

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

Transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium entre
Manos y Pimientos Verdes y su Interrupción

Por:

Maribel Jiménez Edeza

TESIS APROBADA POR LA

UNIDAD CULIACÁN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS
AGRÍCOLAS PARA ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se de crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director 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 los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director o directora de la tesis.

Dr. Alfonso A. Gardea Bejar

Director General

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

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

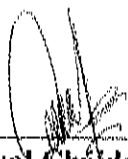
La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director o directora de la tesis.

Dr. Alfonso A. Gardón Bejar

Director General

APROBACIÓN

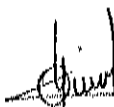
Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Maribel Jiménez Edeza, la han encontrado satisfactoriamente y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



Dr. Cristóbal Cháldez Quiroz
Director de Tesis



Dr. José Benigno Valdez Torres
Asesor



Dr. Jorge Humberto Siller Cepeda
Asesor



M.C. José Armando Carrillo Fasío
Asesor

*“La superación personal se alcanza con la educación y la preparación, además,
es indispensable adquirir y compartir los conocimientos con regularidad”.*

Maribel Jiménez Edeza

DEDICATORIA

A mi esposo Cruz Walter Gastélum Gastélum quien con su amor y comprensión me ayuda a permanecer firme en mis objetivos, además, siempre me apoya y me da fuerzas en mis momentos de debilidad. Te amo mi amor...

A mis padres Luis Alfredo Jiménez Sandoval y Rosa Delia Edeza Orante, quienes con cariño me enseñaron principios invaluable. Gracias por su motivación, los quiero mucho...

AGRADECIMIENTOS

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haber permitido, a través de su beca económica, que realizara mis estudios de postgrado.
- Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Unidad Culiacán por haberme aceptado en su programa de Maestría en Ciencias y por ser una institución seria y con principios éticos.
- Al Dr. Cristóbal Cháidez Quiroz por haberme guiado una vez más, en una etapa de mi preparación profesional y por haber compartido no sólo sus conocimientos, sino también su experiencia y amistad.
- Al Dr. Jorge Humberto Siller Cepeda, al Dr. José Benigno Valdez Torres y al M.C. José Armando Carrillo Fasio por haber aceptado ser parte de mi Comité de Tesis, por las aportaciones que realizaron a este documento y por el tiempo que invirtieron en mi formación.
- Muy especialmente a Yadira López, Marcela Soto, Osvaldo López, Dalia Magaña y Víctor Arana, por su invaluable colaboración y por su disponibilidad.
- A Célida Martínez que con su amplia experiencia fue un elemento clave para el desarrollo del trabajo de laboratorio de esta investigación.
- A mis compañeros de maestría de la generación 2003 – 2005 por su amistad y apoyo en algún momento de esta etapa de mi formación.

- A la planta docente e investigadores del CIAD Unidad Culiacán ya que cada uno de ellos aportaron conocimientos y aptitudes específicas que servirán como base en mi desarrollo profesional.
- A todos los técnicos de laboratorio que laboran en CIAD Unidad Culiacán por su disponibilidad y ayuda.
- En general a todo el personal del CIAD Unidad Culiacán, ya que cada uno ellos contribuyó en algún propósito de mi paso por esta institución.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS PARTICULARES.....	5
Transferencia de <i>Salmonella ser. Typhimurium</i>	5
Evaluación de Técnicas de Sanitización de Manos.....	5
HIPÓTESIS.....	7
Transferencia de <i>Salmonella ser. Typhimurium</i>	7
Evaluación de Técnicas de Sanitización de Manos.....	7

META.....	9
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	10
Descripción del Problema	10
Consumo de Frutas y Hortalizas Frescas	11
Producción de Pimientos Verdes.....	13
Mecanismos de Contaminación de Frutas y Hortalizas Frescas	14
Generalidades de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium	17
Técnicas de Higiene de Manos.....	19
Guantes	19
Técnicas de Sanitización de Manos	20
Lavado de manos.....	20
Gel a base de alcohol etílico.....	21
Soluciones desinfectantes.....	22
<i>Cuaternarios de amonio</i>	22
<i>Yodo</i>	23

METODOLOGÍA	25
Procedimiento General de los Experimentos	25
Experimento 1. Transferencia de Manos a Pimientos Verdes	25
Experimento 2. Transferencia de Pimientos Verdes a Manos	26
Experimento 3. Técnicas de Sanitización de Manos	27
Materiales	28
Sujetos	28
Suspensión Bacteriana	29
Frutos	30
Jabón Antibacterial	30
Gel Desinfectante	30
Soluciones Desinfectantes	31
Guantes	31
Métodos	32
Desinfección de Manos	32
Desinfección de Pimientos Verdes	33
Inoculación de <i>Salmonella ser. Typhimurium</i> en Manos con o sin Guantes ..	33

Inoculación de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium en Pimientos Verdes	34
Recuperación de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium en Manos.....	35
Recuperación de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium de Pimientos Verdes	36
Transferencia de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium de Manos a Pimientos Verdes	37
Transferencia de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium de Pimientos Verdes a Manos	38
Reducción de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium con Lavado de Manos con Jabón Antibacterial	39
Reducción de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium con Gel a Base de Alcohol.....	40
Reducción de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium con Soluciones Desinfectantes ..	41
Reducción de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium con Lavado de Manos, Jabón Antibacterial y Aplicación de Gel a Base de Alcohol.....	42
Reducción de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium con Lavado de Manos, Jabón Antibacterial y Soluciones Desinfectantes	43
Determinación de la Concentración Inicial de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium en Manos	44
Determinación de la Concentración Inicial de <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium en Pimientos Verdes	44
Análisis de los Datos.....	45

DISEÑO ESTADÍSTICO	47
Procedimiento General de los Experimentos	47
Experimento 1. Transferencia de Manos a Pimientos Verdes	47
Experimento 2. Transferencia de Pimientos Verdes a Manos	48
Experimento 3. Técnicas de Sanitización de Manos	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
Concentración Inicial de <i>Salmonella ser. Typhimurium</i>	51
Experimento 1. Transferencia de Manos a Pimientos Verdes	54
Análisis descriptivo de los resultados	54
Inferencia estadística.....	55
Experimento 2. Transferencia de Pimientos Verdes a Manos	60
Análisis descriptivo de los resultados	60
Inferencia estadística.....	61
Discusión de resultados de los experimentos 1 y 2.....	63
Experimento 3. Técnicas de Sanitización de Manos	65

Análisis descriptivo de los resultados	65
Inferencia estadística	66
Discusión de resultados del experimento 3	70
CONCLUSIONES.....	74
SUGERENCIAS	75
LITERATURA CITADA.....	76
ANEXOS	88
Anexo 1. Carta de Participación Voluntaria.....	88

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Especies, subespecies y serotipos de <i>S. Typhimurium</i>	17
2. Concentración inicial de <i>S. Typhimurium</i> en manos sin guantes	51
3. Concentración inicial de <i>S. Typhimurium</i> en manos con guantes	52
4. Concentración inicial de <i>S. Typhimurium</i> en pimientos verdes	53
5. Transferencia de manos con o sin guantes a pimientos verdes	55
6. Análisis de varianza del experimento 1	56
7. Transferencia de pimientos verdes a manos con o sin guantes.....	60
8. Análisis de varianza del experimento 2	61
9. Reducción de <i>S. Typhimurium</i> con técnicas de sanitización de manos	66
10. Análisis de varianza del experimento 3	67

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Aumento en el consumo per capita de frutas y hortalizas frescas	12
2. Mecanismo de contaminación de frutas y hortalizas frescas con microorganismos patógenos	16
3. Transferencia de manos con o sin guantes a pimientos verdes	25
4. Transferencia de pimientos verdes a manos con o sin guantes.....	26
5. Técnicas de sanitización de manos	27
6. Gráficas de interacción del experimento 1	58
7. Efecto principal del experimento 1	59
8. Gráficas de interacción del experimento 2	62
9. Efecto principal del experimento 2	63
10. Gráficas de interacción del experimento 3	68
11. Efecto principal del experimento 3	69

RESUMEN

Los objetivos de este trabajo fueron cuantificar la transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium entre manos (con o sin guantes) y pimientos verdes; además, determinar la eficacia de diferentes técnicas de sanitización de manos para reducir *S. Typhimurium*. Para evaluar la transferencia de la bacteria de las manos (con o sin guantes) a el pimiento verdes, las manos de los sujetos fueron inoculados con una suspensión de *S. Typhimurium* de 10^9 UFC/mL, posteriormente el pimiento verde fue manipulado y se procedió a recuperar la bacteria de la superficie del pimiento verde; para evaluar la transferencia de la bacteria del pimiento verdes a las manos (con o sin guantes), el pimiento verde fue inoculado con una suspensión de *S. Typhimurium* de 10^9 UFC/mL, posteriormente el pimiento verde fue manipulado y se procedió a recuperar la bacteria de la superficie de las manos (con o sin guantes). Para evaluar el efecto de las técnicas de sanitización de manos, las manos de los sujetos fueron inoculadas con una suspensión de *S. Typhimurium* de 10^9 UFC/mL, posteriormente se aplicó la técnica de sanitización de manos y se procedió a recuperar la bacteria de la superficie de las manos. El mayor porcentaje de transferencia de la bacteria fue obtenido al evaluar de pimiento verde a manos con guantes (46.56%), seguido de pimiento verde a manos sin guantes (3.28%), de manos con guantes a pimiento verde (0.84%) y de manos sin guantes a pimiento verde (0.21%). Al evaluar las técnicas de sanitización de manos la mayor

reducción logarítmica fue obtenido con la combinación del lavado de manos con jabón antibacterial más la aplicación del gel a base de alcohol etílico (4.38 log), seguida por la combinación del lavado de manos con jabón antibacterial más el uso de la solución a base de cuaternario de amonio (3.34 log), la combinación del lavado de manos con jabón antibacterial más la solución a base de yodo (3.18 log), el gel a base de alcohol etílico (3.09 log), el lavado de manos con jabón antibacterial (2.98 log), la solución a base de cuaternario de amonio (2.24 log), finalmente la solución a base de yodo (2.08 log). Este trabajo generó información importante acerca de la magnitud de transferencia de *S. Typhimurium* entre las manos y los pimientos verdes, sobretodo se demostró que el uso de guantes propicia una mayor transferencia de la bacteria. Además, se determinó que la mejor técnica de sanitización de manos fue la combinación del lavado de manos con jabón antibacterial más la aplicación de un gel a base de alcohol etílico.

ABSTRACT

Fresh produce-borne associated infections most commonly result from person-fresh produce transmission via packer's hands. The aim of this study was to quantify the transfer of bacteria from hands (bare or gloved) to green bell peppers and from green bell peppers to hands; and to assess the effectiveness of hand hygiene techniques. To evaluate the transfer of bacteria and the hand hygiene techniques, volunteer's hands and fresh green bell peppers were spot-inoculated with 10^9 CFU/ml *Salmonella* ser Typhimurium. The highest percentage of transfer was achieved from green bell peppers to gloved hands (46.56%), followed by green bell peppers to bare hands (3.28%), gloved hands to green bell peppers (0.84%) and bare hands to green bell peppers (0.21%). The highest log reductions of *S. Typhimurium* were achieved by the combination of hand washing and alcohol-based gel (4.38 log), followed by combination of hand washing and ammonium quaternary solution (3.34 log), hand washing and iodine solution (3.18 log), alcohol-based gel (3.09 log), hand washing (2.98 log), ammonium quaternary solution (2.24 log) and iodine solution (2.08 log). This study provides important information concerning the transfer's rate of *S. Typhimurium* from hands to fresh produce and from fresh produce to hands. The study also showed that gloved hands, is the most important mean of transfer of *S. Typhimurium* between green peppers and hands, and the best hand hygiene technique was the combination of hand washing and alcohol-based gel.

INTRODUCCIÓN

La contaminación cruzada de bacterias durante la manipulación de productos frescos, juega un papel importante en la diseminación de enfermedades transmitidas por los alimentos (Ansari *et al.*, 1988; Beuchat, 1998; Buck *et al.*, 2003). En Estados Unidos de América (EUA), se originaron para el año 2000, 70 brotes de infecciones a humanos los cuales fueron asociados con una higiene deficiente del personal, además, 66 de los brotes ocurridos ese mismo año fueron asociados al consumo de frutas y hortalizas frescas (CDC, 2000).

Viswanathan y Kaur (2001), realizaron un estudio en la India, logrando aislar algunos patógenos de productos frescos y encontrando que el 37.5% de las muestras analizadas tenían la presencia de especies del género *Salmonella*. En el 2004, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, siglas en inglés), reportó en EUA 6,464 casos de infección atribuidos al género *Salmonella*, de los cuales, 1,189 casos fueron asociados con el serotipo Typhimurium (CDC, 2005).

S. Typhimurium es una bacteria patógena para el hombre, la cual es eliminada del organismo de individuos infectados a través de las heces fecales, logrando llegar a las frutas y hortalizas frescas debido, principalmente, a una higiene deficiente por parte de los manipuladores de estos productos (Mead *et al.*, 1999).

El consumo per capita de productos frescos ha aumentado en un 22% desde 1970 hasta 1995 lo cual concuerda con las recomendaciones propuestas para mantener una buena salud (King *et al.*, 2000), siendo los pimientos una de las hortalizas más populares en la población estadounidense ya que se estima que 24% de la población americana, consume al menos un alimento al día que contenga pimientos (Lucier y Lin, 2001).

Los cambios en los hábitos alimenticios y el reconocimiento de las frutas y hortalizas frescas como un vehículo de transmisión de microorganismos patógenos, han atribuido un efecto negativo a esta asociación; el aumento en la frecuencia de los brotes epidemiológicos asociados con frutas y hortalizas frescas (Tauxe *et al.*, 1997). Por ello, es esencial un entrenamiento apropiado de los manipuladores de estos productos acerca de las buenas prácticas higiénicas (Beuchat y Ryu, 1997).

