resistentes a antibióticos, lo cual es un problema adicional dado que el grado de daño a la salud es mayor por la dificultad de establecer un tratamiento adecuado, esto favorece a una mayor virulencia por parte del microorganismo el cual es capaz de transmitirse mediante los alimentos y generar brotes infecciosos tanto de manera aislada como masiva (Jones *et al.*, 2002; Kitamoto *et al.*, 2009).

Schmid *et al.* (2009) determinaron un brote causado por consumo de productos lácteos contaminados por *Staphylococcus aureus* el cual arrojó un total de 40 casos en infantes en edad escolar, quienes padecieron episodios de intoxicación.

Hepatitis A

Generalidades

El virus de *Hepatitis* A, es uno de los miembros de la familia *Picornaviridae*, los cuales se asocian como agentes causales de diversas enfermedades severas en humanos y animales, se dividen en cinco grupos generales, tales como: *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *Aphtovirus* y *Cardiovirus*, entre los cuales existen diferencias marcadas de acuerdo a sus propiedades antigénicas, patogenicidad, rango de hospederos y estabilidad (Levy, 1994).

El virus de *Hepatitis* A, estructuralmente se encuentra conformado por ARN de cadena sencilla como material genético, el cual se encuentra envuelto por una estructura icosahedrica de origen proteico que provee protección al material genético. Una partícula completa del virus es denominada virión, la cual es estable a temperaturas de hasta 60°C con capacidad infectiva, en el caso de *Hepatitis* A, este tiene como hospedero principalmente al humano alojándose en el hígado para posteriormente desarrollar la infección y enfermedad (Levy, 1994; White, 1994).

El virus de *Hepatitis* A se introduce en el organismo principalmente por la ingesta de alimentos y agua contaminada. Una vez alojado en el epitelio intestinal, éste se multiplica para después diseminarse a través de la circulación sanguínea, infectando así las células del parénquima hepático (White, 1994). Una vez albergadas las partículas virales, requieren de un proceso de incubación de alrededor de 2-6 semanas para iniciar el desarrollo de la enfermedad, la cual genera cuadros más severos en adultos que en infantes quienes frecuentemente son asintomáticos hasta el grado de desarrollar inmunidad (WHO, 2008).

Epidemiología

El modo de distribución del virus de *Hepatitis* A, es la ruta fecal oral, esto se lleva a cabo por contacto persona-persona, aguas contaminadas, alimentos contaminados o bien mediante la contaminación de los alimentos por parte de personas enfermas, lo que genera casos a nivel mundial con una frecuencia moderada (WHO, 2008).

La presencia del virus *Hepatitis* A en alimentos es un factor detonante para la aparición de brotes infecciosos, tal es el caso de un brote generado en

2003, en el cual se asociaba la presencia del virus en cebollines utilizados para la preparación de alimentos, causando 555 casos en 13 restaurantes de los Estados Unidos (CDC, 2003). Por otra parte, Schmid *et al*. (2009) reportaron un brote generado en Austria, el cual de igual manera se asoció con el consumo de alimentos contaminados generando 21 casos; mientras que Koehler (2009) reporta un incremento en la aparición de casos de *Hepatitis* A en Australia, sin lograr definir la fuente de infección.

Uno de los principales problemas para el control de los brotes es el movimiento poblacional, tal es el caso del brote reportado por Robesyn *et al*. (2009) quienes determinaron la adquisición del virus por parte de las personas afectadas durante un viaje, manifestando la enfermedad de regreso a su país de origen. Este mismo fenómeno ocurre en población de origen hispano principalmente en infantes, quienes experimentan un flujo constante entre las líneas fronterizas de los Estados Unidos Mexicanos y Estados Unidos de América adquiriendo el virus en estos puntos mediante ingesta de alimentos contaminados, generándose la diseminación del virus en ambas direcciones (Weinberg *et al.*, 2004).

Norovirus

Generalidades

La familia *Caliciviridae* asociada a problemas de gastroenteritis, se caracteriza por dar lugar a partículas virales en forma de copa, de tamaño 30-60 nm, ligeramente más grandes que los miembros de la familia *Picornaviridae*.

Estructuralmente se conforman de ARN de cadena sencilla como material genético, el cual está envuelto por una capa de origen proteico denominada cápside conformada por 90 subunidades conocidas como capsómeros. Esta familia se divide en base a su morfología en dos grupos: *Calicivirus* típicos y *Calicivirus* amorfos pequeños redondeados, en este grupo destaca el sub-grupo Norwalk (White, 1994).

El subgrupo Norwalk engloba a su vez diferentes partículas virales tales como Norwalk, Snow mountain y Otokufe/Hawaii; este sub-grupo es poco común en infantes de países sub-desarrollados, sin embargo su presencia en personas mayores se da con mayor frecuencia (Levy, 1994; White, 1994). Este grupo es considerado uno de los principales agentes causales de gastroenteritis viral la cual ocurre posterior a un periodo de incubación de 15-50 horas, colonizando el yeyuno e iniciando el proceso infeccioso para desencadenar la aparición de la enfermedad, acompañada de diarrea y vómito (WHO, 2008).

Los Norovirus además de la capacidad infectiva para desarrollar enfermedades gastrointestinales, tienen la cualidad de persistir viables durante tiempos prolongados en diferentes superficies tales como las destinadas a la preparación de alimentos, lo cual pone en riesgo a las personas que entran en contacto con este tipo de superficies así como las personas que consumen alimentos preparados en estas (Lamhoujeb *et al.*, 2009).

Epidemiología

La principal vía de distribución de los Norovirus es mediante la ruta fecal-oral. Así mismo, alimentos y agua destinada al consumo humano pueden contaminarse al entrar en contacto con fuentes de agua de desecho contaminadas, las cuales se destinan para la irrigación o bien, mediante la

contaminación por parte de preparadores de alimentos; no obstante, la mayor fuente de contaminación por Norovirus se asocia con moluscos (WHO, 2008).

Becker *et al*. (2000) reportaron un brote por Norovirus asociado a la transmisión de partículas virales mediante alimentos contaminados, generando 43 casos de gastroenteritis viral.

Martínez *et al*. (2008) sugieren que *Salmonella* es el principal agente causal de gastroenteritis, mientras que Norovirus es considerado como el segundo agente causal. Sin embargo, los brotes generados por estos virus resultan más prolongados, además de requerir una menor concentración de partículas virales para desarrollar el proceso infeccioso asociado con la persistencia del microorganismo en superficies y manos de preparadores de alimentos con lo que se incrementa el riesgo de adquirir este tipo de infecciones.

Lo anterior coincide con Liu *et al*. (2009) quienes mediante estudios *in vitro*, determinaron la sobrevivencia de partículas virales de Norovirus, las cuales son capaces de persistir hasta por 42 días en superficies plásticas y metálicas para la preparación de alimentos e incluso en manos de personas durante 2 horas.

La aparición de brotes de norovirus se da frecuentemente durante viajes en cruceros, en un estudio realizado por Verhoef *et al*. (2008) se reportaron 43 brotes ocurridos en 13 diferentes embarcaciones en la unión europea en 2006, en los cuales se detectó la transmisión vía persona-persona.

De acuerdo con CDC, 2004; la asociación de norovirus con cruceros se genera debido a los espacios reducidos que aumentan el contacto, así como el flujo constante de personas, lo que favorece la transmisión del virus a otros pasajeros y a la tripulación.

De manera adicional, la transmisión de norovirus también se da mediante alimentos contaminados, Ethelberg *et al.* (2010) reportaron al menos 11 brotes con un total de 260 casos en Dinamarca, en los cuales se determinó que la infección ocurrió por el consumo de lechugas contaminadas. Por otra parte, Maunula *et al*. (2009) detectaron la presencia de norovirus en frambuesas durante un brote de gastroenteritis en Finlandia, asociado con el consumo de este fruto.

De acuerdo con Westrell *et al*. (2010), los brotes generados por norovirus pueden también ocurrir de manera simultánea; tal como sucedió en Enero de 2010 cuando se generaron 334 casos, distribuidos en 5 países (Dinamarca, Francia, Noruega, Reino Unido y Suecia), en los cuales se determinó al ostión como vehículo para la transmisión del virus.

Presencia de Microorganismos en el Hogar

Uno de los principales factores que contribuyen a la aparición de enfermedades causadas por alimentos, especialmente en el hogar es el manejo inapropiado de los alimentos los cuales una vez contaminados se almacenan principalmente en refrigeradores, en donde microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Staphylococcus aureus* se

alojan en las superficies de estos y sobreviven durante tiempos prolongados, generando riesgos de futuras contaminaciones cruzadas (Jackson *et al.*, 2007).

Una vez presentes en el hogar, los diferentes microorganismos e incluso partículas virales son transferidas hacia diferentes dentro del mismo, principalmente mediante fómites los cuales presentan una alta concentración del patógeno y cuya manipulación favorece la diseminación hacia las manos de las personas, elevando el riesgo de padecer enfermedades (Rusin, 2002).

Interacción con Microorganismos Patógenos

La interacción con microorganismos patógenos en el hogar, puede ocurrir al estar en contacto directo con mascotas o bien, mediante sus excretas, generando importantes riesgos a la salud (Iwanicka-Grzegorek *et al*., 2005). El contacto de las mascotas con plagas (insectos o roedores) y animales callejeros, favorece la transferencia de microorganismos como *Yersinia enterocolitica* y *Staphylococcus aureus*, además de parásitos como *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp. y *Giardia* spp., capaces de desarrollar una zoonosis (Fredricksson-Ahomaa *et al*., 2001., Lorenzini *et al*., 2007; Rutland 2009).

Otro tipo de interacción es mediante contacto con las excretas de animales no domésticos como lagartijas que se presentan de manera eventual en el hogar, Otokunefor *et al.* (2008) establecen que la materia fecal de estos reptiles puede albergar microorganismos patógenos tales como *Salmonella* la cual puede distribuirse de esta manera hacia diferentes áreas en el hogar. Davies *et al*. (2000) establecen que la interacción entre infantes con microorganismos puede ocurrir al manipular juguetes contaminados con bacterias coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* y *Streptococcus*.

Higiene en el Hogar

La transferencia de microorganismos patógenos puede ocurrir durante la preparación de los alimentos, provocando la distribución microbiana hacia manos, superficies y trapos de limpieza, este proceso es conocido como contaminación cruzada y puede darse por contacto de las manos con alimentos naturalmente contaminados o viceversa (Cogan *et al.*, 2002; van Asselt *et al.*, 2008) y de esta manera, darse la transmisión de microorganismos como *Staphylococcus aureus* el cual causa brotes toxoinfecciosos (Jones *et al.*, 2002; Soderquist *et al.*, 2006; Kitamoto *et al.*, 2009).

La implementación de un adecuado manejo de los alimentos durante su preparación, es una herramienta viable para evitar y prevenir la exposición con microorganismos patógenos (Kitamoto *et al.*, 2009).

El empleo de procedimientos de higiene resulta una alternativa viable para reducir la presencia de microorganismos en el hogar, sin embargo, la práctica mayormente empleada es la limpieza con agua y jabón, lo cual no reduce significativamente la carga microbiana (de Jong *et al.*, 2008), debido a que no ejerce un efecto de eliminación de microorganismos, a diferencia de la aplicación de desinfectantes (Becker, 2009; Wirtanen and Salo, 2003).

Desinfección

De acuerdo con Rutala *et al*. (2008), la desinfección se describe como el proceso de destrucción de microorganismos patógenos, excepto bacterias formadoras de esporas sobre objetos o superficies inanimadas, usualmente se emplean desinfectantes químicos. Este proceso incluye la eliminación de diversos microorganismos, tales como virus, bacterias y protozoarios parásitos

(Hayes, 1997). Esto ayuda considerablemente a la reducción de enfermedades transmitidas por agua y alimentos contaminados (Bitton, 1994).

Características Deseables para un Desinfectante

De acuerdo con Hayes, (1997), los desinfectantes utilizados para superficies de contacto deben cumplir con las siguientes características:

- Eliminar rápidamente los microorganismos y en particular igualmente efectivo tanto para bacterias Gram-positivas como para bacterias Gram-negativas.
- Razonablemente estable en presencia de materia orgánica y en caso de ser necesario, en presencia de agua salada.
- No ser corrosivo.
- Ser inodoro o bien tener un olor inofensivo.
- No ser toxico ni irritante al contacto con piel y ojos.
- Estable durante periodos prolongados de almacenamiento en forma concentrada y durante periodos cortos en forma diluida.
- Tener un precio accesible y de uso rentable.

La aplicación de productos desinfectantes reduce de manera significativa la presencia de bacterias, además, la asociación de estos productos con un protocolo de aplicación favorece a una mayor reducción de microorganismos oportunistas tales como bacterias coliformes en cocinas y baños (Cuadro 1) (Rusin *et al.*, 1998).

