

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

**ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA
I DEL MEDI NATURAL**



**EL PAPEL DEL CONSUMIDOR EN LA TRANSFERENCIA DE
Listeria POR CONTAMINACIÓN CRUZADA EN EL HOGAR**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster en Gestión y Seguridad Alimentaria

Alumna:

María Álvarez Cubillos

Directora: Dra. Eva Doménech Antich

Codirectora: Dra. Salut Botella Grau

València, Junio de 2013

AGRADECIMIENTOS

Tras mi andadura por este arduo camino, mi más sincero agradecimiento:

A mis directoras del trabajo, la profesora Eva Doménech y Salut Botella, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto y por haberme guiado y ayudado durante todos estos meses.

A mis compañeras del trabajo. Esther, gracias por la ayuda mutua durante este tiempo, por los buenos momentos que hemos pasado (y también los malos... ¡Ay los nervios!) y por la bonita amistad que me llevo. Carlota, gracias por tu ayuda en el laboratorio y por los buenos momentos que hemos compartido.

A todos los miembros del Departamento de Microbiología (profesores, estudiantes, personal técnico), por haberse prestado a ayudar en todo momento y por todos los momentos que hemos compartido.

A mis padres, por creer en mí, por haber estado siempre a mi lado apoyándome en todas mis decisiones y por haberme ayudado económicamente a lograr mis metas. Y a mi hermano por, aunque a su manera, estar ahí.

A todos los familiares y amigos que han mostrado interés en mis estudios. Sobre todo a mis amigos Biólogos, por esos ánimos que tan bien vienen en ciertos momentos, y por sus ganas de verme defendiendo este trabajo.

A ti, Raúl, por haberme aguantado durante mi andadura en el Máster, por tu paciencia, y por haberme dado apoyo en todo momento ¡Gracias!

EL PAPEL DEL CONSUMIDOR EN LA TRANSFERENCIA DE *Listeria* POR CONTAMINACIÓN CRUZADA EN EL HOGAR

María Álvarez Cubillos, Salut Botella Grau¹, Eva Doménech Antich².

¹ Departamento Biotecnología, UPV

² Departamento Tecnología de los Alimentos, UPV

RESUM

La contaminación creuada és una de les principals causes de la transmissió de microorganismes d'un aliment contaminant a altre, i està relacionada amb el 25% dels brots transmesos per aliments. La present tesi té com a objectiu conèixer el paper del consumidor en la transferència de *Listeria innocua*, present en un pit de pollastre, que a través de diverses manipulacions aplega a contaminar altre aliment, en aquest cas, un formatge semi curat. S'han estudiat dos nivells de contaminació del pit, amb l'objectiu de simular una dosi normal en la llar i una càrrega elevada, pròpia dels assajos de laboratori. En primer lloc, s'ha estudiat la transferència de *Listeria* del pit a cadascuna de les superfícies de contacte (mà, ganivet i taula). S'han realitzat tres escenaris diferents a través dels quals s'ha estudiat l'efecte del llavat: en el primer les diferents superfícies que han estat en contacte amb el pit contaminat no han sigut llavades, en el segon han sigut llavades amb aigua; i en el tercer han sigut llavades amb fregall i sabó. Posteriorment, s'ha tallat el formatge i s'ha analitzat la seua contaminació. Els resultats obtinguts indiquen que la mà, junt amb la taula, són les superfícies de contacte que tenen major influència en la transferència. A més, el ganivet llis transfereix més càrrega que el de serra. Per últim, s'ha observat que sols el llavat amb fregall i sabó és efectiu, i per tant és important que el consumidor siga conscient d'aquest fet i de l'enorme importància del seu paper en la seguretat alimentària.

PARAULES CLAU: *Listeria*, contaminació creuada, coeficient de transferència, bones pràctiques a la llar.

RESUMEN

La contaminación cruzada es una de las principales causas de la transmisión de microorganismos de un alimento contaminado a otro, y se relaciona con el 25% de los brotes transmitidos por alimentos. La presente tesis tiene como objetivo conocer el papel del consumidor en la transferencia de

Listeria innocua, presente en una pechuga de pollo, que a través de distintas manipulaciones llega a contaminar otro alimento, en este caso, un queso semicurado. Se han estudiado dos niveles de contaminación de la pechuga, con el objetivo de simular una dosis normal en los hogares y una carga elevada, propia de los ensayos en laboratorio. En primer lugar, se ha estudiado la transferencia de *Listeria* de pechuga a cada una de las superficies de contacto (mano, cuchillo y tabla). Se han realizado tres escenarios distintos a través de los cuales se ha estudiado el efecto del lavado: en el primero las diferentes superficies que han estado en contacto con la pechuga contaminada no han sido lavadas; en el segundo han sido lavadas con agua; y en el tercero han sido lavadas con estropajo y jabón. Posteriormente, se ha cortado el queso y se ha analizado su contaminación. Los resultados obtenidos indican que la mano, junto con la tabla, son las superficies de contacto que tienen mayor influencia en la transferencia. Además, el cuchillo liso transfiere más carga que el de sierra. Por último, se ha observado que sólo el lavado con estropajo y jabón es efectivo, y por lo tanto es importante que el consumidor sea consciente de este hecho y de la enorme importancia de su papel en la seguridad alimentaria.

PALABRAS CLAVE: *Listeria*, contaminación cruzada, coeficiente de transferencia, buenas prácticas en el hogar.