Las buenas prácticas agrícolas (BPA's) son una importante herramienta utilizada para minimizar el potencial de una contaminación microbiana de frutas y hortalizas frescas durante su cosecha, empaquetado y transporte (Haas *et al.*, 1999). Una de las recomendaciones en las BPA's es el lavado de manos, el cual ha sido reconocido como un procedimiento básico para reducir los microorganismos de las manos y prevenir la transferencia de bacterias desde las manos hasta los productos (Clayton *et al.*, 2002; Pittet, 2001).

Se ha sugerido también, el uso de soluciones desinfectantes elaboradas a base de cuaternarios de amonio o de yodo, así como el uso de geles elaborados a base de diferentes tipos de alcoholes (Trampuz y Widmer, 2004). Otra práctica que se ha implementado es el uso de guantes, debido a que se asume que su uso previene la contaminación de los alimentos por parte de los manipuladores (Montville *et al.*, 2001).

El incremento en el consumo de frutas y hortalizas frescas, su asociación con la incidencia de enfermedades gastrointestinales producidas por *Salmonella* y el desconocimiento acerca del uso de guantes y sanitizantes para manos, son los motivos principales que llevaron a la realización de este trabajo de investigación, el cual tiene como objetivo evaluar la transferencia de *S. Typhimurium* entre manos (con o sin guantes) y pimientos verdes, y determinar la mejor técnica de sanitización de manos para interrumpir dicha transferencia.

OBJETIVO GENERAL

- Cuantificar la transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium entre manos y pimientos verdes y determinar la eficacia de diferentes técnicas de higiene de manos que interrumpan dicha transferencia.

OBJETIVOS PARTICULARES

Transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium

- Cuantificar la transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium entre manos y pimientos verdes.
- Evaluar el efecto del uso de guantes sobre la transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium entre manos y pimientos verdes.

Evaluación de Técnicas de Sanitización de Manos

- Evaluar el efecto del lavado de manos con jabón antibacterial en la reducción de *Salmonella* ser. Typhimurium.
- Evaluar el efecto de un gel a base de alcohol eflicio en la reducción de *Salmonella* ser. Typhimurium.

- Evaluar el efecto de una solución desinfectante a base de cuaternario de amonio o a base de yodo, en la reducción de *Salmonella* ser. Typhimurium.
- Evaluar el efecto del lavado de manos con jabón antibacterial seguido de la aplicación de un gel a base de alcohol etílico, en la reducción de *Salmonella* ser. Typhimurium.
- Evaluar el efecto del lavado de manos con jabón antibacterial seguido del uso de una solución desinfectante a base de cuaternario de amonio o a base de yodo, en la reducción de *Salmonella* ser. Typhimurium.

HIPÓTESIS

Transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium

- Existe transferencia de *Salmonella*, ser Typhimurium entre manos y pimientos verdes.
- El uso de guantes incrementa la transferencia de *Salmonella*, ser Typhimurium entre manos y pimientos verdes.

Evaluación de Técnicas de Sanitización de Manos

- El lavado común de manos con jabón antibacterial reduce alrededor de 3 log de *Salmonella*, ser Typhimurium.
- La aplicación del gel a base de alcohol etílico reduce alrededor de 3 log de *Salmonella* ser Typhimurium.

- El uso de una solución desinfectante a base de cuaternario de amonio o a base de yodo reduce alrededor de 2 log de *Salmonella*, ser Typhimurium.
- El lavado de manos con jabón antibacterial más la aplicación del gel a base de alcohol etílico son más efectivos en la reducción de *Salmonella*, ser Typhimurium que la utilización de las técnicas por separado.
- El lavado de manos con jabón antibacterial más el uso de una solución desinfectante a base de cuaternario de amonio o a base de yodo son más efectivos en la reducción de *Salmonella*, ser Typhimurium que la utilización de las técnicas por separado.

META

Generar información acerca de la transferencia de *Salmonella*, ser Typhimurium entre manos y pimientos verdes, así como determinar la técnica de higiene de manos más efectiva en la reducción de *Salmonella*, ser Typhimurium, que sirva para realizar recomendaciones acerca de las buenas prácticas higiénicas y de esta manera prevenir la contaminación cruzada de frutas y hortalizas frescas durante su manipulación.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Descripción del Problema

La implementación de buenas prácticas agrícolas que reduzcan la contaminación cruzada de las frutas y hortalizas frescas producidas en el Valle de Culiacán, ha sido una tarea basada en recomendaciones internacionales y, recientemente, en recomendaciones nacionales. Los principios básicos de las buenas prácticas agrícolas son bien conocidos, sin embargo, existen deficiencias higiénicas en su aplicación cuando al uso de guantes se refiere. Además, al utilizar sanitizantes para manos se presentan adaptaciones que no están bien establecidas como su elaboración a partir de concentrados de desinfectantes no elaborados para estos fines. Estas irregularidades propician que las frutas y hortalizas frescas producidas en el Valle de Culiacán no cumplan con los principios de inocuidad y puedan presentar contaminación microbiana. De esta manera es posible que se sigan presentando brotes epidemiológicos asociados al consumo de productos frescos que fueron contaminados en algún punto de las operaciones poscosecha.

La transferencia de microorganismos de manos a alimentos es un hecho (Beuchat, 1998); sin embargo, hasta entonces no se ha determinado, ni cuantificado la transferencia de *Salmonella*. ser Typhimurium entre manos y pimientos verdes.

Además, es de vital importancia determinar el efecto que tiene el uso de guantes sobre la transferencia de *Salmonella*, ser Typhimurium entre manos y pimientos verdes, todo esto simulando la manipulación de frutas y hortalizas frescas durante los procesos agrícolas.

Por otro lado, las técnicas de sanitización de manos que se han implementado no están del todo investigadas, más aún, algunas de ellas han surgido a través de pláticas interpersonales como simples sugerencias, ya que no tienen fundamentos científicos que las avalen. Por ello, se pretende generar información científica que avale el efecto de diferentes técnicas de sanitización de manos, utilizadas durante los procesos agrícolas en el Valle de Culiacán y de esta manera determinar cual de estas técnicas cumple mejor con el objetivo de reducir una mayor cantidad de *S. Typhimurium* en las manos.

Consumo de Frutas y Hortalizas Frescas

El consumo de frutas y hortalizas frescas va en aumento debido al valor nutrimental de estos productos que están siendo apoyados por campañas como "5 al día" (Garret *et al.* 2003). Se estima que en Estados Unidos de América (EUA), el consumo de productos frescos aumentó más de 72 libras por persona desde 1980 al 2000 (figura 1) (Cuellar, 2002).

Además, las hortalizas frescas fueron la fuente principal de consumo de vegetales durante el periodo de 1970 – 1995 en EUA, dejando a un lado el consumo de productos enlatados o congelados (King *et al.*, 2000).

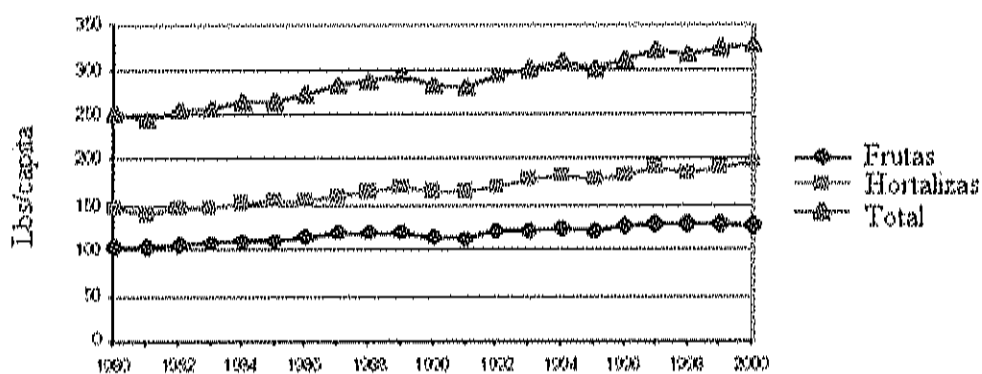


Figura 1. Aumento en el consumo per capita de frutas y hortalizas

El incremento en el consumo de frutas y hortalizas frescas puede ser un factor importante que determine también, el incremento en el número de brotes epidemiológicos asociados con el consumo de estos productos. De acuerdo con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, siglas en inglés) en Estados Unidos de América, el número de brotes reportados en el período 1988 – 1992, corresponde al doble de los reportados en el periodo de 1973 – 1987 (Buck *et al.*, 2003).

Una de las hortalizas que está teniendo gran aceptación para consumo en fresco en barras de ensaladas es el pimiento verde, el cual es considerado como una hortaliza "popular" ya que se estima que 24% de la población estadounidense lo consume diariamente y su consumo per capita alcanza hasta las 8 libras de producto fresco al año (Lucier y Lin, 2001).

Producción de Pimientos Verdes

A nivel mundial, México ocupa el segundo lugar entre los países productores de pimientos frescos con 1'853,610 toneladas métricas al año, de las cuales 401,117 toneladas se exportadas a otros países. Además, los pimientos verdes ocupan el quinto lugar en productos básicos exportados por México y el segundo lugar dentro de las hortalizas exportadas (FAO, 2005).

En la temporada 2003 – 2004, según datos obtenidos de la Confederación de Asociaciones Agrícolas del Estado de Sinaloa (CAADES), Sinaloa exportó 107,091 toneladas de pimientos frescos, cerca del 25% del total de pimientos exportados por México. Por otro lado, produjo aproximadamente 119.8 millones de dólares de ingresos (CAADES, 2005).

EUA es el principal país importador de frutas y hortalizas frescas y reconoce a México como el principal país que suministra estos productos (Cuellar, 2002); la producción y la demanda de estos productos recibe gran atención en el sector agrícola, por lo que se requiere producir alimentos en cantidad suficiente. Además, se requiere que estos productos sean seguros y de buena calidad, ya que se sabe que las frutas y hortalizas frescas pueden servir como un vehículo de contaminación de microorganismos patógenos para el hombre (Beuchat, 1998).

La importancia de nuestro país en la producción y exportación de pimientos verdes debe ser mantenida, ya que instituciones como la Administración de Alimentos y Drogas en Estados Unidos de América (FDA, siglas en inglés) pueden imponer alertas que impidan la importación de productos con sospecha de contaminación microbiológica (Calvin, 2004).

Mecanismos de Contaminación de Frutas y Hortalizas Frescas

Con el fin de prevenir la contaminación de las frutas y hortalizas frescas, la FDA ha publicado una guía para minimizar los factores que ponen en riesgo la seguridad de los alimentos. Esta guía contiene los principios básicos que se deben cumplir durante los procesos de cultivo, cosecha y transporte de productos frescos, los cuales también se establecen como "Buenas Prácticas Agrícolas" (BPA's) (Anonymous, 1998).

Uno de los principios básicos de las BPA's establece que las prácticas de higiene y sanitización del personal durante las operaciones poscosecha, son de gran importancia para minimizar los riesgos de contaminación microbiana (Anonymous, 1998). Cuando este principio no se cumple uno de los factores que frecuentemente es relacionado con la contaminación de estos productos, es la transferencia de microorganismos durante su manipulación en las actividades poscosecha, ya que diversos estudios han supuesto una relación directa entre la presencia de microorganismos y prácticas inadecuadas de procesamiento (Castillo *et al.*, 2004; Gagliardi *et al.*, 2003; Powell *et al.*, 2002).

Por ello, es de gran importancia determinar la presencia de los microorganismos patógenos para el hombre, como bacterias, virus y protozoarios, en las frutas y hortalizas frescas, ya que éstos pudieron haber estado expuestos a contaminarse en el campo, durante las actividades poscosecha, durante su comercialización o durante la preparación de los alimentos en el hogar (Beuchat y Ryu, 1997).

Existen varios puntos durante las operaciones pre y poscosecha que ponen en riesgo la calidad microbiológica de las frutas y hortalizas (figura 2), siendo las fuentes de contaminación más comunes, el contacto directo o indirecto de los productos con heces de humanos y animales, ya sea a través de las manos de los trabajadores, de los instrumentos de cosecha, los contenedores de transporte, agua de lavado, hielo o los equipos de empaque (Buck *et al.*, 2003).

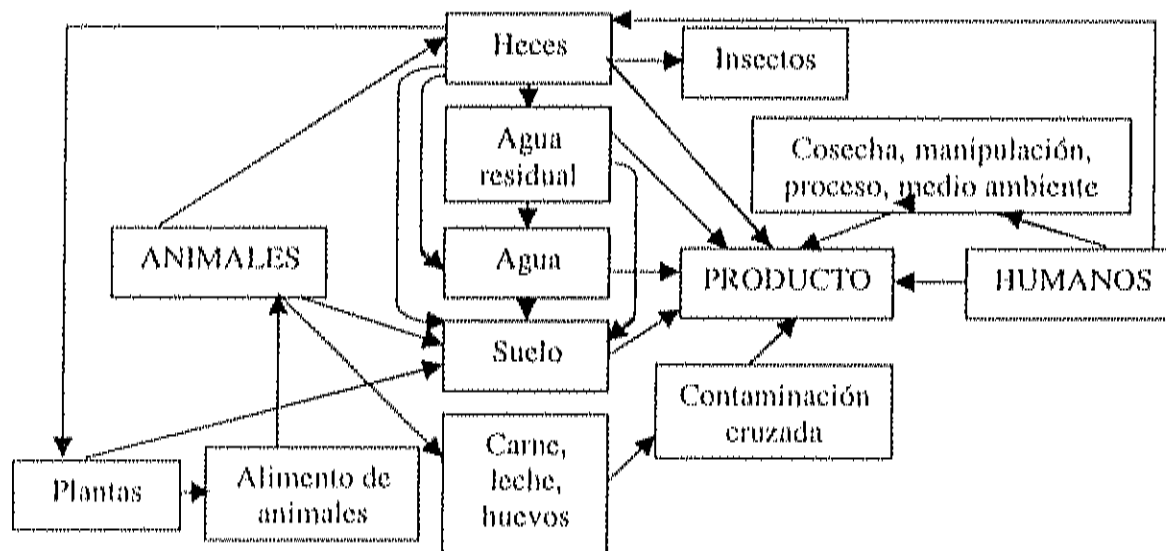


Figura 2. Mecanismo de contaminación de frutas y hortalizas frescas con microorganismos patógenos (Beuchat, 1998)

Los microorganismos patógenos que se encuentran en el tracto gastrointestinal de humanos y animales, y que son eliminados a través de las heces fecales, son los que se asocian más frecuentemente a los brotes epidemiológicos generados por el consumo de frutas y hortalizas frescas, entre ellos *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp. y el virus de Hepatitis A (Anonymous, 1998).