Cuadro 1.- Desinfectantes mayormente empleados en la industria alimentaria

Desinfectante	Ventajas	Desventajas
Cloro	Amplio espectro de acción	Altamente irritante
	Precio accesible	Corrosivo
	Fácil aplicación	Inestable frente a materia orgánica
Iodo	Amplio espectro de acción	Relativamente caro
	Estabilidad	Corrosivo
	Fácil aplicación	Requiere concentraciones elevadas
Cuaternarios de Amonio	Estabilidad	Precio elevado
	No corrosivo	No destruye endosporas
	No tóxico	Inactivación por residuos de detergentes

(Tortora, 1995)

Cloro

Generalidades

El cloro en su estado natural (Cl_2), es altamente reactivo y al entrar en contacto con el agua, se disocia de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Cl_2 + H_2O \longleftrightarrow HOCl + H^+ + Cl^-$$

Los desinfectantes a base de cloro mayormente empleados son los hipocloritos, los cuales se encuentran disponibles tanto en forma líquida (Hipoclorito de Sodio), como en forma sólida (Hipoclorito de Calcio). Estos son desinfectantes de amplio espectro que aplicados en bajas concentraciones (5-

6%) no generan residuos tóxicos, tienen un costo accesible así como rápida acción y una baja incidencia de casos serios de intoxicación (Mc elhatton y Marshall, 2007).

La actividad microbicida del cloro se atribuye principalmente a la disociación de los hipocloritos para formar ácido hipocloroso (HOCl), la cual es la forma más activa para la desinfección. Sin embargo, la disociación del acido hipocloroso en ión hipoclorito (OCl^-) da lugar a la forma menos activa, lo cual disminuye el efecto microbicida. Este proceso está dado por variaciones de pH (Figura 1, Tomada de McElhatton y Marshall, 2007), por lo cual es necesario manejar condiciones controladas de pH para disminuir la conversión del ácido hipocloroso en ión hipoclorito (Rutala *et al*., 2008), la cual se expresa en la siguiente ecuación:

$$HOCl \longleftrightarrow H^+ + OCl^-$$

Modo de Acción del Cloro

El mecanismo mediante el cual los iones de cloro libre destruyen los microorganismos aun no ha sido descrito, sin embargo, la destrucción puede darse como resultado de la oxidación de enzimas sulfhídricas, aminoácidos, pérdida de contenido intracelular, disminución de la fijación de nutrientes, inhibición de la síntesis proteica, baja captación de oxígeno y baja producción de Adenosin Trifosfato (ATP) (Mc Elhatton y Marshall, 2007). Sin embargo, Kumar *et al*. (2007) demostraron que la actividad desinfectante del cloro en cepas de *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 se lleva a cabo mediante un proceso de oxidación y rompimiento de los enlaces bisulfuro presentes en la

membrana celular, con lo cual se genera el daño celular y como consecuencia la célula bacteriana pierde su viabilidad.

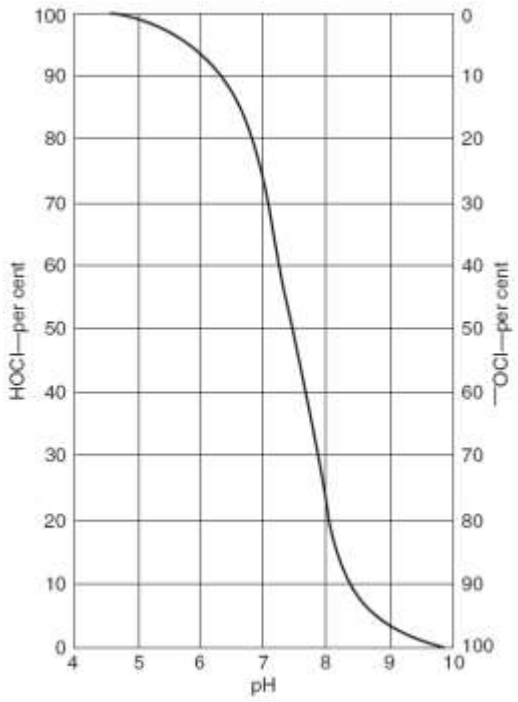

Figura 1. Relación entre pH y liberación de OCl- y HOCl.

Otro factor que afecta la actividad del cloro es la presencia de materia orgánica, debido a que el HClO y OCl^- reaccionan con la materia orgánica, con lo cual disminuye considerablemente la concentración de cloro libre y como consecuencia la pérdida de acción microbicida y la necesidad de incrementar las concentraciones de desinfectante (MceElhatton y Marshall, 2007; Maier, 2000).

La presencia de materia orgánica en utensilios de cocinas de hogares como esponjas y trapos, es uno de los principales inconvenientes para la acción microbicida del cloro, aunado a una elevada concentración de microorganismos

mesófilos aeróbicos, así como mohos y levaduras dificultan la acción de concentraciones elevadas de cloro, incluso al emplear soluciones al 10% (Sharma *et al*., 2009).

Empleo de Cloro como Agente Desinfectante

El cloro mayormente utilizado es el hipoclorito de Sodio (NaOCl), el cual muestra actividad microbicida de amplio espectro. Así mismo, la actividad del cloro es un aspecto ampliamente estudiado en diferentes trabajos (Vessoni-Penna *et al*., 2001).

Rusin *et al*. (1998) evaluaron la aplicación de hipoclorito de sodio para disminuir la presencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal en diferentes sitios del hogar, en el cual lograron una reducción de hasta 4 Log_{10} de microorganismos coliformes fecales, bacterias mesofílicas aeróbicas, hongos y levaduras.

La aplicación de productos desinfectantes a base de cloro es una herramienta muy útil para disminuir la carga microbiana. Guimaraes *et al*. (2000) evaluaron la actividad microbicida del cloro ante microorganismos patógenos. Los resultados obtenidos muestran el efecto de reducción de las poblaciones microbianas de estos microorganismos, incluso se mostró el efecto desinfectante ante cepas de *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a antibióticos.

El cloro presenta también efecto viricida, Mbithi *et al*. (1990) determinaron que la aplicación de 5,000 ppm de cloro, reduce en más del 99.9% la contaminación por virus de Hepatitis A en superficies de contacto.

La inactivación de partículas virales por acción del cloro se lleva a cabo a nivel de proteínas de la cápside o a nivel de ácidos nucleicos. Sin embargo, el sitio de acción puede variar en relación con la concentración de desinfectante y el tipo de virus. Se ha determinado que concentraciones de cloro libre menores a 0.8 mg/L inactivan el ARN de poliovirus sin generar mayores daños estructurales, mientras que concentraciones mayores a 0.8 mg/L ejerce un daño en el genoma viral, y en las proteínas de la cápside (Maier, 2000).

Barker *et al.* (2004) establecieron que altas concentraciones de cloro reducen la concentración de Norovirus presentes en superficies en periodos cortos de contacto (1 min), con lo cual se disminuye la diseminación de Norovirus hacia diferentes superficies, caso contrario a superficies en las cuales únicamente se llevó a cabo la práctica de limpieza empleando solo detergentes, lo cual no evita la diseminación de las partículas virales hacia otras superficies de contacto.

Gerba y Kennedy (2007) establecieron que el uso de hipoclorito de sodio reduce hasta un 99.99% el número de Rotavirus, virus de Hepatitis A y Adenovirus cuando es utilizado para el lavado de ropa en el hogar. Por otra parte, Casteel *et al*. (2008) evaluaron la actividad microbicida del cloro a 200 ppm para la eliminación de virus de Hepatitis A y bacteriófago MS2 en fresa, lechuga y tomate, obteniendo porcentajes de reducción ≥ 99%.

Compuestos Cuaternarios de Amonio

Generalidades

Los compuestos cuaternarios de amonio, comúnmente se presentan en forma de sales cuya fórmula general se expresa de la siguiente manera:

$$(NR_4)^+X^-$$

Químicamente, los compuestos cuaternarios son moléculas en las cuales, el átomo de nitrógeno (N) presenta valencia cinco, cuatro de los radicales sustituyentes (R1-R4) son grupos alquilo o radicales heterocíclicos de cadena larga, mientras que el radical negativo (X^-) es un halogenuro, sulfato o molécula similar. Algunos de los compuestos cuaternarios mayormente empleados son el cloruro de alkil-dimetil-benzil-amonio, cloruro de alkil-didecil-dimetil-amonio y cloruro de dialkil-dimetil-amonio, los cuales son conocidos como agentes desinfectantes que presentan el inconveniente de inactivación ante aguas duras: sin embargo, existen nuevas estructuras conocidas como compuestos de cuarta generación tales como bromuro de didecil-dimetil-amonio y bromuro de dioctil-dimetil-amonio, los cuales presentan mayor resistencia ante la dureza del agua (Rutala *et al*., 2008).

Este tipo de estructuras son consideradas como agentes surfactantes debido a su capacidad de romper la tensión superficial del agua y presentan tanto una parte anionica como una cationica, de las cuales R representa el número de átomos de hidrógeno, los cuales pueden ser sustituidos por grupos radicales alkilo o arilo; mientras que X representa la parte aniónica que generalmente es representada mediante un cloruro o un bromuro (Mc elhatton y Marshall, 2007).

La parte hidrofóbica de estos compuestos $(NR_4)^+$ interactúa con las partículas de origen lipídico, mientras que la parte aniónica incrementa la solubilidad del compuesto surfactante en una solución acuosa (Mc elhatton y Marshall, 2007).

Modo de Acción de Cuaternarios de Amonio

Estos productos son considerados como agentes desinfectantes de bajo nivel y ejercen su acción desinfectante mediante daño a nivel de la membrana celular, al ponerse en contacto el compuesto con la superficie bacteriana, la parte catiónica $(NR_4)^+$ se asocia a los grupos fosfatos de los fosfolípidos de la membrana, liberando el residuo hodrofóbico para alterar la semipermeabilidad de la membrana, provocando la salida de compuestos fosforilados. Además, estos compuestos se introducen en la célula y desnaturalizan las proteínas (Rutala *et al*., 2008).

Usos de Compuestos Cuaternarios de Amonio como Desinfectantes

Las principales aplicaciones de estos agentes se destinan para desinfección de áreas no críticas, así como para la desinfección en el hogar. Generalmente estos compuestos se utilizan en concentraciones que oscilan entre 50 a 500 partes por millón (ppm), así como temperaturas de hasta 40°C las cuales requieren de periodos de tiempo de 1 a 30 min para garantizar un buen efecto desinfectante (Mc elhatton y Marshall, 2007).

Estudios previos han demostrado la actividad microbicida de estos compuestos, en los cuales se comprueba la actividad microbicida ante células vegetativas de microorganismos como *Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Serratia marcescens.* Sin embargo, no logran ejercer un efecto ante microorganismos esporuladores tales como bacterias del género *Bacillus*. Por lo tanto, estos compuestos son principalmente empleados como antisépticos o bien sobre superficies duras y porosas con la finalidad de disminuir la carga microbiana, reduciendo el riesgo de contaminaciones cruzadas (Vessoni *et al*., 2001).

Chaidez *et al.* (2007) evaluaron la actividad microbicida de compuestos cuaternarios de amonio ante *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mediante el empleo de 100 y 200 ppm del desinfectante bajo condiciones extremas de materia orgánica, obteniendo porcentajes de reducción del 99.9999% durante el lavado de frutas y vegetales. Por otra parte, Kim *et al*. (2007) determinaron la efectividad de diferentes concentraciones de compuestos cuaternarios de amonio para la eliminación de *Enterobacter zakazakii* de la superficie de utensilios, encontrando un mayor efecto microbicida de estos compuestos contra células vegetativas, en comparación con un efecto microbicida obtenido en bio-películas de este microorganismo.

La actividad microbicida de los compuestos cuaternarios de amonio puede extenderse hasta la eliminación de particular virales, principalmente en virus que presenten envoltura tales como virus de inmunodeficiencia humana y virus de *Hepatitis* B. En este último, el efecto se lleva a cabo mediante la desintegración de la envoltura externa, lo cual induce cambios morfológicos en la partícula viral y como consecuencia la pérdida de infectividad del virus (Mc Donnell y Russell, 1999).

En estudios previos, Tsao *et al*. (1989) demostró la actividad microbicida de compuestos cuaternarios de amonio en la eliminación de contaminación por el virus con envoltura Herpes simplex tipo 1, tanto en superficies de contacto como en soluciones acuosas, logrando reducciones de hasta seis logaritmos (Log_{10}) de partículas virales. Este efecto se explicó debido al desprendimiento de la envoltura de la partícula viral por la interacción con los compuestos cuaternarios de amonio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de Hogares

El presente estudio se llevó a cabo durante los meses de Agosto de 2008 a Enero de 2009, en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México. Esta ciudad se localiza en la región noroeste del país y cuenta con una población de alrededor de 1 millón de habitantes (INEGI, 2005).

La selección de hogares se llevó a cabo en base a cinco criterios de inclusión:

- Hogar con cocina (cubierta, tarja, esponja, trapo de limpieza y tabla para corte).
- Hogar con baño (Lavamanos, regadera, inodoro y tapa del mismo).
- Ama de casa en el hogar.
- Hijos menores de 12 años (que utilicen juguetes).
- Mascota.

Una vez seleccionados los hogares, se dividieron en dos grupos:

1) Treinta hogares denominados “hogares caso”, donde se aplicaron diferentes productos desinfectantes en base a un protocolo de aplicación.

2) Treinta hogares denominados “hogares control”, en los cuales los hábitos de higiene no se modificaron.

Para los “hogares caso”, se contó con un programa de capacitación, el cual consistió en instrucciones sobre la preparación y aplicación (cantidad, periodicidad, modo de aplicación y bitácora de registro) de los diferentes productos desinfectantes proporcionados (Cuadro 2).

