

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA**



**DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CARGA
BACTERIANA EN MANOS DE OPERARIOS POR MEDIO
DE DOS MÉTODOS PARA TOMA DE MUESTRAS EN
PLANTA DE LÁCTEOS EN ESCUINTLA**

LUCY GABRIELA DÁVILA HERNÁNDEZ

LICENCIADA EN ZOOTECNIA

GUATEMALA, MAYO DE 2024

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA**



**DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CARGA BACTERIANA EN
MANOS DE OPERARIOS POR MEDIO DE DOS MÉTODOS PARA
TOMA DE MUESTRAS EN PLANTA DE LÁCTEOS EN ESCUINTLA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
POR**

LUCY GABRIELA DÁVILA HERNÁNDEZ

Al conferírsele el título profesional de

Zootecnista

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2024

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	M.A. Rodolfo Chang Shum
SECRETARIO:	M.Sc. Lucrecia Emperatriz Motta Rodríguez
VOCAL I:	M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III:	M.V. Edwin Rigoberto Herrera Villatoro
VOCAL IV:	Br. Cesar Francisco Monzón Castellanos
VOCAL V:	P. Agr. Jorge Pablo Rosales Roca

ASESORES

Dra. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ
M.Sc. SERGIO ANTONIO HERNÁNDEZ DE LA
ROCA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En el cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CARGA BACTERIANA EN MANOS DE OPERARIOS POR MEDIO DE DOS MÉTODOS PARA TOMA DE MUESTRAS EN PLANTA DE LÁCTEOS EN ESCUINTLA

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

LICENCIADA ZOOTECNISTA

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS:** Por permitirme amanecer cada día con su gracia y bendición, así como también por poder culminar esta fase académica de mi vida.
- A SAN JUDAS TADEO:** Por ser mi antecesor supremo ante Dios y bendecirme en cada etapa de mi vida concediéndome cada petición presentada ante él.
- A MI PAPÁ:** Esteban Leonel Dávila Apen, por su infinito amor y su apoyo incansable durante todos estos años, sé que fue un trayecto más largo de lo esperado, pero siempre confiaste en mí, estuviste con toda tu paciencia, confianza y ánimos. Gracias.
- A MI MAMÁ:** Pauli de Jesús Hernández Rivera, por ser siempre un ejemplo de lucha y superación día a día demostrando que cuando se quiere alcanzar una meta, se lucha hasta el último momento. Gracias por todo su amor y apoyo incondicional.
- A MI HERMANA:** Paola Beatriz Dávila Hernández, por cada consejo a lo largo de este trayecto, ser también un ejemplo de inteligencia, perseverancia y superación académica. Gracias por su apoyo infinito y amor incondicional.
- A MI SOBRINA:** Valery Alessandra López Dávila, por su amor infinito y llegar a nuestro hogar llenándolo de felicidad, dicha y mucha alegría.
- A MI FAMILIA:** Por acogerme siempre con todo el amor.

AGRADECIMIENTOS

**A LA TRICENTENARIA
UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA:**

Alma mater que formó la profesional que soy hoy en día.

**FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y
ZOOTECNIA:**

Mi casa de estudios donde crecí como persona y preparé para afrontarme al mundo profesional.

A MIS ASESORES:

Dra. Jacqueline Escobar Muñoz y M.Sc. Sergio Antonio Hernández De la Roca, por su paciencia, aportes, apoyo y consejos durante la realización de mi tesis.

**A MI PROMO DE LA
ESCUELA DE ZOOTENIA:**

Fueron y serán parte de mi familia, me mostraron que la unión y apoyo hacen la fuerza.

A MIS AMIGOS:

Tanto en la Escuela de Veterinaria como en la Escuela de Zootecnia conocí personas que siempre vivirán en mi corazón, fueron ángeles que la vida puso en mi camino.

A GABRIELLE PELLECCER:

Eres la mejor persona y amiga que este trayecto de estudios pudo dejarme, espero podamos continuar compartiendo vivencias y experiencias por mucho tiempo más. Te quiero mucho.

**A LA PLANTA DE LÁCTEOS
Y SU PERSONAL:**

Al haberme permitido realizar este estudio comparativo en sus instalaciones, por su apoyo y confianza. En especial a Fabiola y Mayte.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	4
III. OBJETIVOS	5
3.1 General	5
3.2 Específicos.....	5
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	6
4.1 Sector lácteo en Guatemala.....	6
4.2 Consumo de queso fresco	7
4.3 Inocuidad y calidad de un alimento	8
4.4 Buenas prácticas de manufactura.....	9
4.5 Procedimientos operativos estándar de saneamiento (POES)	10
4.6 Microbiota cutánea.....	11
4.6.1 Microbiota residente	12
4.6.2 Microbiota transitoria	12
4.7 Lavado y desinfección de manos en operarios	12
4.8 Frecuencia del lavado de manos	14
4.9 Productos más recomendados en lavado de manos	16
4.10 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).....	17
4.11 Microorganismos indicadores de higiene más comunes relacionados con ETA's.....	18
4.12 Coliformes fecales	18
4.13 <i>Escherichia coli</i>	19
4.14 <i>Staphylococcus aureus</i>	19
4.15 Métodos de muestreo.....	20
4.15.1 Método de hisopado en manos.....	20
4.15.2 Método de enjuague en manos.....	22
V. MATERIALES Y MÉTODOS	24
5.1 Materiales y equipo.....	24

5.1.1	Recurso Humano.....	24
5.1.2	Recursos de Oficina	24
5.1.3	Recursos de Tipo Biológico.....	24
5.1.4	Recursos para Siembra de Laboratorio.....	24
5.1.5	Equipo de laboratorio	25
5.2	Metodología	25
5.2.1	Tipo de Estudio	25
5.2.2	Localización.....	25
5.2.3	Tipo de muestreo y tamaño de la muestra	26
5.2.4	Análisis de resultados.....	34
5.2.5	Análisis financiero.....	35
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
6.1	Resultados coliformes totales	37
6.2	Resultados <i>Escherichia coli</i>	40
6.3	Resultados <i>Staphylococcus aureus</i>	44
6.4	Análisis estadístico	47
6.4.1	Efectividad de ambos métodos para recuperación de bacterias	49
6.5	Análisis financiero	52
VII.	CONCLUSIONES.....	54
VIII.	RECOMENDACIONES	55
IX.	RESUMEN	56
	SUMMARY	57
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
XI.	ANEXOS	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1

Productos más recomendados para el lavado de manos..... 16

Cuadro No. 2

Ventajas y desventajas del método del hisopado en manos..... 21

Cuadro No. 3

Ventajas y desventajas del método de enjuague en manos..... 22

Cuadro No. 4

Interpretación de resultados de acuerdo a los límites
microbiológicos..... 35

Cuadro No. 5

Resultados obtenidos de la siembra bacteriológica de coliformes totales utilizando
dos métodos para toma de muestras..... 37

Cuadro No. 6

Resultados obtenidos de la siembra bacteriológica de *Escherichia coli* utilizando
dos métodos para toma de muestras..... 41

Cuadro No. 7

Resultados obtenidos de la siembra bacteriológica de *Staphylococcus aureus*
utilizando dos métodos para toma de muestras 44

Cuadro No. 8

Ventajas y desventajas al utilizar el método del hisopado para toma de muestras
en manos de operarios..... 48

Cuadro No. 9

Ventajas y desventajas al utilizar el método del enjuague para toma de muestras en manos de operarios..... 49

Cuadro No. 10

Sumatoria de carga bacteriana cuantificada en término UFC por cada método utilizado..... 50

Cuadro No. 11

Comparación de precios unitarios de ambos métodos de toma de muestras..... 53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1

Determinación de coliformes totales en 32 muestras de manos de operarios utilizando dos métodos para toma de muestras..... 38

Figura No. 2

Determinación de *Escherichia coli* en 32 muestras de manos de operarios utilizando dos métodos para toma de muestras..... 42

Figura No. 3

Determinación de *Staphylococcus aureus* en 32 muestras de manos de operarios utilizando dos métodos para toma de muestras..... 45

Figura No. 4

Efectividad de cada método para recuento de microorganismos en manos de operarios..... 50

I. INTRODUCCIÓN

Un pilar fundamental en la inocuidad de la producción de alimentos es la higiene de manos de las personas que manipulan desde la materia prima hasta el producto terminado. Contar con una correcta higiene de manos puede ser la pieza clave para obtener un producto alimenticio integro, inocuo y por consiguiente con un tiempo de vida útil más prolongado, elevando de esta manera su calidad. El desconocimiento sobre la inocuidad, por parte de quienes elaboran alimentos, se considera como el factor que más contribuye a las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), al consumir alimentos contaminados por bacterias, parásitos, virus y hongos (Colmenárez et al., 2015).

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) son provocadas por la ingestión de alimentos que generalmente presentan microorganismos patógenos e incluso en algunas ocasiones sustancias químicas. Entre los microorganismos patógenos más comunes se encuentran: coliformes totales, coliformes fecales, enterobacterias, enterococos o estreptococos fecales. La incidencia de estas enfermedades es un indicador directo de la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos planteando una amenaza para la salud y poniendo en peligro la vida de gran cantidad de individuos (Ruiz, 2019).

Dentro de los múltiples productos derivados de la leche se puede encontrar el queso fresco que posee alta aceptación dentro de la alimentación diaria de los guatemaltecos, tanto por su precio accesible, como por su sabor aceptable y combinación con variedad de comidas, siendo además fuente importante de proteínas, grasas, agua, sales minerales y vitaminas indispensable para el organismo (García, 2000). Es un producto lácteo elaborado a partir de leche cruda, sin madurar, que está listo para el consumo al finalizar el proceso de fabricación (Merchán et al., 2018).

Sin embargo, cabe resaltar que durante la elaboración de este producto lácteo existen una serie de medidas básicas de higiene que deben ser puestas en

práctica para evitar así, la adición al queso de algún de tipo de contaminante principalmente bacteriano que se pueda encontrar en las manos del personal que lo está manipulando. Como guía para dichas medidas básicas de higiene que deben ser puestas en práctica se cuenta con las buenas prácticas de manufactura (BPM), las cuales constituyen un conjunto de principios básicos y prácticas generales de higiene que tienen la finalidad de garantizar la manipulación, preparación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos para el consumo humano, disminuyendo así los riesgos de contaminación o daño a lo largo de la cadena alimentaria y la producción.

Barrios (2006) expresa que los derivados lácteos ocupan el quinto lugar entre los alimentos que son causantes de ETA's entre países centroamericanos, ya que son alimentos que por su alto contenido nutricional y bajo costo son consumidos comúnmente por la población. Por lo cual es necesario mantener un control más cercano y estricto de algunas bacterias indicadoras de higiene de importancia en la industria láctea, dentro de las cuales están: coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Como una herramienta para control de bacterias indicadoras y potencialmente patógenas en las manos de treinta y dos personas que elaboran queso fresco en una planta de lácteos del departamento de Escuintla, se utilizaron dos pruebas de muestreo las cuales son: el método de hisopado y el método de enjuague de manos.

El método de hisopado en manos es un procedimiento de raspado que consiste en frotar con un hisopo estéril el cual debe estar previamente humedecido en una solución diluyente, un área determinada para muestreo (MINSA, 2007). El objetivo de este método se basa en conocer la carga microbiana en una superficie determinada en un volumen conocido de líquido. Por su parte, el método de enjuague consiste en utilizar una solución diluyente para realizar un lavado o inmersión y de esta manera recoger los microorganismos presentes en las

superficies a muestrear. Ambos métodos pueden ser utilizados en superficies vivas (manos) y para superficies inertes como interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.

La finalidad de este estudio comparativo entre ambos métodos consistió en la detección de las siguientes bacterias: coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* así como, su cuantificación. Los resultados obtenidos fueron de vital importancia, puesto que fueron necesarios para implementar medidas de higiene correctivas en manos de los operarios. De la misma manera, se realizaron recomendaciones sobre cuál de los dos métodos es más efectivo al ser utilizado en laboratorio. Contribuyendo con información para una producción de alimentos aptos para consumo humano que estén dentro de estándares de calidad e inocuidad previniendo intoxicaciones alimenticias relacionadas al consumo de lácteos.

II. HIPÓTESIS

Existe diferencia significativa en recuento de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* entre el hisopado de manos con hisopo comercial con caldo Lethen y el enjuague de manos con agua peptonada en bolsa whirl-pak.

III. OBJETIVOS

3.1 General

- Evaluar la calidad higiénica de las manos del personal manipulador de leche pasteurizada en planta de lácteos ubicada en el departamento de Escuintla.

3.2 Específicos

- Cuantificar la carga bacteriana de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en términos de UFC/ambas manos, en manos del personal que elabora quesos por medio de recuentos bacteriológicos en placa.
- Identificar el crecimiento bacteriológico de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en las placas de lectura rápida utilizando el método diferencial en medio de cultivo cromogénico.
- Determinar el método de toma de muestras económicamente más rentable por medio de estadística descriptiva sobre precio total.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Sector lácteo en Guatemala

El sector lácteo es reconocido por su contribución al desarrollo de actividades económicas locales ligadas a los procesos productivos de extracción, procesamiento, industrialización y comercialización de la leche y sus derivados; los cuales propician la generación de empleo y añaden valor agregado durante todo el proceso productivo, principalmente cuando logran ascender a través del comercio internacional en mercados con estándares de consumo más exigentes (SIECA, 2017, p. 01).

Actualmente en el país se produce 1 millón cuatrocientos mil litros diarios de leche, siendo equivalente a una producción de 511 millones de litros al año. Cabe resaltar la creciente producción de leche de búfala y cabra en el país. Sin embargo, las cifras apuntan que Guatemala posee uno de los consumos de leche y productos lácteos más bajos a nivel latinoamericano, estimado a penas 60 litros por persona, cuando la recomendación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), es de por lo menos 160 litros por cada habitante (Ministerio de Economía [MINECO], 2019).

La leche es un alimento completo por ser fuente de minerales (calcio, fósforo y magnesio) y proteínas que son esenciales para el desarrollo y crecimiento. Por ello, es consumida frecuentemente por el ser humano (Buendía, 2015). El consumo regular de leche aporta múltiples beneficios entre los que cabe resultar los siguientes:

- Prevención de osteoporosis debido a su alto contenido de calcio.
- Disminución del valor en sangre del ácido úrico, facilitando su eliminación a través de la orina.
- Incremento de la microbiota intestinal, lo que favorece a la síntesis de las vitaminas del complejo B.

4.2. Consumo de queso fresco

El queso es un alimento universal que se produce en casi todas las regiones del mundo, obtenido a partir de leche la cual puede provenir de diversas especies de mamíferos como lo son: vaca, cabra, oveja y búfala. Se encuentra entre los mejores alimentos para consumo del hombre, no solamente por cualidades nutricionales, sino también en razón de las cualidades organolépticas extremadamente variadas que lo caracterizan. En el territorio guatemalteco el queso fresco es consumido por gran cantidad de la población, por ser un alimento muy completo, fuente de calcio, fósforo, proteínas, grasa y vitaminas.