Generalidades de *Salmonella* ser. Typhimurium

Salmonella ser. Typhimurium ocasiona la enfermedad denominada "salmonelosis" que genera más casos de gastroenteritis anualmente, y se estima que en EUA se producen 1.4 millones de casos en humanos al año (Mead *et al.*, 1999). En aproximadamente 35,000 de los casos, la bacteria aislada se clasifica según la nomenclatura propuesta por Brenner *et al.*, (2000), la cual se basa en realizar una serotipificación de la cepa bacteriana. Según esta clasificación, el género *Salmonella* solo presenta 2 especies, *enterica* y *bongori*, la primera especie con 5 subespecies a su vez (Cuadro 1).

Cuadro 1. Especies, subespecies y serotipos de *Salmonella*

Especies y subespecies de <i>Salmonella</i>	No. de serotipos
<i>S. enterica</i>	
subs. <i>enterica</i> (I)	1,454
subs. <i>salamae</i> (II)	489
subs. <i>arizonae</i> (IIIa)	94
subs. <i>diarizonae</i> (IIIb)	324
subs. <i>houtenae</i> (IV)	70
subs. <i>indica</i> (VI)	12
<i>S. bongori</i> (V)	20

Después de determinar la especie y subespecie de la cepa bacteriana se procede a realizar reacciones antígeno – anticuerpo para determinar el serotipo de la bacteria, el cual se escribe con letras normales (no itálicas) empezando con mayúscula (Brenner *et al.*, 2000). Esta nomenclatura de *Salmonella* ha logrado uniformizar la comunicación entre científicos, personal médico y el público.

Salmonella ser. Typhimurium pertenece a la especie *enterica*, subespecie *enterica*, donde se encuentran más del 59% de los serotipos hasta el momento identificados (Brenner *et al.*, 2000)

En el año 2004 se reportaron en EUA 6,464 casos de infección atribuidos al género *Salmonella*, de los cuales, 1,189 casos fueron ligados con el serotipo Typhimurium (CDC, 2005). La salmonelosis se asocia al consumo de productos de origen animal. Sin embargo algunas frutas como mango, melón y sandía han sido implicadas en brotes epidemiológicos por esta bacteria (Blostein, 1993; CDC, 1991; Penteado *et al.*, 2004). Además, hortalizas como el tomate se han ligado a brotes de salmonelosis producidos por ciertos serotipos de *Salmonella* (Yoon *et al.*, 2004).

Aunque los pimientos verdes no se han relacionado directamente con la producción de una gran cantidad de brotes epidemiológicos, ya se ha reportado el aislamiento de *Salmonella* de pimientos frescos enteros y en trozos (Beuchat, 1996; Mukherjee *et al.*, 2004).

Técnicas de Higiene de Manos

Guantes

El uso de guantes se ha implementado como barrera física que interrumpe la transferencia de microorganismos durante la manipulación de frutos que no tendrán un proceso posterior de lavado o higienizado (Siller *et al.*, 2002).

Montiville *et al.*, (2001) reportaron que el uso de guantes previene la contaminación de los alimentos por parte de los manipuladores, sin embargo, esto sucede cuando la contaminación microbiológica proviene del interior del guante sobre la superficie de la mano.

Es importante tomar en cuenta una probable fuente de contaminación microbiana externa del guante, más específicamente, al manipular los productos frescos donde los guantes no son cambiados frecuentemente (Pittet, 2001), dado que la superficie de los guantes, generalmente elaborados de látex, es muy lisa, lo que no favorece la adherencia de microorganismos sobre dicha superficie, y puede provocar una fácil transferencia de microorganismos (Rusia *et al.*, 2002).

Técnicas de Sanitización de Manos

Lavado de manos (LM). El lavado de manos siempre ha sido reconocido como un importante procedimiento para prevenir la transferencia de microorganismos patógenos para el hombre, sobre todo, durante el proceso de empaque de productos frescos (Lin *et al.*, 2003). Según la Guía para Higiene de Manos en Trabajadores al Cuidado de la Salud, recientemente se ha incorporado a los jabones utilizados para el lavado de manos el sanitizante triclosán (2,4,4'-tricloro-2'-hidroxi-dimetil éter) en concentraciones del 0.2 – 2% (CDC, 2002). Este principio activo es capaz de penetrar al interior de las células bacterianas donde se convierte en un potente inhibidor de la enzima enoil ACP (acil carrier protein) reductasa, la cual cataliza el último paso de cuatro reacciones que se repite en muchas ocasiones durante la elongación de ácidos grasos (Kapoor *et al.*, 2004). La FDA clasifica a este producto como un Agente Activo en la Categoría III, lo que significa que no hay suficiente información para clasificarlo como seguro y efectivo como antiséptico en el lavado de manos (FDA, 1994). Sin embargo, se ha encontrado que el triclosán al 0.1% reduce 2.8 log de conteo bacteriano después del lavado de manos (CDC, 2002).

Gel a base de alcohol etílico (GA). Los productos en forma de gel elaborados a base de alcohol se aplican directamente en la superficie de las manos. Su implementación ha generado controversias en referencia a utilizarse como sustituto del lavado de manos, por lo que se han desarrollado estudios que concluyen que el uso de estos productos sí son una alternativa del lavado de manos (Widmer, 2000; Pietsch, 2001).

El alcohol etílico al 60% es el principio activo más usado en su género, y su actividad antimicrobiana se debe principalmente a su habilidad para desnaturalizar proteínas precipitándolas y lo más importante, pierden su actividad biológica (McDonell y Rusell, 1999).

La FDA clasifica a los geles a base de alcohol etílico del 60%-95% como Agentes de Categoría I, lo cual significa que son generalmente seguros y efectivos como antisépticos para manos (FDA, 1994). Además, se ha encontrado que estos productos tienen un promedio de actividad de 3.5 log de reducción bacteriana en manos artificialmente contaminadas (CDC, 2002)

Soluciones desinfectantes. Se han desarrollado también, programas que proponen el uso de desinfectantes como barreras químicas para la sanitización de las manos, que fueron elaborados para su uso en hospitales, sin embargo, su efectividad y forma de uso sigue siendo evaluada (Charbonneau *et al.*, 2000). Aún así, se ha sugerido el uso de desinfectantes a base de cuaternarios de amonio y de yodo, que pueden ser utilizados en soluciones acuosas, principalmente para el personal que se encuentre en contacto directo con el producto (Zagory, 1999).

La preparación de las soluciones desinfectantes se basa en recomendaciones y adaptaciones a partir de productos químicos concentrados, donde la efectividad de las concentraciones obtenidas no ha sido evaluada. Sin embargo, estos productos están regulados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) en la División de Productos Controlados, siendo los límites máximos permitidos al usarse como antisépticos de manos, 25 ppm para yodo y 200 ppm para cuaternarios de amonio (FDA, 1994).

Cuaternarios de amonio (CA). Son un grupo químico orgánico con componentes catiónicos activos en su superficie; este grupo está formado por una molécula de amonio (NH_4^+) donde uno o más de los átomos de hidrógeno unidos al nitrógeno, son sustituidos por radicales orgánicos (McDonell y Rusell, 1999).

Por ser un agente catiónico, se propone que la secuencia de eventos que pueden ocurrir a los microorganismos expuestos, es la siguiente: (i) adsorción y penetración del agente a la pared celular; (ii) desorganización de la membrana plasmática; (iii) salida de material intracelular de bajo peso molecular; (iv) degradación de proteínas y ácidos nucleicos; y (v) lisis de la pared celular por enzimas autolíticas (Tortora *et al.*, 1995). Sin embargo, los cuaternarios de amonio tienen efectos limitados sobre las bacterias gram negativas, por lo que en EUA se han usado raramente como antisépticos para manos en los últimos 20 años (CDC, 2002).

La FDA clasifica a este producto como un Agente Activo en la Categoría III, lo que significa que no hay suficiente información para clasificarlo como seguro y efectivo como antiséptico en el lavado de manos, además, no se reportan datos de reducción logarítmica bacteriana obtenida con el uso de estos compuestos (FDA, 1994).

Yodo (Y). Pertenece al grupo de los halógenos junto con el cloro, pero es el elemento menos reactivo del grupo. Las soluciones acuosas son muy inestables y presentan, al menos, siete especies de yodo en equilibrio, siendo el yodo molecular (I_2) el principal responsable del efecto antimicrobiano (McDonell y Russell, 1999).

El yodo penetra rápidamente la pared celular bacteriana y puede adicionarse fácilmente a los ácidos grasos insaturados de la membrana celular provocando una deformación de la misma con la subsiguiente pérdida de material intracelular. Además, inhabilita la síntesis de proteínas debido a que es un fuerte oxidante de los aminoácidos tirosina, cisteína y metionina y su acumulación promueve, por último, la desnaturalización del DNA (Buck, 2001). Las soluciones acuosas y alcohólicas de yodo se han utilizado durante muchos años, sin embargo, se han asociado con irritación y manchan superficies.

La FDA clasifica a los compuestos yodados como Agentes de Categoría I, lo cual significa que son generalmente seguros y efectivos como antisépticos para manos (FDA, 1994). Se ha encontrado que estos productos tienen un promedio de actividad de 2 log de reducción bacteriana en manos artificialmente contaminadas (CDC, 2002)

Todas las técnicas de higiene de manos anteriormente descritas, sirven de estrategia para prevenir la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), dado que se especula sobre las condiciones de higiene con que las frutas y hortalizas frescas son producidas, dejando claro que los manipuladores de los alimentos representan un alto potencial como fuente de contaminación microbiana (Charbonneau *et al.*, 2000).

METODOLOGÍA

Procedimiento General de los Experimentos

Con el fin de facilitar el trabajo de laboratorio y simplificar el análisis de resultados, se propuso dividir en tres experimentos nuestra investigación, los cuales se describen detalladamente a continuación:

Experimento I. Transferencia de Manos a Pimientos Verdes

Este experimento consistió en cuantificar la transferencia de *S. Typhimurium* de manos (con o sin guantes) a pimientos verdes, siendo el factor importante a evaluar, el efecto del uso de guantes sobre dicha transferencia (figura 3).

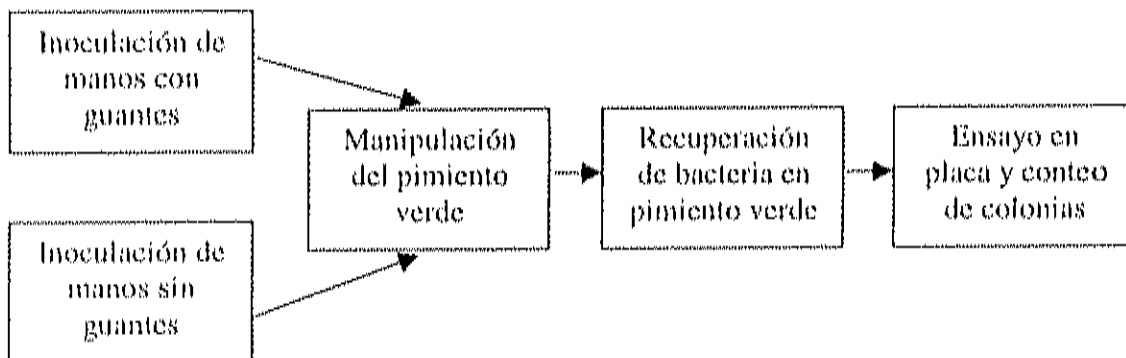


Figura 3. Transferencia de manos con o sin guantes a pimientos verdes

Experimento 2. Transferencia de Pimientos Verdes a Manos

Este experimento consistió en cuantificar la transferencia de *S. Typhimurium* de pimientos verdes a manos (con o sin guantes), siendo el factor importante a evaluar, el efecto del uso de guantes sobre dicha transferencia (figura 4).

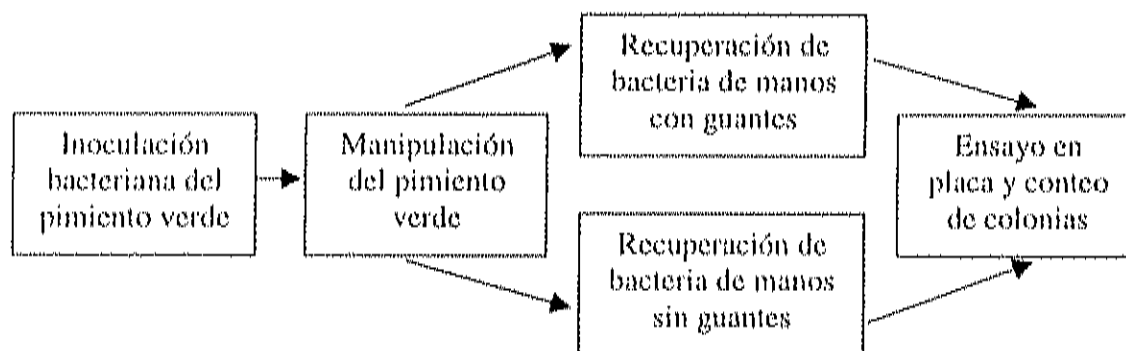


Figura 4. Transferencia de pimientos verdes a manos con o sin guantes

Experimento 3. Técnicas de Sanitización de Manos

Este experimento consistió en evaluar el efecto de diferentes técnicas de sanitización de manos sobre la reducción de *S. Typhimurium* (figura 5).