Para los “hogares control”, las instrucciones consistieron en no modificar sus hábitos de higiene, es decir, llevaron a cabo la limpieza del hogar de la manera en que comúnmente lo hacen, y en el caso de usar diferentes productos detergentes o desinfectantes, no modificar la manera en que tradicionalmente lo hacen.

Las áreas a analizar en ambos grupos de hogares fueron en cocina superficies de cubiertas, tarjas, tablas de corte, trapos y esponjas, mientras que en el baño se seleccionaron superficies de lavamanos, pisos de regaderas, tapas de inodoros e inodoros. También se incluyeron juguetes para niños y áreas de descanso para mascotas (Figura 2).

La toma de muestra en ambos grupos de hogares, se realizó con una periodicidad semanal sin previo aviso, con excepción de la primer semana de estudio para los “hogares caso”, en los cuales se asistió para proveer los desinfectantes y el programa de capacitación. Previo a la capacitación, se realizó la toma de muestra en estos hogares y una vez llevada a cabo la capacitación, se tomó muestra nuevamente.

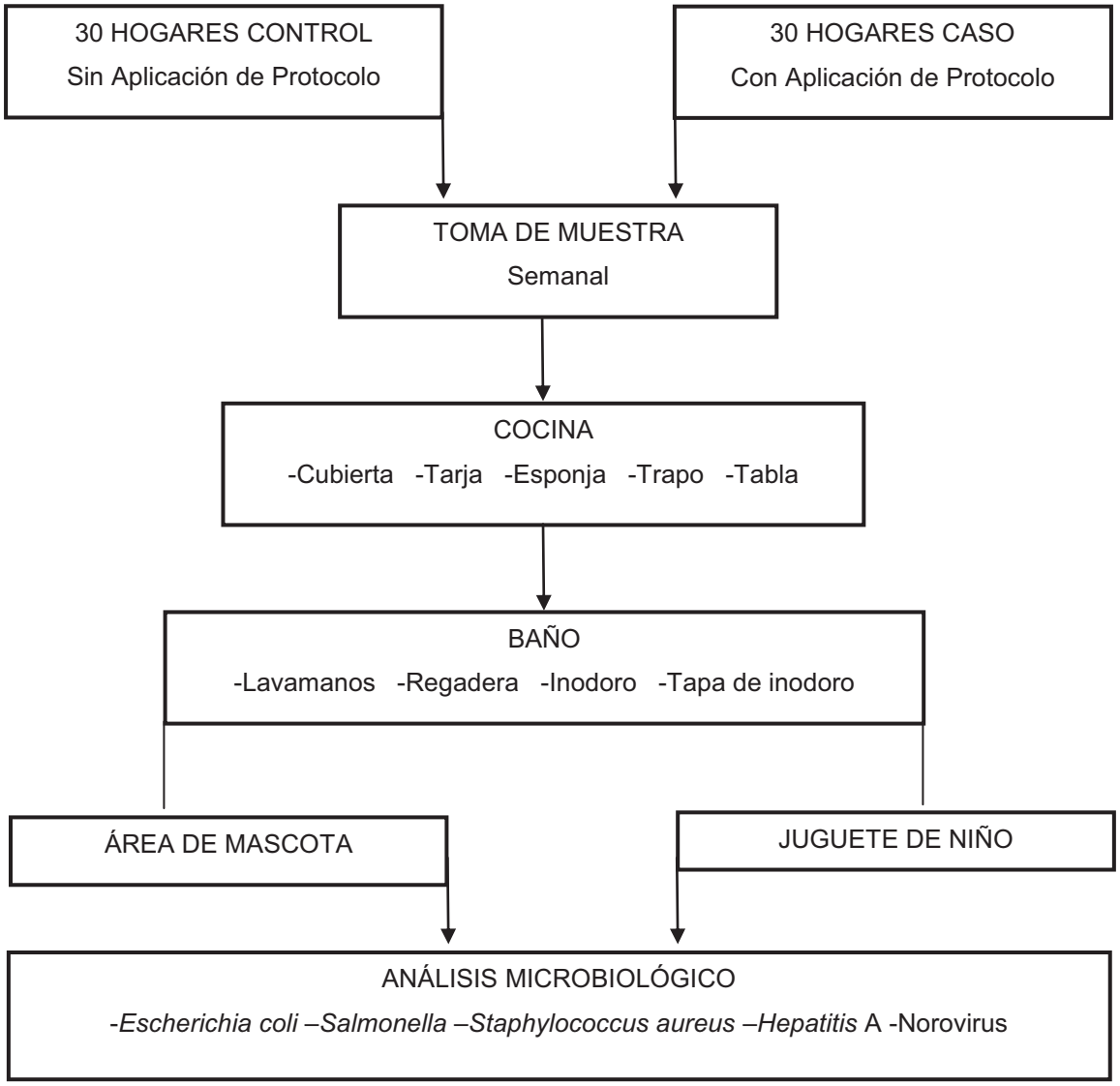

Figura 2.-Estrategia de trabajo para el desarrollo del proyecto.

Cuadro 2.- Protocolo de aplicación de productos desinfectantes.

Producto	Área	Frecuencia de aplicación	Preparación	Aplicación
Cuaternarios de amonio	Cubierta y tarja	Dos veces por día	1 Tapa (10 mL)	Llenar una tapa y verter sobre un trapo, enjuagar después.
Cuaternarios de amonio/ Desengrasante	Trapo, esponja y tabla	Dos veces por día	60 mL/L	Sumergir los utensilios en la solución y dejar secar
Hipoclorito de sodio 2.5%	Coladera y tapa de inodoro	Dos veces por semana	30 mL/500 mL	Tallar con una esponja humedecida con la solución las superficies y enjuagar
Hipoclorito de sodio 5%	Inodoro	Dos veces por semana	Directo	Aplicar directamente sobre las paredes y dejar actuar por 5 min
Acido cítrico/ tensioactivos ionicos	Piso en regadera	Dos veces por semana	Directo	Aplicar directamente a 15 cm de distancia, enjuagar después
Hipoclorito de sodio 2.5%	Mesas o juguetes	Dos veces por semana	60 mL/500mL	Aplicar la solución, secar la superficie y enjuagar después
Hipoclorito de sodio 5%	Plato de mascota o área de descanso	Dos veces por semana	240 mL/ 4L	Plato: Aplicar la solución y enjuagar Área descanso: trapear con solución

Toma de Muestra

La toma de muestra de los diferentes sitios del hogar, se llevó a cabo en base a lo establecido por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA siglas en inglés, 1998).

En el caso de superficies de cubierta, tarja, tabla, lavamanos, regadera, inodoro, tapa de inodoro y área de mascota, la toma de muestra se realizó con una esponja estéril (Whirl-pak, E. U. A.) previamente humedecida con solución amortiguadora de fosfatos (KH_2PO_4) estéril. Se frotó un área de 30 x 30 cm (900 cm^2) para la recuperación de los microorganismos presentes. Por otra parte, la toma de muestra para esponjas y trapos se realizó mediante

introducción de cada utensilio en una bolsa estéril, la cual contenía 100 mL de agua peptonada estéril para posteriormente exprimirlos hasta recuperar la mayor cantidad de liquido posible y de esta manera liberar los microorganismos presentes (APHA, 1998).

Una vez obtenidas las muestras, se transportaron en hieleras con bloques de gel refrigerante al Laboratorio de Microbiología Ambiental y de Alimentos (LMAA) del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C Coordinación Culiacán, para su procesamiento.

Análisis Microbiológico

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus*

La detección y cuantificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se llevó a cabo mediante la técnica de extensión en placa. Se tomó un volumen de muestra de 0.1 mL, el cual se colocó en cajas de petri con medio de cultivo cromogénico Chromagar ECC (Chromagar, Francia) y Agar Sal y Manitol (Bioxon, México) para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. La muestra fue extendida sobre la superficie del medio de cultivo utilizando una varilla de vidrio estéril hasta que la muestra fue totalmente absorbida por el medio. Posteriormente, las cajas se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 45°C para *Escherichia coli* y 37°C para *Staphylococcus aureus*, respectivamente (APHA, 1998).

Una vez concluido el tiempo de incubación, se llevó a cabo el conteo de las colonias bacterianas, las cuales se expresaron como unidades formadoras de colonias (UFC/mL). Esto se realizó mediante el empleo de un equipo cuenta colonias tipo Quebec para facilitar la visualización de las UFC presentes sobre

la superficie del medio de cultivo y se determinó como colonia presuntiva para *Staphylococcus aureus* a aquella que presentó una morfología redonda, con bordes lisos definidos, ausencia de protuberancias centrales, tamaño pequeño y coloración amarilla intensa. Mientras que para *Escherichia coli*, las características cromogénicas del medio de cultivo promueven el crecimiento de UFC de color azul intenso, el cual se diferencia del crecimiento de bacterias coliformes fecales que presentan una coloración morada.

Para el caso de *Staphylococcus aureus*, una vez observadas las UFC se procedió a aislar las colonias presuntivas para posteriormente realizar su confirmación mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR siglas en ingles) (Wang *et al.*, 1997).

En los casos de muestras que presentaron sobrepoblación que dificultó su conteo, fue necesario realizar diluciones seriadas de la muestra original para llevar a cabo el procesamiento de las muestras nuevamente.

***Salmonella* sp.**

La presencia de *Salmonella* sp. se determinó mediante la técnica del Número Más Probable (NMP) en la cual se utilizaron los medios de cultivo Rappaport Vassiliadis (Difco, E. U. A.) y agar entérico Hektoen (Bioxon, México) como medios de enriquecimiento/crecimiento y aislamiento, respectivamente (APHA, 1998). Para cada muestra a analizar, se prepararon tres series de tres tubos de ensayo que contenían 10, 5 y 10 mL del caldo Rappaport Vassiliadis, en los cuales se inocularon volúmenes de 20, 10 y 1 mL, respectivamente de la muestra original previamente homogeneizada. Los tubos de ensayo inoculados, se incubaron durante 24 h a 37°C para finalmente interpretar la concentración

de *Salmonella* en base al número de tubos que presentaron turbidez, es decir, por cada serie de tubos se contaba el número de tubos con turbidez por cada dilución y el resultado se comparaba en una tabla de valores para número más probable, basado en el Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, 1998).

Posteriormente, de los tubos que resultaron positivos, se tomaron alícuotas que fueron estriadas sobre agar entérico Hektoen y después de un periodo de incubación de 24 horas a 37°C se observó el crecimiento de las unidades formadoras de colonia (UFC) presuntivas. Estas se determinaron en base a la morfología de la UFC, la cual debía ser de forma redondeada, pigmentación central color negro y un borde definido de color verde transparente y la confirmación de las colonias presuntivas se realizó mediante PCR (APHA, 1998; Wang *et al.*, 1997).

Confirmación de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* por PCR

En las muestras sujetas a confirmación, se extrajo el ADN mediante lisis por calor. La extracción consistió en colocar 1 mL de agua nanopura estéril en tubos de 1.5 mL de capacidad (Eppendorf, EUA) y se agregaron las UFC presuntivas previamente aisladas. Los tubos herméticamente cerrados fueron expuestos a agua a temperatura de ebullición durante 5 min, y posteriormente a agua con hielo durante 5 min para generar un choque térmico que permitió la liberación del material genético de las células y finalmente se almacenó a -20°C para su conservación (Poutou *et al*., 2005).

Una vez obtenido el material genético, se tomó una alícuota de 2 µL que se adicionó a 23 µL de la mezcla de reacción de PCR, compuesta por 2.5 µL de

buffer 5x, 3 µL de $MgCl_2$ (50µM), 0.6 µL de dNTPs mix, 0.2 µL de enzima Taq polimerasa (12u/µL), 15.5 µL de agua nanopura y 0.6 µL de iniciadores específicos (10µM) para *Salmonella* SAL III (TATCGCCACGTTCGGGCAA), SAL IV (TCGCACCGTCAAAGGAACC) (Sigma-Aldrich) los cuales amplifican un fragmento de 275 pares de bases del gen *invA*; mientras que para *Staphylococcus aureus* los iniciadores específicos empleados fueron SA I (GCGATTGATGGTGATACGGTT), SA II (CAAGCCTTGACGAACTAAAGC) (Sigma-Aldrich, EUA) que amplifican un fragmento de 276 pares de bases de un gen de nucleasas (Wang *et al.*, 1997; Brakstad *et al.,* 1992).

La reacción de PCR se realizó al mismo tiempo para ambos microorganismos en un termociclador Mastercycler (Eppendorf, EUA) y las condiciones para la amplificación fueron las siguientes: 1 ciclo de 94°C durante 15 s, 35 ciclos de 94°C durante 3 s, 50°C durante 10 s, y 74°C durante 35 s. Para finalizar el proceso, se estableció un ciclo final de extensión de 74°C durante 2 min y 45°C durante 2 s. (Wang *et al.*, 1997).

Los productos de reacción obtenidos fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%, teñidos con 1µL de bromuro de etidio (1mg/ml) 1%, al cual se le aplicó un voltaje de 75 voltios durante 35 min en una cámara de electroforesis unidireccional, en la cual el material genético migró del polo negativo hacia el polo positivo de la cámara, finalmente los geles se observaron en un transiluminador UV (Spectroline, EUA) y las imágenes se capturaron con una cámara digital CAMEDIA C-7070 (Olympus, Japón).