La inocuidad y la calidad tanto de la leche como de sus productos se encuentran asociados a la contaminación y multiplicación de microorganismos. Por esta razón se considera que durante la elaboración de los mismos se deben tener en cuenta diversos aspectos que van desde una materia prima libre de parásitos, microorganismos y sustancias tóxicas hasta las manos de las personas que moldean el producto. Los manipuladores u operarios deben lavarse las manos frecuentemente, ya que pueden provocar alguna contaminación en la materia prima durante el proceso de elaboración (Barrios, 2006). Lo más recomendable siempre será la capacitación sobre BPM en las que pueda dejarse claro lo indispensable que se hace el lavado de manos constante utilizando un agente de limpieza adecuado.

Debe realizarse un correcto lavado de manos antes de iniciar el trabajo, inmediatamente después de haber hecho uso de los servicios sanitarios, después de haber manipulado material contaminado y todas las veces que las manos se vuelvan un factor contaminante (Barrios, 2006).

4.3. Inocuidad y calidad de un alimento

La inocuidad es el conjunto de características de los alimentos que garantizan que sean aptos para el consumo humano. Esta exige el cumplimiento de una serie de condiciones y medidas necesarias durante la cadena agroalimentaria hasta el consumo y aprovechamiento de los mismos, asegurado que una vez ingeridos no representen un riesgo que perjudique la salud. Los peligros transmitidos por los alimentos pueden ser de naturaleza microbiológica, química o física y con frecuencia son invisibles a simple vista (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2021). En conclusión, la inocuidad de los alimentos juega un papel fundamental a la hora de garantizar la seguridad y calidad de los alimentos en cada etapa de la cadena alimentaria.

Ahora bien, la calidad puede definirse como el conjunto de propiedades y características de un alimento que satisfacen las necesidades declaradas explícitas e implícitas esperadas por los consumidores (Zavala, 2011). Siendo las expectativas explícitas las esperadas por el consumidor como olor, sabor, color, tamaño y textura. Mientras que en las implícitas se encuentra lo que el consumidor no contempla, sin embargo, se encuentra establecido en un marco legal como lo es el no causar daño a la salud del que consume el producto.

La calidad en la industria alimentaria se encuentra ligada a principios básicos, que incluyen entre otros, prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, almacenamiento, transporte y distribución de los alimentos para el consumo humano (Ortíz, 2012). Como parte de la evaluación de la inocuidad y calidad de los alimentos se cuenta en Guatemala con las buenas prácticas de manufactura, conocidas también por sus siglas BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) (Ramírez, 2015). Así mismo, se cuenta con una serie de sistemas de aseguramiento de la calidad sanitaria de los alimentos adicionales a las Buenas Prácticas de Manufactura como lo son: los procedimientos operativos

estándar de saneamiento (POES) y el sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC o HACCP) (Food and Agriculture Organization [FAO], 2001).

4.4. Buenas prácticas de manufactura

Las BPM constituyen las políticas, procedimientos y métodos que se establecen como una guía para ayuda a los fabricantes de alimentos a implementar programas de inocuidad. Tienen que ser de carácter general y proveer los procedimientos básicos que controlen las condiciones de operación dentro de una planta y aseguran que las condiciones son favorables para la fabricación y producción de alimentos seguros (Ramírez, 2015). Las empresas que implementan y certifican su sistema de BPM generan confianza en el consumidor al minimizar la probabilidad de ocurrencia de una Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA) (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria [OIRSA], 2017).

La utilización de las buenas prácticas de manufactura es considerada una herramienta muy importante involucrando a todas las personas que tienen intervención durante el proceso de elaboración del alimento, quienes deben cumplir con ciertas condiciones, desde aspectos personales hasta hábitos. Cabe mencionar que una de las grandes ventajas de aplicar las BPMS influye en la reducción de costos, evitando pérdidas de productos por alteraciones o descomposición derivadas de diversos contaminantes.

Para garantizar la seguridad alimentaria y evitar la contaminación cruzada, el personal que trabaja en plantas de procesamiento de alimentos debe cumplir con algunas normas escritas de limpieza e higiene como por ejemplo:

- El personal de la planta debe contar con uniformes adecuados a las operaciones a realizar como guantes, botas, gorros, mascarillas, el

calzado debe ser cerrado antideslizante e impermeable y en buen estado.

- Todo el personal manipulador de alimentos debe lavarse las manos con agua y jabón antes de comenzar el trabajo, cada vez que salga y regrese del área asignada, cada vez que use los servicios sanitarios y después de manipular cualquier material u objeto que pudiese representar un riesgo de contaminación para el alimento.
- Mantener el cabello cubierto totalmente mediante malla u otro medio efectivo, debe tener uñas cortas y sin esmalte, no deberá portar joyas o bisutería, debe laborar sin maquillaje. En caso de llevar barba, bigote o patillas anchas, debe usar protector de barba desechable o cualquier protector adecuado.
- El personal que manipula u opera alimentos debe someterse a un examen médico antes de desempeñar su función dentro de la planta y de manera periódica, la planta debe mantener chequeos médicos.
- Se debe tener una medida especial con el personal del que no se tenga certeza si está padeciendo o no, una enfermedad infecciosa susceptible de ser transmitida por alimentos o que presente heridas infectadas o irritaciones en la piel.

Por su parte, la ONU (2021) considera importante también la implementación de Procedimientos Operativos Estándar de Sanitización (POES), ya que proporcionan los lineamientos para hábitos higiénicos de los manipuladores, capacitación constante, un correcto almacenamiento de materias primas, entre otros.

4.5. Procedimientos operativos estándar de saneamiento (POES)

Los POES son aquellos procedimientos que describen las tareas de limpieza y desinfección destinadas a mantener o restablecer las condiciones de higiene de un local alimentario, equipos y procesos de elaboración para prevenir la aparición

de enfermedades transmitidas por alimentos (Programa Nacional Integrado de Calidad Alimentaria, 2018). Estos programas deben contener los procedimientos que comprendan los métodos de limpieza y desinfección, la frecuencia con la que se realizan, así como los responsables de llevarlos a cabo. Para que los mismos tengan mayor validez y puedan estar elaborados de una manera más completa se aconseja que sea elaborado y aprobado por diferentes personas, siempre y cuando, tengan relación directa con toda cadena de producción del alimento. Cabe resaltar que la redacción debe presentarse de forma clara, precisa y con detalle facilitando así su correcta comprensión y aplicación.

El control de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), se puede lograr mediante la implementación de las BPM, sin embargo, a través de la aplicación de los Procedimientos Operativos Estándar de Sanitización (POES) se proporcionan los lineamientos para hábitos higiénicos de los manipuladores, capacitación constante, un correcto almacenamiento de materias primas y productos terminados, unas adecuadas condiciones locativas, entre otros (Ortíz, 2012).

Los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento, deben estar documentados, pues, cada establecimiento u organización debe elaborar su propio manual de POES, donde debe detallarse los programas de limpieza y desinfección planificada para cada área, así como también las acciones correctivas y la frecuencia con las que se realizarán, a fin de, prevenir la contaminación directa o la adulteración de los productos alimenticios, y consecuentemente, asegurar la inocuidad del producto que se elabora en la industria.

4.6. Microbiota cutánea

En la piel y mucosas habitan de manera natural numerosos microorganismos, fundamentalmente, bacterias, hongos, ácaros y virus. A estas comunidades de microorganismos que residen en la piel se les conoce como microbiota cutánea. En condiciones normales, esta microbiota mantiene el equilibrio

entre sus diferentes integrantes y con el medio en el que residen, constituyendo un complejo ecosistema (Elizari, 2020). Desarrollando así, la barrera del sistema inmunológico que protege a nuestra piel.

La microbiota de la piel suele dividirse en dos tipos:

4.6.1. Microbiota residente

Formada por microorganismos que se encuentran habitualmente en la piel de la mayoría de las personas. Es difícil de eliminar con un lavado rutinario de manos, debiendo utilizarse para ello jabones con productos antisépticos (Platino, 2010).

4.6.2. Microbiota transitoria

Denominada también contaminante o “no colonizante”. Constituida por microorganismos que contaminan la piel accidentalmente, no encontrándose en ella de forma habitual. Su importancia radica en la facilidad con la que se transmite. Algunos microorganismos de la microbiota transitoria pueden tener gran poder patógeno. Se elimina fácilmente por medios mecánicos, como es el lavado de manos habitual o la aplicación de un antiséptico (Platino, 2010).

4.7. Lavado y desinfección de manos en operarios

La importancia de la higiene de manos, con la finalidad de evitar la transmisión de enfermedades infecciosas, se remonta al año 1840, con Oliver Wendel Holms (Domínguez et al., 2021). La posibilidad de la prevalencia en manos de bacterias patógenas es bastante elevada, entre las que más se destacan se encuentran: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomona* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium* spp., entre otras.

La transmisión de microorganismos patógenos hacia los alimentos por medio de las manos de las personas que los manipulan en muchas situaciones y ocasiones es inminente; Soto & Urrelo (2021), realizaron un estudio en un mercado de Perú,

que tuvo como objetivo determinar la cantidad de microorganismos patógenos (coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, bacterias heterótrofas y hongos) presentes en las manos de manipuladores de alimentos, así como conocer qué tipo de microorganismo está en mayor proporción. Utilizando el método del enjuague fueron obtenidas 30 muestras cuyos resultados determinaron que, las bacterias como el *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y *E. coli*, presentes en las manos de los manipuladores de alimentos superaban los límites máximos permisibles.

La correcta higiene de manos en el personal de la industria alimentaria es uno de los puntos claves cuando se quiere controlar la contaminación cruzada evitando que los microorganismos lleguen a los alimentos, en concreto la higiene en manos puede evitar una contaminación cruzada indirecta, que es la producida por la transferencia de microorganismos hacia los alimentos por medio del personal y de los equipos utilizados durante su proceso de elaboración, los cuales son considerados los dos vehículos más frecuentes de transmisión de microorganismos a los alimentos.

Debido a que las manos de los operarios son uno de los principales vehículos a través de los cuales se producen contaminaciones cruzadas, el lavado y desinfección frecuente de las manos es crucial, y la ausencia del hábito de mantener una higiene de manos correcta constituye un problema. El trabajo con alimentos implica el contacto de las manos con los productos, de ahí que su higiene deba extremarse al máximo, cuidando especialmente la zona de las uñas. De hecho, las manos son una de las partes de la piel donde se concentra un mayor número de microorganismos (Sabater, 2019).

En consecuencia, de lo anteriormente expuesto, es de suma importancia fomentar en el personal de una planta para elaboración de alimentos el lavado de manos que puede ser realizado correctamente siguiendo cinco sencillos pasos siendo los siguientes:

1. Mojar ambas manos hasta la altura de los codos con uso de agua potable, cerrar el grifo para la aplicación de jabón.
2. Enjabonar las manos y brazos frotándolos con el jabón. En este paso del lavado de manos se debe enjabonar el dorso de las manos, frotar delicadamente entre los dedos y debajo de las uñas.
3. Frotar las manos como mínimo durante 20 segundos.
4. Enjuagar ambas manos con abundante agua.
5. Secar las manos preferiblemente con toallas de papel.

Deben colocarse lavamanos en lugares estratégicos. Se deben equipar con agua potable a temperatura adecuada y en cantidad suficiente, jabón y elementos de secado. No se debe permitir el uso de toallas de tela (Mosquera & Crujeira, 2010). Actualmente no hay evidencia científica para determinar si secar las manos con una toalla limpia o un secador de manos es más eficaz para reducir los microbios en las manos. Ambas son maneras eficaces de secar las manos. Los microbios se propagan más fácilmente cuando las manos están húmedas, de manera que es importante asegurarse de secarlas por completo, independientemente el método que utilice (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2022).

4.8. Frecuencia del lavado de manos

Es fundamental tener en cuenta la frecuencia con la que se debe realizar el lavado de manos y explicarlo a los operarios para evitar que pasen por alto alguno de estos momentos:

- Antes de comenzar la jornada laboral.
- Cuando se realizan descansos o ausencias de la línea de trabajo.
- Posterior a tocar algún objeto que no pertenezca al área de trabajo como puede ser un teléfono, llaves o dinero en efectivo.
- Cuando se han utilizado los servicios sanitarios.
- Posterior a tocar otros alimentos, sobre todo si se encuentran crudos.

- Posterior a tener contacto con el pelo, la nariz, la boca o alguna otra parte del cuerpo.
- Cuando se ha estornudado o al toser.

En el Cuadro No. 1, pueden observarse detalladamente los productos más recomendados para realizar un correcto lavado de manos, así mismo, la forma correcta de tu aplicación.

4.9. Productos más recomendados en lavado de manos

Cuadro No. 1. Productos más recomendados para el lavado de manos.

Producto	Aplicación
Jabón líquido normal	Tiene como propósito la eliminación de suciedad física y microorganismos pertenecientes a la microbiota transitoria, creando una acción mecánica principalmente o de arrastre. Al carecer de actividad bactericida no elimina la microbiota residente.
Jabón antimicrobiano	Este jabón contiene sustancias activas que combaten la microbiota habitual o residente de la piel. Siendo efectivo para eliminar la microbiota transitoria y disminuir la microbiota residente.
Soluciones alcohólicas	Son utilizadas generalmente en concentraciones no superiores al 70% para minimizar la sequedad de la piel, así como problemas de dermatitis. Estas soluciones son efectivas para eliminar tanto la microbiota residente como la transitoria. Esta capacidad se atribuye a la desnaturalización de proteínas resultando ser de los productos más efectivos para el lavado de manos.

Fuente: elaboración propia.

4.10. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs)

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son provocadas por la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, y representan una importante carga de mortalidad y morbilidad (Fernández et al., 2021) un problema de salud pública, se caracterizan por ser generalmente de carácter infeccioso o tóxico teniendo su origen en agentes patógenos como bacterias, virus y/o parásitos presentes en cantidades excedentes en alimentos o bebidas consumidas por el ser humano de tal manera que causen enfermedades a su huésped. Estas enfermedades se caracterizan por una variedad de síntomas gastrointestinales, como náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y fiebre; en algunos casos se pueden presentar complicaciones severas, como sepsis, meningitis, abortos, síndrome de Reiter, síndrome de Guillan Barré o la muerte. (Linscott, 2011; Steniner, 2013).