ABSTRACT

Cross-contamination is a major cause of transmission of microorganisms from a contaminated food to another, and is related to 25% of food-borne outbreaks. This thesis aims to determine the role of consumers in the transfer of *Listeria innocua* present in a chicken breast, which through various manipulations becomes contaminated other food, in this case, a cheese curds. We have studied two levels of contamination of the breast, in order to simulate a normal dose in homes and a heavy load, typical of laboratory tests. In the first place, we studied the *Listeria* transfer the breast to each of the contact surfaces (hand, knife and table). There have been three different scenarios through which we have studied the effect of washing; in the first the different surfaces that have been in contact with contaminated breast unwashed, in the second have been washed with water and in the third have been washed with soap and scourer. Subsequently, it has cut the cheese and has been analyzed for contamination. The results indicate that the hand, along with the table, are the contact surfaces that have a greater influence on the transfer. Furthermore, smooth knife transfer more load that saw knife. Finally, it was observed that only washing with scourer and soap is effective, and therefore it is important that the consumer is aware of this fact and of the enormous importance of this role in food security.

WORD KEYS: *Listeria*, cross contamination, transfer coefficient, good practices at home.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación cruzada se define como la transferencia, directa o indirecta, de las bacterias o virus de un producto contaminado a un producto no contaminado. Este efecto se ve favorecido por la adhesión de los microorganismos en general a las superficies, que a su vez está influenciado por varios factores que dependen de la estructura y características fisiológicas de la célula, naturaleza y temperatura del fluido en el cual está suspendido y las propiedades físicas y químicas del material en contacto, como son la geometría, porosidad, rugosidad, composición e hidrofobicidad (Foschino *et al.*, 2003; Dawson *et al.*, 2006).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1992), un 25% de los brotes transmitidos por alimentos están estrechamente relacionados con casos de contaminación cruzada que implican las prácticas de higiene deficientes, equipos contaminados, la contaminación a través de los manipuladores de alimentos, procesamiento o almacenamiento inadecuados (Carrasco *et al.*, 2011). En el mismo sentido, varios autores han señalado que la contaminación cruzada de patógenos bacterianos y virales en los hogares y en los establecimientos de servicio de alimentos, son uno de los principales factores causantes de enfermedades transmitidas por alimentos esporádicos y epidémicos (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2008).

Listeria monocytogenes está considerada uno de los principales patógenos emergentes en alimentos capaz de originar graves problemas en materia de salud pública. Son bacilos Gram-positivos de forma regular y con morfología de bacilo corto, de aproximadamente 0,4-0,5 μm de diámetro y 0,5-2 μm de longitud con las puntas redondeadas, no formando cápsulas ni esporas y suelen observarse en disposición individual o constituyendo cadenas de 6-20 mm de longitud.

Estos microorganismos son capaces de crecer en un amplio rango de temperaturas, entre 1°C y 43°C, si bien su temperatura óptima de crecimiento está comprendida entre 30°C y 37°C. Toleran condiciones de acidez y alcalinidad, siendo capaces de crecer en un pH comprendido en un rango de 6-9, aunque el crecimiento óptimo se produce a pH neutro o ligeramente alcalino.

De las ocho especies que pertenecen al género *Listeria* sp., *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* y *L. ivanovii* son β -hemolíticas en medio sólido de agar con 5% vol/vol de sangre de caballo y tienen un metabolismo aerobio y/o anaerobio facultativo. *L. monocytogenes* y *L. seeligeri* presentan un pequeño halo de α -hemólisis alrededor de las colonias que en numerosas ocasiones, es difícil de observar de tal forma que se hace necesario retirar la colonia para poder detectarlo. Por el contrario, *L. ivanovii* presenta un amplio halo doble de β -hemólisis (ICMSF, 1996).

Las bacterias pertenecientes al género *Listeria* sp., presentan de 1 a 5 flagelos peritricos que les confieren movilidad cuando se cultivan a temperaturas de 20°C a 25°C aunque es inmóvil a 37°C por inactivación del flagelo. Estos flagelos pueden tener longitudes de 6 a 20 µm.

Los casos de listeriosis en España en 2004 fueron 100, en 2005 y 2006 se dieron 79 casos cada año y en 2007 hubieron 81 casos (EFSA, 2007). El 40% de los brotes de intoxicación se originan en el ámbito familiar. Esta información viene a destacar el papel del consumidor en el valor del riesgo al que está expuesto y de la enorme repercusión que tienen las etapas finales de la cadena alimentaria (Doménech *et al.*, 2012).

De Boer and Hahné (1990), llegaron a la conclusión que los platos, tablas de cortar, paños de mano, etc., utilizados en las cocinas, están directamente relacionados con la contaminación cruzada de alimentos crudos. También concluyeron, que esta transferencia de microorganismos se produce en diferentes etapas de la cadena alimentaria (la industria alimentaria, el comercio minorista, el restaurante y el hogar). Siendo, la transferencia por contacto entre superficie y alimento el factor determinante en la transmisión de enfermedades por alimentos (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2008). En la misma línea, Ryan *et al.* (1996), estudiaron los factores de riesgo de brotes de enfermedades intestinales infecciosas ligadas al ámbito doméstico, concluyendo que la contaminación cruzada era la responsable de 28 brotes de 101 brotes.

El presente trabajo tiene como objetivo conocer el papel del consumidor en la transferencia de *Listeria innocua* (en sustitución de *L. monocytogenes*), presente en una pechuga de pollo, que a través de distintas manipulaciones llega a contaminar otro alimento, en este caso queso semicurado. Además, con este estudio se quiere identificar cuáles son las prácticas más adecuadas para reducir la contaminación cruzada en los hogares y, consecuentemente, proponer pautas de correcta manipulación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

Para la realización del presente estudio se empleó una cepa de *Listeria innocua* procedente de la colección del Laboratorio de Microbiología de la Universitat Politècnica de València. Esta cepa no entraña ningún riesgo para la manipulación y salud del trabajador.

Los alimentos utilizados en este estudio han sido pechuga y queso. Las pechugas se han adquirido en establecimientos especializados en carne de pollo de dos municipios de València, con un peso medio de 230 g. Se eligió un

queso de vaca, oveja y cabra semicurado, envasado y cortado en cuñas, adquirido en un supermercado de un municipio de València.