Una vez realizada la confirmación de las cepas presuntivas de *Salmonella*, las cepas positivas se enviaron al Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE, México) para llevar a cabo el proceso de serotipificación, empleando la metodología de Kauffman-White.

Detección de Hepatitis A y Norovirus

La detección de los virus de Hepatitis A y Norovirus en muestras de esponjas y trapos, se llevó a cabo mediante la extracción de ARN, basados en el manual de usuario del kit QIAMP Viral Mini Kit (QIAGEN, EUA), como lo recomienda el fabricante:

Brevemente, en un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL se colocaron 560 µL de mezcla buffer AVL-ARN carrier. Se agregaron 140 µL de muestra y se agitó por 15 s y posteriormente se incubó a temperatura ambiente por 10 min, posteriormente, se aplicó un ciclo corto de centrifugación para después adicionar 560 µL de etanol (96-100%), se incubó a temperatura ambiente durante 15 s y se agregó 630 µL de esta solución en una columna QIAamp spin para centrifugar a 8000 rpm por 1 min. Posteriormente, se colocó la columna en un tubo nuevo para dar un nuevo lavado con etanol.

Concluida la etapa anterior, se añadieron 500 µL de buffer AW1 a la columna para centrifugar nuevamente a 8000 rpm por 1 min, para posteriormente retirar la columna del tubo y colocarla en un tubo nuevo y aplicar 500 µL de buffer AW2 y centrifugar a 14000 rpm por 3 min. Posteriormente, se colocó la columna en un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL para agregar 60 µL de buffer AVE y se procuró que el volumen quedara justamente en el centro del tubo y no en las paredes y se incubó a temperatura ambiente por 1 min y centrifugar a 8000 rpm por 1 min.

El producto obtenido considerado como ARN molde para la reacción de PCR, se almacenó a -20°C para su conservación.

El proceso de retro transcripción para Hepatitis A se llevó a cabo mediante el kit Access RT-PCR system kit (Promega) con las siguientes proporciones de reactivos para la mezcla de reacción: 32.75 µL de ARN molde al cual se adicionó 17.25 µL de la mezcla que contenía 1 µL de dNTPs (40 mM), 10 µL de Buffer 5x, 2 µL $MgSO_4$ (25 mM), 0.25 µL de inhibidor de ARN asas (40 u/µL), 1 µL de AVM retro-transcriptasa (5 u/µL), 1 µL de Taq polimerasa (50 u/µL), y 1 µL de los iniciadores específicos L3 (50 mM) (CTTCCTGAGCATACTTTGAGTC) y L4 (50 u/µL) (CCAGACCTCCATTGAACT) (Robertson *et al*., 1992) (Sigma –Aldrich, EUA). Las condiciones de retrotranscripción fueron un ciclo de 45°C durante 45 min, seguido de 94°C durante 2 min, 94°C durante 0.5 min, 51°C durante 1 min, 68°C durante 2 min y 68°C durante 10 min.

Para Norovirus, el proceso de retro transcripción se llevó a cabo mediante el kit Access RT-PCR system Kit (Promega, EUA) con las siguientes proporciones de reactivos: 5 µL de ARN molde se adicionaron a 40 µL de la mezcla de reacción, la cual contenía 27.75 µL de agua libre de ARN asas, 1 µL de dNTPs (40 mM), 10 µL de Buffer 5x, 2 µL de $MgSO_4$ como catalizador, 0.25 µL de inhibidor de ARN asas, 1 µL de AVM retro-transcriptasa (5 u/µL), 1µL, de Taq polimerasa y 1 µL de los iniciadores específicos MJV12 (50 µM) (TAYCAYTATGATGCHGAYTA) y RegA (50 µM) (CTCRTCATCICCATARAAIGA) (Kingsley and Richards, 2001) (Sigma-Aldrich, EUA).

Las condiciones de amplificación fueron un ciclo de 45°C durante 45 min, seguido de 94°C durante 2 min, 94°C durante 0.5 min, 50°C durante 1 min, 68°C durante 2 min y 68°C durante 7 min.

Este proceso para la detección de ambos virus, se llevó a cabo en un termociclador mini opticon (Bio-Rad, EUA) bajo las condiciones anteriormente descritas.

Diseño Estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza, se utilizó un diseño de medidas repetidas con el paquete estadístico SPSS versión 17. Los resultados del periodo denominado basal (Semana 1) se utilizaron como la concentración inicial de la carga microbiana en los diferentes puntos del hogar. Los factores con sus diferentes niveles, así como la variable de respuesta se muestran a continuación:

- Variable de respuesta : Unidades Formadoras de Colonias (UFC)
- Factor tratamiento
    - Nivel 1
      Casas con aplicación de productos desinfectantes
    - Nivel 2
      Casas sin aplicación de productos desinfectantes
- Factor tiempo
    - Nivel 1
      Periodo basal
    - Niveles 2-6
      Semana 1, Semana 2, Semana 3, Semana 4, Semana 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en el Hogar

Los sitios con mayor concentración microbiana se encontraron en cocina y fueron la tarja, esponjas y trapos, mientras que en el baño fue el inodoro, en el cual se observó un incremento en la concentración de *Escherichia coli* además de la persistencia e incremento a través del estudio de *Staphylococcus aureus* principalmente en el grupo de hogares control.

La concentración de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en la tarja disminuyó a través del tiempo, excepto en la segunda semana que presentó un ligero incremento (1 Log_{10}) para ambos microorganismos, en relación con la semana inicial. No obstante, esta concentración se mantuvo siempre menor a la concentración inicial. Las esponjas de hogares con aplicación de protocolos tuvieron una reducción significativa del 99.9% (3 Log_{10}), manteniendo la carga microbiana en niveles menores al periodo inicial (4 Log_{10}). Por otra parte, las esponjas del grupo control conservaron una elevada concentración microbiana (1 -10 Log_{10}) durante el estudio, incluso durante la segunda semana se presentó un incremento considerable (figuras 3 y 4) similar al periodo inicial. Los trapos en el grupo caso mostraron una reducción significativa ($p<0.05$) solo después de la aplicación de desinfectantes en el periodo inicial.

La interacción entre microorganismos patógenos y la preparación de alimentos juega un rol muy importante en el desarrollo de brotes epidémicos, como ejemplo un caso generado por *Staphylococcus aureus* el cual tiene la capacidad de desarrollar resistencia a múltiples antibióticos y desencadenar enfermedades en comunidades (Jones *et al.*, 2002), así como intoxicación por

consumo de alimentos durante eventos de asistencia masiva (Kitamoto *et al.*, 2009).

van Asselt *et al*. (2008) sugieren que la transferencia de microorganismos como *Campylobacter jejuni* puede generarse durante la preparación de los alimentos, de esta manera se distribuyen los microorganismos hacia manos, tablas de corte y cuchillos, proceso conocido como contaminación cruzada.

Oundo *et al*. (2008) establecen que las personas que participan en la preparación de alimentos pueden adquirir patógenos potenciales como *Escherichia coli* enteroagregativa y distribuirlos en puntos de la cocina, lo cual pone en riesgo a los habitantes del hogar. Mattick *et al.* (2003) determinan que las prácticas de higiene basadas en el empleo de detergentes no reducen significativamente la contaminación microbiana, por lo tanto, microorganismos patógenos como *Salmonella* y *Escherichia coli* pueden sobrevivir y transferirse a diferentes superficies principalmente mediante trapos y esponjas contaminadas.

De acuerdo con Barker *et al*. (2003) el uso de desinfectantes debe ser considerada como una alternativa para mejorar las condiciones de higiene en el hogar, reduciendo de esta manera la contaminación cruzada durante la preparación de alimentos, y adicionalmente el seguimiento de protocolos de aplicación de desinfectantes debe implementarse como una medida para favorecer las condiciones de higiene en el hogar (Cogan *et al.*, 1999).

Presencia de *Salmonella* sp. en Esponjas y Trapos

Las muestras analizadas para la determinación de *Salmonella* sp. fueron esponjas y trapos de cocina. Se analizó un total de 720 muestras de ambos grupos de hogares, las cuales correspondieron a 180 esponjas y 180 trapos del grupo de hogares caso y la misma cantidad para el grupo control. Los resultados obtenidos para la presencia de *Salmonella*, así como los diferentes serotipos encontrados se muestran en los cuadros 3 y 4, respectivamente.

Cuadro 3.-Presencia de *Salmonella* en esponjas y trapos de cocina

Hogares	Muestra	Positivo*	Negativo	Máximo	Mínimo
Caso	Esponja	2	178	1,200	610
	Trapo	3	177	2,100	320
Control	Esponja	2	178	1,600	300
	Trapo	6	174	110, 000	930

Positivo. – Expresa la presencia de *Salmonella* sp. en las muestras analizadas.
Negativo. – Expresa la ausencia de *Salmonella* sp. en las muestras analizadas.
Máximo y Mínimo.- Expresan valores en Numero Más Probable (NMP).
*para cada muestra positiva se aislaron cepas para llevar a cabo la serotipificación.

Cuadro 4.- Serotipos de *Salmonella* identificados en utensilios

Tipo de muestra	Serotipo
Esponja	Antígeno somático rugoso
	Saint paul
	Anatum
	Oranienburg
Trapo	Infantis
	Oranienburg
	Saint paul
	Anatum
	Factor antigénico O11

La incidencia de *Salmonella* y sus serotipos en el hogar fue baja en ambos grupos de hogares, especialmente en el grupo de hogares control, donde *Salmonella* estuvo presente en dos esponjas y seis trapos; mientras que en el grupo caso se presentaron dos esponjas y tres trapos con presencia de la misma.

La aplicación de productos desinfectantes se lleva a cabo con la finalidad de reducir el riesgo de infecciones y el empleo de hipoclorito de sodio como agente desinfectante, ejerce un efecto microbicida ante microorganismos patógenos como *Salmonella* y *Staphylococcus* e incluso con cepas de estos mismos, resistentes a antibióticos (Guimaraes *et al*., 2000). La aplicación de productos desinfectantes bajo condiciones específicas en cocinas resulta en la eliminación de *Salmonella* en superficies de contacto y trapos para limpieza de cocina (Barker *et al*., 2003). A su vez, Kim *et al*. (2007) evaluaron la actividad microbicida de compuestos cuaternarios de amonio para la eliminación de bacterias entérica como *Enterobacter sakazakii*, tanto en células vegetativas como en bio-películas obteniendo porcentajes de reducción de hasta 99.9999% de superficies de contacto, así como de utensilios metálicos.

Presencia de Hepatitis A y Norovirus en Esponjas y Trapos

De un total de 720 muestras analizadas de ambos grupos de hogares (caso y control) para la determinación de la presencia de Virus de Hepatitis A y Norovirus, 360 correspondieron a esponjas y 360 trapos. Solamente dos muestras resultaron positivas para la presencia de Hepatitis A, mientras que Norovirus estuvo ausente.

A pesar de la baja incidencia de Hepatitis A, la sola presencia de este representa un riesgo a la salud de las personas debido a la baja dosis infecciosa necesaria para iniciar una infección. Aademás, la prolongada sobrevivencia en superficies de contacto que puede durar hasta 42 días en superficies sólidas y alrededor de 2 h sobre manos (Liu *et al*., 2009). Por lo tanto, se considera importante la aplicación de productos desinfectantes a base de cloro, las cuales a concentraciones de 5,000 ppm, promueven la eliminación de Norovirus tanto en superficies de contacto, como en trapos de cocina (Barker *et al*., 2004).

Casteel *et al.* (2008) determinaron que la desinfección de frutos en el hogar, mediante el uso de cloro a 200 ppm de cloro libre, logra una reducción ≥ al 99 % de partículas virales de Hepatitis A, mientras que Gerba y Kennedy (2007) determinaron que la aplicación de hipoclorito de sodio en una concentración del 5% promueve la eliminación de virus entéricos como Rotavirus, Adenovirus y Virus de Hepatitis A en al menos el 99.99%, durante el lavado de ropa y enseres del hogar.