Los microorganismos presentes en los alimentos pueden ser: de origen endógeno, es decir que se encuentran en el interior de las estructuras del alimento (presencia de *Salmonella* en huevos y carnes, o *Vibrio* en productos marinos) y de origen exógeno que se incorporan al alimentos durante su manipulación y procesado (los operarios o manipuladores son las fuentes más importantes de contaminación de alimentos, las cuales se encuentran en todas las etapas del procesado, obtención, transformación, almacenaje, distribución, etc) (Jerez, 2006). Cabe resaltar que de la misma manera los utensilios, superficies y equipos pueden ser foco de contaminación para los alimentos debido a una mala sanitización de los mismos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 600,000 personas enferman cada año por enfermedades transmitidas por los alimentos y 1,8 millones mueren. Desde este punto de vista, la leche y sus derivados son considerados alimentos de alto riesgo, relacionado a diversos factores y el deterioro de los productos a temperatura ambiente. Los microorganismos pueden presentarse en

cualquier variedad de alimentos, recordando que existe también la posibilidad de que los alimentos se hayan contaminado durante su producción o recolección. Otra causa de contaminación que puede ser observada se da a través del uso de utensilios que fueron previamente utilizados para preparar alimentos contaminados, lo que puede llevar a la contaminación cruzada de los alimentos que se preparan.

4.11. Microorganismos indicadores de higiene más comunes relacionados con ETA's

La presencia de altos recuentos de uno o más grupos de estas bacterias es de gran valor para determinar si el alimento ha sido procesado en condiciones que aseguren su higiene. Entre los microorganismos indicadores que pueden ser monitoreados se encuentran: mesófilos aerobios, mohos y levaduras, enterobacterias, coliformes y coliformes fecales.

Los patógenos que se transmiten por alimentos se estudian cada vez más, debido a la capacidad de mutación que tienen estos, lo que les permite una mayor capacidad de adaptación al ambiente en una gran diversidad de condiciones. Para la microbiología de alimentos es muy importante la caracterización y enumeración de cada uno de los patógenos (Balboa, 2022).

4.12. Coliformes fecales

Este grupo de bacterias pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios facultativos, fermentan la lactosa a 35 °C +/- 2°C con la producción de ácido y gas, catalasa positiva, móviles en su gran mayoría por medio de flagelos peritricos. Las bacterias de este grupo son: *Escherichia coli* y miembros de los géneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. Tienen una importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y alimentos (Rodríguez, 2018).

Los coliformes fecales se consideran indicadores de contaminación fecal de gran importancia debido a que se encuentran comúnmente en el tracto

gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente en cantidades abundantes. La presencia de estos indica una fuente de contaminación ambiental con inadecuada limpieza o condiciones insalubres.

4.13. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*), es una bacteria que pertenece al género de las enterobacterias y al grupo de los coliformes fecales, gram negativa de forma de bastón, no forma esporas, es aerobia y anaerobia facultativa y reduce los nitratos a nitritos (Chavarría, 2017). Fermentan la lactosa con producción de gas a una temperatura de 44 a 44.5° C +/- 2°C, son de vida libre y se transmiten por malos hábitos de manipulación en los alimentos (Valladares, 2007).

Su transmisión al humano puede presentarse en diferentes casos como, por ejemplo: consumo de alimentos contaminados directamente con la bacteria, por medio de animales portadores a personas sanas y por último la transmisión a los alimentos durante su proceso de transformación, preparación y en otros casos al utilizar agua contaminada.

4.14. *Staphylococcus aureus*

Es un microorganismo oportunista que forma parte de la microbiota de la piel y de las mucosas del hombre y de los animales causando intoxicaciones alimentarias frecuentes debido al consumo de alimentos en los que la bacteria se ha multiplicado y producido enterotoxinas (Ruiz, 2019). Muchas de las enfermedades alimentarias relacionadas a *Staphylococcus aureus* tiene su origen en la manipulación de los alimentos. Una de sus características principales es su resistencia a condiciones ambientales variadas, así como a su dificultad para ser erradicado, soportando condiciones extremas.

La toxina producida por *S. aureus* puede causar una intoxicación muy aguda en la cual se pueden presentar síntomas entre las 2 y las 12 horas posteriores a la

ingestión del alimento contaminado (Valladares, 2007). Las manifestaciones clínicas características, que en general cursan sin fiebre, comprenden náuseas, vómitos intensos, espasmo abdominal y diarrea. En algunos casos se observa moco y sangre en los vómitos o en las heces. El cuadro suele presentar una evolución favorable, con tendencia a la recuperación en 24-48 horas, aunque pueden producirse formas graves con hipotensión, hipotermia y shock (Jordá et al., 2012). Las condiciones que permiten la producción de la toxina se relacionan con contaminación, contaminación cruzada y/o recontaminación, en las operaciones de manipulación del alimento y no depende directamente de la materia prima (Aguas et al., 2017).

Alrededor de un 20% de las causas de las ETAs se deben a una deficiente higiene en los alimentos y un 14% a la contaminación cruzada, que es el proceso en el que los microorganismos son trasladados de un área sucia a otra área antes limpia (generalmente por un manipulador), de manera que se contaminan alimentos y superficies. Un inapropiado lavado de manos es la causa más frecuente de la contaminación cruzada (Ortíz, 2012).

4.15. Métodos de muestreo

4.15.1. Método de hisopado en manos

La importancia de realizar el hisopado de manos en manipuladores de alimentos recae en asegurar la calidad higiénica de los alimentos que están siendo producidos. El hisopado consiste en la técnica de arrastre de un hisopo de algodón estéril, aunque también, algunas marcas lo fabrican de dacrón, conocido por ser un textil a base poli-algodón con textura suave y ligera (generalmente sumergido en un diluyente estéril) por encima de la superficie que se desea analizar. En el Cuadro No. 2, se destacan algunas ventajas y desventajas del método de hisopado en manos que pueden ser tomadas en cuenta antes de optar por dicho método.

Cuadro No. 2. Ventajas y desventajas del método de hisopado en manos.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Presenta un bajo costo. • Amplia disponibilidad. • Adaptable a gran variedad de superficies (permite el muestreo de un área definida). 	<ul style="list-style-type: none"> • Variaciones individuales en la forma de aplicarla (resultados no reproducibles y gran variabilidad). • Los biofilms pueden o no ser arrastrados por el poliéster, o bien, quedar retenidos en el mismo. Dando resultados más bajos de lo esperado. • El transporte del hisopo debe ser en hielera, utilizando gel refrigerante para mantener una temperatura de entre 8-10°C.

Fuentes: (Salas, 2007)

4.15.1.1. Hisopo Swab-Sampler con caldo Letheen

Es un tubo de polipropileno con tapa rosca lleno de caldo de enriquecimiento. Los diferentes volúmenes de llenado (1ml, 4ml, 5ml o 10,ml) permiten su uso cualitativo y cuantitativo. Además permite realizar múltiples pruebas para la evaluación de diferentes tipos de microorganismos con una sola muestra, La tapa tiene unido un hisopo de 9 cm de longitud con punta de dacrón para un fácil muestreo, el tubo de 16x105 mm se sostiene solo o cabe en una gradilla estándar (Quios, 2023).

El caldo Letheen utilizado como diluyente y neutralizante, por su constitución le brinda mayor recuperación a los microorganismos que presentan algún deterioro de su pared celular, la peptona, el extracto de carne y la lecitina de soya, aportan

los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano como también tiene la capacidad para neutralizar desinfectantes compuestos de amonio cuaternario y cloruro de sodio (Galeano, 2017).

4.15.2. Método de enjuague en manos

Es un método microbiológico que se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc (Guillen, 2018). En el Cuadro No. 3, que se encuentra a continuación se detallan ventajas y desventajas del método de enjuague en manos, mismas que antes de optar por dicho método pueden ser tomadas en cuenta.

Cuadro No. 3. Ventajas y desventajas del método de enjuague en manos.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Preparación en el laboratorio. • Presenta bajo costo. 	<ul style="list-style-type: none"> • El transporte de la bolsa en la que se tomará la muestra, debe ser en hielera, utilizando gel refrigerante para mantener una temperatura de entre 8-10°C.

Fuente: Elaboración propia

4.15.2.1. Agua peptonada bufferada

Es un medio utilizado como pre-enriquecimiento de diversos microorganismos a partir de distintas muestras, puesto que, provee las condiciones necesarias para reparar células dañadas, debido a los distintos procesos que pasan los alimentos (Dubón, 2011). Es adecuado para disolver, suspender y diluir muestras de prueba de alimentos, alimentos para animales y otros materiales (Merck, 2023).

Por su parte García y colaboradores (2016) realizaron una evaluación de la microbiota transitoria en las palmas de las manos de hombres y mujeres de entre 20-23 años, en la universidad de Guanajuato. Desarrollando en el estudio una metodología para la cuantificación bacteriana de la superficie de las manos, implementando una metodología de hisopado directo para evaluar cuantitativamente las bacterias de la superficie palmar de las manos y la comparación con la metodología de enjuague así como el efecto de una solución neutralizante sobre dicho proceso. Se compararon ambas técnicas calculando las UFC/mano para microorganismos totales, enterobacterias y estafilococos, así como también para la validación de dichas metodologías se empleó un método de contaminación de manos con una carga bacteriana fija; se observó una eficiente recuperación en bajas concentraciones de microorganismos con el método de hisopado mientras que el de enjuague tuvo una mejor eficiencia en superficies palmares más contaminadas; en la metodología de contaminación de *E. coli* se observó que el lavado de manos previo a la toma de muestra afecta en el proceso de recuperación bacteriana aún en presencia de un agente neutralizante. Por lo anterior la metodología de hisopado permite una recuperación mayor en superficies palmares con carga bacteriana baja.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales y equipo

5.1.1. Recurso Humano

- Estudiante investigador
- Personal a muestrear
- Técnico de Laboratorio
- Asesores

5.1.2. Recursos de Oficina

- Libreta de apuntes
- Lapicero
- Computadora

5.1.3. Recursos de Tipo Biológico

- 32 muestras de hisopado de manos del personal
- 32 muestras de enjuague de manos del personal

5.1.4. Recursos para Siembra de Laboratorio

- 32 hisopos Swab-Sampler de 4 ml
- 32 frascos de laboratorio, vidrio de borosilicato 3.3 con tapón de rosca de rosca azul de 225 ml
- 7, 200 ml de Agua Peptonada Buferada
- 32 bolsas whirl-pak de 24 oz
- 256 tubos de ensayo de 20 ml
- Agua desmineralizada.
- 64 placas de Recuento de *E.coli*/coliformes 3M™ Petrifilm™
- 64 Placas Petrifilm™ Staph Express de 3M para Recuento de *Staphylococcus aureus*
- 1 caja de guantes de látex descartables
- Tips azules de 100 a 1000 uL

5.1.5. Equipo de laboratorio

- Campana de flujo laminar.
- Incubadora a 37 °C.
- Balanza.
- Micropipeta unicanal de 100 a 1000 uL.
- Gradilla.
- Autoclave.

5.2 Metodología

5.2.1. Tipo de Estudio

El estudio se basó en la comparación de dos diferentes métodos de toma de muestras para detección y cuantificación de carga bacteriana siendo el primero el uso de hisopo Swab-Sampler con caldo Lethen y el segundo el enjuague de manos con agua peptonada en las manos del personal manipulador de leche pasteurizada en planta de lácteos ubicada en el departamento de Escuintla.

La variable cuantitativa evaluada en el estudio fue la cantidad de UFC/ambas manos de bacterias coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mismas que fueron detectadas por medio de una siembra bacteriológica en Placas de Recuento de *E.coli*/coliformes 3M™ Petrifilm™ y Placas Petrifilm™ Staph Express de 3M para Recuento de *Staphylococcus aureus* en el laboratorio de microbiología de control de calidad ubicado dentro de la misma planta por medio del método diferencial en medio de cultivo cromogénico.

5.2.2. Localización

La toma de muestras y siembra bacteriológica se realizó en las instalaciones de una planta de lácteos ubicada en Escuintla.

5.2.3. Tipo de muestreo y tamaño de la muestra

Se realizó un muestreo conformado por 32 personas, siendo el 100% de los operarios que se encuentran en el área de producción. El personal que fue parte de la muestra tiene contacto directo con la materia prima durante todo su proceso de transformación. Cabe aclarar que, ambas manos de cada operario fueron tomadas como una misma muestra utilizando el procedimiento descrito en los numerales 5.2.3.1.1 y 5.2.3.1.2 de este estudio comparativo.

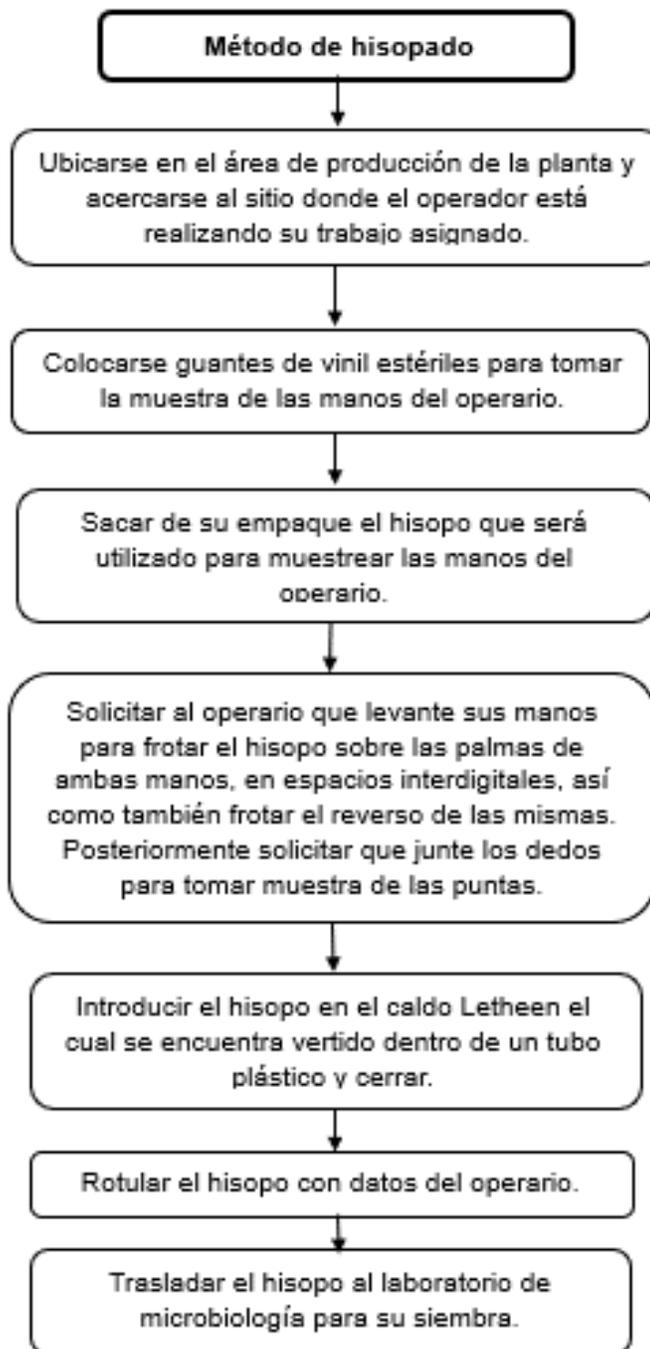
5.2.3.1 Recolección de las muestras

- Las muestras fueron tomadas cuando el personal tenía 2 horas de haber ingresado a sus labores en el área de producción.
- Por motivo que a cada operario se le tomaron muestras utilizando ambos métodos, primero fueron tomadas todas las manos por medio del hisopado y posteriormente todas las manos de operarios por medio del método de enjuague, según el orden que se encuentra estipulado en el cronograma de actividades.
- Cada muestra se identificó y trasladó al laboratorio de control de calidad para su siembra el mismo día que se realizó la toma.
- La lectura de resultados macroscópicos para bacterias coliformes totales y *Staphylococcus aureus* se realizó a las 24 horas posteriores a su siembra, mientras que la lectura de resultados macroscópicos para *Escherichia coli* se llevó a cabo transcurridas 48 horas de su siembra.