2.2. Descripción de los escenarios

El efecto del lavado se ha llevado a cabo a través de la realización de tres escenarios, los cuales se representan en la figura 1.

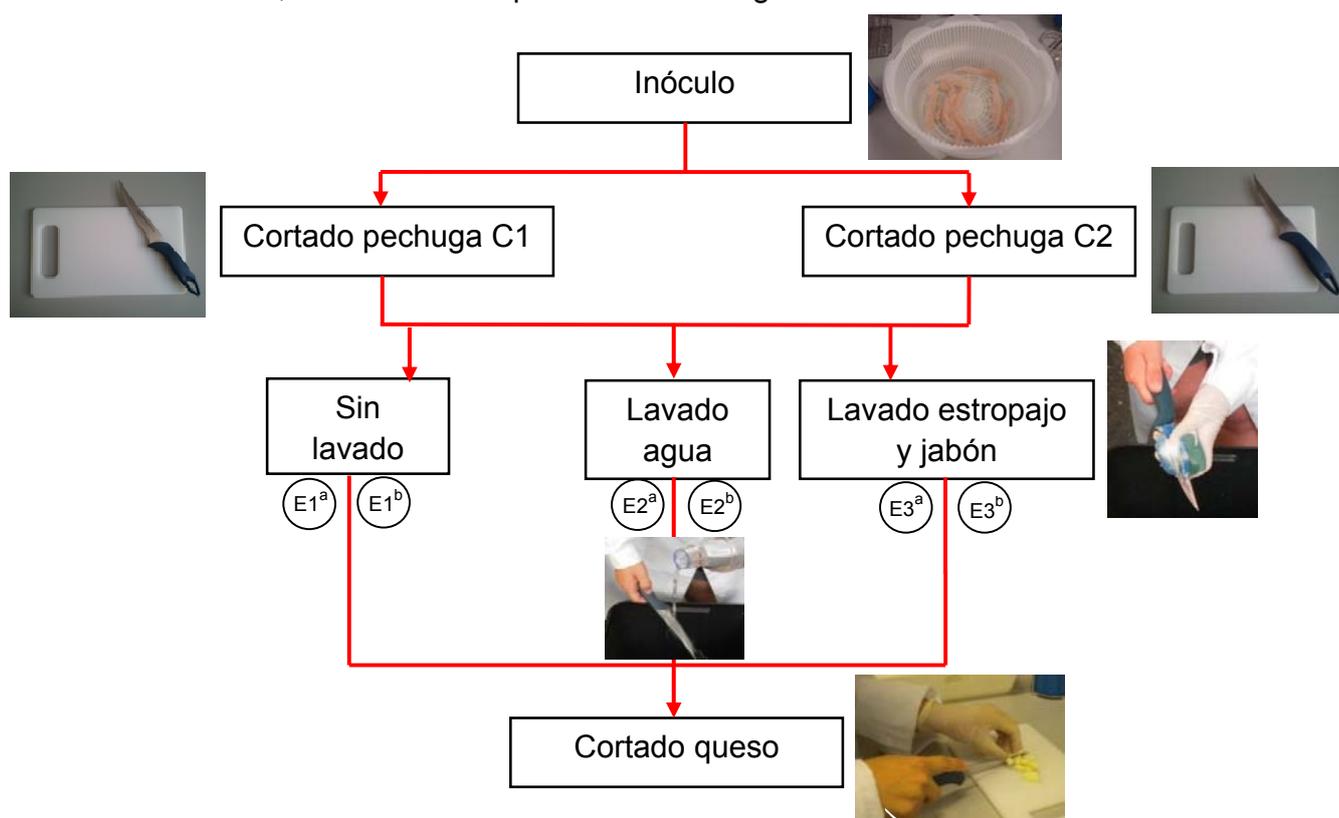


FIGURA 1. Representación de las etapas incluidas en cada uno de los escenarios. E^a : carga alta = 10^9 ufc/mL; E^b : carga baja = 10^2 ufc/mL.

ESCENARIO 1

La pechuga contaminada fue cogida con la mano izquierda, que estaba protegida con un guante para evitar la contaminación del manipulador, y se colocó sobre la tabla de cortar. En ese momento, se procedió a cortarla en trozos con el cuchillo, el cual fue manipulado con la mano derecha. Este mismo procedimiento se realizó dos veces, primero usando el cuchillo liso y a continuación se realizó de nuevo la misma operación, pero utilizando el cuchillo de sierra. El siguiente paso fue analizar la mano, el cuchillo y la tabla (como en

el apartado 2.3.). Esta experiencia se realizó por triplicado para dos niveles de contaminación de la pechuga ($a=10^9$ ufc/mL y $b=10^2$ ufc/mL). A continuación, se cogió el queso con la mano sin lavar, que ya había sido utilizada con la pechuga contaminada, se dejó sobre la misma tabla anterior y se cortó con los dos tipos de cuchillo con los que se había cortado la pechuga, que, al igual que la tabla, no se habían lavado. Se introdujeron los trozos de queso en una bolsa de Stomacher con 90 mL de Agua de Peptona estéril para ser analizado.

ESCENARIO 2

El experimento se realizó siguiendo las mismas operaciones que en el escenario 1, pero en este caso, la mano y los utensilios utilizados tras cortar la pechuga contaminada, con las dos cargas distintas de *Listeria*, fueron lavados antes de cortar el queso, situándolos debajo del chorro de agua durante 3 segundos. Se repitió la misma operación, pero en este caso utilizando el cuchillo de sierra. Una vez lavados se analizaron por triplicado la mano, la tabla y los dos tipos de cuchillo utilizados (como en el apartado 2.3.). A continuación, al igual que en el escenario 1, se cogió el queso con la mano derecha provista del guante, esta vez lavado, se dejó sobre la misma tabla de cortar lavada y se troceó con ambos cuchillos también lavados con chorro de agua. Finalmente, los trozos de queso se introdujeron en una bolsa de Stomacher con 90 mL de Agua de Peptona estéril para ser analizados.