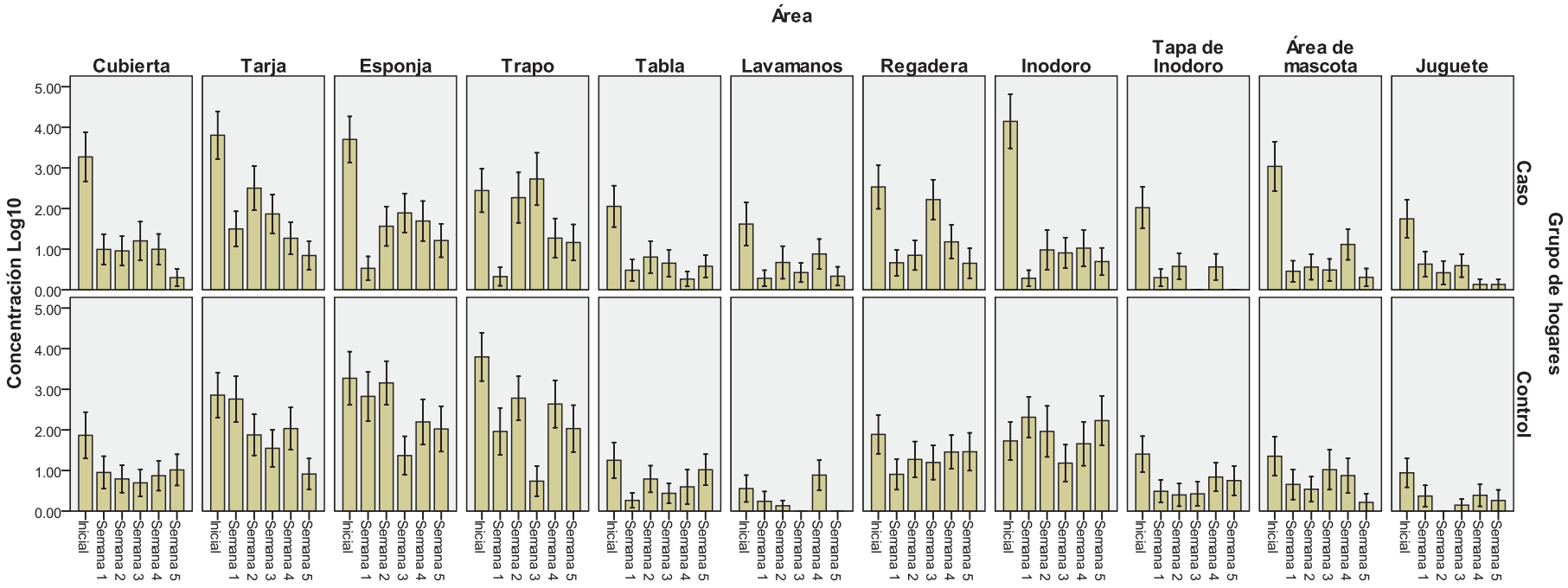

Figura 3.- Concentración de *Escherichia coli* por área, grupo y tiempo en hogares.

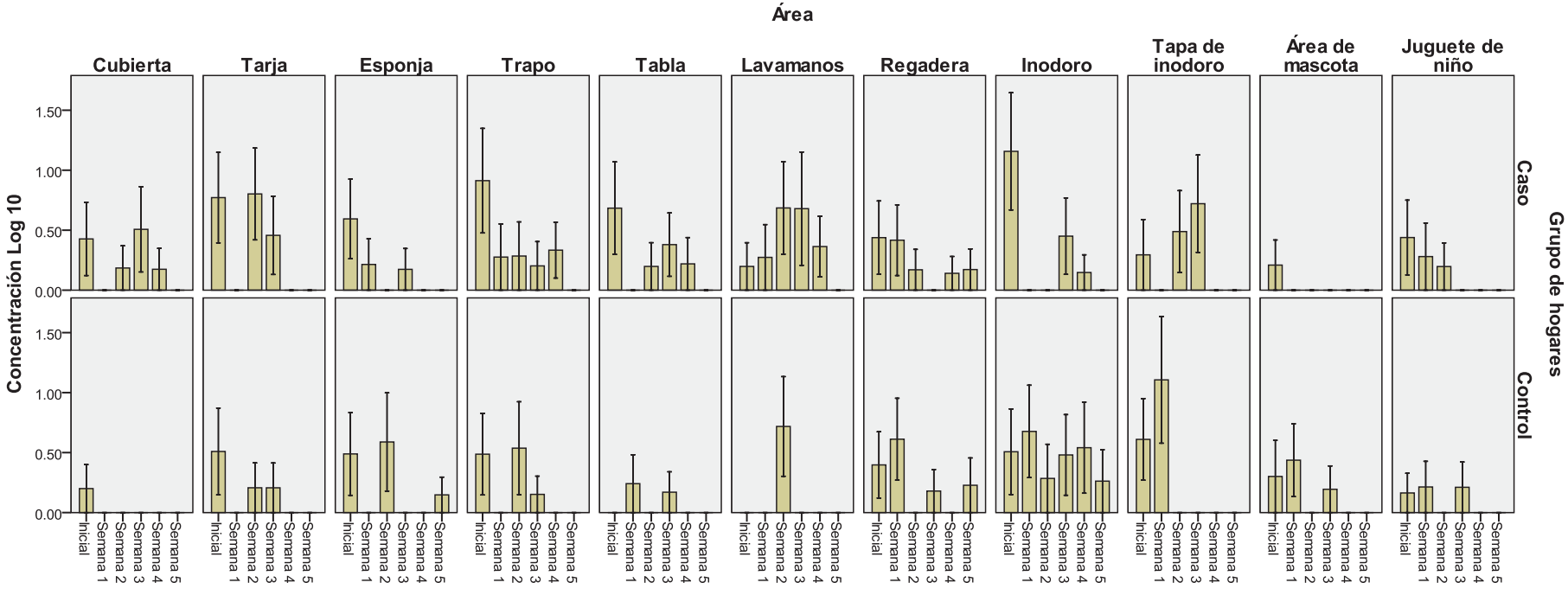

Figura 4 Concentración de *Staphylococcus aureus* por área, grupo y tiempo en hogares.

Evaluación de la Actividad Microbicida de Productos Desinfectantes en base a Protocolos de Aplicación en Hogares

El empleo de productos desinfectantes en base a un protocolo de aplicación favoreció la reducción de la carga microbiana en el grupo de hogares caso, con respecto al grupo de hogares control (Figura 5). Sin embargo, la adherencia a los protocolos de aplicación, requiere de un periodo de adaptación, por parte de la población, para llevarlos a cabo de forma continua que permita una eficiente y constante reducción de la carga microbiana (Figura 6).

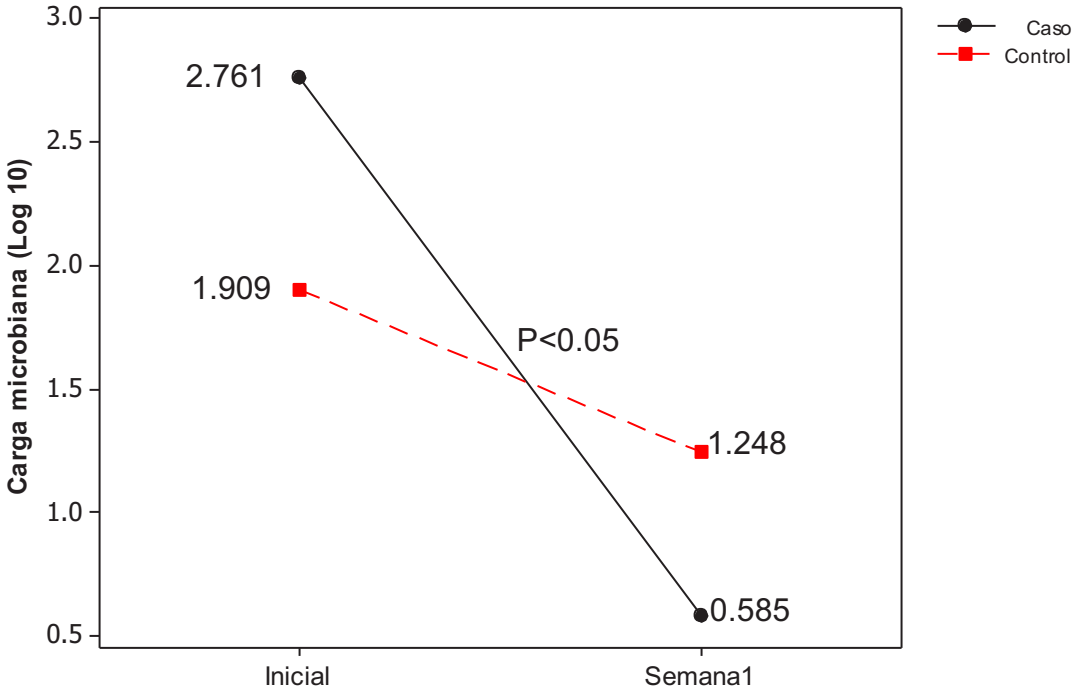

Figura 5.- Comparación de los grupos de hogares en estudio, basados en la reducción microbiana presente en el hogar.

Los resultados obtenidos muestran que las poblaciones bacterianas disminuyeron después de la aplicación protocolizada de los productos desinfectantes, esto en comparación con el grupo de hogares control. Este efecto, se aprecia principalmente para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Cuadros 5 y 6), los cuales redujeron su concentración durante el tiempo de estudio. Por otra parte, en algunos periodos se apreció un ligero incremento de las poblaciones microbianas, esto posiblemente debido a fallas por parte de las personas, en el seguimiento de los protocolos de aplicación. El grupo de hogares con aplicación de protocolos de desinfección mostró una tendencia a disminuir la carga microbiana, con reducciones promedio de 2.5 Log_{10} y porcentajes de reducción entre el 99 y 99.9999% (2-6 Log_{10}) tanto para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con lo que se mantuvieron bajas concentraciones de carga microbiana durante las seis semanas del estudio.

Además de la reducción logarítmica (% de reducción) de la carga microbiana en el hogar, también se apreció la disminución de la presencia de muestras positivas en las diferentes áreas analizadas, en las cuales se logró la disminución desde un 50% hasta un 100% la presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* durante el tiempo de estudio, principalmente para el grupo de hogares caso (Figuras 7 y 8). De manera contraria, el grupo de hogares control presentó una concentración microbiana permanente con valores promedio de 2 Log_{10} y 0.5 Log_{10} y con valores máximos de 10.5 Log_{10} y 9.21 Log_{10} para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Una tendencia a la persistencia microbiana fue evidente, principalmente en esponjas y trapos de cocina con valores similares durante las diferentes semanas en relación con la semana inicial, e incluso en algunas áreas como regadera, inodoro y tapa del inodoro se presentó un incremento durante el tiempo de estudio.

Cuadro 5.- Concentración de *Escherichia. coli* en el hogar (Media y Rango)

Área	Tratamiento	Inicial	Semana1	Semana2	Semana3	semana4	Semana5
Cubierta	Caso	3.271(0-10.00)	.994(0-6.00)[a]	.957(0-5.96)[a]	1.203(0-9.86)	.997(0-6.30)[a]	.299(0-4.56)[a]
	Control	1.866(0-10.45)	.951(0-6.95)	.7925(0-6.10)	.696(0-5.89)	.8711(0-6.48)	1.014(0-6.48)
Tarja	Caso	3.805(0-8.85)	1.49(0-6.30)[ab]	2.502(0-7.46)	1.86(0-7.97)[a]	1.268(0-5.99)[a]	.842(0-5.69)[a]
	Control	2.856(0-7.85)	2.758(0-7.93)	1.876(0-8.35)	1.546(0-8.28)	2.032(0-8.60)	.913(0-6.30)
Esponja	Caso	3.701(0-9.85)	.527(0-5.66)[ab]	1.56(.53-2.59)[b]	1.891(0-7.62)	1.692(0-7.48)	1.212(0-6.00)[a]
	Control	3.270(0-10.12)	2.82(0-10.43)	3.156(0-7.75)	1.367(0-8.43)	2.196(0-8.60)	2.022(0-10.30)
Trapo	Caso	2.443(0-8.30)	.324(0-5.47)[ab]	2.268(0-9.85)	2.72(0-9.91)[b]	1.272(0-7.88)	1.164(0-7.85)
	Control	3.796(0-10.60)	1.961(0-9.69)	2.781(0-8.03)	.738(0-8.37)	2.636(0-8.48)	2.032(0-10.30)
Tabla	Caso	2.054(0-7.00)	.481(0-5.77)[a]	.805(0-8.45)	.654(0.7.78)	.263(0-3.95)[a]	.579(0-4.43)
	Control	1.251(0.8.58)	.263(0-3.95)	.790(0-4.95)	.438(0-4.65)	.597(0.10.30)	1.019(0-5.99)
Lavamanos	Caso	1.618(0-10.30)	.283(0-4.26)[a]	.671(0-10.17)	.423(0-4.80)	.881(0-6.00)	.333(0-5.16)
	Control	.555(0-8.28)	.241(0-7.23)	.131(0-3.95)	0.00(0-0)	.886(0-6.00)	0.00(0-0)
Regadera	Caso	2.531(0-10.00)	.665(0-5.69)[a]	.848(0-7.42)[a]	2.220(0-8.03)	1.180(0-8.00)	.651(0-7.85)
	Control	1.888(0-7.43)	.905(0-6.17)	1.272(0-7.77)	1.197(0-7.92)	1.454(0-5.61)	1.461(0-8.30)
Inodoro	Caso	4.145(0-10.48)	.283(0-4.56)[ab]	.981(0-10.13)[a]	.907(0-5.73)[a]	1.025(0-9.85)[a]	.694(0-6.90)[a]
	Control	1.728(0-6.82)	2.311(0-7.07)	1.962(0-9.80)	1.182(0-7.89)	1.659(0-10.00)	2.228(0-10.48)
Tapa de Inodoro	Caso	2.022(0-8.48)	.298(0-5.00)[a]	.578(0-6.30)	0.00(0-0)[a]	.563(0-7.30)	0.00(0-0)[a]
	Control	1.403(0-6.35)	.488(0-5.95)	.398(0-6.64)	.425(0-6.95)	.839(0-6.30)	.752(0-7.30)
Área de Mascota	Caso	3.038(0-10.00)	.455(0-5.77)[a]	.559(0-5.82)[a]	.487(0-5.18)[a]	1.115(0-5.90)[a]	.307(0-5.28)[a]
	Control	1.351(0-8.34)	.656(0-7.88)	.538(0-7.00)	1.020(0-9.23)	.874(0-8.30)	.215(0-6.48)
Juguete de Niño	Caso	1.745(0-7.30)	.631(0-6.48)	.419(0-6.45)	.593(0-5.23)	.131(0-3.95)[a]	.131(0-3.95)[a]
	Control	.943(0-5.90)	.371(0-6.58)	0.00(0-0)	.147(0-4.43)	.390(0-6.48)	.261(0-7.85)

Caso; Hogares con aplicación de productos desinfectantes, Control; Hogares sin aplicación de desinfectantes
Valores medios expresados en Log 10/900 cm^2, () valores máximos y mínimos, [a] Significancia dentro del mismo grupo de hogares, [b] Significancia entre grupo de hogares, espacios sin letras no tienen diferencia estadística.