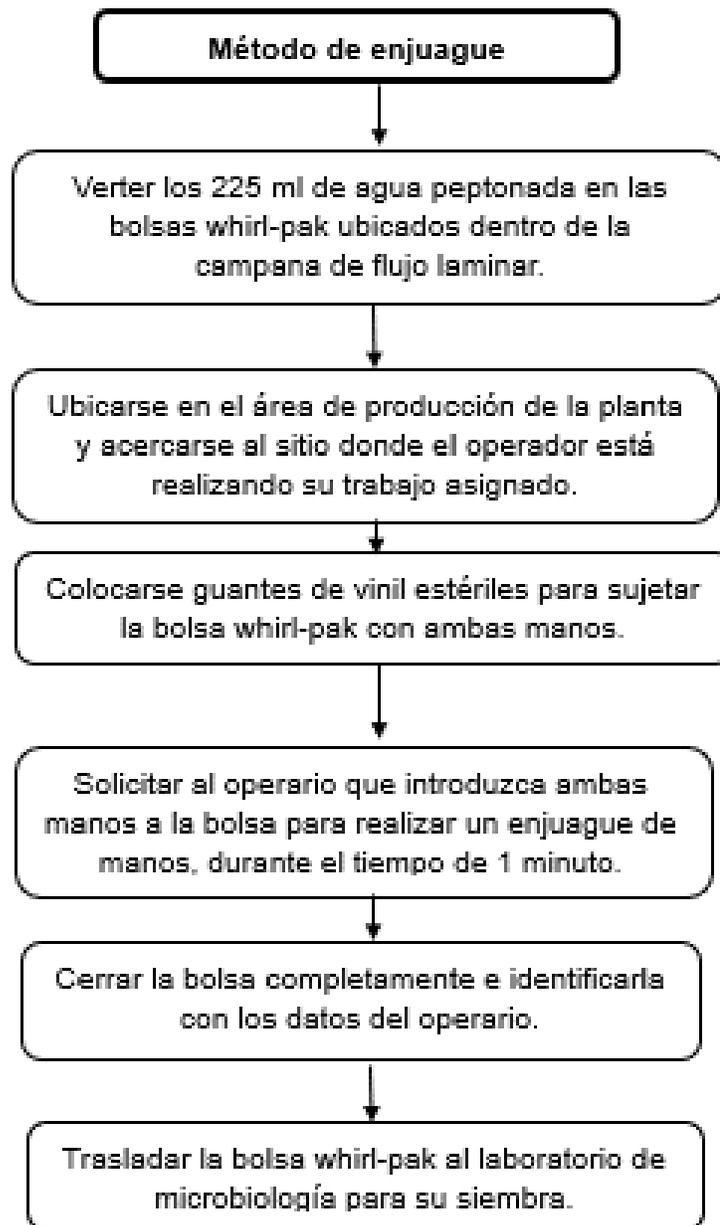
Durante la primera semana se recolectaron 24 muestras, en el transcurso de la segunda semana las 24 muestras siguientes y en la tercera semana fueron tomadas únicamente 16 muestras restantes para ser el total de 64 muestras. La decisión de distribuir la totalidad de las muestras de esta manera fue establecida en base a estrategias de horas laborales en el laboratorio de la planta de lácteos, horas

en las que se pueden realizar las siembras bacteriológicas, así como también, su respectiva lectura.

5.2.3.1.1. Método de hisopado en manos Hisopo Swab-Sampler con caldo Letheen.



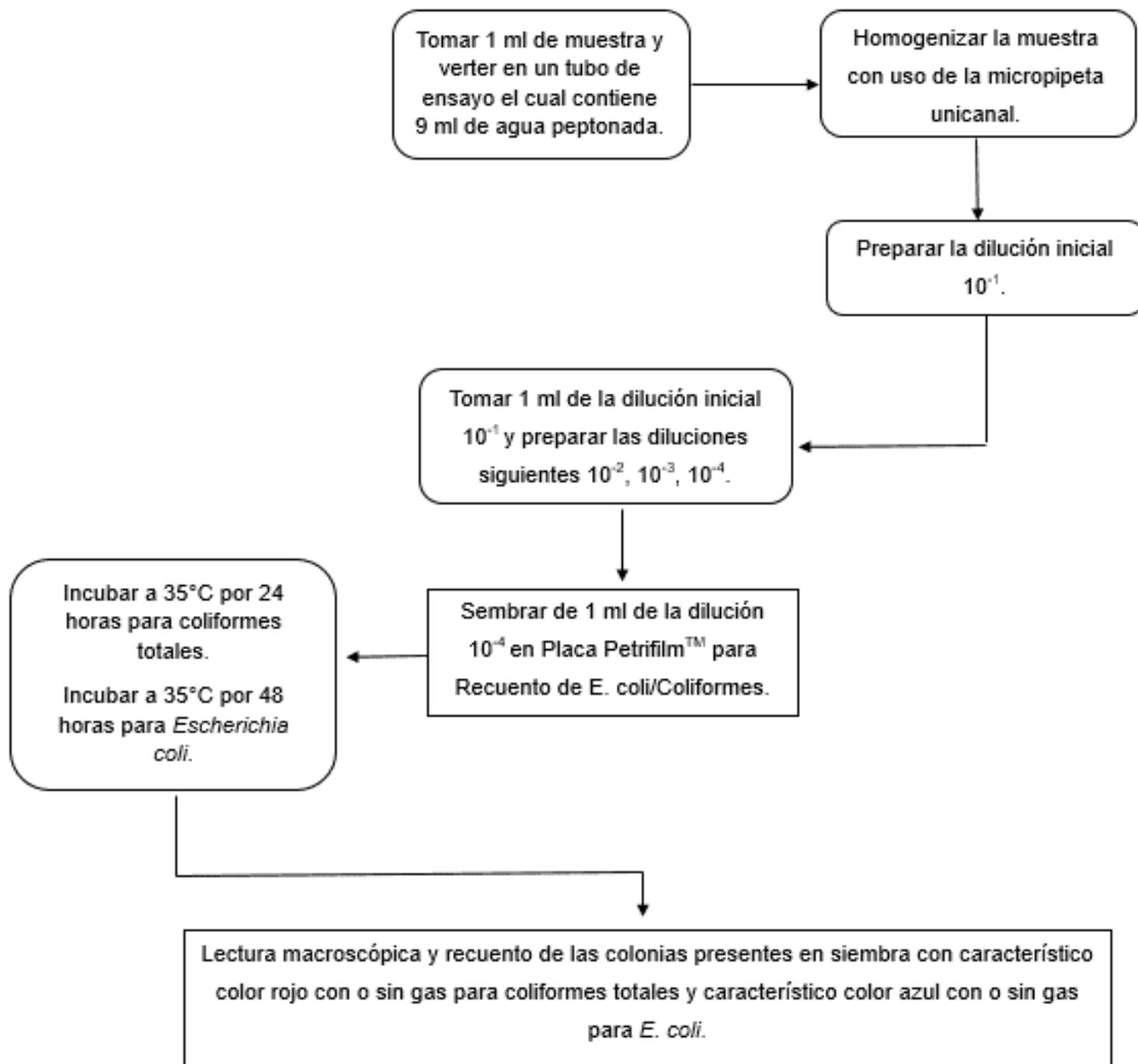
5.2.3.1.2. Método de hisopado en manos Método de enjuague en manos.



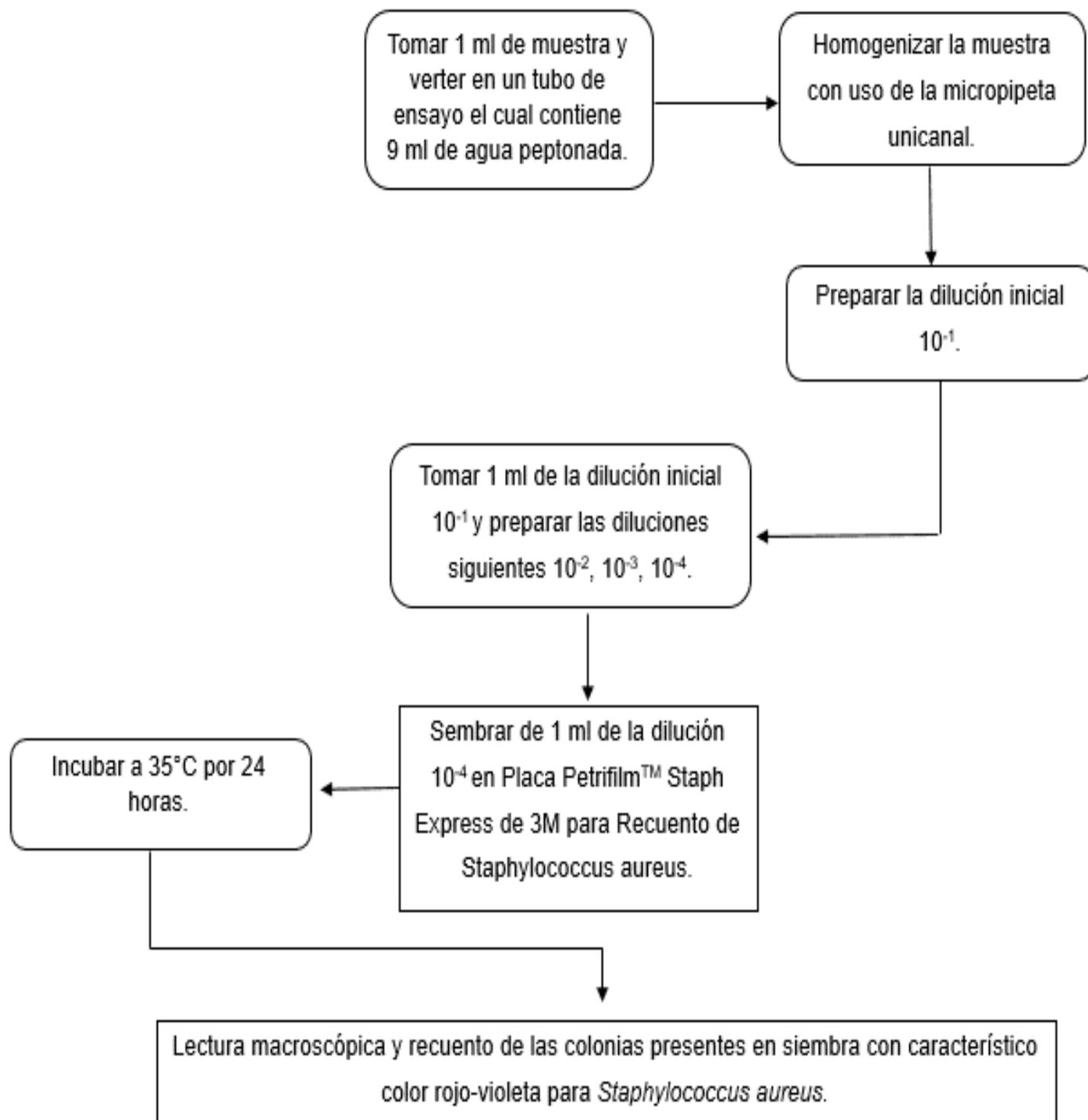
5.2.3.2. Procedimiento de siembra microbiológica en laboratorio

Las siembras bacteriológicas fueron realizadas en base a un procedimiento estandarizado y establecido en el laboratorio de microbiología de control de calidad de la planta de lácteos. Las diluciones trabajadas fueron seriadas, tomando para la siembra en placas 1 ml de la dilución 10^{-4} para ambos métodos de toma de muestras. El tiempo de incubación tuvo variación según la bacteria que sería detectada y cuantificada. Para recuento de coliformes totales y *Escherichia coli* se empleó el método AOAC método oficial 991.14, mientras que, para *Staphylococcus aureus* se practicó el método AOAC método oficial 2003.08.