ESCENARIO 3

En este escenario, el experimento se realizó del mismo modo que el escenario 2, pero en esta ocasión el lavado no solo fue bajo chorro de agua, sino que además, se utilizó estropajo y jabón.

La tabla 1 muestra las etapas que comprenden cada uno de los distintos escenarios que se han analizado.

TABLA 1. Etapas realizadas en los distintos escenarios.

Escenario	Cortado pechuga	Sin lavado	Lavado agua	Lavado estropajo+jabón	Cortado queso
E1 ^{a,b}	X	X			X
E2 ^{a,b}	X		X		X
E3 ^{a,b}	X			X	X

E^a: Pechuga cortada con inóculo 10^9 ufc/mL.

E^b: Pechuga contaminada con inóculo 10^2 ufc/mL.

2.3. Etapas del análisis

El recuento de *L. innocua* se ha realizado siguiendo el protocolo utilizado en el laboratorio de Microbiología del Departamento de Biotecnología. Dicho protocolo se basa en la norma **UNE-EN ISO 11290-1:2009** “*Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y recuento de Listeria monocytogenes y otras especies de Listeria*”. Las etapas incluidas en el protocolo son las siguientes:

- a) Siembra del cultivo. Una semana antes de realizar cada análisis, se sembró una placa en masa con *Listeria*, en medio nutritivo sólido Plate Count Agar (PCA). Se incubó a 37°C durante 24h. Transcurrido este tiempo, la placa fue cerrada con parafilm y conservada en refrigeración.
- b) Preparación de las muestras. El día anterior, la pechuga entera se cortó en tiras de 10 g con la ayuda de una tabla de cortar y de un cuchillo liso, usando guantes de látex para su manipulación. Los trozos se guardaron en recipientes cerrados y fueron refrigerados hasta su análisis. El queso se preparó en porciones de 10 g y sin corteza y se guardaron en recipientes cerrados y refrigerados hasta su análisis.
- c) Preparación del inóculo. Se realizó un cultivo de noche el día previo al análisis en 10 mL de Caldo Fraser. Se incubó a 37°C durante menos de 24h.
- d) Inoculación de la pechuga. El mismo día del análisis, se vertieron 990 mL de PBS 1x en un recipiente con escurridera, donde posteriormente se añadieron 10 mL del inóculo. A continuación, los trozos de pechuga de 10 g fueron introducidos durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se sacaron los trozos de pechuga del recipiente con PBS + inóculo y se escurrieron bien. Ahora la pechuga ya está contaminada y, por lo tanto, lista para comenzar la experiencia.
- e) Análisis. Para estudiar la transferencia de la pechuga contaminada al queso por medio de las superficies de contacto, se procedió de la siguiente manera. Se cogió con la mano izquierda provista de guante un trozo de pechuga de 10 g, que fue depositada sobre la tabla de cortar y se procedió a cortarlo con el cuchillo que fue manipulado con la mano derecha. Estos trozos se introdujeron en una bolsa de Stomacher a la que se añadieron 90 mL de Agua de Peptona estéril para analizar la carga de *Listeria* presente en la misma. Para analizar la contaminación de la pechuga a la mano, se analizó el guante rociando 100 mL de Agua de Peptona estéril sobre la zona del guante que ha estado en contacto con la pechuga (los dedos), dentro de la bolsa de Stomacher. Este mismo procedimiento fue realizado con el cuchillo liso y la tabla de cortar para analizar la transferencia de la contaminación. Una vez terminado el proceso de cortado de la pechuga, se cogió un trozo de

queso de 10 g de peso con la mano izquierda provista de guante el cual se depositó sobre la tabla y se procedió al cortado con el cuchillo liso que fue manipulado con la mano derecha. Se introdujeron los trozos en una bolsa de Stomacher con 90 mL de Agua de Peptona estéril para evaluar la transferencia de la mano, el cuchillo y la tabla contaminados por la pechuga al queso. A continuación se procedió a la realización del análisis con el cuchillo de sierra siguiendo el mismo protocolo especificado.

- f) Siembra de placas. El contenido de las bolsas de Stomacher fue homogeneizado durante 1 minuto. A continuación, se realizaron las diluciones decimales seriadas correspondientes en tubos de ensayo con 9 mL de agua destilada estéril. De cada una de estas diluciones se sembraron por duplicado 0,1 mL en una placa de Petri con medio Palcam. Se incubaron a 37°C durante 48h.
- g) Lectura de los resultados. Transcurridas las 48h las placas fueron sacadas de la estufa y se procedió a su lectura. Se contaron aquellas placas que contenían entre 30 y 300 colonias. *Listeria* forma colonias pequeñas (de 0,5 a 1,5 mm tras 24-48h de incubación) redondeadas, convexas y traslúcidas. Cuando los cultivos en medios sólidos de Agar son viejos, de 3 a 7 días, las colonias son más grandes, de 3 a 5 mm de diámetro, con una invaginación central más opaca y con un aspecto más áspero y rugoso.

2.4. Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el programa Statgraphics Centurión XVI, a través del análisis de la varianza multifactorial (escenario y resultado), para determinar el nivel de significación de los resultados obtenidos. Los resultados obtenidos han sido tratados con dos tipos de gráficos descriptivos:

- Histogramas. Con ellos se ha representado la frecuencia con la que se da cada uno de los valores de los datos.
- Diagramas de caja-bigotes. Se realizaron para comparar las pautas de variabilidad existentes entre los distintos conjuntos de datos obtenidos de los análisis llevados a cabo en las diferentes pruebas. En estos diagramas, la “caja” comprende el 50% de los valores centrales de los datos, extendiéndose entre el primer cuartil y el tercer cuartil (figura 2). La línea central corresponde a la mediana. Los “bigotes” se extienden desde el menor al mayor de los valores observados y considerados “normales”. Aquellos valores extremos que difieren del cuartil más próximo en más de 1,5 veces el intervalo intercuartílico, se representan como puntos aislados por considerar que pueden corresponder a datos anómalos. En todos los casos se ha tomado como límite de la significatividad estadística una $P < 0,05$.