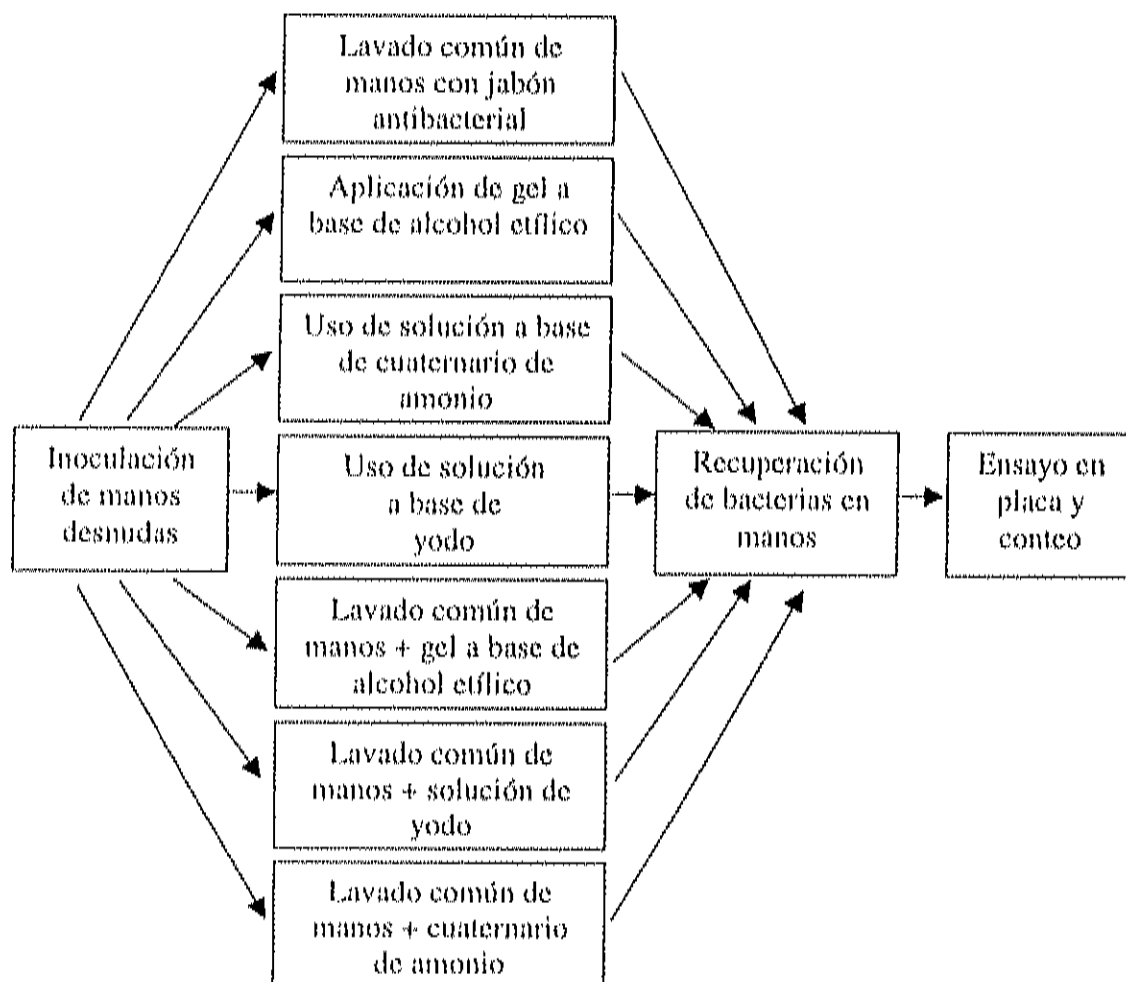


Figura 5. Técnicas de sanitización de manos

Materiales

Sujetos

Participaron cinco sujetos, de los cuales dos pertenecen al género masculino y tres al género femenino. Cada uno de ellos se sometió a un proceso de desinfección y lavado de manos (procedimientos descritos en la sección de métodos) antes y después de realizar cada ensayo para evitar interferencias en los resultados, así como para prevenir riesgos de infección por la bacteria inoculada. Para ello, los sujetos fueron informados detalladamente sobre la naturaleza del experimento y contaron con la asistencia de una persona encargada de proporcionarles los agentes de limpieza y desinfección de manos, así como de abrir y cerrar la llave durante el lavado de manos. Todos los procedimientos se realizaron en un área de trabajo de 50 cm × 30 cm, aproximadamente, para evitar la diseminación de la bacteria y el sujeto mantuvo sus manos fuera de contacto con cualquier superficie. Los sujetos firmaron una carta de consentimiento aceptando la participación en el presente estudio (Anexo 1).

Suspensión Bacteriana

S. Typhimurium se utilizó como microorganismo modelo. La cepa se obtuvo de la colección del laboratorio de microbiología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Culiacán, etiquetada como ATCC 19585. Para regenerar la cepa se sembró una colonia bacteriana perfectamente aislada tomada con ayuda de una asa bacteriológica de platino esterilizada a la flama, la cual se depositó en un tubo de ensayo conteniendo 5 mL de Caldo de Soya y Tripticasefina (TSB; BIOXON) y se dejó en incubación durante 24 horas a 37° C. Posteriormente, se tomó 1 mL del caldo de cultivo incubado con la bacteria y se depositó en un matraz que contenía 1000 mL de TSB estéril dejándose a incubar nuevamente a 37° C durante 24 horas. Posteriormente se llenaron tubos para centrifuga, previamente esterilizados, agregándose 25 ± 1 mL del caldo de cultivo con bacteria en cada tubo. Se centrifugó a $13,080 \times g$ durante 11 minutos a 4° C (Centrifuga marca BECKMAN mod. J2-MJ con Rotor mod. JA-17). Seguido, se eliminó el sobrenadante y se lavó el pellet dos veces con una solución buffer de fosfato de potasio monobásico 0.1 M (BFM; FAGA-LAB). Por último, se resuspendió el pellet ya lavado, en 150 mL de BFM, obteniéndose una suspensión bacteriana final de aproximadamente 10^9 UFC/mL. La concentración exacta de la suspensión bacteriana se determinó realizando diluciones decimales.

Frutos

Para este ensayo se utilizaron pimientos verdes (*Capiscum annuum*) los cuales fueron obtenidos de un empaque agrícola del Valle de Culiacán. Se seleccionaron los frutos semejantes en tamaño, color y forma, además, que no presentaran daños visibles en su superficie.

Jabón Antibacterial

Se utilizó un producto comercial en forma de jabón líquido elaborado con el ingrediente activo triclosán, a una concentración de 3% en relación peso/volumen.

Gel Desinfectante

Se utilizó un producto comercial en forma de gel a base de alcohol etílico con una concentración del 60% en relación peso/volumen.

Soluciones Desinfectantes

Se prepararon soluciones acuosas a partir de productos comerciales. La solución a base de cuaternario de amonio a concentración de 50 ppm y la solución a base de yodo a concentración de 15 ppm. Las concentraciones de ambas soluciones fueron evaluadas utilizando un espectrofotómetro marca HACH modelo DR/2010. La evaluación de la concentración de las soluciones se llevó a cabo inmediatamente antes de cada experimento. Se depositaron 500 mL de la solución a evaluar en una bolsa plástica estéril con cierre hermético, la cual serviría para realizar la técnica de sanitización de manos con una solución desinfectante. Ya preparada la solución, se evitó su exposición prolongada a la luz.

Guantes

Se utilizaron guantes comerciales sintéticos elaborados a base de polipropileno. Los guantes fueron dejados bajo una lámpara de luz ultravioleta por 1 hora, posteriormente fueron almacenados en bolsas plásticas estériles con cierre hermético hasta el día de su utilización.

Métodos

Desinfección de Manos

Este procedimiento se llevó a cabo antes y después de cada ensayo y se siguió el protocolo establecido por Bidawid *et al.*, (2000) con algunas modificaciones. Se roció sobre ambas manos del sujeto, una solución de cloro con una concentración de 5,000 ppm la cual fue distribuida en toda la superficie de las manos por 10 segundos. Pasado este tiempo, se lavaron ambas manos del sujeto con una solución de tiosulfato de sodio al 10% para neutralizar el cloro activo. Posteriormente, fueron rociadas ambas manos con alcohol etílico al 98%, el cual fue distribuido por el sujeto en toda la superficie de ambas manos por 10 segundos. Después, se lavaron las manos con 2 mL de jabón antibacterial durante 20 segundos y se retiró el jabón con agua potable. Por último, se lavaron ambas manos del sujeto con agua potable estéril y se secaron con papel absorbente.

Desinfección de Pimientos Verdes

Cada pimiento verde fue lavado con agua y jabón, después se roció cada fruto con alcohol etílico al 98%. Se lavó cada fruto con agua potable esterilizada y se secó con papel absorbente. Posteriormente, se dejaron los frutos bajo la luz ultravioleta durante 1 hora. Pasado este tiempo, los frutos se depositaron en bolsas plásticas estériles con cierre hermético hasta el día de su uso.

Inoculación de *Salmonella ser. Typhimurium* en Manos con o sin Guantes

El sujeto fue sometido al procedimiento de desinfección de manos. Posteriormente, se inocularon las manos del sujeto con 2 mL de la suspensión bacteriana a una concentración de 10^9 UFC/mL; si el ensayo fue con guantes, antes de la inoculación, los sujeto se pusieron un guante en cada mano. La inoculación de la suspensión bacteriana se hizo en porciones de 0.5 mL sobre las palmas de ambas manos del sujeto. En cada porción de volumen, el sujeto distribuyó la suspensión bacteriana únicamente sobre la superficie de la palma de ambas manos incluyendo los dedos, frotando una palma sobre la otra hasta que se distribuyera el total de la porción de volumen depositada. Después de la última porción de volumen depositada para completar los 2 mL, se permitió que la porción líquida de la suspensión bacteriana se evaporara a condiciones ambientales evitando se sacudieran las manos.

Inoculación de *Salmonella ser. Typhimurium* en Pimientos Verdes

Se inoculó el pimiento verde previamente desinfectado. Se inocularon 3 mL de la suspensión bacteriana a una concentración de 10^9 UFC/mL, en porciones de volumen de 1 mL sobre la superficie del fruto, dejando que la suspensión bacteriana escurriera sobre la superficie del fruto. Se evitó tocar la zona peduncular del fruto, para evitar una contaminación de su superficie con microorganismos provenientes de campo, que pudiesen quedar intactos después del proceso de desinfección del fruto. Después de depositar la última porción de volumen, se permitió que la porción líquida de la suspensión bacteriana evaporara a condiciones ambientales. Los frutos se dejaron secar sobre la tapa de una caja Petri esterilizada.

Nota: El volumen de suspensión bacteriana que escurrió de los frutos se recuperó sobre la tapa de la caja Petri y no se utilizó para posteriores ensayos. Estos residuos se eliminaron después de someterlos a un proceso de desinfección con cloro a 5,000 ppm por 10 min.

Recuperación de *Salmonella* ser. Typhimurium en Manos

Se utilizó el método de contacto de superficies descrita en el Compendio de Métodos Estándares para el Análisis Microbiológico de Alimentos (APHA, 2001), con algunas modificaciones descritas a continuación. Se depositaron 4 mL de BFM esterilizado en un tubo de ensayo. Se sumergió un hisopo esterilizado en el tubo de ensayo hasta humedecerlo. Se eliminó el excedente de la solución buffer presionando el hisopo sobre las paredes del tubo. Para recuperar la bacteria, se frotó con el hisopo la superficie de la palma de la mano del sujeto, y el hisopo se movió horizontalmente hasta frotar toda la palma de la mano. Posteriormente, se sumergió de nuevo el hisopo en el tubo de ensayo y se agitó sobre la solución buffer, con la finalidad de remover las bacterias que fueron recuperadas. Se eliminó nuevamente el excedente de la solución buffer en el hisopo para proceder a recuperar la bacteria de la otra mano del sujeto. Así, el proceso se repitió en dos ocasiones para cada palma de la mano. Finalmente, la solución que se obtuvo en el tubo de ensayo, fue la solución madre que se utilizó para realizar el ensayo en placa. Se analizó 1 mL de solución madre, del cual se realizaron diluciones decimales y se sembraron tres diluciones diferentes (1:10; 1:1,000; 1:100,000), por triplicado utilizando el medio de cultivo Agar Entérico Hektoen (BIOXON). Los resultados se expresaron en UFC/manos. Al término del ensayo, se aplicó el procedimiento de desinfección de manos.

Recuperación de *Salmonella* ser. Typhimurium de Pimientos Verdes

Se utilizó el método de contacto de superficies descrita en el Compendio de Métodos Estándares para el Análisis Microbiológico de Alimentos (APHA, 2001), con algunas modificaciones descritas a continuación. Se depositaron 2 mL de una BFM esterilizado en un tubo de ensayo. Se sumergió un hisopo esterilizado en el tubo de ensayo hasta humedecerlo. Se eliminó el excedente de la solución buffer presionando el hisopo sobre las paredes del tubo. Para recuperar la bacteria, se frotó la superficie del fruto con el hisopo, el cual se movió horizontalmente hasta frotar toda la superficie del fruto, evitando tocar la zona peduncular del mismo. Posteriormente, se sumergió de nuevo el hisopo en el tubo de ensayo y se agitó sobre la solución buffer, con la finalidad de remover las bacterias que fueron recuperadas. Se eliminó nuevamente el excedente de la solución buffer en el hisopo y se procedió a recuperar nuevamente la bacteria en la superficie del mismo fruto. Finalmente, la solución que se obtuvo en el tubo de ensayo, fue la solución madre que se utilizó para realizar el ensayo en placa. Se analizó 1 mL de solución madre, del cual se realizaron diluciones decimales y se sembraron tres diluciones diferentes (1:10; 1:1,000; 1:100,000), por triplicado utilizando el medio de cultivo Agar Entérico Hektoen (BIOXON). Los resultados se expresaron en UFC/fruto. Al término del ensayo, los frutos fueron depositados en bolsas plásticas con cierre hermético; sobre los frutos se depositó una solución de cloro al 50% y las bolsas fueron cerradas, y después de un periodo 10 minutos, los frutos fueron desechados en los contenedores de basura.

Transferencia de *Salmonella ser. Typhimurium* de Manos a Pimientos Verdes

Este procedimiento aplicó para los ensayos de transferencia con o sin guantes. Primero, el sujeto y el pimiento verde fueron sometidos a los procedimientos de desinfección de manos y desinfección de frutos; si el ensayo fue con guantes, éstos fueron colocados a continuación sobre las manos desinfectadas del sujeto. Se inocularon las manos del sujeto según lo descrito anteriormente. Después, el sujeto tomó el fruto con ambas manos, sin tocar la zona peduncular del fruto y éste fue manipulado durante 10 segundos. Pasado el tiempo, se colocó el fruto en la tapa de una caja Petri esterilizada y se procedió a realizar la recuperación de *S. Typhimurium* del fruto (procedimiento descrito anteriormente). Ya finalizado el ensayo se aplicó el procedimiento de desinfección de manos y de frutos (y se procede a desechar los frutos).