5.2.3.2.1 Siembra bacteriológica en Placa Petrifilm™ para Recuento de *E.coli*/Coliformes.



5.2.3.2.2. Siembra bacteriológica en Placa Petrifilm™ para Recuento de *Staphylococcus aureus*.

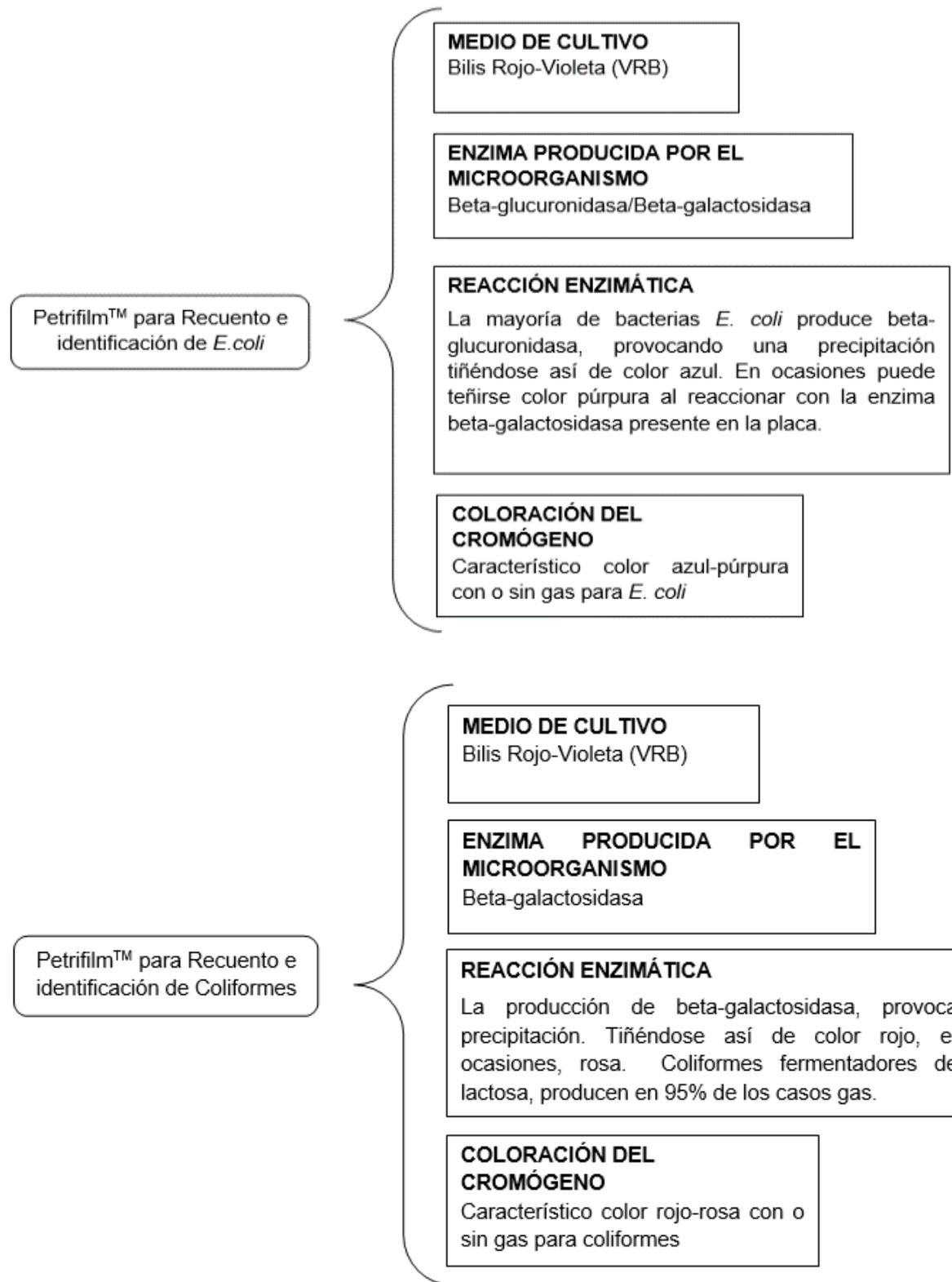


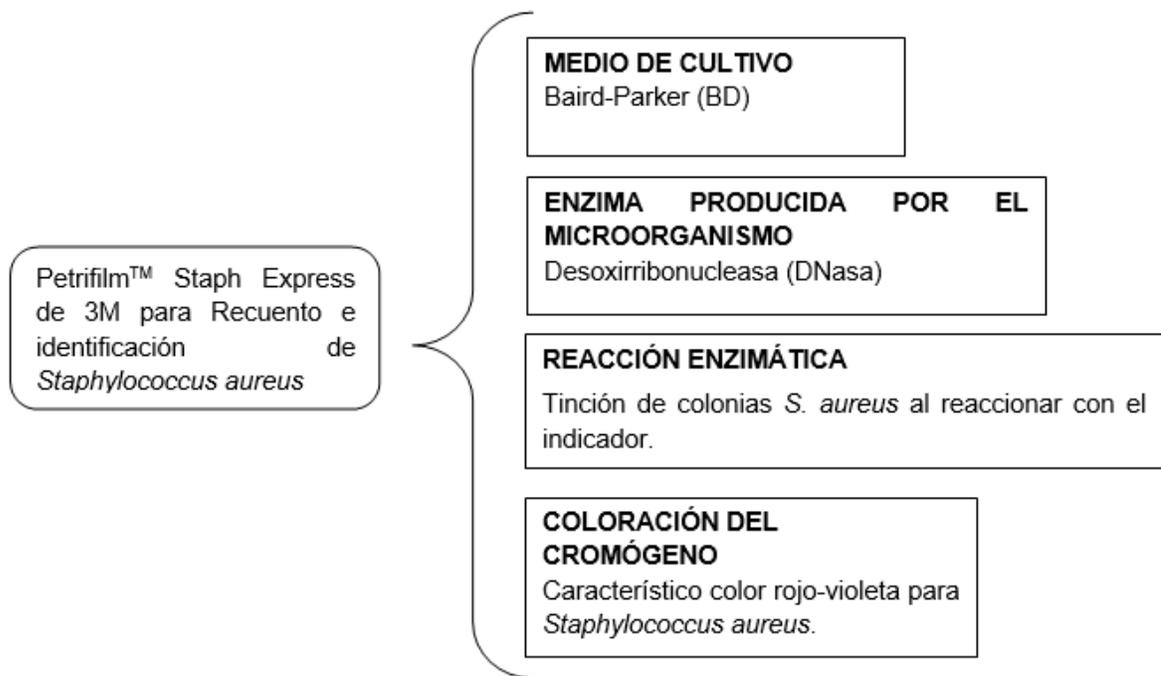
5.2.3.3. Identificación y confirmación de bacterias en estudio

La lectura macroscópica se llevó a cabo tomando como base los medios de cultivos cromogénicos (MCC) los cuales permiten realizar simultáneamente el recuento, aislamiento e identificación directa de microorganismos que se encuentran ligados estrechamente a la industria clínica y de alimentos. Poseen un alto porcentaje de selectividad y especificidad por medio de protocolos fáciles y cortos. La identificación y recuento de los microorganismos presentes en las siembras puede ser realizada directamente sin uso de máquinas u otro equipo especial debido al cambio visible de los agares (cambio de color) al utilizar sustratos cromogénicos.

Los medios de cultivo cromogénicos son utilizados para la identificación de determinado grupo de microorganismos, este tipo de medio presenta un cromógeno unido al sustrato que es liberado mediante la acción de los microorganismos, generalmente enzimática. Cuando el microorganismo crece en el medio produciendo sus enzimas características, provoca la liberación del cromógeno y que las colonias que crecen en el medio se colorean de un color característico como lo pueden ser: azul intenso, rosado, verde. Indicando de esta manera la presencia de determinado tipo de microorganismo.

5.2.3.3.1. Medios de cultivo cromogénicos para bacterias en laboratorio.





5.2.4. Análisis de resultados

Los resultados de las siembras en el laboratorio se compararon con la Guía Técnica para el análisis microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas (MINSA, 2007), Resolución Ministerial No. 461-2007, debido que, a nivel nacional no se cuenta con parámetros que puedan ser utilizados de referencia para dichas pruebas microbiológicas en manos.

Los límites microbiológicos establecidos para la interpretación se describen a continuación en el Cuadro No.4.

Cuadro No. 4. Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos.

SUPERFICIES	
Vivas	
ENSAYO	Límite Permissible
Coliformes totales	< 100 UFC/manos
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 UFC/manos
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia/manos

Fuente: (MINSa, 2007)

El diseño del estudio fue de corte transversal y se aplicó la prueba de Chi-cuadrado para demostrar si puede un método para toma de muestras sustituir a otro o no. Así mismo, con los resultados de la identificación y confirmación de los microorganismos evaluados en este estudio comparativo conjuntamente con los límites establecidos por (MINSa, 2007), se determinó si la higiene de manos del personal es realizada correctamente.

5.2.5. Análisis financiero

El análisis financiero se realizó por medio de una tabla comparativa de la inversión realizada en cada uno de los dos métodos utilizados para la toma de muestras en un operario, estableciendo así, el método más rentable.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó con el objetivo primordial de la detección y cuantificación de carga bacteriana en manos de operarios en términos de UFC/ambas manos, específicamente orientado a coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La siembra bacteriológica se realizó en placas de lectura rápida utilizando el método diferencial en medio de cultivo cromogénico. Las tres bacterias del estudio fueron seleccionadas debido a la importancia que tienen en la industria de alimentos por ser indicadoras de higiene así como también, buenas prácticas de limpieza y transmisoras de enfermedades a los consumidores.

Todas las muestras fueron tomadas sin previo aviso a los operarios llegando al área de producción sitio donde el operario se encontraba realizando su trabajo asignado. Se llevaban listos los materiales para la toma de muestra y se utilizaron medidas de bioseguridad para no contaminar las muestras mientras se realizaba la toma, evitando así, intervenir en los resultados de las mismas.

Las muestras de manos tomadas para este estudio tanto por medio del hisopado como por medio de enjuague, fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio de control de calidad para su siembra bacteriológica. Cabe resaltar también, que el hisopo Swab-Sampler con caldo Lethen y el agua peptonada utilizada se encontraban a la misma temperatura de refrigeración. Por lo que, se procedió a sacarlos a ambos de la refrigeradora por el lapso de 15 minutos para que pudieran atemperarse y posteriormente poder ser utilizados en las tomas de muestras.

La dimensional utilizada en este estudio para recuento de bacterias fue de UFC/ambas manos, considerando que, las dos manos de cada operario fueron muestreadas con el mismo hisopo y ambas fueron introducidas en la misma bolsa whirl-pak. En el apartado de anexos se encuentra la tabla que muestra los resultados obtenido de UFC/ambas manos de este estudio comparativo, en la que se puede evidenciar que, el conteo de UFC se encuentra dentro de los límites

permisibles según lo establecido en la Guía Técnica para el análisis microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas (MINSA, 2007). Con estos resultados se procedió también a evaluar la calidad del lavado de manos del personal.

6.1. Resultados coliformes totales

Al realizar el análisis de las muestras obtenidas de los 32 operarios utilizando ambos métodos para toma de muestras, los resultados derivados a partir del recuento de UFC/ambas manos para coliformes totales determinó que éstas se encuentran dentro del límite permisible establecido en la Guía Técnica para el análisis microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas (MINSA, 2007) tal como se muestra en el Cuadro No. 5, a continuación.

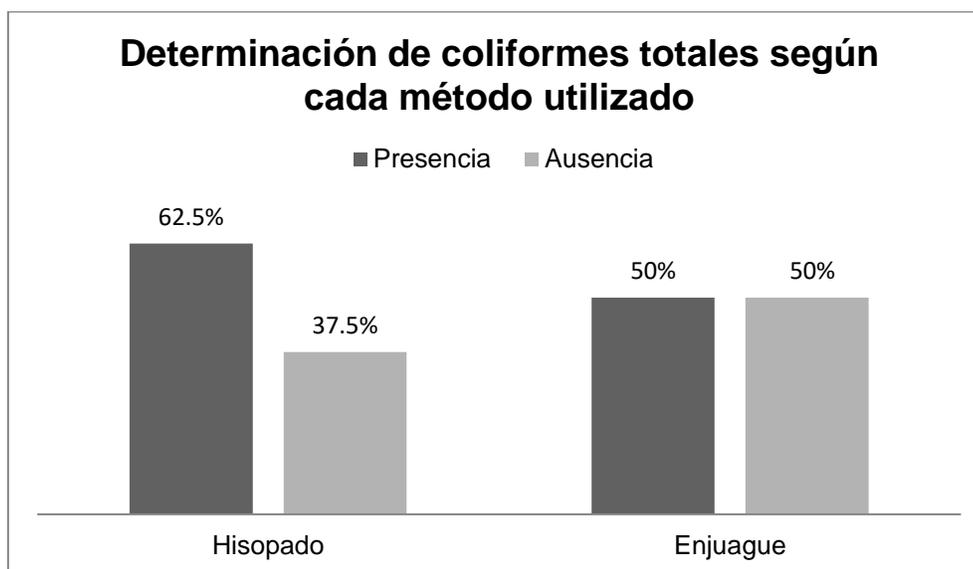
Cuadro No. 5. Resultados obtenidos de la siembra bacteriológica de coliformes totales utilizando dos métodos para toma de muestras.

Cuantificación de coliformes totales		
	Hisopado	Enjuague
Cantidad de muestras	32	32
Muestras con presencia de bacteria coliformes totales	20	16
Muestras con ausencia de bacteria coliformes totales	12	16
Muestras que se encuentran dentro del límite permisibles (<100 UFC/manos)	32	32
Conteo mínimo de UFC/ambas manos presentes en muestras	0	0
Conteo máximo de UFC/ambas manos presentes en muestras	9	9

Fuente: Elaboración propia.

El llevar a cabo estas pruebas control para establecer recuentos de coliformes en el ámbito lácteo se puede facilitar al productor inferir si las prácticas higiénicas que el personal realiza se están desarrollando de manera correcta o en ocasiones de manera deficiente para aplicar medidas correctivas. Tal como lo ha demostrado en este estudio comparativo las UFC cuantificadas utilizando ambos métodos para toma de muestras ya que no son superiores a las 9 UFC/ambas manos, por consiguiente, no representan una cifra alarmante. Siendo este dato favorable a la higiene de manos que el personal está practicando durante el procesamiento de quesos frescos, como lo demuestra la Figura No. 1, presentada a continuación.

Figura No.1. Determinación de coliformes totales en 32 muestras de manos de operarios utilizando dos métodos para toma de muestras.



Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica No. 1, se observa que el método del hisopado tuvo una ventaja de 12.5% más en detección de coliformes totales sobre el método del enjuague en las 32 muestras realizadas, evidenciando mayor precisión. Resultado que coincide con lo concluido en el estudio realizado por (Arzú et al., 2018) en el que, la presencia

de coliformes totales resultó predominante al utilizar la técnica de frotación con hisopo de algodón humedecido en caldo peptona al 0.1% sobre las manos de operarios con un 43%. Siendo esto preocupante y poniendo en alerta acerca de la higiene de manos que el personal está practicando.

Posteriormente se procedió a establecer que el 100% de los resultados obtenidos en las siembras bacteriológicas de coliformes totales se encuentran dentro del límite permisible establecido en este estudio, contrario totalmente a lo concluido por Ramos (2022) revelando que el nivel de higiene de manos en los manipuladores de alimentos es deficiente basado en los resultados microbiológicos obtenidos en su estudio, identificando la presencia de coliformes totales por encima del límite permisible en el 100% de los operarios muestreados.

El personal que elabora quesos en la planta de lácteos, debe ser consciente y totalmente responsable de lavarse las manos después de realizar cualquier otro tipo de actividad que no sea la asignada en área de producción o que intervenga con la asepsia inicial que se realizó en manos. Así como también, cuando se tenga contacto dentro del área de trabajo con cualquier tipo de superficie donde no se haya realizado previamente limpieza al iniciar la jornada laboral. El personal encargado de la elaboración de los alimentos debe ser capacitado constantemente sobre las Buenas Prácticas de Manufactura, la revisión del lavado de manos complementa una correcta higiene y consiste en la observación de cómo y cuándo los empleados lo realizan (Vemuz, 2018).

Los coliformes al desarrollarse sobre la leche y sus derivados llegan a provocar cambios diversos. Esta acción proviene de su facultad hetero fermentativa, capacidad putrefactiva y el carácter psicrotrófico de muchas cepas (Mena et al., 2017). Los coliformes que naturalmente se encuentran en los alimentos pueden llegar a ser eliminados en la mayoría de los casos poniendo en práctica técnicas de procesado en las que se emplea calor (la pasteurización, por ejemplo). Por lo tanto, su presencia en alimentos que ya han sido terminados puede ser indicio de una

técnica empleada de forma inadecuada o deficiente, así como también, contaminación posterior al procesamiento problema que también debe investigarse y tratarse.