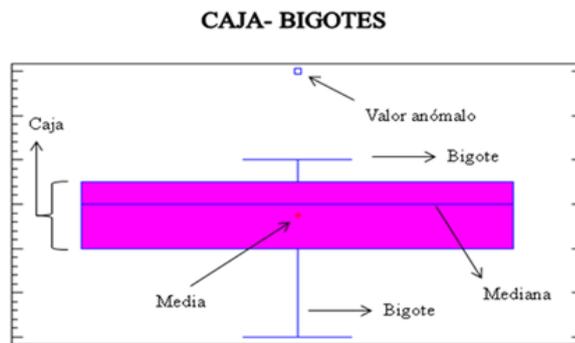


FIGURA 2. Ejemplo de diagrama caja-bigotes (Box-Whisker).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Transferencia de la pechuga a las superficies de contacto

La transferencia de contaminación de *Listeria innocua* presente en la pechuga a las distintas superficies de contacto: mano, cuchillo (liso y sierra) y tabla, se presentan en las figuras 3 a 6.

La figura 3 muestra la transferencia desde la pechuga a la mano, y como es de esperar, ésta es mayor en la experiencia realizada sin ningún tipo de lavado. En la experiencia con lavado con agua se disminuye la transferencia en una unidad logarítmica y en la experiencia con lavado con estropajo y jabón se elimina casi en su totalidad la contaminación existente, siendo estadísticamente significativo el lavado con jabón (P-valor 0,0000).

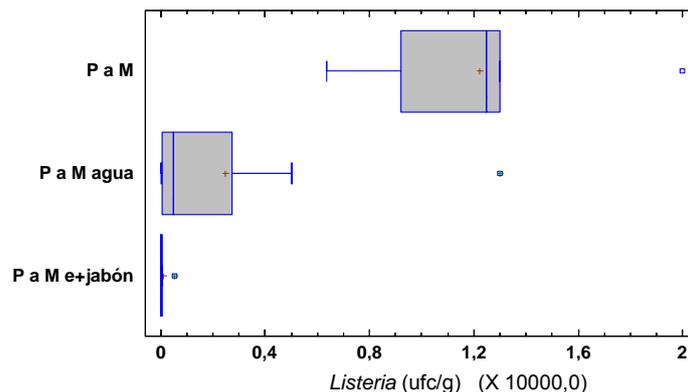


FIGURA 3. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la pechuga a la mano en cada uno de los escenarios: sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón.

Los resultados obtenidos son comparables a otros estudios como el realizado por Montville *et al.* (2000), cuyos autores estudiaron la transferencia bacteriana a través de guantes. En este estudio, determinaron cinco tipos de transferencia del pollo a la lechuga con la mano desnuda y con uso de guante. Dichos autores concluyeron que los guantes pueden reducir, tanto la transferencia de bacterias presentes en los alimentos a las manos del manipulador, como de las manos protegidas con el guante al nuevo alimento con el que entren en contacto. Además, van Asselt *et al.* (2007), concluyeron que la mano es la que más contribuye a la contaminación y que con agua fría queda contaminación pero con jabón se elimina todo.

En la figura 4, se observa que la transferencia de la pechuga al cuchillo liso, al igual que en el caso anterior, es mayor en la experiencia realizada sin ningún tipo de lavado. Sin embargo, los valores máximos obtenidos se encuentran muy por debajo, siendo éstos de 2.000 ufc/g. En esta ocasión, destaca que se produce una elevada reducción de la contaminación en las experiencias de lavado con agua y lavado con estropajo y jabón, pudiendo concluir que tienen prácticamente la misma eficacia ambos tipos de lavado. Esto puede deberse al hecho de que el filo sea una superficie lisa, lo que facilita el arrastre de los microorganismos.

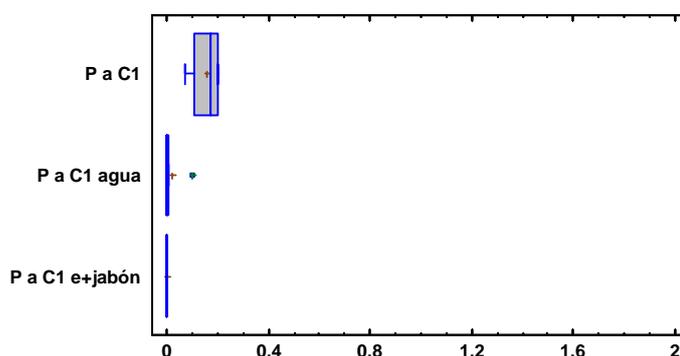


FIGURA 4. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la pechuga al cuchillo liso en cada uno de los escenarios: sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón.

En la figura 5, se muestra la transferencia de la pechuga al cuchillo de sierra. Se puede ver que en la experiencia sin lavado se retiene una cantidad de microorganismos muy cercana a las 2.000 ufc/g. Tras el lavado con agua, los valores máximos son de unos 200 ufc/g, mientras que en la experiencia con lavado del cuchillo liso, los valores estaban por debajo de las 100 ufc/g. Por lo tanto, se puede afirmar que cuando la cuchilla es dentada, el lavado es menos eficaz. Por último, cuando se comparan el lavado con agua y con estropajo y jabón, el resultado indica que en ambos casos se da una reducción de la

contaminación, siendo del orden de una y dos unidades logarítmicas respectivamente, y por lo tanto, la eficacia de ambos tratamientos es muy semejante, siendo estadísticamente dos grupos homogéneos.