Transferencia de *Salmonella* ser. Typhimurium de Pimientos Verdes a Manos

Este procedimiento aplicó para los ensayos de transferencia con o sin guantes. Primero, el sujeto y el pimiento verde fueron sometidos a los procedimientos de desinfección de manos y desinfección de frutos; si el ensayo fue con guantes, el sujeto se colocó los guantes previamente desinfectados. Posteriormente, se inoculó el fruto según lo descrito anteriormente. Después, el sujeto tomó el fruto con ambas manos, sin tocar la zona peduncular del fruto y éste fue manipulado durante 10 segundos. Pasado el tiempo, se colocó el fruto en la tapa de una caja Petri esterilizada y se procedió a realizar la recuperación de *S. Typhimurium* en manos (procedimiento descrito anteriormente). Ya finalizado el ensayo se aplicó el procedimiento de desinfección de manos y fruto.

Reducción de *Salmonella ser. Typhimurium* con Lavado de Manos con Jabón

Antibacterial

Se siguieron los pasos de lavado de manos que estable el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, 2002). Se desinfectaron e inocularon las manos del sujeto, según los procedimientos descritos anteriormente. Seguido, se humedecieron ambas manos del sujeto con agua potable. Se les depositó en la palma de cada mano, 1 mL de jabón antibacterial. Después el sujeto frotó sus manos durante un lapso de 20 segundos incluyendo la zona entre los dedos, las uñas, las muñecas y el envés de las manos. Posteriormente se enjuagaron ambas manos con bastante agua potable hasta eliminar el jabón y se secaron las manos con papel absorbente. Por último, se procedió a realizar la recuperación bacteriana de las manos (procedimiento descrito arriba). Al terminar el ensayo, se aplicó el procedimiento de desinfección de manos.

Reducción de *Salmonella* ser. Typhimurium con Gel a Base de Alcohol

Se desinfectaron e inocularon las manos del sujeto, según los procedimientos descritos anteriormente. Posteriormente, se depositaron 2 mL del gel a base de alcohol etílico sobre las palmas de las manos del sujeto. Se indicó al sujeto distribuir de manera uniforme el gel sobre toda la superficie de ambas manos y se dejó transcurrir un lapso de tiempo hasta que el exceso del gel se eliminara por evaporación. Por último, se procedió a realizar la recuperación bacteriana de las manos (procedimiento descrito arriba). Al terminar el ensayo, se aplicó el procedimiento de desinfección de manos.

Reducción de *Salmonella ser. Typhimurium* con Soluciones Desinfectantes

Este procedimiento aplicó para la evaluación de la solución a base de cuaternario de amonio y para la solución a base de yodo. Se tomaron 500 mL de la solución a evaluar y se depositaron en una bolsa plástica esterilizada. Por otro lado, se desinfectaron e inocularon las manos del sujeto según los procedimientos descritos anteriormente. Posteriormente, el sujeto introdujo sus manos inoculadas en la bolsa plástica que contenía la solución desinfectante a evaluar. Las manos se sumergieron en la solución por un lapso de 15 segundos, después se secaron ambas manos con papel absorbente. Por último, se procedió a realizar la recuperación bacteriana de las manos (procedimiento descrito anteriormente). Al terminar el ensayo, se aplicó el procedimiento de desinfección de manos.

Reducción de *Salmonella ser. Typhimurium* con Lavado de Manos, Jabón Antibacterial y Soluciones Desinfectantes

Este procedimiento aplicó para la evaluación con la solución a base de cuaternario de amonio y para la solución a base de yodo. Para la evaluación de este tratamiento, se utilizó el procedimiento de reducción con lavado de manos con jabón antibacterial descrito anteriormente. Pero, inmediatamente después de secarse las manos, se indicó a los sujetos siguieran el procedimiento de reducción de *S. Typhimurium*, ahora con el uso de la solución desinfectante a evaluar, ya sea la preparada a base de yodo o la preparada a base de cuaternario de amonio (procedimiento descrito anteriormente). Después de terminado el procedimiento general, se procedió a realizar la recuperación bacteriana de las manos (procedimiento descrito anteriormente). Al terminar el ensayo, se aplicó el procedimiento de desinfección de manos.

Determinación de la Concentración Inicial de *Salmonella ser. Typhimurium* en Manos

Para determinar la concentración inicial de *S. Typhimurium* en las manos de cada sujeto, se siguió el procedimiento de inoculación de manos descrito anteriormente e inmediatamente terminado se procedió a realizar la recuperación de *S. Typhimurium* en manos según el procedimiento descrito anteriormente. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado en cada uno de los sujetos y se determinó la concentración inicial de *S. Typhimurium* en las manos del sujeto, haciendo un promedio de las tres réplicas.

Determinación de la Concentración Inicial de *Salmonella ser. Typhimurium* en Pimientos Verdes

Para determinar la concentración inicial de *S. Typhimurium* en los pimientos verdes, se siguió el procedimiento de inoculación de frutos descrito anteriormente e inmediatamente terminado se procedió a realizar la recuperación de *S. Typhimurium* en frutos según el procedimiento descrito arriba. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado en tres de los pimientos verdes seleccionados y se determinó la concentración inicial de *S. Typhimurium* para cualquier pimiento verde, haciendo un promedio de las tres réplicas.

Análisis de los Datos

Los resultados de la evaluación de transferencia de *S. Typhimurium* entre manos y pimientos verdes fueron convertidos a porcentaje de transferencia utilizando la siguiente fórmula:

$$(\text{UFC destino}) / (\text{UFC fuente}) \times 100 = \% \text{ de transferencia}$$

Posteriormente, los resultados expresados en porcentaje de transferencia fueron convertidos a logaritmos del porcentaje de transferencia con la finalidad de llevar a cabo un mejor análisis estadístico de los resultados.

Los resultados de la evaluación de reducción de *S. Typhimurium* con técnicas de higiene de manos, fueron convertidos a logaritmos y posteriormente se calculó los logaritmos de reducción utilizando la siguiente fórmula:

$$(\log \text{ concentración inicial}) - (\log \text{ concentración final}) = \log \text{ de reducción}$$

Sin embargo, estos resultados pueden ser expresados como porcentaje de reducción bacteriana mediante la siguiente fórmula:

$$(\text{UFC final}) / (\text{UFC inicial}) \times 100 = \% \text{ de reducción bacteriana}$$

Cada experimento se analizó mediante un arreglo estadístico de un factor con medidas repetidas. Cada sujeto llevó a cabo, por triplicado, todos los procedimientos de transferencia y reducción de *S. Typhimurium*.

Se realizó un análisis de varianza para cada experimento, y se realizaron comparaciones múltiples de las medias mediante la prueba Tukey para detectar las diferencias significativas ($P < 0.05$).

El análisis de los datos se llevó a cabo en el paquete estadístico MINITAB versión 14.1 (2004).

DISEÑO ESTADÍSTICO

Procedimiento General de los Experimentos

Siguiendo con el formato establecido en los materiales y métodos, se describen a continuación cada uno de los diseños estadísticos seleccionados para cada experimento:

Experimento 1. Transferencia de Manos a Pimientos Verdes

Se utilizó un diseño estadístico de dos factores con medidas repetidas.

Los niveles del factor 1 (Forma de transferencia) fueron:

- Transferencia de manos con guantes a pimientos verdes.
- Transferencia de manos sin guantes a pimientos verdes.

Los niveles del factor 2 fueron:

- Las 3 repeticiones

El modelo para el análisis estadístico de los resultados fue:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + S_k + \tau_i\alpha_j + \epsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2$ (Formas de transferencia)

$S_j = 1, 2, 3, 4, 5$ (Sujetos)

$k = 1, 2, 3$ (Repeticiones)

ϵ_{ijk} = Error aleatorio

Experimento 2. Transferencia de Pimientos Verdes a Manos

Se utilizó un diseño estadístico de dos factores con medidas repetidas.

Los niveles del factor 1 (Forma de transferencia) fueron:

- Transferencia de pimientos verdes a manos con guantes.
- Transferencia de pimientos verdes a manos sin guantes.

Los niveles del factor 2 fueron:

- Las 3 repeticiones

El modelo para el análisis estadístico de los resultados fue:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + S_k + \tau_i\alpha_j + \varepsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2$ (Formas de transferencia)

$S_j = 1, 2, 3, 4, 5$ (Sujetos)

$k = 1, 2, 3$ (Repeticiones)

$\varepsilon_{ijk} =$ Error aleatorio

Experimento 3. Técnicas de Sanitización de Manos

Se utilizó un diseño estadístico de dos factores con medidas repetidas.

Los niveles del factor 1 (Sanitizante de manos) fueron:

- Lavado de manos con jabón antibacterial (LM)
- Aplicación de gel a base de alcohol etílico (GA)
- Uso de la solución a base de yodo (SY)
- Uso de la solución a base de cuaternario de amonio (SCA)
- Reducción de *S. Typhimurium* con LM seguido de GA
- Reducción de *S. Typhimurium* con LM seguido de SY
- Reducción de *S. Typhimurium* con LM seguido de SCA

Los niveles del factor 2 fueron:

- Las 3 repeticiones

El modelo para el análisis estadístico de los resultados fue:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + S_k + \tau_i\alpha_j + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2 \quad (\text{Formas de transferencia})$$

$$S_j = 1, 2, 3, 4, 5 \quad (\text{Sujetos})$$

$$k = 1, 2, 3 \quad (\text{Repeticiones})$$

$$\varepsilon_{ijk} = \text{Error aleatorio}$$

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Concentración Inicial de *Salmonella* ser. Typhimurium

El cuadro 2 nos muestra el valor mínimo, máximo y la media geométrica de la concentración inicial de *S. Typhimurium* en las manos sin guantes de cada sujeto. La media geométrica de cada sujeto fue el valor que se utilizó en las fórmulas de % de transferencia y reducción logarítmica. El valor de la media aritmética, ocupa el lugar de UFC en la fuente (% de transferencia) y \log_{10} de concentración inicial (\log_{10} reducción).

Cuadro 2. Concentración inicial de *S. Typhimurium* en manos sin guantes

Manos sin guantes	Log		
	Min ^a	Max ^b	Media aritmética
Sujeto 1	8.00	8.20	8.14
Sujeto 2	7.68	8.00	7.85
Sujeto 3	8.02	8.33	8.17
Sujeto 4	8.16	8.37	8.27
Sujeto 5	8.12	8.43	8.30

^a Mínimo

^b Máximo

El cuadro 3 nos muestra el valor mínimo, máximo y la media geométrica de la concentración inicial de *S. Typhimurium* en las manos con guantes de cada sujeto. La media geométrica de estos resultados fue el valor que se utilizó en la fórmula de % de transferencia. El valor de la media aritmética ocupa el lugar de UFC en la fuente.

Cuadro 3. Concentración inicial de *S. Typhimurium* en manos con guantes

Manos con guantes	Log		
	Min ^a	Max ^b	Media aritmética
Sujeto 1	7.60	8.38	8.03
Sujeto 2	7.60	8.08	7.90
Sujeto 3	7.60	8.08	7.90
Sujeto 4	7.60	8.38	8.03
Sujeto 5	7.60	8.20	7.97

^a Mínimo

^b Máximo

El cuadro 4 nos muestra el valor mínimo, máximo y la media geométrica de la concentración inicial de *S. Typhimurium* en los pimientos verdes. La media aritmética de estos resultados fue el valor que se utilizó en la fórmula de % de transferencia. El valor de la media aritmética, ocupa el lugar de UFC en la fuente.

Cuadro 4. Concentración inicial de *S. Typhimurium* en pimientos verdes

Fruto	Log ₁₀		
	Min ^a	Max ^b	Media aritmética
Pimiento verde	7.38	7.88	7.75

^a Mínimo

^b Máximo

Los resultados de los cuadros 2 y 3 muestran la concentración media de *S. Typhimurium* que cada sujeto retiene en sus manos con o sin guantes, después de realizada la inoculación de la bacteria; el cuadro 4 nos muestra la concentración media de *S. Typhimurium* que el pimiento verde retiene en su superficie, después de realizada la inoculación de la bacteria; pero básicamente nos indica la concentración bacteriana que es posible cuantificar inmediatamente después de inoculada la bacteria.

La utilización de la técnica de recuperación de microorganismos descrita en el Compendio de Métodos Estándares para el Análisis Microbiológico de Alimentos (APHA, 2001) no resultó 100% efectiva para la recuperación de *S. Typhimurium* de manos y frutos; sin embargo, se logró recuperar arriba del 90% de la bacteria inoculada en manos con o sin guantes y en frutos, lo que fácilmente nos permitió apreciar la reducción logarítmica y el % de transferencia.

Experimento 1. Transferencia de Manos a Pimientos Verdes

Análisis descriptivo de los resultados. En el cuadro 5 se muestran los resultados obtenidos en % de transferencia; se obtuvieron los resultados para cada uno de los sujetos donde la transferencia de *S. Typhimurium* de manos sin guantes a pimientos verdes tuvo un valor mínimo de 0.02% y un valor máximo de 0.46%, entre ellos; por otro lado, la transferencia de *S. Typhimurium* de manos con guantes a pimientos verdes fue aparentemente mayor, con un valor mínimo de 0.33% y un valor máximo de 1.39%.

Cuadro 5. Transferencia de manos con o sin guantes a pimientos verdes

Tipo de transferencia	Promedio del % de transferencia por sujeto					Media aritmética
	S ^a 1	S ^a 2	S ^a 3	S ^a 4	S ^a 5	
M s/g a PV ^b	0.14	0.46	0.02	0.15	0.27	0.21
M c/g a PV ^c	0.57	1.25	1.39	0.33	0.65	0.84

^a Sujeto^b Manos sin guantes a pimientos verdes^c Manos con guantes a pimientos verdes

Inferencia estadística. Para realizar el análisis estadístico de estos resultados, fue necesario transformar los datos a logaritmos del % de transferencia, ya que de esta manera fue posible obtener un análisis de varianza más apropiado. En el cuadro 6 se muestra un resumen del análisis de varianza obtenido, el cual, mostró que existieron diferencias significativas entre el factor formas de transferencia y la interacción formas de transferencia - sujetos.