Cuadro 6.- Concentración de *Staphylococcus aureus* en el hogar (Media y Rango)

Area	Tratamiento	Inicial	Semana1	Semana2	Semana3	Semana4	Semana5
Cubierta	Caso	.427(0-7.90)	0.00(0-0)[ab]	.184(0-5.55)	.507(0-8.58)	.174(0-5.23)	0.00(0-0)[b]
	Control	.200(0-6.00)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Tarja	Caso	.771(0-7.94)	0.00(0-0)[b]	.802(0-7.07)	.457(0-8.41)	0.00(0-0)[b]	0.00(0-0)[b]
	Control	.509(0-9.21)	0.00(0-0)	.206(0-6.21)	.206(0-6.20)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Esponja	Caso	.594(0-6.43)	.214(0-6.43)	0.00(0-0)	.173(0-5.21)	0.00(0-0)[b]	0.00(0-0)
	Control	.489(0-8.58)	0.00(0-0)	.588(0-9.00)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	.147(0-4.43)
Trapo	Caso	.913(0-8.03)	.276(0-8.28)	.284(0-8.54)	.202(0-6.07)	.333(0-5.45)	0.00(0-0)[b]
	Control	.486(0-8.03)	0.00(0-0)	.537(0-10.2)	.151(0-4.56)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Tabla	Caso	.683(0-8.26)	0.00(0-0)	.198(0-5.94)	.379(0-5.88)	.219(0-6.58)	0.00(0-0)[b]
	Control	0.00(0-0)	.241(0-7.23)	0.00(0-0)	.170(0-5.10)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Lavamanos	Caso	.197(0-5.94)	.273(0-8.20)	.685(0-8.10)	.679(0-10.20)	.363(0-5.46)	0.00(0-0)[b]
	Control	0.00(0-0)	0.00(0-0)	.718(0-9.88)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Regadera	Caso	.438(0-7.18)	.416(0-7.40)	.170(0-5.10)	0.00(0-0)	.140(0-4.22)	.171(0-5.16)
	Control	.397(0-5.98)	.611(0-6.49)	0.00(0-0)	.179(0-5.39)	0.00(0-0)	.227(0-6.83)
Inodoro	Caso	1.157(0-8.31)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	.450(0-8.03)	.147(0-4..42)	0.00(0-0)
	Control	.507(0-8.75)	.676(0-8.53)	.284(0-8.54)	.480(0-8.02)	.540(0-9.23)	.262(0-7.86)
Tapa de Inodoro	Caso	.294(0-8.84)	0.00(0-0)[b]	.488(0-8.07)	.720(0-8.23)	0.00(0-0)[b]	0.00(0-0)[b]
	Control	.610(0-6.23)	1.106(0-9.99)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Área de Mascota	Caso	.209(0-6.28)	0.00(0-0)	0.00(0-0)[b]	0.00(0-0)	0.00(0-0)[b]	0.00(0-0)[b]
	Control	.301(0-9.03)	.436(0-6.64)	0.00(0-0)	.194(0-5.83)	0.00(0-0)	0.00(0-0)
Juguete de Niño	Caso	.438(0-7.93)	.280(0-8.40)	.197(0-5.91)	0.00(0-0)	0.00(0-0)[b]	0.00(0-0)[b]
	Control	.163(0-4.91)	.213(00-6.41)	0.00(0-0)	.210(0-6.33)	0.00(0-0)	0.00(0-0)

Caso; Hogares con aplicación de productos desinfectantes, Control; Hogares sin aplicación de desinfectantes
Valores medios expresados en Log 10/900 cm^2, () valores máximos y mínimos, [a] Significancia dentro del mismo grupo de hogares, [b] Significancia entre grupo de hogares, espacios sin letras no tienen diferencia estadística.

Los resultados del presente estudio, coinciden con los obtenidos por Rusin *et al*. (1998) quienes encontraron la mayor concentración de coliformes totales, y coliformes fecales en cocina (esponjas, trapos y tarja), mientras que las menores concentraciones se encontraron en áreas del baño. A su vez, Carrasco *et al*. (2008) determinaron la mayor concentración de contaminación por coliformes fecales y *Escherichia coli* en esponjas y trapos, seguidos de cubierta y tablas de corte durante un estudio en hogares.

Estudios previos sugieren que la limpieza basada en el enjuague con agua es un paso crítico para lograr condiciones higiénicas. Sin embargo, el empleo de soluciones desinfectantes resulta necesario para lograr condiciones completamente higiénicas (Cogan *et al.*, 2002). Por otra parte, productos desinfectantes a base de cloro y compuestos cuaternarios de amonio promueven la disminución de la concentración de bacterias coliformes, coliformes fecales y microorganismos mesófilos en el hogar (Rusin *et al.*, 1998).

Los resultados demuestran que el uso de desinfectantes basado en un protocolo de aplicación, favorece un mejor efecto microbicida en comparación con la aplicación arbitraria de los mismos. Sin embargo, los resultados también muestran la necesidad de un periodo de adaptación a los protocolos. Lo anterior coincide con Rusin *et al.* (1998) quienes determinan que las personas requieren de un proceso de adaptación para el mejor entendimiento de una nueva rutina de higiene en el hogar, reduciendo así el riesgo de la generación de resistencia microbiana; como lo establece Vessoni *et al.* (2001) quienes sugieren que el uso inapropiado de desinfectantes puede inducir la resistencia de microorganismos patógenos.

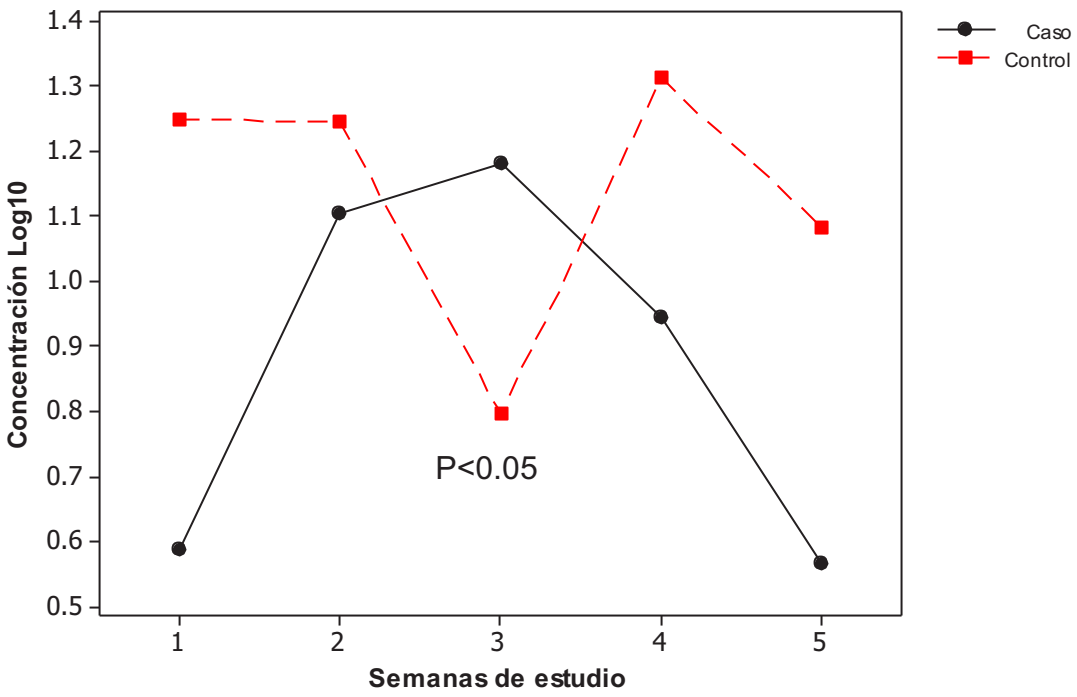

Figura 6. Comportamiento de la carga microbiana durante el tiempo de estudio.

La distribución de microorganismo patógenos en diferentes superficies es un punto crucial en la cadena de infección, por lo cual, Exner *et al.* (2004) determinan que áreas con alta manipulación requieren desinfección periódica para la eliminación de microorganismos; Barker *et al*. (2004) sugieren que es necesario conocer el tipo de superficie de contacto, así como incluir la desinfección en las prácticas de higiene para evitar la transmisión y diseminación microorganismos patógenos e incluso partículas virales como Norovirus, las cuales pueden eliminarse mediante desinfección con hipoclorito de Sodio.

La importancia de este tipo de estudios se debe principalmente al incremento en el número de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs); Curtis *et al*. (2000) establecen que es necesario implementar campañas en pro de la higiene en el hogar, con la finalidad de eliminar la presencia de contaminación fecal en el ambiente doméstico. A su vez, Stenberg *et al* (2007) resaltan la necesidad de establecer estudios dirigidos hacia la detección de microorganismos patógenos en el hogar, así como la evaluación de prácticas de higiene, esto mediante investigación no observacional sino experimental.

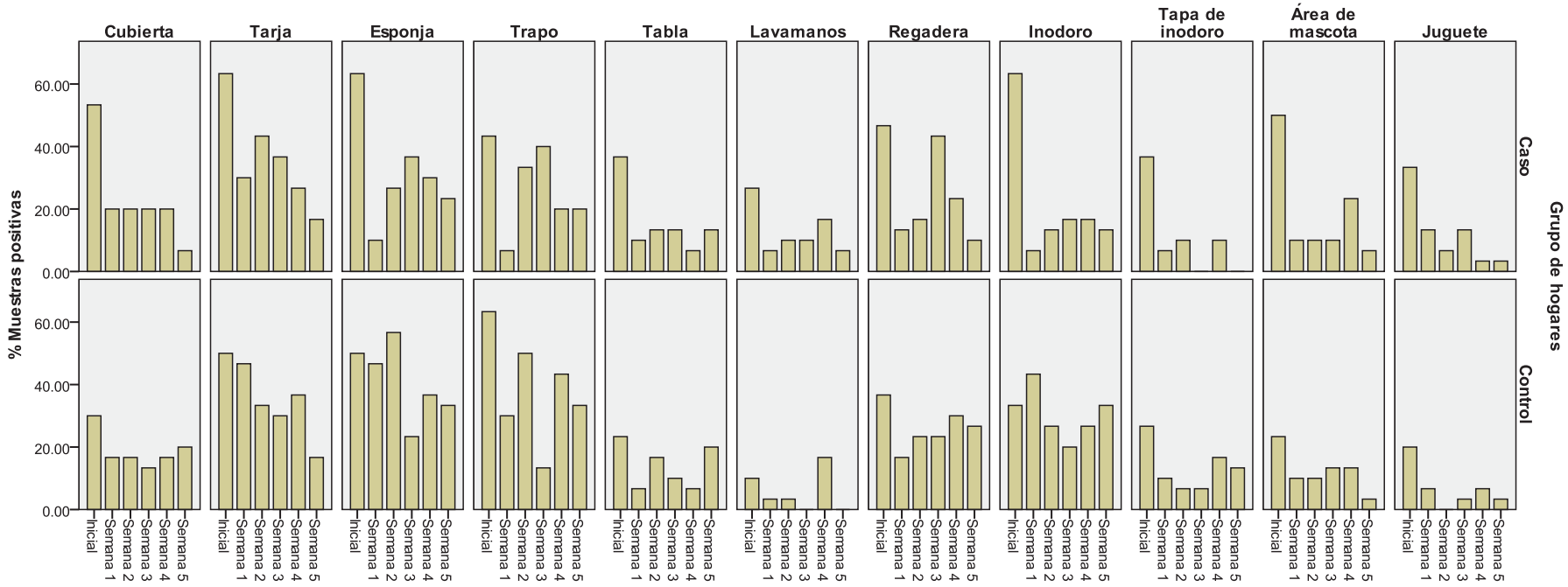

Figura 7. Disminución de muestras positivas de *Escherichia coli* por área, grupo y tiempo en hogares