6.2. Resultados *Escherichia coli*

El respectivo recuento de UFC/ambas manos realizado para la bacteria *Escherichia coli* muestra que los resultados no cumplen con lo establecido en la Guía Técnica para el análisis microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas (MINSA, 2007), tal como lo muestra el Cuadro No.6, a continuación. Puesto que lo esperado era su total ausencia de las manos de los operarios. *Escherichia coli* es el indicador de presencia de heces fecales en alimentos de origen lácteo y en otros alimentos crudos, motivo por el cual no es permisible su hallazgo en manos del personal que tiene contacto con los alimentos durante su fabricación, los recuentos obtenidos se muestran en la tabla a continuación.

Cuadro No. 6. Resultados obtenidos de la siembra bacteriológica de *Escherichia coli* utilizando dos métodos para toma de muestras.

Cuantificación de <i>Escherichia coli</i>.		
	Hisopado	Enjuague
Cantidad de muestras	32	32
Muestras con presencia de bacteria <i>Escherichia coli</i> .	11	12
Muestras con ausencia de bacteria <i>Escherichia coli</i> .	21	20
Muestras que se encuentran dentro del límite permisibles (Ausencia/manos)	21	20
Conteo mínimo de UFC/ambas manos presentes en muestras	0	0
Conteo máximo de UFC/ambas manos presentes en muestras	04	05

Fuente: Elaboración propia.

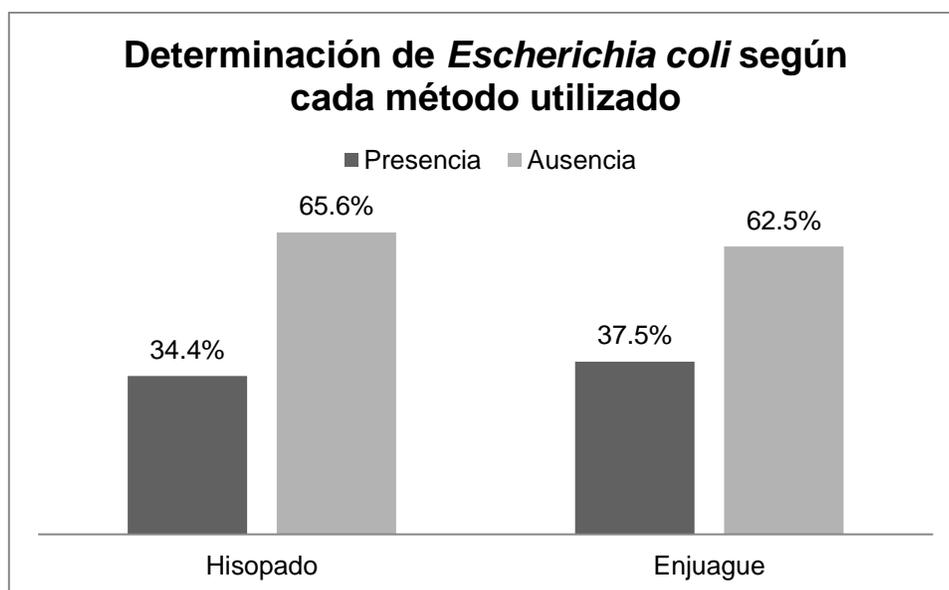
El disponer de un control sobre la existencia de bacterias patógenas como lo es *E. coli* en las manos de los operarios proporciona un producto alimenticio con mayor calidad y tiempo de vida útil en anaquel como lo hacen notar Rodríguez y colaboradores (2015) quienes aseguran que la carga bacteriana presente en los productos alimenticios representa un indicativo claro de la calidad de éstos, tanto en su elaboración como en lo que a su comercialización se refiere; por lo tanto la identificación de dichas bacterias permite explotar la calidad del producto en cuestión.

La presencia de esta bacteria en manos de operarios en algunos casos, puede encontrarse asociada a diversos fómites como lo pueden ser: manillas de las puertas, pasamanos, llaves, monedas, aretes, anillos, entre otros; con los que se puede llegar a tener contacto durante la cadena de procesamiento del alimento. Tal

como lo asegura López y colaboradores (2023) demostrando que la presencia de *E. coli* en sus muestras estuvo asociada al uso de accesorios personales superando los valores de los rangos aceptables (100 UFC/g). Por consiguiente, el hallazgo de esta bacteria en las manos de los operarios que formaron parte de la muestra en este estudio comparativo, resalta la necesidad de tener un mayor control en las acciones que los operarios realizan durante su jornada laboral pues la presencia de dicho patógeno en los quesos frescos terminados puede presentar un riesgo potencial al producto y a los consumidores.

La Figura no. 2, se evidencia la ventaja del método del enjuague con 3.01% sobre el método del hisopado en la detección de *E. coli* en las 32 muestras de este estudio comparativo.

Figura No.2. Determinación de *Escherichia coli* en 32 muestras de manos de operarios utilizando dos métodos para toma de muestras.



Fuente: Elaboración propia.

Con la figura anterior, se confirma la presencia de esta bacteria en las manos de los operarios, demostrando así que existe algún punto de contaminación que se

está presentando durante el procesamiento del alimento, poniendo en riesgo la calidad e inocuidad del producto terminado. Tal como lo indica Cumbe (2021) en su tesis de grado enfocada a la detección de *Escherichia coli* que la adecuada manipulación desde el proceso de transformación del alimento hasta quienes los consumen, incide en la salud de la comunidad. Esto nos indica que el manipulador tiene el compromiso de respetar y salvaguardar la salud de los consumidores.

La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquier etapa del proceso, que va desde la producción hasta el consumo del mismo, causando efectos nocivos en la salud del consumidor. Según la OMS, las enfermedades diarreicas representan un 95% de las ETA en la región de las Américas; las cuales están asociadas a la contaminación de los alimentos por *E. coli* y *Salmonella* spp. (Mena et al., 2017). Es debido a estas cifras alarmantes que se requiere concientizar sobre la importancia de la higiene en manos de las personas que preparan los alimentos, como lo evidencia Tabera y colaboradores (2015) que ante la aparición de esta bacteria patógena son necesarias las medidas correctivas como capacitación a los operarios para que se puedan dar buenas prácticas de lavado de manos y sobre riesgo de transmisión de microorganismos entéricos, como *E. coli*, al producto terminado y sus consecuencias indeseadas, considerando que, desafortunadamente los microorganismos patógenos pueden pasar desapercibidos por el consumidor al no necesariamente modificar las características organolépticas del alimento.

Una de las medidas que se considera importante en la erradicación de este patógeno es concientizar al personal acerca de los peligros microbiológicos que se presentan al realizar cualquier otra actividad que involucre las manos y no pertenezca al proceso de fabricación del alimento, así como, contar con vigilancia para cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura como lo hacen constar Dávila y colaboradores (2006) indicando que, a pesar de encontrarse aceptable la apariencia de los manipuladores del estudio, se encontraron algunas fallas en el

cumplimiento de las BPM, tales como el lavado de manos después de manipular cualquier material u objeto y se visualizó que los operarios entraban y salían de la planta sin quitarse el uniforme, considerando estos factores foco primordial de contaminación en la producción de quesos.

6.3. Resultados *Staphylococcus aureus*

La valoración de los resultados obtenidos a partir del recuento de UFC/ambas manos para la bacteria *Staphylococcus aureus* demuestra que en este estudio comparativo, sí se cumple con lo establecido en la Guía Técnica para el análisis microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas (MINSA, 2007) encontrando los valores del recuento bacteriológico por debajo de las 100 UFC/manos que es el límite permisible establecido, como lo muestra el Cuadro No. 7, a continuación.

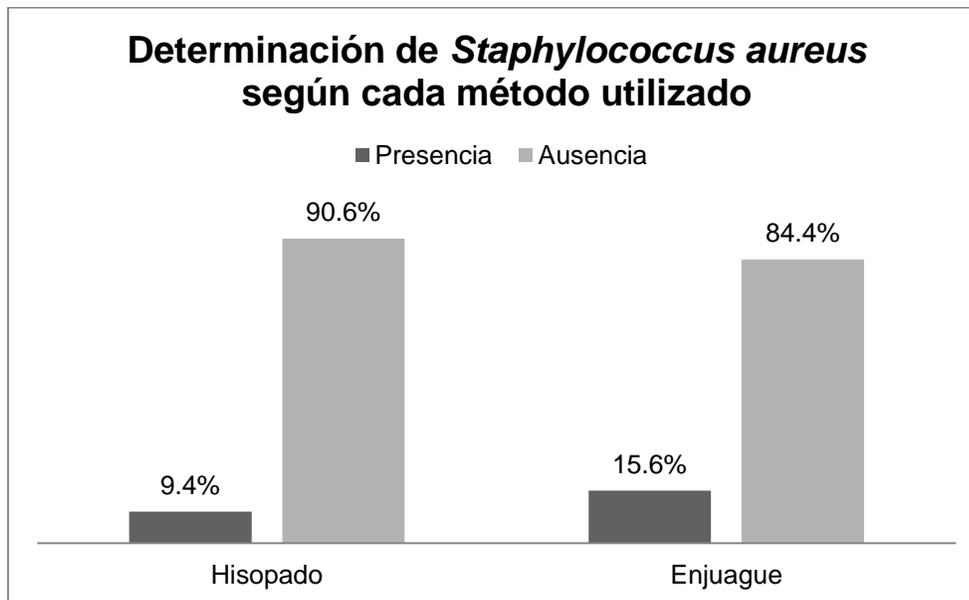
Cuadro No. 7. Resultados obtenidos de la siembra bacteriológica de *Staphylococcus aureus* utilizando dos métodos para toma de muestras.

Cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i>.		
	Hisopado	Enjuague
Cantidad de muestras	32	32
Muestras con presencia de bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> .	03	05
Muestras con ausencia de bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> .	29	27
Muestras que se encuentran dentro del límite permisibles (<100 UFC/manos)	32	32
Conteo mínimo de UFC/ambas manos presentes en muestras	0	0
Conteo máximo de UFC/ambas manos presentes en muestras	01	01

Fuente: Elaboración propia.

Este microorganismo cobra importancia debido a ser uno de los agentes etiológicos que con más frecuencia causa intoxicaciones alimentarias estando asociado a diversos alimentos. La presencia de esta bacteria o sus enterotoxinas en alimentos procesados o en equipos de procesamiento son indicadores de saneamiento deficiente y de contaminación asociada con manipuladores (Galli et al., 2019). En este estudio comparativo *S. aureus* no sobrepasa el límite permisible y el conteo máximo con el que cuenta es con el de 1 UFC/ambas manos utilizando cada uno de los métodos, resultado que corresponde únicamente a 8 operarios de los 32 evaluados, siendo esto una cifra no significativa, favoreciendo la producción, puesto que, los positivos solamente representan al 25% de las muestras evaluadas como lo representa la Figura No. 3, a continuación.

Figura No.3. Determinación de *Staphylococcus aureus* en manos de operarios utilizando dos métodos para toma de muestras.



Fuente: Elaboración propia.

Puede observarse en el recuento de la bacteria *S. aureus*, que el método del enjuague tuvo 6.2% de ventaja en la detección del mismo comparado con el método

del hisopado, así como también que ambos porcentajes de ausencia para este patógeno demuestran que las medidas para su control como el uso de mascarilla dentro de la planta, sí están funcionando, evitando que los productos sean contaminados durante su procesamiento. Esto coincide con lo mencionado por Saltos y sus colaboradores (2018) quienes argumentan que la presencia de *S. aureus* en manipuladores de alimentos puede reducirse significativamente aplicando de manera correcta los POES, brindando mayor control sobre la indumentaria limpia, el uso de mascarilla y de cofia en cada uno de los manipuladores de quesos.

Salina y colaboradores (2017) argumentan en su artículo que *Staphylococcus aureus* coloniza preferentemente la mucosa y la piel de los seres humanos y puede existir de manera permanente o transitoria como parte del microbiota normal sin causar síntomas en el huésped, identificándose su presencia principalmente en la zona nasal anterior, aunque también se encuentra en la piel, heridas infectadas, quemaduras, tracto urogenital y gastrointestinal, y en casi todo el cuerpo y sus secreciones.

Se estima que generalmente entre 25% y 50% de los individuos son portadores de *Staphylococcus aureus*. Tal como los porcentajes presentados por Ocampo y colaboradores (2017) demostrando que 15 de los 35 manipuladores muestreados eran portadores de *S. aureus*, 12.5% lo portaban en manos, 43.75% en sus fosas nasales y un 9.3% lo portaban tanto en manos como también en fosas nasales. Sin embargo, en el presente estudio las UFC/ambas manos de *S. aureus* en las muestras de las 32 personas que fueron parte de este estudio se evidenciaron resultados mínimos de acuerdo a los límites permitidos. Atribuyéndolos principalmente al correcto uso de mascarilla durante todo el proceso de producción por parte de los operarios que elaboran quesos en la planta, evitando de esta manera el que se pueda tener contacto con sus fosas nasales o fluidos bucales y contamine sus manos con dicho microorganismo.

6.4. Análisis estadístico

Para determinar la asociación o independencia de dos variables cualitativas, en 1,900 Pearson introdujo el test de chi-cuadrado (χ^2). Este test contrasta dos hipótesis, una hipótesis nula o hipótesis de independencia de las variables (H_0) y una hipótesis alternativa o hipótesis de asociación de las variables (H_1); comparando de esta manera los resultados observados con resultados teóricos, estos últimos calculados bajo el supuesto que las variables fuesen independientes entre sí, es decir, bajo el supuesto que H_0 fuese verdadera (Cerdeira & Villarreal, 2007).

Teniendo en cuenta la definición anterior del método estadístico empleado en la presente investigación se procedió a utilizarlo con los resultados del recuento microbiológico obtenido en el laboratorio, por medio del que se pretendía conocer si existe diferencia significativa en recuento de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* entre el hisopado de manos con hisopo comercial con caldo Lethen y el enjuague de manos con agua peptonada en bolsa whirl-pak. Estableciendo un nivel de significancia de 0.05 que fue comparado con el valor $p=0.085863$, el cual se obtuvo al utilizar una calculadora de puntuación de chi-cuadrado para valor de p tomando 2 grados de libertad en este estudio comparativo. Determinando que no existe diferencia significativa entre ambos métodos para toma de muestra, aceptando así, la hipótesis nula (H_0) y rechazando la hipótesis alterna (H_1) planteada inicialmente con valores de $0.08 > 0.05$.

Las pruebas microbiológicas realizadas a superficies vivas o inertes dentro de una empresa dedicada a la producción de alimentos son fundamentales para poder controlar la eficiencia de las rutinas de limpieza y desinfección determinando si se necesita mejoras en cuanto al método de limpieza empleado o a los productos que se están utilizando para realizar las mismas. Las normas de higiene que se encuentran establecidas en esta industria están ligadas completamente a la seguridad microbiológica y calidad de los productos, aportando al consumidor un alimento que no solo tenga un aporte nutricional óptimo al organismo, sino también,

que esté elaborado sin portar microorganismos que causen daño o enfermedad al ser consumidor.