Cuadro 6. Análisis de varianza del experimento I

Factor	GL	F	P
Tratamientos ^a	1	37.49	0.000
Repeticiones	2	0.84	0.467
Suj * Trat ^b	4	8.00	0.007
Suj * Repet ^c	8	0.76	0.646
Trat * Repet ^d	2	0.86	0.459
Error	8		

^a Forma de transferencia (de manos con o sin guantes a pimientos verdes)

^b Interacción Sujetos - Tratamientos

^c Interacción Sujetos - Repeticiones

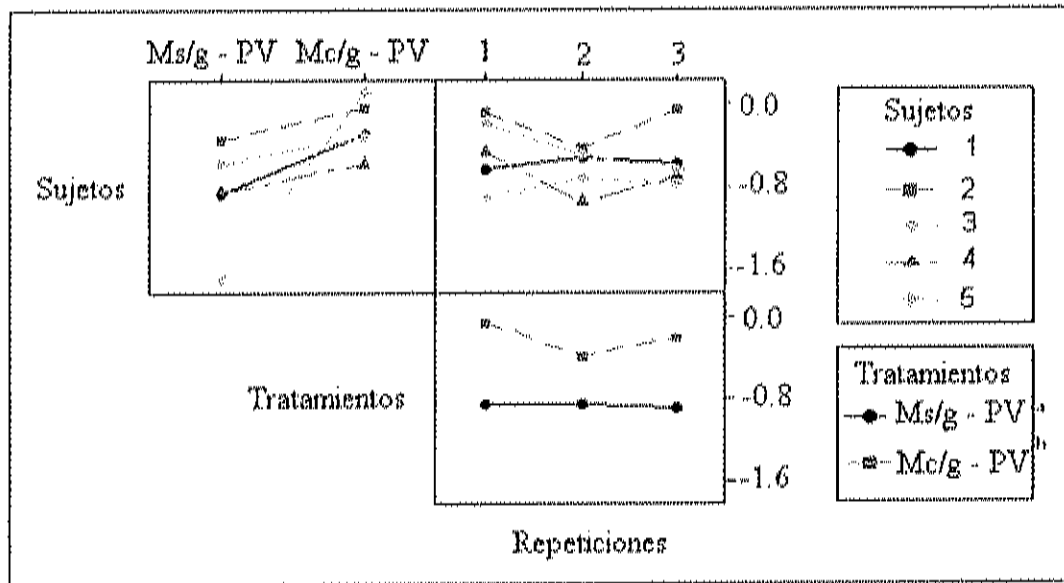
^d Interacción Tratamientos - Repeticiones

Las gráficas de interacción nos muestran la uniformidad con que los procedimientos fueron llevados a cabo. La interacción sujetos * tratamientos nos revela si cada uno de los sujetos realizó el procedimiento de transferencia acorde a lo especificado en su entrenamiento. La interacción sujetos * repeticiones muestra si los sujetos realizaron las 3 repeticiones de cada tratamiento de manera similar entre ellos, así, podemos determinar si la reproducibilidad de los tratamientos se cumple.

La interacción tratamientos * repeticiones nos dice si las 3 repeticiones realizadas en cada uno de los tratamientos fueron uniformes. En este trabajo las interacciones deben ser descartadas dado que el efecto principal del factor "Formas de transferencia" debe ser el único responsable de que se presenten diferencias significativas entre los tratamientos.

En la figura 6 se muestran las 3 gráficas de interacción, siendo la interacción sujetos * tratamientos la única que muestra diferencias significativas. Estas diferencias pueden ser atribuidas al efecto del sujeto 3 el cual rompe con el paralelismo de las rectas en la transferencia de manos sin guantes a pimientos verdes.

Se hizo un análisis de este efecto y se llegó a la conclusión que fue debido a la estructura anatómica de la superficie de la palma de la mano del sujeto 3. Esta superficie presentaba rugosidades muy pronunciadas, lo que pudo servir como sitios de retención de la bacteria y de esta manera no se produjo una fácil transferencia de la misma.



^a Manos sin guantes a pimientos verdes

^b Manos con guantes a pimientos verdes

Figura 6. Gráficas de interacción del experimento 1

En la figura 7 se muestra el efecto principal del análisis de varianza sobre el factor "Formas de transferencia" y las diferencias significativas entre ellas ($P=0.0003$).

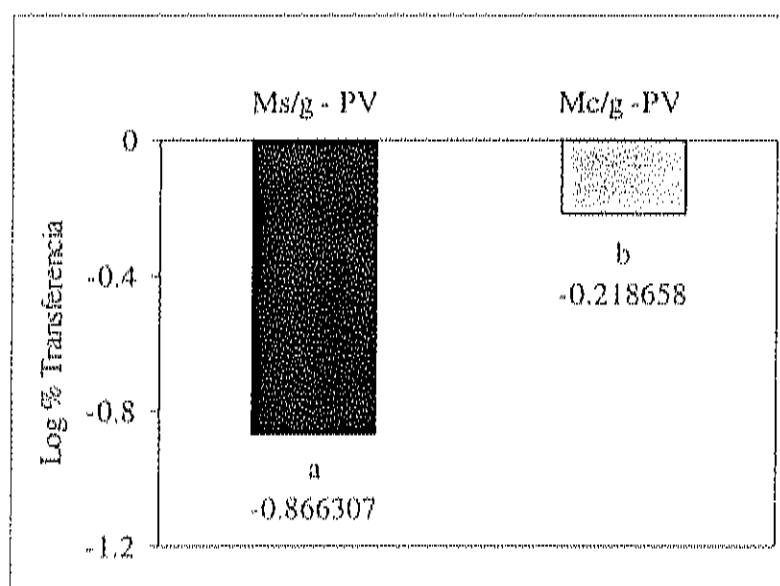


Figura 7. Efecto principal del experimento 1

Experimento 2. Transferencia de Pimientos Verdes a Manos

Análisis descriptivo de los resultados. En el cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos en % de transferencia; se obtuvieron los resultados para cada uno de los sujetos donde la transferencia de *S. Typhimurium* de pimientos verdes a manos sin guantes tuvo un valor mínimo de 1.67% y un valor máximo de 5.10%, entre ellos; por otro lado, la transferencia de *S. Typhimurium* de pimientos verdes a manos con guantes fue claramente mayor, con un valor mínimo de 21.6% y un valor máximo de 72.90%.

Cuadro 7. Transferencia de pimientos verdes a manos con o sin guantes

Tipo de transferencia	Promedio del % de transferencia por sujeto					Media aritmética
	S ^a 1	S ^a 2	S ^a 3	S ^a 4	S ^a 5	
PV a M s/g ^b	2.68	1.67	5.10	3.25	3.69	3.28
PV a M c/g ^c	51.73	72.90	21.16	42.33	44.68	46.56

^a Sujeto

^b Pimientos verdes a manos sin guantes

^c Pimientos verdes a manos con guantes

Inferencia estadística. Para realizar el análisis estadístico de estos resultados, fue necesario transformar los datos a logaritmos del % de transferencia, ya que de esta manera fue posible obtener un análisis de varianza más apropiado. En el cuadro 8 se muestra un resumen del análisis de varianza obtenido, el cual muestra diferencias significativas entre las formas de transferencia y la interacción formas de transferencia - sujetos.

Cuadro 8. Análisis de varianza del experimento 2

Factor	GL	F	P
Tratamientos ^a	1	369.40	0.000
Repeticiones	2	0.37	0.705
Suj * Trat ^b	4	8.37	0.006
Suj * Repet ^c	8	2.20	0.142
Trat * Repet ^d	2	1.78	0.230
Error	8		

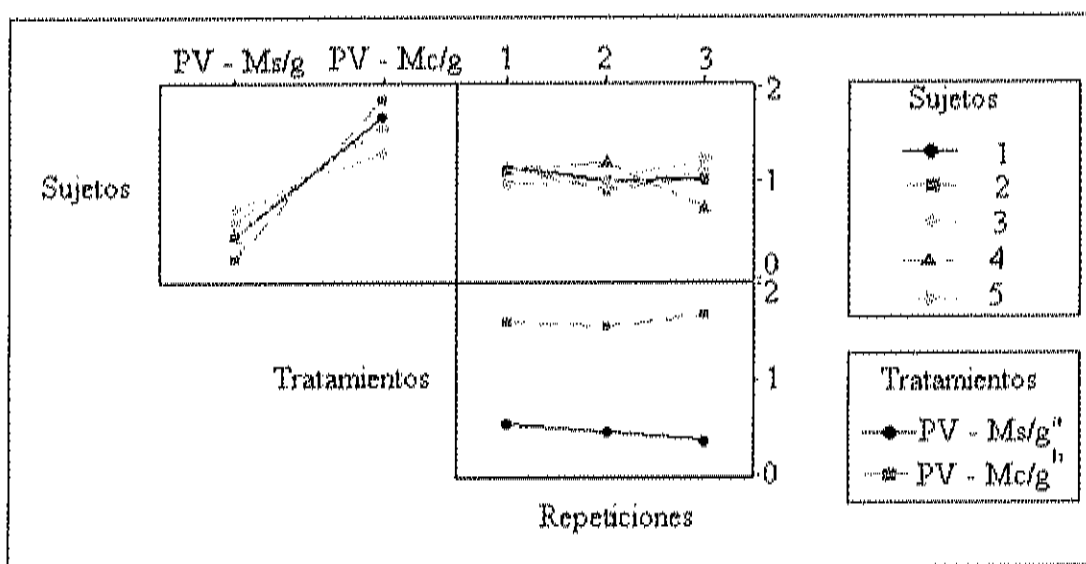
^a Forma de transferencia (de pimientos verdes a manos con o sin guantes)

^b Interacción Sujetos - Tratamientos

^c Interacción Sujetos - Repeticiones

^d Interacción Tratamientos - Repeticiones

En la figura 8 se muestran las 3 gráficas de interacción, siendo la interacción sujetos * tratamientos la única que muestra diferencias significativas. Estas diferencias pueden ser atribuidas a la aleatoriedad de los datos ya que se puede ver claramente el paralelismo entre las rectas. Esto nos indica que los procedimientos realizados por los sujetos fueron similares en todos los tratamientos.



^h Pimientos verdes a manos sin guantes

^h Pimientos verdes a manos con guantes

Figura 8. Gráficas de interacción del experimento 2

En la figura 9, se muestra el efecto principal del análisis de varianza sobre el factor "Formas de transferencia" y las diferencias significativas entre ellas ($P=0.000$).

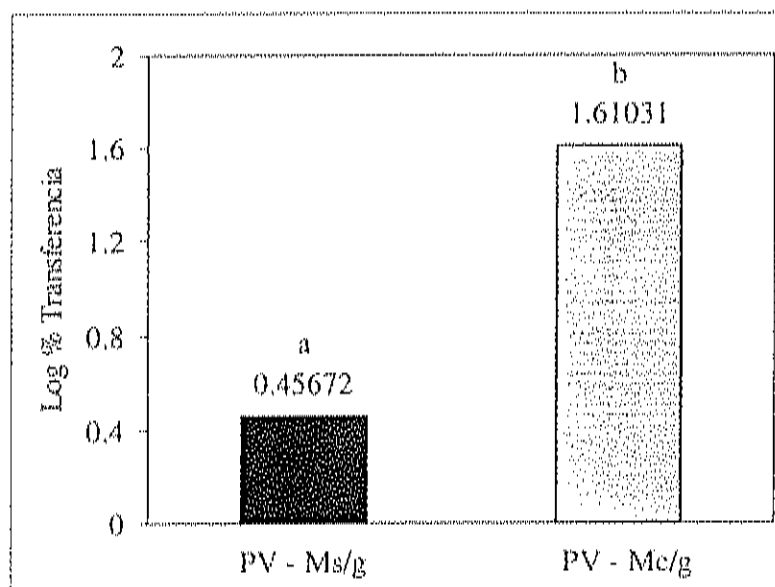


Figura 9. Efecto principal del experimento 2

Discusión de resultados de los experimentos 1 y 2. Los resultados que se obtuvieron en los experimentos de transferencia de *S. Typhimurium* entre manos y pimientos verdes, determinaron claramente el efecto del uso de guantes sobre dicha transferencia.

Se obtuvo una transferencia considerablemente alta en los ensayos de transferencia entre manos con guantes y pimientos verdes. Esto se puede explicar tomando en cuenta lo encontrado por Liao y Cooke (2001), quienes reportaron que la adherencia de *Salmonella ser. Chester* a discos de pimientos verdes, ocurrió principalmente en tejido dañado pero muy raramente en tejido íntegro. Por su parte, Ukuku y Fett (2002) mencionan que la adherencia de una bacteria se debe básicamente a dos factores: la estructura de la superficie de la bacteria y el lugar al que se adhieren, siendo este último factor el que determina la permanencia de la bacteria hasta el momento de su adherencia. Esto sugiere que la bacteria es transferida con facilidad cuando se usan guantes dado que la superficie de los pimientos verdes y la superficie de los guantes es muy lisa, lo que no permite una buena adherencia de la bacteria (Rusia *et al.*, 2002).

Por otro lado, es necesaria una buena higiene de las manos antes de usar guantes y después de que se han utilizado, ya que se ha establecido que las bacterias presentes en la superficie de guantes contaminados pueden pasar a través de los poros de éstos, y llegar hasta las manos; o bien, las bacterias presentes en la superficie de las manos contaminadas, pueden pasar a través de los poros de los guantes, y de esta manera llegar hasta los alimentos que se estén manipulando (Montville *et al.*, 2001; Tenorio *et al.*, 2001).