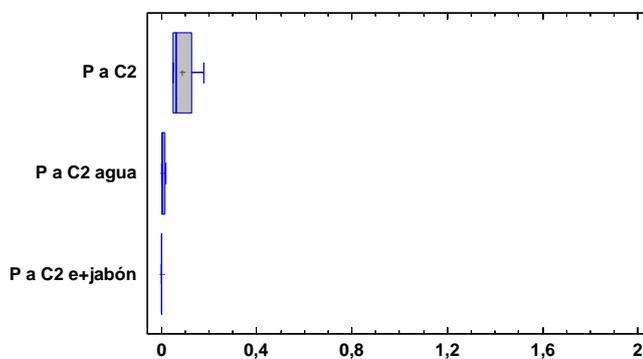


FIGURA 5. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la pechuga al cuchillo de sierra en cada uno de los escenarios: sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón.

Por el contrario, otros autores encontraron una mayor transmisión de la contaminación a través del cuchillo (Hoelzer *et al.*, 2012), mientras que Ravishankar *et al.* (2010), concluyeron, igual que nuestros resultados, que la carga que queda en la tabla es mucho mayor que en el cuchillo.

En la figura 6, se observa la transferencia que se produce desde la pechuga a la tabla. En la experiencia sin lavado y con lavado con agua, la carga contaminante que se transfiere a la tabla es elevada, teniendo como valores medios 4.000 ufc/g y 2.000 ufc/g, respectivamente, no observándose diferencias significativas (P-valor 0,2051). Mientras que, como en los casos anteriores, un lavado con estropajo y jabón marca diferencias significativas (P-valor 0,0000) con el lavado únicamente con agua y por lo tanto, debería ser una práctica fundamental en los hogares.

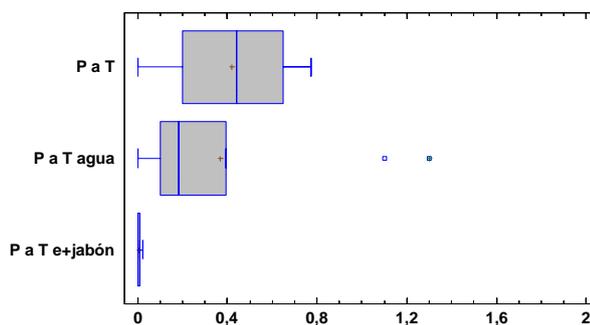


FIGURA 6. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la pechuga a la tabla en cada uno de los escenarios: sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón.

El resultado de los valores medios de la pechuga a cada superficie de contacto se muestra en la tabla 2.

TABLA 2. Valores medios obtenidos en el recuento.

ufc/g	Sin lavar	Lavado agua	Lavado estropajo+jabón
Pechuga inoculada	9,15x10 ⁴	9,15x10 ⁴	9,15x10 ⁴
Pechuga a Mano	1,22x10 ⁴	2,46x10 ³	1,00x10 ²
Pechuga a Cuchillo liso	1,55x10 ³	1,75x10 ²	0
Pechuga a Cuchillo sierra	8,88x10 ²	7,50x10 ¹	0
Pechuga a Tabla	4,20x10 ³	3,67x10 ³	5,50x10 ¹

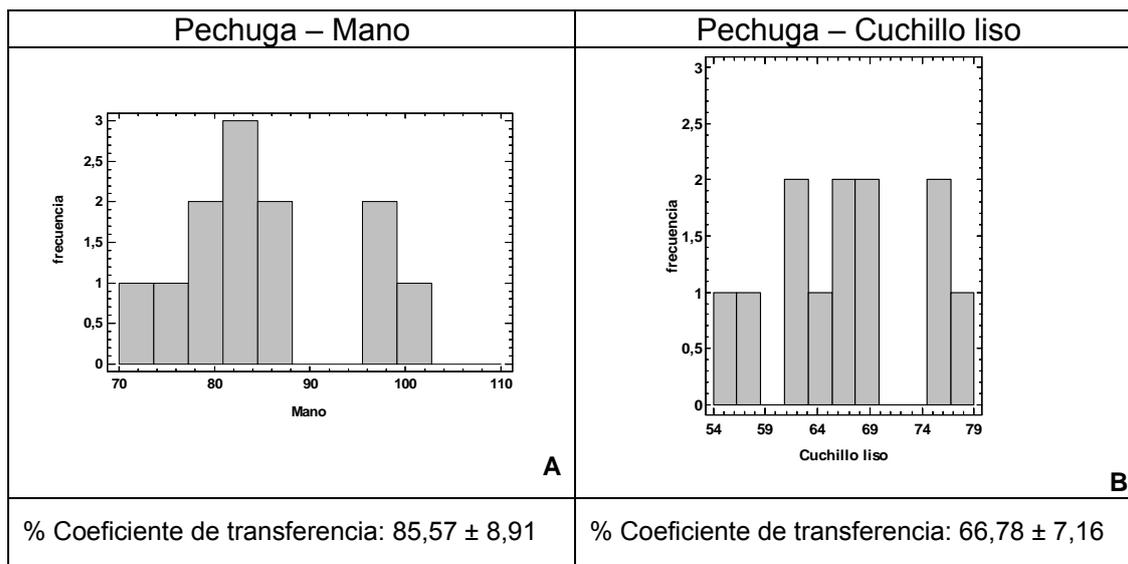
Los resultados obtenidos indican que en el escenario 1, correspondiente a la manipulación sin lavado, es en el que en todos los casos, la carga de contaminación existente, tal y como es de suponer, es la más elevada ya que los microorganismos quedan retenidos y se van transfiriendo a cualquier elemento que entre en contacto con él. El elemento que retiene mayor contaminación es la mano, la cual queda contaminada con un valor medio de 4 unidades logarítmicas. El escenario 2, que se corresponde con el lavado con chorro de agua, los resultados muestran que hay una reducción de la carga contaminante destacando que dicha reducción es considerable en el caso del cuchillo liso, pero no es tan eficaz en el caso del cuchillo de sierra, quedando valores medios de contaminación de 200 ufc/g. Esto es debido a que la superficie lisa facilita el arrastre de la contaminación, mientras que la superficie dentada del filo aumenta la capacidad de adhesión de los microorganismos. En la figura 6 se observa que, en la tabla tras un lavado sólo con agua todavía quedan unas 4.000 ufc/g de contaminación, lo cual puede deberse al hecho de que se trata de una superficie rugosa que retiene más los microorganismos. De hecho, es el objeto que retiene mayor carga de *Listeria* en este escenario. Para el escenario 3, correspondiente al lavado con estropajo y jabón, todas las gráficas muestran que este tipo de lavado es el más eficaz a la hora de eliminar la carga, ya que, aunque en la mano y en la tabla se retiene una pequeña cantidad (dos y una unidad logarítmica respectivamente), la transferencia que hay posterior al lavado es prácticamente inexistente en todas las superficies de contacto, en especial en el caso de la menor carga del inóculo de la pechuga de partida.