A continuación, en el Cuadro No. 8 y el Cuadro No. 9, se detallan las ventajas y desventajas encontradas al poner en práctica cada uno de los métodos para toma de muestras que fueron encontradas mientras se realizó este estudio comparativo en la planta de lácteos.

Cuadro No. 8. Ventajas y desventajas al utilizar el método del hisopado para toma de muestras en manos de operarios.

Método del hisopado	
Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none">• Método para toma de muestras que puede realizarse con rapidez.• Fácil de manipular.• Tamaño adecuado.• Envase hermético.• Ya se compra listo para ser utilizado.	<ul style="list-style-type: none">• Necesita refrigeración.• Precio elevado.

Fuente: Elaboración propia

Cuadro No. 9. Ventajas y desventajas al utilizar el método del enjuague para toma de muestras en manos de operarios.

Método del enjuague	
Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Método para toma de muestras que puede realizarse con rapidez. • La mano tiene mayor superficie de contacto con el líquido que recoge la muestra. • Puede ser preparado en un laboratorio de microbiología. 	<ul style="list-style-type: none"> • No es fácil de transportar. • Necesita refrigeración. • Se deben estar llenando las bolsas whirl-pak con el agua peptonada Buferada. • Deben ser bolsas suficientemente grandes para que ambas manos puedan introducirse al mismo tiempo.

Fuente: Elaboración propia

Al realizar un análisis de las tablas No. 8 y No. 9, se puede establecer que el método del hisopado posee mayor cantidad de ventajas sobre el método del enjuague, por tener una presentación mucho más práctica, cuando se va a obtener la muestra.

6.4.1. Efectividad de ambos métodos para recuperación de bacterias

Es importante el dejar evidenciado que, a pesar, de que ambos métodos para toma de muestras no presentaron diferencia significativa al ser sometidos al análisis estadístico de chi-cuadrado (χ^2), si se hace necesario resaltar la efectividad que tiene cada uno por separado en la detección y cuantificación sobre bacterias evaluadas en este estudio, como se muestra a continuación en el Cuadro No. 10.

Cuadro No. 10. Sumatoria de carga bacteriana cuantificada en término UFC por cada método utilizado.

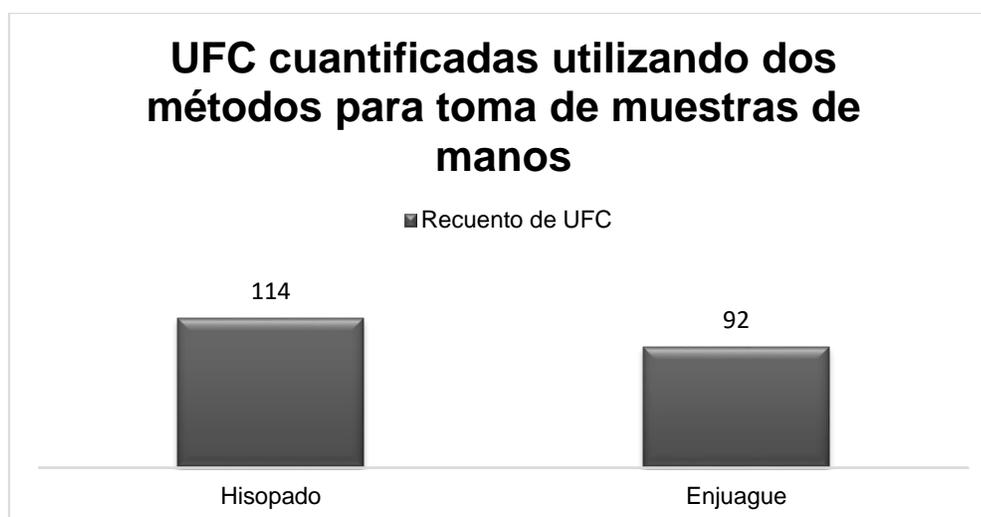
Sumatoria de UFC cuantificadas		
	Hisopado	Enjuague
Coliformes totales	91	61
<i>Escherichia coli</i>	20	26
<i>Staphylococcus aureus.</i>	3	5
TOTAL	114	92

Fuente: Elaboración propia.

Para la realización de esta tabla, cada UFC/ambas manos se han contabilizado como una unidad para obtener el total de cada bacteria patógena, posteriormente, se realizó una sumatoria de cada una de las bacterias evaluadas según su método y se obtuvo de esa manera el cuadro presentado anteriormente.

Como parte del análisis de la efectividad de cada método para toma de muestras utilizado en este estudio, se presenta la Figura No. 4, a continuación.

Figura No.4. Efectividad de cada método para recuento de microorganismos en manos de operarios.



Fuente: Elaboración propia

El método del hisopado demostró cuantificablemente una diferencia de 22 UFC más que el método del enjuague en la realización de este estudio comparativo. Contrario a lo que concluyen García y colaboradores (2016) que presentan una comparación de ambas técnicas calculando las UFC/mano observando una eficiente recuperación en bajas concentraciones de microorganismos con el método del hisopado mientras que, el de enjuague tuvo una mejor eficiencia en superficies palmares más contaminadas.

En su trabajo, Fuster (2006) describe y compara técnicas tradicionales y rápidas para evaluar la contaminación microbiológica en superficies y la formación de biofilms en condiciones experimentales, resaltando que se ha demostrado que en función del material que constituye el capuchón del hisopo se recuperan más bacterias de las superficies. Algunos autores concluyeron que los hisopos de algodón y de espuma recuperaban más bacterias de las superficies húmedas que del resto de hisopos evaluados, además, observaron que la composición del diluyente también podía jugar un papel importantísimo en la liberación y disgregación de las bacterias que están retenidas en el hisopo.

Entre los diferentes tipos de hisopos para muestreo que existen, encontramos algunas discrepancias en cuanto a tipos de materiales y resistencia que puedan aportar ante diferentes superficies. El hisopo más conocido y utilizado es el de algodón, mismo que presenta una absorción suave y es bastante versátil. Otro de los materiales que se utilizan para la fabricación de los mismos es la espuma, sin embargo, en la actualidad ya no es muy común su aplicación para muestreos debido a que tiene menor capacidad de absorción y no es el más indicado para utilizar disolventes fuertes, puesto que, puede corroerse. Por último, está el hisopo de poliéster considerado una de las herramientas más precisas para realizar análisis en laboratorios, es muy resistente a productos químicos y tiene una gran capacidad de absorción y liberación al tomar muestras.

6.5. Análisis financiero

En el Cuadro No.11, se presenta la inversión realizada para la toma de muestras en un operario, utilizando cada uno de los métodos teniendo como resultado que el más económico es el del enjuague con Q47.60, por su parte el método del hisopado presenta un costo de Q57.32. La diferencia de costos obtenido entre cada uno es de Q9.72.

Cuadro No. 11. Comparación de precios unitarios de ambos métodos de toma de muestras.

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	HISOPADO	ENJUAGUE
Hisopo Swab-Sampler	Unidad	1	Q16.00	Q16.00	-
Medio deshidratado de Agua Peptonada Buferada	Gramos	5.66	Q0.80	-	Q4.53
Bolsa whirl-pak	Unidad	1	Q1.70	-	Q1.70
Agua desmineralizada	Mililitros	0.225	Q0.21	-	Q0.05
Placa de Recuento de <i>E.coli</i> /coliformes 3M™ Petrifilm™	Unidad	1	Q14.28	Q14.28	Q14.28
Placa Petrifilm™ Staph Express de 3M para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	Unidad	1	Q21.84	Q21.84	Q21.84
Guantes de látex descartables	Unidad	4	Q0.80	Q3.20	Q3.20
Tips azules de 100 a 1000 uL	Unidad	5	Q0.40	Q2.00	Q2.00
TOTAL				Q57.32	Q47.60

Fuente: Elaboración propia

VII. CONCLUSIONES

- Se pudo determinar que la calidad higiénica de las manos del personal manipulador de leche pasteurizada es aceptable, puesto que, el lavado de manos practicado por los operarios respalda en todo momento la calidad microbiológica del alimento que se está produciendo.
- De acuerdo con los recuentos bacteriológicos realizados en las placas de lectura rápida se determinó que, de los 32 (100%) operarios muestreados: los 32 (100%) se encuentran dentro del límite permisible (<100 UFC/manos) para recuento las bacterias coliformes totales y *Staphylococcus aureus* al utilizar ambos métodos para toma de muestras. Mientras que, en los recuentos de *Escherichia coli* fueron 11 (34.37%) operarios muestreados por medio del hisopado y 12 (37.50%) por medio del enjuague quienes superaron el límite permisible (Ausencia/manos) de este patógeno, por su parte, 21 (65.63%) y 20 (62.50%) operarios se encuentran dentro del límite permisible según la guía técnica establecida.
- La utilización de placas de lectura rápida y el método diferencial en medio de cultivo cromogénico, permitió establecer que, utilizando la técnica del hisopado como método para toma de muestras 20 operarios presentaron crecimiento bacteriano de coliformes totales en ambas manos, 11 para *Escherichia coli* y únicamente 3 para *Staphylococcus aureus*. Por su parte, utilizando la técnica del enjuague fueron 16 operarios en los que se cuantificó presencia de coliformes totales, en 12 *Escherichia coli* y en 5 *Staphylococcus aureus*.
- Fue demostrado que el método del enjuague es un método para toma de muestras con bajo costo que puede ser utilizado para control de patógenos en las manos de operarios que elaboran alimentos lácteos en relación con el método del hisopado.

VIII. RECOMENDACIONES

- Implementar charlas informativas acerca de temas de importancia vital en la industria de alimentos como lo son: inocuidad y calidad, buenas prácticas de manufactura y procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES). De esta manera, el personal se encontrará informado sobre cada uno de estos temas y podrá asociarlos con la práctica en su trabajo diario, produciendo así alimentos inocuos y aptos para el consumo humano.
- Supervisar periódicamente que los operarios realicen el cambio total de la indumentaria completa con la que estuvieron fuera de la planta por una totalmente limpia y autorizada para el área de producción.
- Orientar y capacitar al personal sobre la frecuencia de lavado de manos, así como la manera correcta de realizarlo con sus respectivos pasos, con motivo de crear conciencia y hábito de higiene.
- Realizar evaluaciones a los operarios como parte de monitoreo y vigilancia a las buenas prácticas de manufactura y procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES) por lo menos una vez al mes.
- Colocar infografías e imágenes de los pasos correctos para el lavado de manos con las que el personal pueda guiarse para realizarlo de la manera correcta.

IX. RESUMEN

El presente estudio se realizó en las instalaciones de una planta de lácteos ubicada en el departamento de Escuintla, con el objetivo de comparar dos diferentes métodos de toma de muestras para detección y cuantificación de carga bacteriana siendo el primero de ellos, el uso de hisopo comercial Swab-Sampler con caldo Lethen y el segundo el enjuague de manos con agua peptonada en las manos del personal manipulador de leche pasteurizada de dicha planta.

Las tres variables seleccionadas para este estudio fueron coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, esto debido a la importancia que tienen en la industria de alimentos por ser indicadoras de higiene así como también, buenas prácticas de limpieza y transmisoras de enfermedades a los consumidores.

Con base a las pruebas realizadas en este estudio, se pudo determinar que la calidad higiénica de las manos del personal manipulador de leche pasteurizada es aceptable, de acuerdo con los recuentos bacteriológicos realizados en las placas de lectura rápida.

Al realizar el análisis estadístico correspondiente se determinó que no existe diferencia significativa entre ambos métodos para toma de muestras, aceptando así, la hipótesis nula (H_0) y rechazando la hipótesis alterna (H_1) planteada inicialmente con valores de $0.08 > 0.05$. De la misma forma, el análisis financiero estableció que el método del enjuague es un método para toma de muestras con bajo costo que puede ser utilizado para control de patógenos en las manos de operarios que elaboran alimentos lácteos en relación con el método del hisopado.

SUMMARY

The present study was carried out in the facilities of a dairy plant located in the department of Escuintla, with the objective of comparing two different sampling methods for detection and quantification of bacterial load, the first of which was the use of a commercial swab. Swab-Sampler with Lethen broth and the second the hand rinse with peptone water on the hands of the personnel handling pasteurized milk of said plant.

The three variables selected for this study were total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, due to the importance they have in the food industry for being indicators of hygiene as well as good cleaning practices and transmitting diseases to consumers.

Based on the tests carried out in this study, it was determined that the hygienic quality of the hands of the personnel handling pasteurized milk is acceptable, according to the bacteriological counts carried out on the rapid reading plates.

When carrying out the corresponding statistical analysis, it was determined that there is no significant difference between both methods for sampling, thus accepting the null hypothesis (H_0) and rejecting the alternative hypothesis (H_1) initially proposed with values of $0.08 > 0.05$. In the same way, the financial analysis established that the rinsing method is a low-cost sampling method that can be used to control pathogens on the hands of operators who prepare dairy foods in relation to the swab method.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguas, E. M., Jiménez, I. N., Iguaran, E. M., & Morales, K. P. (2017). Importancia En Salud Pública y Modelamiento de *Staphylococcus aureus* En Alimentos. *Mente Joven*, 6, 36-53.
- Arzu, O., Peiretti, H., Rolla, R., & Roibon, W. (2000). Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del nordeste argentino. *UNNE*, 17, 6-10.
- Balboa, J. (2022). *Metodología de detección e identificación de patógenos en alimentos*. (tesis de pregrado). Universidad de Jaén, España.
- Barrios, H. (2006). *Evaluación y mejoramiento de la aalidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de La Universidad de San Carlos de Guatemala*. (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Buendia, M. A. (2015). *Elaboración, producción y comercialización de derivados de lácteos*. (1° ed). Editorial Macro EIRL.



Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (2022). *El Lavado de Las Manos En La Comunidad: Las Manos Limpias Salvan Vidas*.

Cerda, J., & Villarroel del P., L. (2007). Interpretación del test de Chi-cuadrado (X^2) en investigación pediátrica. *Revista Chilena de Pediatría*, 78(4), 414-417.

Chavarría, M. (2017). Determinación de *Escherichia Coli* en bebidas de frutas mixtas no pasteurizadas comercializadas en establecimientos especializados en San Ramón, Alajuela. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 26(2), 189-198.

Colmenárez, B., Sánchez, L., & Sánchez, R. (2015). Aplicación de las buenas prácticas de fabricación, análisis de químicos y microbiológicos del queso de cabra en una unidad de producción ubicada en Bobare, edo Lara. *Revista de Investigación en Producción Animal*.

Cumbe, R. (2021). *Detección de Escherichia coli, indicador de calidad higiénica de hortalizas que se expenden en mercados del sur de Guayaquil*. (tesis de pregrado). Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.

Dávila, J., Genara, R., & Otoniel, C. (2006). Evaluación Microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una Industria Venezolana. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 56(1), 51-59.



Domínguez, N., Palomino, S., Cucho, C., Alarcón, K., & Valencia, J. (2021). Hábito de higiene de manos y patógenos hallados en estudiantes de medicina. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 21(2), 372-377.