Experimento 3. Técnicas de Sanitización de Manos

Análisis descriptivo de los resultados. La reducción de *S. Typhimurium* con las diferentes técnicas de sanitización de manos, fue muy variada; sin embargo, al observar los resultados que muestra en el cuadro 9, es posible detectar que el lavado de manos más la aplicación del gel a base de alcohol resultó ser la técnica que redujo más logaritmos de bacteria con un mínimo de 4.08 log y un máximo de 4.58 log; en un patrón medio se observan el lavado de manos con jabón antibacterial (2.49 log – 3.25 log), el gel a base de alcohol etílico (2.60 log – 3.31 log), el lavado de manos más el uso de la solución a base de yodo (2.59 log – 3.48 log), así como el lavado de manos más la solución a base del cuaternario de amonio (3.05 log – 3.56 log). Además, los resultados obtenidos mostraron que las técnicas que redujeron una menor concentración de bacterias fueron el uso de las soluciones desinfectantes (1.55 log – 2.56 log para yodo y 1.64 log – 2.67 log para cuaternario de amonio).

Cuadro 9. Reducción de *S. Typhimurium* con técnicas de sanitización de manos

Técnica de sanitización	Promedio del log de reducción por sujeto					Media aritmética
	S ^a 1	S ^a 2	S ^a 3	S ^a 4	S ^a 5	
LM ^b	3.04	2.93	2.49	3.25	3.18	2.98
GA ^c	2.94	2.69	3.21	3.31	3.30	3.09
Y ^d	2.32	1.85	1.55	2.14	2.56	2.08
CA ^e	2.01	1.64	2.26	2.67	2.60	2.24
LM - GA ^f	4.32	4.47	4.08	4.48	4.58	4.38
LM - Y ^g	3.44	3.48	2.59	3.32	3.08	3.18
LM - CA ^h	3.44	3.05	3.46	3.56	3.20	3.34

^a Voluntario

^b Lavado de manos con jabón antibacterial

^c Gel a base de alcohol etílico

^d Solución de yodo

^e Solución de cuaternario de amonio

^f Lavado de manos con jabón antibacterial más gel a base de alcohol etílico

^g Lavado de manos con jabón antibacterial más solución de yodo

^h Lavado de manos con jabón antibacterial más solución de cuaternario de amonio

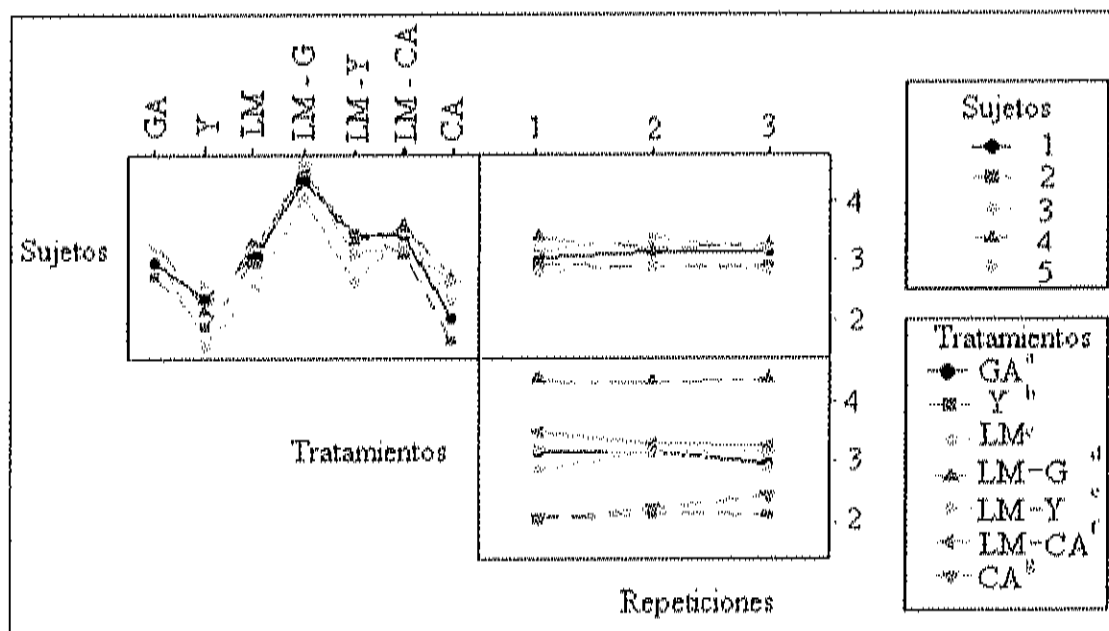
Inferencia estadística. En el cuadro 10 se muestra un resumen del análisis de varianza obtenido, el cual muestra diferencias significativas entre las técnicas de sanitización de manos y la interacción técnicas de sanitización * sujetos.

Cuadro 10. Análisis de varianza del experimento 3

Factor	GL	F	P
Tratamientos ^a	6	161.02	0.000
Repeticiones	2	0.35	0.707
Suj * Trat ^b	24	4.06	0.000
Suj * Repet ^c	8	1.37	0.234
Trat * Repet ^d	12	1.40	0.197
Error	48		

- ^a Técnica de sanitización de manos
^b Interacción Sujetos - Tratamientos
^c Interacción Sujetos - Repeticiones
^d Interacción Tratamientos - Repeticiones

En la figura 10 se muestran las 3 gráficas de interacción, siendo la interacción sujetos * tratamientos la único que muestra diferencias significativas. Estas diferencias pueden ser atribuidas a la aleatoriedad de los datos ya que se puede ver claramente el paralelismo entre las rectas. Esto nos indica que los procedimientos realizados por los sujetos fueron similares en todos los tratamientos.



^a Gel a base de alcohol etílico

^b Solución de yodo

^c Lavado de manos con jabón antibacterial

^d Lavado de manos con jabón antibacterial más gel a base de alcohol etílico

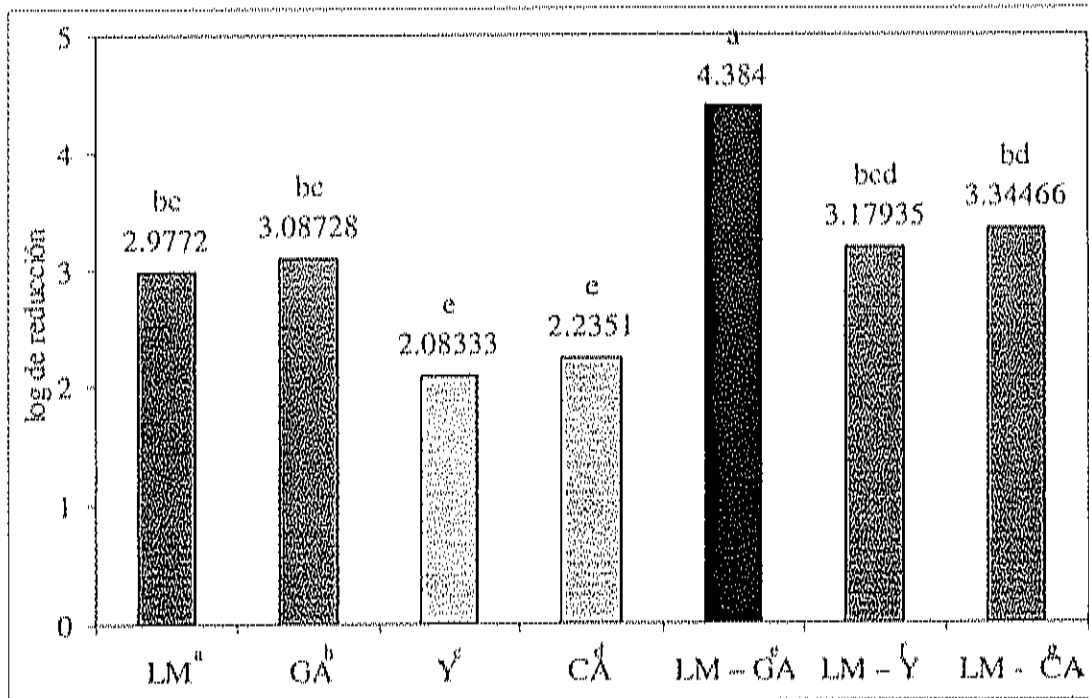
^e Lavado de manos con jabón antibacterial más solución de yodo

^f Lavado de manos con jabón antibacterial más solución de cuaternario de amonio

^g Solución de cuaternario de amonio

Figura 10. Gráficas de interacción del experimento 3

En la figura 11, se muestra el efecto principal del análisis de varianza sobre el factor "Técnicas de Sanitización" dividiéndolas a éstas, básicamente en tres grupos: (i) combinación del lavado de manos con jabón antibacterial más el gel a base de alcohol etílico; (ii) el lavado de manos con jabón antibacterial, el gel a base de alcohol etílico, la combinación del lavado de manos más el cuaternario de amonio y la combinación del lavado de manos más el yodo; y (iii) el cuaternario de amonio y el yodo.



^a Lavado de manos con jabón antibacterial

^b Gel a base de alcohol etílico

^c Solución de yodo

^d Solución de cuaternario de amonio

^e Lavado de manos con jabón antibacterial más gel a base de alcohol etílico

^f Lavado de manos con jabón antibacterial más solución de yodo

^g Lavado de manos con jabón antibacterial más solución de cuaternario de amonio

Figura 11. Efecto principal del experimento 3

Discusión de resultados del experimento 3: Una de las recomendaciones para prevenir la transferencia de *S. Typhimurium*, es seguir una técnica efectiva de higiene de manos (Pittet, 2001). Se han realizado una gran variedad de investigaciones con la finalidad de alcanzar ese mismo objetivo, sin embargo, la mayoría de ellas sólo se han enfocado al lavado de manos, dejando de lado la utilización de las soluciones desinfectantes o bien la combinación de diferentes técnicas (Gibson *et al.*, 2002; Cogan *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2003).

Una importante técnica de sanitización de manos, ampliamente estudiada, es la utilización del gel a base de alcohol, procedimiento que ha intentado sustituir el lavado de manos tal como Girou *et al.*, (2002) y Kampf y Löffler (2003) mencionan en sus trabajos, y llegan a la conclusión que el uso de un gel a base de alcohol es efectivo removiendo la contaminación microbiana.

Nuestros resultados concuerdan con los resultados obtenidos por estos investigadores, ya que se encontró que no existe diferencia significativa ($P=0.8507$) entre el lavado de manos y el uso de gel a base de alcohol etílico (2.98 y 3.09 log de reducción, respectivamente). Sin embargo, el gel a base de alcohol etílico resultó ser más efectivo que el lavado de manos con jabón antibacterial en la remoción de *S. Typhimurium*, y se puede considerar una ventaja que no causa problemas en la piel y es muy fácil de usar (Trampuz y Widmer, 2004).

La combinación del lavado de manos con jabón antibacterial más la aplicación del gel a base de alcohol etílico, redujeron 4.39 log, resultando ser la mejor técnica de higiene de manos; este resultado concuerda con lo reportado por McNeil *et al.*, (2001) y Montville *et al.*, (2002), quienes sugirieron un lavado de manos con agua corriente antes de la aplicación de un gel a base de alcohol, lo que ayudaría a reducir los microorganismos presentes en las manos.

Las técnicas de higiene basadas en el uso de soluciones desinfectantes, no mostraron ser buenas (solución a base de yodo 2.08 y solución a base de cuaternario de amonio 2.24 log de reducción), ni se encontraron diferencias significativas entre el tipo de solución desinfectante ($P=0.5636$). Esto demuestra que las concentraciones de 15 ppm para la solución a base de yodo y 50 ppm para la solución a base de cuaternario de amonio, no son efectivas como se esperaba en la reducción de *S. Typhimurium*.

La reducción de *S. Typhimurium* se mostró mejorada cuando se utilizó el lavado de manos con jabón antibacterial antes de utilizar la solución desinfectante. Sin embargo, la combinación del lavado de manos más el uso de la solución desinfectante a base de yodo, no resultó ser significativamente diferente al lavado de manos con jabón antibacterial ($P=0.2298$) y aunque el lavado de manos más la solución a base de cuaternario de amonio resultó apenas ser significativamente diferente al lavado de manos ($P=0.0014$), los logaritmos de reducción no fueron muy distantes (3.34 y 2.98 log, respectivamente).

Finalmente, con los resultados obtenidos en este trabajo se puede realizar un análisis de un escenario hipotético relacionado con alguna actividad agrícola, donde la manipulación de pimientos verdes esté ocurriendo. Esto nos proporcionaría información importante acerca del efecto de cada uno de los parámetros evaluados y su combinación.

Por ejemplo, se sabe que *S. Typhimurium* es excretada a través de las heces fecales de una persona infectada en un rango de 10^4 a 10^{11} UFC/g (Feachem *et al.*, 1983). Si una persona tuviera 0.1 g de heces fecales en sus manos, entonces tendría 10^{10} UFC en sus manos (en el peor de los casos) y podría transferir 0.21% de bacterias a un pimiento verde (porcentaje medio de transferencia de manos sin guantes a pimientos verdes). Entonces 21'000,000 de UFC de *S. Typhimurium* podrían adherirse a la superficie del pimiento verde íntegro. Una persona que consumiera ese pimiento verde contaminado, podría verse involucrada en un posible brote epidemiológico, ya que se sabe que la dosis infectiva media para *S. Typhimurium* ha sido estimada en 2.34×10^4 UFC (Hass *et al.*, 1999).

Pero, si la persona que tiene contaminadas sus manos, se las lavara con jabón antibacterial y después aplicara un gel a base de alcohol etílico, la concentración de bacterias en sus manos serían reducidas en un 99.99% aproximadamente (4.39 log), quedando una concentración bacteriana en sus manos de 1'000,000 UFC.

De esta última concentración se puede transferir 0.21% de bacterias a un pimiento verde, permaneciendo así, solo 2,100 UFC de *S. Typhimurium*. Esta bacteria podría estar adherida en la superficie de un pimiento verde, lo que difícilmente pudiera resultar en una infección por la ingesta del pimiento contaminado.

Por otro lado, si la persona que tiene contaminadas sus manos, se las lavara sólo con jabón antibacterial, la concentración de bacterias en sus manos serían reducidas en un 99.9% aproximadamente (2.98 log), quedando una concentración bacteriana en sus manos de 10'000,000 UFC, logrando transferir 0.21% de bacterias a un pimiento verde, y permaneciendo así, 21,000 UFC de *S. Typhimurium* en la superficie del fruto. Así, la concentración de bacterias en el pimiento verde está muy cerca de alcanzar la dosis infectiva, por lo que, la probabilidad de adquirir la infección es muy alta.