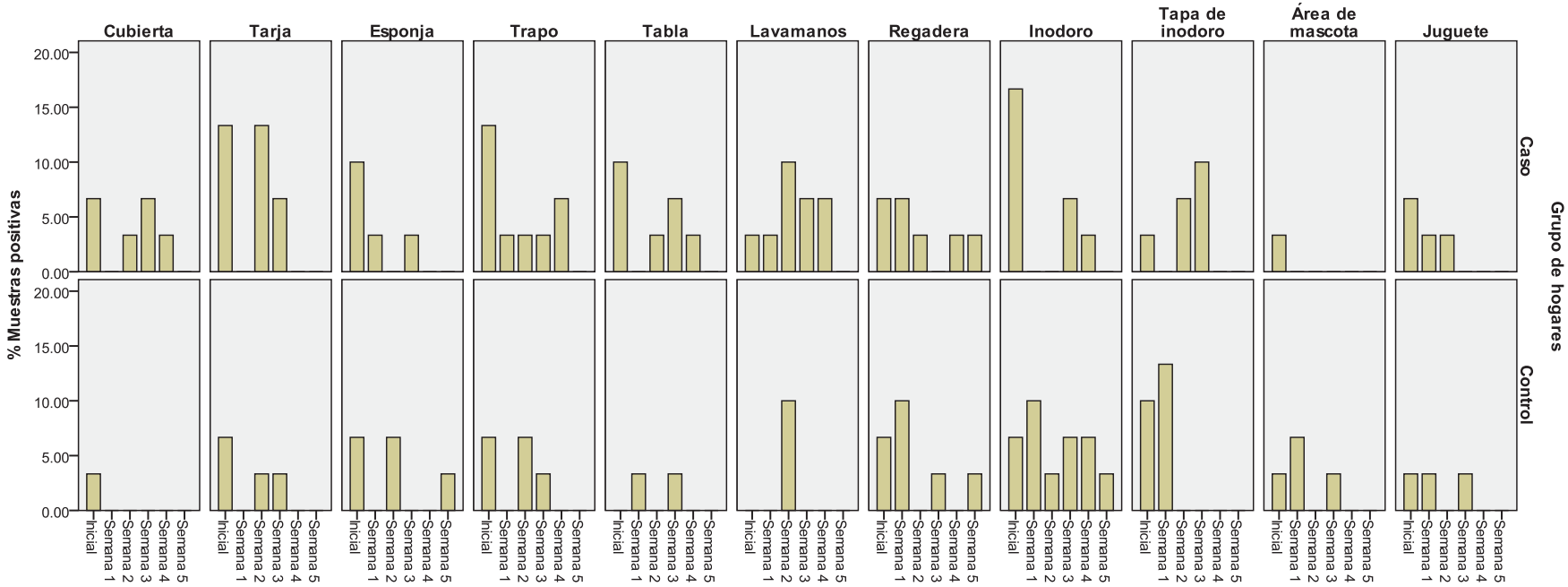

Figura 8. Disminución de muestras positivas de *Staphylococcus aureus* por área, grupo y tiempo en hogares

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman la presencia de microorganismos patógenos en el hogar y de importancia para la salud pública.

El presente estudio demuestra que el empleo de productos desinfectantes en base a un protocolo de aplicación, disminuye la presencia de microorganismos patógenos tanto en cocina como en baño, área de mascota y juguetes.

REFERENCIAS

Ackers M. L., Mahon B. E., Leahy E., Goode B., Damrow T., Hayes P. S., Bibb W. F., Rice D. H., Barret T. J., Hutwagner L., Griffin P. M., Slutsker L., 1998 “An outbreak of Escherichia coli O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption”. *The Journal of Infectious Diseases* 177:1588-1593.

Allos B. M., Moore M. R., Griffin P. M. and Tauxe R. V. 2004 “Surveillance for Sporadic Foodborne Disease in the 21st Century: The foodNet Perspective”. *Clinical Infectious Diseases*. 38:S115-S120.

Almagro Nievas D., Conti Cuesta F., Espinola García E., Morcillo Ródenas C., Nuñez Sevilla C., Linares Torrez J, Ortiz Espinoza J., 2003 “Brote de Gastroenteritis por Virus Norwalk en una Residencia de Ancianos de Granada”. *Revista Española de Salud Publica* 77:287-295.

AmericanPublic Health Association, 1998 Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. ISBN 0-87553-175x.

AmericanPublic Health Association, 1998 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed.

Anil M., Helvaci M., Ozkalay N.,Toprak E., Anil A. B., Agus N., 2009 “*Salmonella typhimurium* outbreak in a neonatal unit in Turkey”. *Indian Journal of Pediatrics* 76:629-633.

Barker J., Naeeni M and Bloomfield S. F. 2003 “The effects of cleaning and disinfection in reducing *Salmonella* contamination in a laboratory model kitchen”. *Journal of Applied Microbiology* 95:1351-1360.

Barker J., Vipond I. B., Bloomfield S. F., 2004 “Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus via environmental surfaces” *Journal of Hospital Infection* 58:42-49.

Becker K. M., Moe C. L.,Southwick K. L., MacCormack J. N., 2000 “Transmission of Norwalk virus during a football game”. *The New England Journal of Medicine* 343:1223-1227.

Becker. J. 2009 “Cleanroom Cleaning vs disinfection” *Controlled environments* 12:9-13.

Bisbini P., Leoni E., Nanetti A., 2000 An Outbreak of *Salmonella* hadar associated with roast rabbit in a restaurant. European *Journal of Epidemiology* 16:613-618.

Bitton G., 1994 Wastewater Microbiology. Wliey-Liss New York NY, U.S.A. Pag. 101-111, 113-135.

Brakstad O., Aasbak K., Maeland J., 1992 “Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the nuc Gene”. *Journal of Clinical Microbiology* 30:1654-1660.

Buzby J. C., Roberts T., Jordan Lin C-T., MacDonald J. M., 1996 “Bacterial Foodborne Disease: MedicalCosts and Productivity Losses” *Food and Consumer Economics Division, Economic Research Service, U. S.* Department of Agriculture. Agricultural Economic Report No. 741.

Carrasco L., Mena K. D., Mota L. C., Ortiz M., Berhavesh C. B., Gibbs S. G., Bristol J. R., Mayberry L., Cardenas V. M., 2008.”Ocurrence of Fecal

Contamination in Households Along the US-Mex Border". *Letters in Applied Microbiology* 46:682-687.

Casteel M. J., Schmidt C. E., Sobsey M. D., 2008 "Chlorine disinfection of produce to inactivate Hepatitis A virus and coliphage MS2" *International Journal of Food Microbiology* 125:267:273.

CDC, 2003 "Hepatitis A outbreak associated with green onions at a restaurant--- Monaca, Pennsylvania, 2003". www. cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5247a5.htm. acceso 170610.

CDC, 2004 "Datos sobre la presencia de los norovirus en los cruceros". http://www.cdc.gov/nceh/vsp/pub/norovirus/spanish.htm acceso 170610.

Chaidez, C and C. P. Gerba. 2000 "Bacteriological analysis of used cellulose sponges and loofahs in domestic kitchens from Culiacán, México". *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 20:834-837.

Chaidez C., López J., Castro-del Campo N., 2007 "Quaternary amonium compounds: an alternative disinfection method for fresh produce wash water"*Journal of Water and Health* 009:329-333.

Chávez-de la Peña M. E., Higuera-Iglesias A. L., Huertas-Jiménez M. A., Báez-Martínez R., Morales-de León J., Arteaga-Cabello F., Rangel-Frausto M. S., Ponce de León-Rosales S., 2001 "Brote por *Salmonella enteritidis* en trabajadores de un hospital". *Salud Pública de México* 43: 211-216.

Cogan T. A., Bloomfield S. F. and Humphrey T. J. 1999 “The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen”. *Letters in Applied Microbiology* 29:354-358.

Cogan T. A., Slader J., Bloomfield S. F. and Humphrey T. J. 2002 “Achieving hygiene in the domestic kitchen: the effectiveness of commonly used cleaning procedures”. *Journal of Applied Microbiology* 92:885-892.

Cogan T. A., Jorgensen F., Lappin-Scott H. M., Benson C. E., Woodward M. J., Humphrey T. J., 2004 “Flagella and curli fimbriae are important factor for the growth of *Salmonella enteric* serovars in hen eggs”. *Microbiology* 150:1063-1071.

Curts V., Cairncross S., Yonli R., 2000 “Domestic hygiene and diarrhea-pinpointing the problem” *Tropical Medicine and International Health* 5:22-32.

Davis B. D., Dulbecco R., Eisen H. N., Ginsberg H. S., 1990 Microbiology fourth edition. J. B. Lippincott Company ISBN 0-397-50689-9 chapter 25.

Davies M. W., Garland S. S. T. and Morley C. J., 2000 “Bacterial Colonization of Toys in Neonatal Intensive Care Cots”. *Pediatrics* 106.

de Jong A. E. I., Verhoeff-Bakkenes L., Nauta M. J. and R. de Jonge. 2008 “Cross-contaminaton in the kitchen: effect of the hygiene measures”. *Journal of Applied Microbiology* 105:615-624.

Dhanoa A., Fatt Q. K., 2009 “Non typhoidal *Salmonella* bacteraemia: Epidemiology, clinical characteristics and its association with severe inmunosuppression”. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 8.

Ethelberg S., Lisby M., Böttiger B., Schultz A. C., Villif A., Jensen T., Olsen K. E., Scheutz F., Kjelsø C., Müller L. 2010 “Outbreaks of gastroenteritis linked to lettuce, Denmark, January 2010”. *Eurosurveillance* 15:6.

Exner M., Vacata V., Hornei B., Dietlein E., Geber J., 2004 “Household cleaning and surface disinfection: new insights and strategies” *Journal of Hospital Infection* 56:s70-275.

Fredriksson-Ahomaa M., Korte T and Korkeala H.. 2001 “Transmission of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 to pets via contaminated pork”. *Letters in Applied Microbiology* 32:375-378.

Gerba C. P., Kennedy D., 2007 “Enteric virus survival during household laundering and impact of disinfection with sodium hypochlorite” *Applied and Environmental Microbiology* 73:14.

Guimaraes M. A., Tibana A., Nunes M. P., Netto dos Santos K. R., 2000 “Disinfectant and antibiotic activities: A comparative analysis in brazilian hospital bacterial isolates”. *Brazilian Journal of Microbiology* 31:193-199.

Gutiérrez-Cogco L., Montiel-Vázquez E., Aguilera-Pérez P., González-Andrade M.C., 2000 “Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México”. *Salud Pública de México* 42:490-495.

Hayes P. R., 1998 Food hygiene, Microbiology and HACCP 3rd ed., Aspen publisher inc. Cap. 9.

Hilborn E. D., Mermin J. H., Mshar P. A., Hadler J. L., Voetsch A., Wojtkunski C., Swartz M., Mshar R., Lambert-fair M. A., Farrar J. A., Glynn K., Slutsker L., 1999 "A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7infections associated with consumption of mesclun lettuce". *Arch Intern. Med.* 159:1758-1764.

Imhoff B., Morse D, Shiferaw B., Hawkins M., Vugia D., Lance-Parker S., Hadler J., Medus C., Kennedy M., Moore M. R. and Van Gilder T. 2004 "Burden of Self-Reported Acute Diarrheal Illness in FoodNet Surveillance Areas, 1998-1999". *Clinical Infectious Diseases*. 38:S219-S226.

INEGI. 2005. II Conteo de población y vivienda 2005. www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/conteo2005/localidad/iter/default.asp?s=est&c=10395. Acceso Febrero 2010.

Iwanicka-Grzegorek E., Kepa J., Lipkowska E., Michalik J, Pierzynowska E. and Placha R. 2005 "Is transmission of bacteria that cause halitosis from pets to human possible?". *Oral Diseases* 11:96-97.

Jackson V., Blair I. S., McDowell D. A., Kennedy J., Bolton D. J., 2007 "The Incidence of Significant Foodborne Pathogens in Domestic Refrigerators". *Food Control* 18:346-351.

Jones T. F., Kellum M. E., Porter S. S, Bell M. and Schaffner W. 2002 "An Outbreak of Community-Acquired Foodborne Illness Caused by Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *Emerging Infectious Diseases* 8:82-84.

Kim H., Ryu J. H., Beuchat L. R., 2007 “Effectiveness of disinfectants in killing *Enterobacter sakazakii* in ssuspension, dried on the surface of stainless steel, and in a biofilm”. *Applied and Environmental microbiology* 73:4.

Kingsley H. D., Richards P. R., 2001 “Rapid and efficient extraction method for reverse transcription-PCR detection of Hepatitis A and Norwalk-like viruses in shellfish”. *Applied and Environmental Microbiology* 67:4152-4157.

Kitamoto M., Kito K., Niimi Y., Shoda S., Takamura A., Hiramatsu T, Akashi T., Yokoi Y., Hirano H., Hosokawa M., Yamamoto A., Agata N. and Hamajima N. 2009 “Food Poisining by *Staphylococcus aureus* at a University Festival”. *Japan Journal Infectious Diseases* 62:242-243.

Koehler, 2009 “Increase in locally acquired hepatitis A cases”. Government of South Australia Communicable Disease Control Branch. http://www.health.sa.gov.au/pehs/Youve-got-what/ygw-hepatitis-a.pdf.

Koneman E. W., Allen S., Janda W. M., Schreckenberger P. C., Winn W. C., 1999 Diagnóstico Microbiológico, Texto y Atlas Color. Quinta Edición. Editorial Panamericana. Madrid, paginas 746-748.

Kumar M., Hora R., Kostrzynska M., Warriner K., 2007 “Mode of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 inactivation by a stabilized oxychloro-based sanitizer. *Journal of Applied Microbiology* 102:1427-1436.

Lamhoujeb S., Fliss I., Ngazoa S. E., Jean J., 2009 “Molecular Study of the Persistence of Human Norovirus on Food-Contact Surfaces”. *Food Environ Virilogy* 1:51-56.