Los resultados obtenidos en este trabajo son comparables con los estudios realizados por Mattick *et al.* (2002), quienes estudiaron el efecto que tiene el proceso de lavado en la prevención de la contaminación cruzada en la cocina. Uno de los resultados que obtuvieron fue que la adición de detergente asegura una rápida disminución en el número de bacterias frente a un lavado en

ausencia de detergente. En el mismo sentido, Montville *et al.* (2000), concluyó que el lavado insuficiente de manos, ha sido la fuente de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

La figura 7 muestra el histograma de cada uno de los resultados de la transferencia de la pechuga a las distintas superficies en la experiencia sin lavar. Como puede observarse existen diferencias en cuanto a los resultados, debido posiblemente al efecto del manipulador (presión de la mano, fuerza, posición, etc.) y envejecimiento de las distintas superficies de contacto (como el rayado de la tabla en los distintos usos). Los valores medios obtenidos de transferencia muestran que el mayor coeficiente se ha producido desde la pechuga a la mano (coeficiente de transferencia = 85,57%), quizá debido a que es el primer elemento con el que entra en contacto. También existe una elevada transferencia desde la pechuga a la tabla (coeficiente de transferencia = 77,68%), siendo por tanto éstas dos las superficies que mayor contaminación transfieren.

Tras el lavado con chorro de agua, los coeficientes de transferencia (%) son de: a la mano = $56,20 \pm 29,93$; al cuchillo liso = $31,73 \pm 24,38$, al cuchillo de sierra = $34,07 \pm 16,35$; a la tabla = $65,45 \pm 25,68$. Del mismo modo los coeficientes tras el lavado con estropajo y jabón fueron: a la mano = $28,85 \pm 22,29$; al cuchillo liso = 0, al cuchillo de sierra = 0; a la tabla = $14,28 \pm 0,43$.



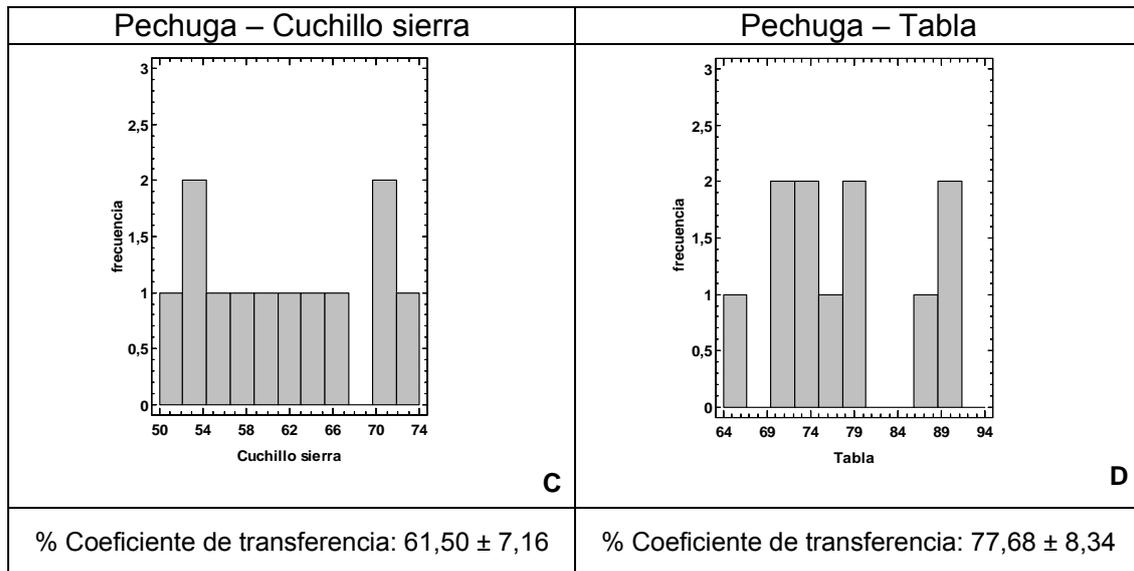


FIGURA 7. Valores medios del coeficiente de transferencia en la experiencia sin lavar de: A) La pechuga a la mano, B) La pechuga al cuchillo liso, C) La pechuga al cuchillo de sierra, D) La pechuga a la tabla, en el escenario sin lavado.

3.2. Transferencia de todas las superficies de contacto al queso

La segunda parte del trabajo se centra en la transferencia de todo el material utilizado para el manejo de la pechuga contaminada al queso. Para ello se han utilizado los mismos utensilios según los escenarios (sin lavar, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón).

El resultado de la lectura de las placas se muestra en la tabla 3. Se trata de los valores medios de la contaminación existente desde el conjunto de las superficies de contacto hasta el queso.