Esto demuestra la importancia de aplicar una buena técnica de sanitización de manos para minimizar al máximo los riesgos de adquirir una infección por el consumo de pimientos verdes contaminados.

CONCLUSIONES

- Si existe transferencia de *S. Typhimurium* entre manos y pimientos verdes.
- El uso de guantes favorece la transferencia de *S. Typhimurium*.
- El gel a base de alcohol etílico puede utilizarse como alternativa del lavado de manos.
- El lavado de manos con jabón antibacterial más el uso de un gel a base de alcohol etílico, es la mejor técnica de higiene de manos.
- Las concentraciones recomendadas de las soluciones desinfectantes no son estadísticamente igual de efectivas que el lavado de manos con jabón antibacterial en la reducción de *S. Typhimurium* de manos.

SUGERENCIAS

- Es necesario realizar un estudio detallado acerca de las técnicas de inoculación de manos y frutos para su implementación en futuros trabajos de investigación.
- Realizar un estudio detallado acerca de las técnicas de recuperación de microorganismos de manos y frutos para su implementación en futuros trabajos de investigación, además, de su implementación en la toma de muestra de manos de trabajadores y frutos para la detección de microorganismos.
- A partir de los resultados obtenidos se puede dirigir una investigación para determinar las concentraciones óptimas que se pueden utilizar en soluciones desinfectantes a base de cuaternarios de amonio y a base de yodo. Además se pueden hacer evaluaciones de otro tipo de soluciones desinfectantes.
- Realizar un trabajo de investigación relacionado con la sobrevivencia de *S. Typhimurium* en las soluciones desinfectantes a través del tiempo.

LITERATURA CITADA

- Anonymous. 1998. The guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Washington, D.C.

Disponible en el sitio web: <http://www.fda.gov>
- Ansari, S.A., S.A. Sattar, V.S. Springthorpe, G.A. Wells and W. Tostowaryk. 1988. Rotavirus survival on human hands and transfer of infectious virus to animate and nonporous inanimate surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*, 26:1513-1518.
- APHA. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. *American Public Health Association*. Washington, D.C.
- Beuchat, L.R. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *Journal of Food Protection*. 59:204-216.
- Beuchat, L.R and J.H. Ryu. 1997. Produce handling and processing practices. *Emerging Infectious Disease*, 3:459-465.

- Beuchat, L. 1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. *Food Safety Unit*, World Health Organization.
- Bidawid, S., Farber, J. y Sattar, S. 2000. Contamination of foods by food handlers: experiments on hepatitis A transfer to food and its interruption. *Journal of Applied Environmental Microbiology*, 66:2759 – 2763.
- Bidawid, S., N. Malik, O. Adegbunrin, S.A. Sattar and J.M. Farber, 2004. Norovirus cross-contamination during food handling and interruption of virus transfer by hand antiseptics: Experiments with feline calicivirus as a surrogate. *Journal of Food Protection*, 67:103-109.
- Blostein, J. 1993. An outbreak of *Salmonella* Javiana associated with consumption of watermelon. *Journal of Environmental Health*, 56:29-32.
- Brenner, F., R. Villar, F. Angulo, R. Tauxe and B. Swaminathan. 2000. *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38:2465-2467
- Buck, K. 2001. The effects of germicides on microorganism. *Infectious Control Today*, 9:1-8.

- Buck, J., Walcott, R. y Beuchat, L. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. *Plant Management Network*. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2003-0121-01-RV.
- CAADES. 2005. Exportación por productos y meses 2003 – 2004. Confederación de Asociaciones Agrícolas del Estado de Sinaloa.
Disponible en el sitio web: <http://www.caades.org.mx>
- Calvin, L. 2004. Response to U.S. Foodborne illness outbreaks associated with imported produce. *United States Department of Agriculture*. Bulletin Number 789 – 5.
- Castillo, A., Mercado, I., Lucía, M., Martínez, Y., Ponce, J., Murano, E. y Acuff, G. 2004. *Salmonella* contamination during production of cantaloupe: a binational study. *Journal of Food Protection*, 67:713–720.
- Centers for Disease Control and Prevention. 1991. Multistate outbreaks of *Salmonella* serotype Poona infections associated with eating cantaloupe from Mexico. United States and Canada, 2000 - 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 51:1044-1047.

- Centers for Disease Control and Prevention. 2000. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks --United States, 1993-1997. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 49(SS01):1-51.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Guideline for hand hygiene in health care settings. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 51(No. RR-16):1-56.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2005. Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food -- 10 Sites, United States, 2004. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. Rep. 54:352-356.
- Clayton D.A., C.J. Griffith, P. Price and A.C. Peters, 2002. Food handlers' beliefs and self-reported practices. *Environmental Health Research*. 12:25-39.
- Cogan,T., Slader, J., Bloomfield,S. y Humphrey, T. 2002. Achieving hygiene in the domestic kitchen: the effectiveness of commonly used cleaning procedures. *Journal of Applied Microbiology*. 92:885-892.

- Cuellar, S. 2002. Marketing fresh fruit and vegetable imports in the United States: status, challenges and opportunities. Food Industry Management Program. Cornell University, Ithaca, NY 14853.
- Charbonneau, D., Ponte, J. y Kochanowski, B. 2000. A method of assessing the efficacy of hand sanitizers: use of real soil encountered in the food service industry. *Journal of Food Protection*. 63: 495 - 501.
- Food and Drug Administration. 1994. Tentative final monograph for healthcare antiseptic drug products; proposed rule. *Federal Register*. 59:31441-52.
- Feachem, R.G., D.J. Bradley, H. Garelick, and D.D. Mara. 1983. Sanitation and Disease. Wiley, New York.
- Gagliardi, J., Millner, P., Lester, G. y Ingram, D. 2003. On-farm and postharvest processing sources of bacterial contamination to melon rinds. *Journal of Food Protection*. 66: 82-87.

- Garrett, E. Gorny, J., Beuchat, L., Farber, N., Harris, L., Parish, M., Suslow, T. y Busta, F. 2003. Microbiological safety of fresh and fresh-cut produce: description of the situation and economic impact. Singh, R. COMPREHENSIVE REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY. *Institute of Food Technologists*. Vol. 2 (Supplement):13 -19.
- Gibson, L., Rose, J., Haas, C., Gerba, C. y Rusin, P. 2002. Quantitative assessment of risk reduction from hand washing with antibacterial soaps. *Journal of Applied Environmental Microbiology Symposium Supplement*. 92:136S – 143S.
- Girou, E., S. Loyeau, P. Legrand, F. Oppein, and C. Brun-Buisson. 2002. Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus handwashing with antiseptic soap: randomized clinical trial. *British Medical Journal*. 325:1-5.
- Haas, C., Rose, J. y Gerba, C. 1999. Quantitative microbial risk assessment. *John Wiley & Sons, Inc.* New York, N.Y.
- Harrington, C. and H. Walker. 1903. The germicidal action of alcohol. *Boston Medical and Surgical Journal*. 148:548-552.

- Kampf, G. and H. Löffler. 2003. Dermatological aspects of a successful introduction and continuation of alcohol-based hand rubs for hygienic hand disinfection. *Journal of Hospital Infection*. 55:1-7.
- Kapoor, C., C. Reddy, M. Krishnasastri, N. Surolia and A. Surolia. 2004. *Biochemical Journal*. 381:719-724.
- King, B.S., J.L. Tietyen and S.S. Vickner. 2000. Food and Agriculture: Consumer trends and opportunities. University of Kentucky Cooperative Extension Service. Disponible en el sitio web: <http://www.ca.uky.edu>
- Lang, M., Harris, L. y Beuchat, L. 2004. Evaluation of Inoculation Method and Inoculum Drying Time for Their Effects on Survival and Efficiency of Recovery of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* Inoculated on the Surface of Tomatoes. *Journal of Food Protection*, 67:732–741.
- Liao, C-H., and P.H. Cooke. 2001. Response to trisodium phosphate treatment of *Salmonella* Chester attached to fresh-cut green pepper slices. *Canadian Journal of Microbiology*. 47:25-32.

- Lin, C., Wu, F., Kim, H., Doyle, M., Michaels, B. y Williams, L. 2003. A comparison of hand washing techniques to remove *Escherichia coli* and Caliciviruses under natural or artificial fingernails. *Journal of Food Protection* 66:2296 - 2301.
- Lucier, G. y Lin, B. 2001. Sweet peppers: Sated by the bell. *Agricultural Outlook* / December 2001, Economic Research Service / USDA.
- Maier, R., Pepper, R. y Gerba, C. 2000. Environmental Microbiology. *Academic Press*.
- McDonell, G. and A. Russell. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 12:147-179.
- McNeil, S.A., C.L. Foster, S.A. Hedderwick, and C.A. Kauffman. 2001. Effect of hand cleansing with antimicrobial soap or alcohol-based gel on microbial colonization of artificial fingernails worn by health care workers. *Clinical Infectious Disease*. 32:367-372.

- Mead, P.S., L. Slutsker, V. Dietz, L.F. McCaig, J.S. Bresee, C. Shapiro, P.M. Griffin, and R.V. Tauxe. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease*, 5:607-619.
- MINITAB® Inc. 2004. Minitab Release version 14.1.
- Montville, R., Y. Chen and D.W. Schaffner. 2001. Glove barriers to bacterial cross-contamination between hands to foods. *Journal of Food Protection*, 64:845-849.
- Montville, R., Y. Chen and D.W. Schaffner. 2002. Risk assessment of hand washing efficacy using literature and experimental data. *International Journal of Food Microbiology*, 73:305-313.
- Mukherjee, A., D. Speh, E. Dyck and F. Diez-Gonzalez. 2004. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *Journal of Food Protection*, 67:894-900.
- Paulson, D. 1993. Evaluation of three microorganism recovery procedures used to determine hand wash efficacy. *Dairy Food Environmental and Sanitation*, 13:520 – 523.

- Penteado A.L., B.S. Eblen and A.J. Miller. 2004. Evidence of *Salmonella* internalization into fresh mangos during simulated postharvest insect disinfestation procedures. *Journal of Food Protection*. 67:181-184.
- Pietsch, H. 2001. Hand antiseptics: rubs versus scrubs, alcoholic solutions versus alcoholic gels. *Journal of Hospital Infections*. 48(Supplement A):533-536.
- Pittet, D. 2001. Improving adherence to hand hygiene practice: A multidisciplinary approach. *Emerging Infectious Disease*. 7:234-240
- Powell, D., Bobadilla, M., Whitfield, A., Griffiths, M. y Luedtke, A. 2002. Development, Implementation, and Analysis of an On-Farm Food Safety Program for the Production of Greenhouse Vegetables. *Journal of Food Protection*. 65:918-923.
- Rusin, P., S. Maxwell, and C. Gerba. 2002. Comparative surface-to-hand and fingertip-to-mouth transfer efficiency of gram-positive bacteria, gram-negative bacteria and phage. *Journal of Applied Microbiology*. 93:585-592.

- Siller, J., Báez, M., Sañudo, A. y Báez, R. 2002. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA. *Impresos Garo*. Culiacán, Sinaloa.
- Tauxe, R., H. Kruse, C. Hedberg, M. Potter, J. Madden, and K. Wachsmuth. 1997. Microbial hazards and emerging issues associated with produce; a preliminary report to the national advisory committee on microbiologic criteria for foods. *Journal of Food Protection*. 60:1400-1408.
- Tenorio, A.R., S.M. Badri, N.B. Sahgal, B. Hota, M. Matushek, M.K. Hayden, G.M. Trenholme, and R.A. Weinstein. 2001. Effectiveness of gloves in the prevention of hand carriage of vancomycin-resistant *Enterococcus* species by health care workers after patient care. *Clinical Infectious Disease*. 32: 826-829.
- Tortora, G., B. Funke and Case C. 1995. Microbiology: An introduction. *The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc.*
- Trampuz, A., and A. Widmer. 2004. Hand hygiene: a frequently missed lifesaving opportunity during patient care. *Mayo Clinical Proc.* 79:109-116.

- Viswanathan, P. and R. Kaur, 2001. Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *International Journal of Hygiene Environmental and Health*, 203:205-213.
- Widmer, A, 2000. Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub?. *Clinical Infectious Diseases*. 31: 136 – 143.
- Yoon, Y., J.D. Stopforth, P.A. Kendall and J.N. Sofos. 2004. Inactivation of *Salmonella* during drying and storage of Roma tomatoes exposed to predrying treatments including peeling, blanching, and dipping in organic acid solutions. *Journal of Food Protection*, 67:1344-1352.
- Zagory, D. 1999. Sanitation concerns in the fresh-cut fruit and vegetable industry. *Food processors sanitation workshop*. University of California.

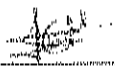
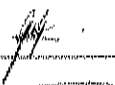


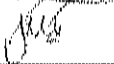
ANEXOS

Anexo I. Carta de Participación Voluntaria

Por medio de la presente hago de su conocimiento que estoy interesado en participar voluntariamente en el proyecto de investigación titulado "Transferencia de *Salmonella ser. Typhimurium* entre Manos y Pimientos Verdes y su Interrupción".

Para ello, fui informado detalladamente acerca de la naturaleza del experimento y recibí un entrenamiento personal acerca de las técnicas que se utilizarán, así como de los procedimientos de desinfección de manos al terminar los ensayos.

Además se me proporcionó información clara acerca de los posibles riesgos a los que estaré expuesto, por lo que es mi responsabilidad seguir los procedimientos estrictamente.

Sujeto 1	Nombre <u>Yadhira Lopez Pantoja</u>	Firma <u></u>
Sujeto 2	Nombre <u>J. Marcelo Soto Beltrán</u>	Firma <u></u>
Sujeto 3	Nombre <u>Lopez Cuevas Osvaldo</u>	Firma <u></u>
Sujeto 4	Nombre <u>Dalia Mariana Ordóñez</u>	Firma <u></u>
Sujeto 5	Nombre <u>Victor Manuel Arana Alarcón</u>	Firma <u></u>