Le Loir Y., Baron F., Gautier M., 2003 "*Staphylococcus aureus* and food poisoning". *Genetics and Molecular Research* 2:63-76.

Levy J. A., Fraenkel-Conrat H., Owens R. A., 1994 Virology 3rd edition. Prentice-Hall, Inc. ISBN 0-13-953753-8 pag. 31-39.

Liu P., Chien Y-W., Papafragkou E., Hsiao H-M.,Jaykus L-A., Moe C., 2009. Persistence of Human Noroviruses on Food Preparation Surfaces and Human Hands. *Food Environ Virilogy* 1:141-147.

Lorenzini G., Tasca T., De Carli G. A., 2007 "Prevalence of intestinal parasites in dogs and cats under veterinary care in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil". *Braz. J. vet. Res. Anim*. 44:137-145.

Maier R. M., Pepper I. L., Gerba C. P., 2000 "Environmental Microbiology" *Academic Press* Elsevier USA. ISBN 0-12-497570-4 Chapter 23.

Martínez A., Dominguez A., Torner N., Ruiz L., Camps N., Barrabeig I., Arias C., Alvarez J., Godoy P., Balaña P. J., Pumares A., Bartolomé R., Ferrer D., Perez U., Pinto R., Buesa J., and the catelan viral gastroenteritis study group, 2008 "Epidemiology of foodborne norovirusoutbreak in Catalonia, Spain". *BMC Infectious Diseases* 8:47.

Mattick K., Durham K., Domingue G., Jorgensen F., Sen M., Shaffner D., Humphrey T., 2003 "The survival of foodborne pathogens durind domestic washing-up and subsequent transfer onto washing-up sponges, kitchen surfaces and food" *International Journal of Food Microbiology* 85:213-226.

Maunula L., Roivainen M., Këranen M., Mäkelä S., Söderberg K., Summa M., von Bonsdorff C. H., Lappalainen M., Kohronen T., Kuusi M., Niskanen T. 2009 “Detection of human norovirus from frozen raspberries in a cluster of gastroenteritis outbreaks”., *Eurosurveillance* 14:49.

Mbithi J. N., Springthorpe V. S., Sattar S. A., 1990 “Chemical disinfection of Hepatitis A virus on environmental surfaces” *Applied and Environmental Microbiology* 56:11.

Mc Donnell G., Russell A. D., 1999 “Antiseptic and Disinfectnants: Activity, Action and Resistance”. *Clinical Microbiology* Reviews 12:1.

Mc elhatton A., Marshall R. J., 2007 “Food Safety A Practical and Case Study Approach”. *Springer Science+Bussiness Media, LLC*. e ISBN 0-387-33957-4 cap.13.

Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L. F., Bresee J. S., Shapiro C., Griffin P. M. and Tauxe R. V. 1999 “Food-Related Illness and Death in the United States”. *Emerging Infectious Diseases* 5:607-625.

Murray P. R., Lawrence D. L., Kobayashy G. S., Thompson J. H., 1999 “Microbiología Médica” *Editoriala Mosby* p. 231-233.

Olsen S. J., Miller G., Breuer T., Kennedy M., Higgings C., Walford J., McKee G., Fox K., Bibb W., Mead P., 2002 “A Waterborne Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections and Uremic Hemolitic Syndrome: Implications for Rural Water Systems”. *Emerging Infectious Diseases* 8.

Otokunefor T. V., Kindzeka B. I., Ibiteye I. O., Osuji G. U, Obi F. O. and Jack A. W. K. 2003 "*Salmonella* in gut and droppings of three pest lizards in Nigeria". *World Journal of Microbiology & Biotechnology* vol. 19:545-548.

Oundo J. O., Kariuki S. M., Boga H. I., Muli F. W. and Iijima Y. 2008 "High Incidence of Enteroaggregative *Escherichia coli* Among Food Handlers in Three Areas of Kenia: A Possible Transmission Route of Traveler´s Diarrhea". *Journal of Travel Medicine* 15:31-38.

Pommerville J. C., 2004 Alcamo´s Funadmentals of Microbiology 7th edition. Jones and Bartlett Publishers ISBN 0-7637-0067-3. Pag. 318-320.

Poutou R., Burbano M., Sierra S., Torres K., Carrascal A. K., ;Mercado M., 2005 "Estandarización de la extracción de ADN y validación de la PCR multiple para detectar *Listeria monocytogenes* en queso, leche, carne de res y pollo". *UNIVERSITAS SCIENTIARUM Revista de la Facultad de Ciencias* 10:61-78.

Rangel J. M., Sparling P. H., Crowe C., Griffin P. M., Swerdlow D. L., 2005 "Epidemiology of Escherichia coli O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002". *Emerging Infectious Diseases* 11.

Robertson B. H., Jansen R. W., Khanna B., 1992 "Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions". *Journal of General Virology* 73:1365-1377.

Robesyn E., Miccalessi M. I., Quoilin S., Naranjo M., Thomas I., 2009 "Cluster of Hepatitis A cases among travellers returning from Egypt, Belgium, September through November 2008". *Eurosurveillance* 14.

Rodríguez-Ángeles G., 2002 “Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Eschecrichia coli”*. *Salud Pública de México*. 44:464-475.

Rusin P., Orosz P. and C. Gerba. 1998 “Reduction of faecal coliform, coliform and heterotrophic plate count bacteria in the household kitchen and bathroom by disinfection with hypochlorite cleaners”. *Journal of Applied Microbiology* 86:819-828.

Rusin P., Maxwell S., Gerba C., 2002 “Comparative surface-to-hand and fingerprint-to-mouth transfer efficiencyof gram positive bacteria, gram negative bacteria and phage”. *Journal of Applid Microbiology* 93:585-592.

Rutala W. A., Weber D. J., 2008 “Guidelines for disinfection and sterilization in healthcare facilities”. *Control Diseases Center*. Department of Health and Human Services U.S.A.

Scallan E., Majowicz S. E., Hall G., Bajerjee A., Bowman C. L., Daly L., Jones T., Kirk M. D., Fitzgerald M., Angulo F., 2005 “Prevalence of diarrhea in the community in Australia, Canada, Ireland and the United States”. *International Journal of Epidemiology* 34:454-460.

Schmid D., Fretz R., Winter P., Mann M., Höder G., Stöger A., Ruppitsch W., Ladstätter J., Mayer N., De Martin A., Allerberger F., 2009 “Outbreak of staphylococcal intoxication after comsumption of pasteurized milk products, June 27, Austria”.*Wien Klin Wochenschr* 121:125-131.

Schmid D., Fretz R., Buchner G., König C., Perner H., Sollak R., Tratter A., Hell M., Maass M., Strasser M., Allerberger F., 2009 “Foodborne outbreak of

Hepatitis A, November 2007-January 2008, Austria". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28:385-391.

Scott E. 1996 "Foodborne disease and other hygiene issues in the home". *Journal of Applied Bacteriology* 80:5-9.

Sepulveda J., Bustreo F., Tapia R., Rivera J., Lozano R., Olaiz G., Partida V., García.García L Valdespino J. L., 2007 "Aumento de la sobrevida en menores de cinco años en México: las estrategia diagonal". *Salud pública de México* 49:S110-S125.

Sharma M., Eastridge J., Mudd C., 2009 "Effective household disinfection method of kitchen sponges" *Food Control* 20:310-313.

Söderquist B., Berglung C. and Strålin K. 2006 "Community-acquired pneumonia and bacterenia caused by an unusual methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain with sequence type 36, staphylococcal cassette chromosome *mec* type IV and Panton-Valentine leukocidin genes". *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases* 25:604-606.

Stenberg A., Macdonald C., Hunter P., 2008 "How effective is good domestic kitchen hygiene at reducing diarrhoeal disease in developed countries? A systematic review and reanalysis of the UK IID study" *BioMed Central Public Health* 8:71.

Terrés-Speziale A., Casas-Torres L. T., 2002 "Enfermedad diarreica e intolerancia a la lactosa en México". *Revista Média del IMSS* 40:329-341.

Tortora G. J., Funke B. R., Case C. L., 1995 Microbioloy An Introduction 5th edition. The Benjamin/ Cummings Publishing Company Inc. ISBN 0-8053-8496-0 Pag. 278-279.

Tsao I-F., Wang K. Y., 1989 “Interaction of infectious viral particles with a Quaternary ammonium chloride (QAC) surface”. *Biotechnology and bioengineering* 34:639-646.

van Asselt E. D., de Jong A. E. I., de Jonge R. and Nauta R. 2008 “Croos-contamination in the kitchen: estimation of transfer rates for cutting boards, hands and knives”. *Journal of Applied Microbiology* 105:1392-1401.

Verhoef L., Depoortere E., Boxman I., Duizer E., van Duynhoven Y., Harris J., Johnsen C., Kroneman A., Le Guyader S., Lim W., Maunula L., Meldal H., Ratcliff R., Reuter G., Schreier E., Siebenga J., Vainio K., Varela C., Vennema H., Koopmans M. 2008 “Emergance of new norovirus variants on spring cruise ships and prediction of winter epidemics”. *Emerging Infectious Diseases* 14:2.

Vessoni-Penna T. C., Gava-Mazzola P.,Silva-Martins A. M., 2001 “The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs” *Bio Med Central Infectious Diseases* 1:16.

Wang R., Cao W., Cerniglia C., 1997 “A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods”. *Journal of Applied Microbiology* 83:727-736.

Weinberg M., Hopkins J., Farrington L., Greshman L., Ginsberg M., Bell B. P., 2004 “Hepatitis A in Hispanic Children who Live Along the United States-

Mexico Border: The Role of International Travel and Foodborne Exposures". *Pediatrics* 114:68-73.

Westrell T., Dusch V., Ethelberg S., Harris J., Hjertqvist M., Jourdan-da Silva N.,Koller A., Lenglet A., Lisby M., Vold L. 2010 "Norovirus outbreaks linked to oyster consumption in the United Kingdom, Norway, France, Sweden and Denmark, 2010". *Eurosurveillance* 15:12.

White D. O., Fenner F. J., 1994 Medical Virology 4th edition. Academic Press Inc. ISBN 0-12-746642-8 Pag. 400-411.

Wirtanen G. and Salo. S. 2003 "Desinfection in food processing-efficacy testing of disinfectants". *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* vol. 2:293-306.

World Health Organization (WHO), 2008 "Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control". *WHO Library* ISBN 978 924 1547222.

GLOSARIO

Definición de Términos

Limpieza

Se define como el proceso de remoción de materia orgánica e inorgánica presentes en objetos y superficies, y normalmente se lleva a cabo de manera manual o mecánica empleando agua y detergentes.

Descontaminación

Se define como la remoción de microorganismos patógenos presentes en objetos, esto se lleva a cabo para favorecer su manejo, uso o desecho de manera segura.

Desinfección

Es el proceso de eliminación de todos los microorganismos patógenos, excepto bacterias formadoras de esporas. Este proceso se lleva a cabo sobre objetos y superficies inanimadas.

Esterilización

Describe el proceso de destrucción o eliminación de todas las poblaciones microbianas, incluyendo microorganismos formadores de esporas (CDC, 2008).

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

Agar cromogénico ChromAgar ECC.

Agregar 32.8gr del polvo en 1L de agua purificada y disolver mediante agitación, adicionar el polvo lentamente en el agua en agitación y calentar hasta ebullición.

Agar entérico Hektoen.

Disolver 76 gr del polvo en 1L de agua purificada y calentar hasta ebullición, no requiere esterilización.

Agar Sal y Manitol.

Disolver 111gr del polvo en 1L de agua purificada, calentar hasta ebullición y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Agua peptonada.

Suspender 20gr del polvo en 1L de agua purificada, disolver con agitación y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Caldo Rappaport Vassiliadis.

Suspender 26.6gr del polvo en 1L de agua purificada, disolver con agitación y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Solución Buffer de fosfatos.

Suspender 34gr de Fosfato monobásico de Potasio (KH_2PO_4) en 500 mL de agua destilada, disolver y ajustar el pH a 7.2 ±0.1 con una solución de Hidróxido

de Sodio (NaOH) 1N, aforar el volumen a 1L y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. De la solución antes preparada, tomar una alícuota de 1.25mL, aforar a un volumen de 1L con agua destilada y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

LISTADO DE ABREVIATURAS

ADN.- Ácido desoxirribonucleico.

APHA.- American Public Health Association.

ATP.- Adenosin trifosfato.

ARN.- Ácido ribonucleico.

CDC. - Center for disease control.

DAEC. - Diffuse Adhering *Escherichia coli*.

EAEC. - Enteroaggregative *Escherichia coli*.

EHEC.- Enterohaemorragic *Escherichia coli*.

EIEC.- Enteroinvasive *Escherichia coli*.

EPEC.- Enteropathogenic *Escherichia coli*.

ETEC.- Enterotoxigenic *Escherichia coli*.

INDRE.- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.

INEGI.- Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

NMP.- Número más probable.

PCR.- Polymerase chain reaction.

PPM.- partes por millón.

RT-PCR.- Reverse transcription polymerase chain reaction.

STEC.- Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

UFC.- Unidad formadora de colonia.

VTEC.- Verotoxin-producing *Escherichia coli*.

WHO.- World Health Association.