Dubón, M. (2011). Informe Final de Ejercicio Profesional Supervisado -EPS- Realizado En El Laboratorio Especial de Aseguramiento de La Calidad -SQAL- Nestlé. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Elizari, M. (2020). Flora Cutánea. *CINFASALUD*. Recuperdo de <https://cinfasalud.cinfa.com/p/flora-cutanea/>.

FAO. (2001). *Taller Nacional Sobre Análisis de La Legislación Alimentaria En Guatemala y Procedimientos Para Su Armonización Con Las Normas Del Codex*.

Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., Vasela, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298.



Fuster, N. (2006). *Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas*. Universidad Autónoma de Barcelona.

Galeano, E. (2017). *Recuperación de Staphylococcus aureus, Pseudomonasa eruginosa y Escherichia coli, Usando Agua Peptonada y Caldo Lethen En Productos Cosméticos de Laboratorios Lissia*. Universidad de Pamplona.

Galli, L., Brusa, V. & Pellicer, K. (2019). *Microbiología Veterinaria*. Inter Médica.

García, S., Deveze, M. & Mendiza, C. (2016). Desarrollo de una metodología para la cuantificación bacteriana de la Superficie de las manos. *Jóvenes En La Ciencia* 2(1) 178-182.

García, D. (2000). *Presencia de bacterias coliformes en quesos frescos de leche de vaca en diferentes fases de producción elaborados artesanalmente en el municipio de San José Pinula*. (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Guillen, S. (2018). *Calidad microbiológica de superficies vivas e inertes*. (tesis de maestría). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Arequipa, Perú.



Jerez, L. (2006). *Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de crema fresca a base de leche no pasteurizada, elaborada artesanalmente y comercializada en la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de La Universidad de San Carlos de*

Guatemala. (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Jordá, G. B., Marucci, R. S., Guida, A. M., Pires, P.S., & Manfredi, E. A. (2012). Portación y caracterización de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. *Revista Argentina de Microbiología* 44(2), 101-104.

Linscott, A. (2011). Food-Borne illnesses. *Clinical microbiology newsletter*. 33(6), 41-45.

López, A., Burgos, T., Vanegas, M., Álvarez, Z., Mendez, Y., & Quinteros, E. (2023). Factores asociados a la contaminación microbiológica de la carne de pollo comercializada en El Salvador. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 40, 25-33.

Mena, K., Solís, J., & Urbina, A. (2017). *Evaluación microbiológica de productos lácteos artesanales: leche cruda, queso fresco, quesillo y cuajada elaborados en la finca San Diego, del municipio de Cuapa (Chontales), Noviembre-Diciembre 2016.* (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, Nicaragua



Merchán, N. A., Pineda, L. M., Cárdenas, A. K., González, N. C., Otárola, M. C., & Sánchez, Y. (2019). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. *Revista cubana de higiene y epidemiología*, 56(1).

Merck. (2023). *Agua Peptonada Bufferada*. Recuperado de <https://www.sigmaaldrich.com/GT/es/product/mm/140141>).

Ministerio de Economía., MINECO. (2019). *Guatemala Conmemora Día Mundial de La Leche*. Gobierno de la república de Guatemala. Recuperado de <https://guatemala.gob.gt/guatemala-conmemora-el-dia-mundial-de-la-leche/>

Ministerio de Salud., MINSA, R. M. (2007). *Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico de Superficies En Contacto Con Alimentos y Bebidas*. Normas Legales. Recuperado de https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM_461_2007.pdf

Mosquera, G., & Crujeira, Y. (2010). *Buenas Prácticas de Elaboración En La Quesería Artesanal Del Uruguay. Higiene, Limpieza y Desinfección*. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Uruguay. Recuperado de <https://es.slideshare.net/felipemera3/manual-quesera-artesanal-higiene>.

Henao, L. A. O., Hernández, D. C., & Castaño, L. M. (2017). *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva: Estado portador en manipuladores de alimentos del SENA Regional Caldas En Manizales. *Revista Nova*, 3, 20-29.



OIRSA. (2017). Manual de Buenas Prácticas de Manufactura Para Productos Acuícolas y Pesqueros. Recuperado de www.oirsa.org/contenido/biblioteca/-Manual de buenas prácticas de manufactura en productos acuícolas y pesqueros – Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria.pdf.

Organización de las Naciones Unidas, ONU. (2021). *Día Mundial de La Inocuidad de Los Alimentos*. Naciones Unidas Guatemala. Recuperado de <http://onu.org.gt/fechas-onu/dias-internacionales/junio/dia-mundial-de-la-inocuidad-de-los-alimentos/>.

Ortiz, S. (2012). *Procedimientos operativos estándar de sanitización (POES) en la preparación de alimentos en puntos de venta (localidades) en una empresa de alimentos*. (tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Platino. (2010). Conceptos Generales."Plataforma de Interoperabilidad Del Gobierno de Canarias. Recuperado de https://www.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/content/0585a2c0-c211-11de-98bc-ddc0386026b1/2_Conceptos_Generales.pdf.



Programa Nacional Integrado de Calidad Alimentaria. (2018). *Guía Para El Diseño, Desarrollo e Implementación de Los Procedimientos Operacionales Estandarizados de Sanitización POES-SSOP*. Chile.

Quios. (2023). Swab-Sampler Agua Peptonada Bufferada." Recuperado de

<https://quios.com.co/producto/swab-sampler-buffer-peptone-water/>.

Ramírez, M. (2015). *Elaboración de un programa para cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura en el área de gastronomía en el Instituto Técnico de Capacitación y Productividad Guatemala Uno INTECAP*. (tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Ramos, B. (2022). *Determinación de microorganismos indicadores de higiene en manos de manipuladores de alimentos en sección comidas del mercado Américas de Abancay*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay, Perú.

Riquelme, L. (2007). *Incidencia de Staphylococcus aureus en platos fríos listos para el consumo en locales de comida italiana y medidas para su control*. (tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Rodríguez, J. E., Borrás, K. M., Medellín, M. O. P., & Corredor, D. J. G. (2016). Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 53(3).

Rodríguez, R. (2018). *Evaluación de Coliformes Totales y Escherichia Coli En Superficies de Contacto, Salmonella Sp. En Carne de Res, En El Primer y Tercer Trimestre Del 2018, Establecimiento #2. Managua, Nicaragua*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.



Ruiz, M. (2019). *Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con actividad inhibitoria de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos*. (tesis doctoral). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Sabater, N. (2019). La Higiene de Manos Como Factor de Prevención de La Contaminación de Alimentos. Recuperado de <https://www.betelgeux.es/blog/2019/07/05/higiene-de-manos-factor-prevencion-contaminacion-alimentos/>.

Salas, D. (2007). *Evaluación de metodologías de control higiénico de superficies alimentarias y adaptación de la PCR en tiempo real como método de control de patógenos*. (tesis doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona.

Salina, M., Scholz, L., Servián, N., Romero, M., Samudio, T., Ruiz, V., Rojas, W., Riquelme, F., Riera, H., Rodríguez, D., Serrano, J., Rolón, S., Romero, C., Saldívar, F., Salvaré, P., Samaniego, G., Segovia, G., Rivas, E., Sisa, M., Sotomayor, M., Canese, J., & Ramos, P. (2018). Portación de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos de servicios gastronómicos de Asunción, Paraguay (2017). *Revista Salud Pública Paraguay* 8(2), 28-33.

Saltos, J. V., Márquez, Y. J., López, A. I., Martínez, J., & Guerrero, D. G. (2018). La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. *Conteo*

microbiológico Del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. *Revista Médica Electrónica*, 40(2), 371-382.

Secretaria de Integración Económica Centroamericana, SIECA. (2017). *Análisis Del Mercado Centroamericano de Lácteos y Sus Derivados*. Secretaria de Integración Económica Centroamericana. Recuperado de [estadisticas.sieca.int/documentos/ver/Policy_20_El_Mercado Intrarreg de Lácteos y Derivados.pdf](http://estadisticas.sieca.int/documentos/ver/Policy_20_El_Mercado_Intrarreg_de_Lácteos_y_Derivados.pdf).

Soto, A., & Urrelo, L. (2021). *Determinar el nivel de contaminantes biológicos (coliformes totales, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhi y bacterias heterótrofas y hongos) presentes en los manipuladores de alimentos del mercado La Paradita - Tarapoto, Perú*. (tesis de pregrado) Universidad Peruana Unión, Tarapoto, Perú.

Steniner, T. (2013). Treating foodborne illness. *Infect Dis Clin North Am*. 27(3), 555 -76.

Tabera, A., Cisneros, N., Ruiz, A. & Krüger, A. (2015). Evaluación microbiológica y capacitación en queserías artesanales. *Congreso Nacional de Alimentos. ANMAT*. Conferencia llevado a cabo en Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Vemuz, M. (2018). *Diagnóstico microbiológico en base a la Norma MINSA 461-2007 en el área de comidas preparadas del mercado Santa Clara*



Del Cantón Quito, Provincia de Pichincha. (tesis de pregrado).
Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

Zavala, M. (2011). *El concepto de calidad en los alimentos I.* Recuperado de
https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/concepto_calidad_alimentosI.pdf



XI. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de registro para anotación de los recuentos bacteriológicos obtenidos en ambos métodos utilizados.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA ESCUELA DE ZOOTECNIA			 			
HOJA DE REGISTRO Y RECuentos BACTERIOLÓGICOS DE HISOPADO Y ENJUAGUE EN MANOS						
Fecha:						
Número de Operario	Resultado Hisopado			Resultado Enjuague		
	Coliformes Totales	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	Coliformes Totales	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
Observaciones:						

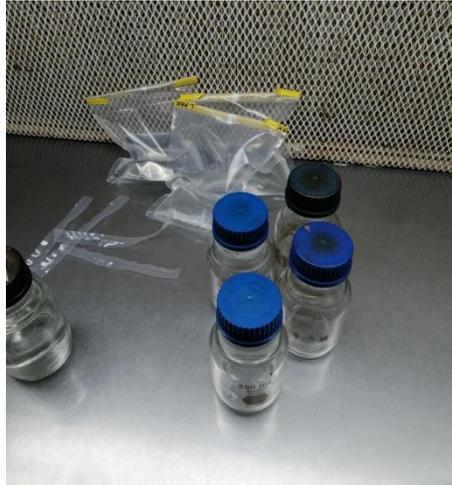
Fuente: Elaboración propia.

Anexo 2. Recuentos obtenidos en laboratorio de microbiología.

Número de operario	Hisopado (UFC/manos)			Enjuague (UFC/manos)		
	Coliformes Totales	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	Coliformes Totales	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	5	0	0	2	0	1
2	2	0	1	0	0	0
3	4	0	0	5	1	0
4	0	0	0	7	0	0
5	0	0	0	6	0	2
6	1	0	0	0	0	0
7	4	1	0	0	0	0
8	0	0	2	2	0	0
9	0	0	1	0	0	1
10	4	0	1	0	0	0
11	5	0	0	5	0	3
12	6	1	0	0	0	0
13	1	0	0	3	0	0
14	0	0	1	9	1	4
15	0	0	2	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0
18	3	0	2	0	0	5
19	6	0	0	3	0	0
20	2	1	4	0	0	0
21	0	0	0	3	0	1
22	8	0	0	0	0	0
23	9	0	3	0	0	1
24	0	0	0	4	1	0
25	3	0	1	1	0	3
26	7	0	0	3	0	0
27	0	0	0	0	1	0
28	1	0	0	5	1	2
29	7	0	2	0	0	0
30	0	0	0	1	0	0
31	7	0	0	2	0	1
32	6	0	0	0	0	2

Fuente: Elaboración propia

Anexo 3. Fotografías.



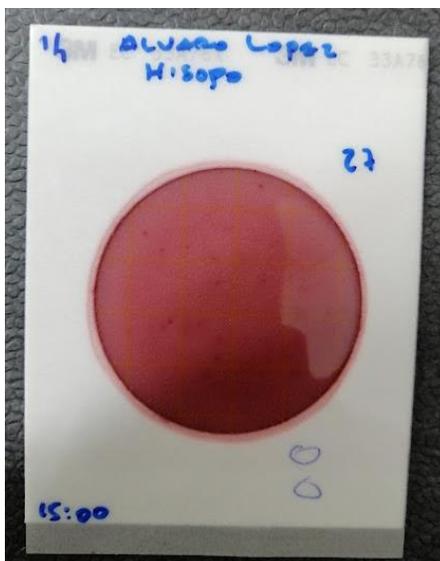
Fotografía 1. El material utilizado en el método para toma de muestras del enjuague, fue preparado en el laboratorio de control de calidad.



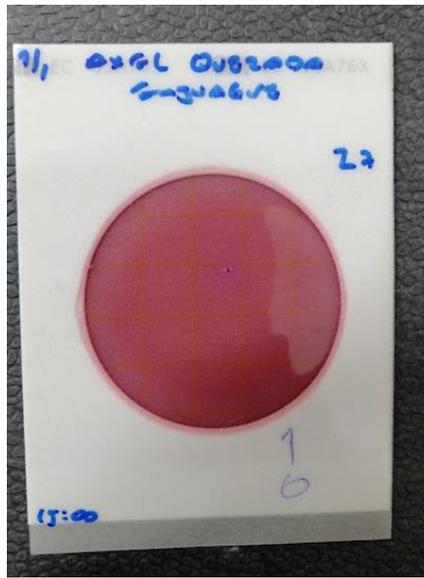
Fotografía 2. Toma de muestra de hisopado a manos de operario que se encontraba saliendo del cuarto frío a donde es llevado el queso posterior a su empaclado.



Fotografía 3. Análisis microbiológico a Placas de Recuento de *E.coli*/coliformes 3M™ Petrifilm™ en el laboratorio de control de calidad.



Fotografía 4. Análisis microbiológico a Placas de Recuento de *E.coli*/coliformes 3M™ Petrifilm™ obtenida por medio del método de hisopado.



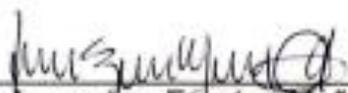
Fotografía 5. Análisis microbiológico a Placas de Recuento de *E.coli*/coliformes 3M™ Petrifilm™ obtenida por medio del método de enjuague.

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA

**DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CARGA BACTERIANA EN
MANOS DE OPERARIOS POR MEDIO DE DOS MÉTODOS PARA
TOMA DE MUESTRAS EN PLANTA DE LÁCTEOS EN ESCUINTLA**



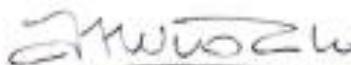
Br. Lucy Gabriela Dávila Hernández



Dra. Jacqueline Escobar Muñoz
ASESOR PRINCIPAL



M.Sc. Sergio Antonio Hernández de la Roca
ASESOR



M.A. María Andrea Muñoz Lorenzana
EVALUADOR

IMPRIMASE



M.A. Rodolfo Chang Shum
DECANO