TABLA 3. Valores medios obtenidos en el recuento.

ufc/g	Sin lavado	Lavado agua	Lavado estropajo+jabón
Mano, Cuchillo liso, Tabla a Queso	$1,15 \times 10^4$	$7,67 \times 10^2$	$1,67 \times 10^1$
Mano, Cuchillo sierra, Tabla a Queso	$8,70 \times 10^3$	$1,11 \times 10^3$	$1,25 \times 10^1$

En la figura 8 se observa que, al igual que en la transferencia de la pechuga a los objetos, el lavado con jabón es la manipulación más correcta, quedando la contaminación reducida casi a cero; ya que en el caso de sólo utilizar el agua, la transferencia es entre dos y tres unidades logarítmicas. En la experiencia sin lavado, tanto el cuchillo liso como el cuchillo de sierra transfieren mucha contaminación al queso, siendo con el uso del cuchillo liso cuando más se transfiere. En la experiencia con lavado con agua la carga contaminante disminuye, pero en este caso, la transferencia es mayor en el caso del cuchillo de sierra. Los resultados revelan que, a la hora de cortar la pechuga con el cuchillo, el cuchillo liso transfiere una mayor carga que el de sierra, y esto sucede porque al ser una superficie lisa se desprenden con más facilidad los microorganismos. Del mismo modo, cuando se realiza el lavado, la superficie lisa del cuchillo liso facilita el arrastre de la carga bacteriana, quedando el cuchillo de sierra con una carga microbiana más elevada debido a la superficie rugosa de su filo y transfiriendo menos, por lo que el lavado es más eficaz en el cuchillo liso.

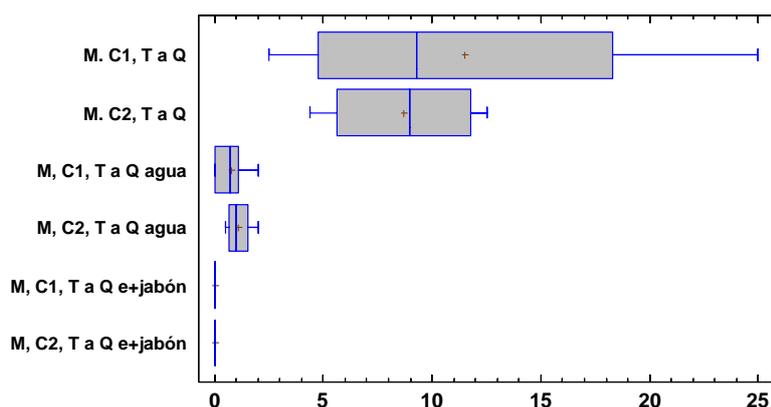


FIGURA 8. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la mano, el cuchillo liso, el cuchillo sierra y la tabla al queso en cada uno de los escenarios: sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón.

3.3. Transferencia desde la pechuga con carga baja

En la experiencia llevada a cabo con una reducción del inóculo, a través del cual se intenta simular una carga de contaminación más probable en los hogares. El resultado medio de la lectura de las placas de cada una de las superficies que han estado en contacto con la pechuga se muestra en la tabla 4. Además, en la figura 9 se representan todos los valores obtenidos a través de una caja de bigotes.

TABLA 4. Valores medios obtenidos en el recuento.

	ufc/g
Pechuga a Mano	$7,50 \times 10^1$
Pechuga a Cuchillo liso	$7,25 \times 10^2$
Pechuga a Cuchillo sierra	0
Pechuga a Tabla	$2,08 \times 10^2$

Los resultados muestran que la transferencia a la tabla es mucho mayor que a la mano y a los cuchillos.

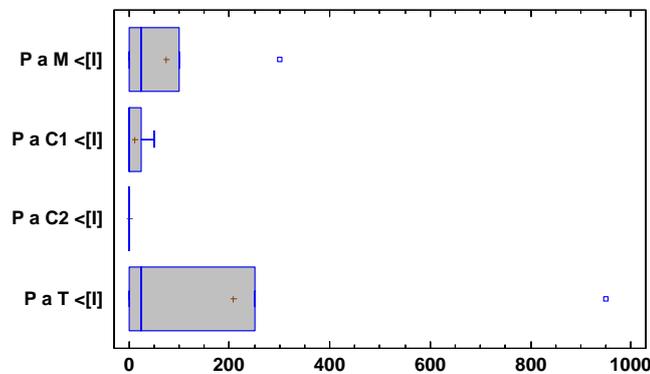


FIGURA 9. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la pechuga a la mano, de la pechuga al cuchillo liso, de la pechuga al cuchillo de sierra y de la pechuga a la tabla, con reducción del inóculo.

La tabla 5 muestra los resultados de la lectura de las placas desde todas las superficies de contacto hasta el queso.

TABLA 5. Valores medios obtenidos en el recuento.

	ufc/g
Mano, Cuchillo liso, Tabla a Queso	$7,25 \times 10^2$
Mano, Cuchillo sierra, Tabla a Queso	$3,25 \times 10^2$

La figura 10, muestra que la transferencia de la mano, el cuchillo y la tabla al queso, también es mayor en el caso del cuchillo liso con respecto al cuchillo de sierra, siendo los valores máximos de 2.100 ufc/g y 500 ufc/g respectivamente,

al igual que sucede con la experiencia del inóculo con una carga mayor. En la figura 8, se observa que la transferencia sin lavado es de tres a cuatro unidades logarítmicas, la transferencia tras el lavado se reduce de una a tres unidades logarítmicas y no existe transferencia en el lavado con estropajo y jabón. Lo mismo ocurre, en la experiencia en la que se ha reducido el inóculo. En este último caso, en los escenarios de lavar con agua y con estropajo y jabón, no existe transferencia al queso, ya que se parte de una carga baja y además, se ha reducido a prácticamente cero con el lavado. El análisis de la varianza realizado, indica que existen diferencias significativas entre los dos tipos de cuchillo, en relación a la contaminación del queso, dado que se obtiene un P-valor = 0,0003 en un intervalo de confianza del 95%.

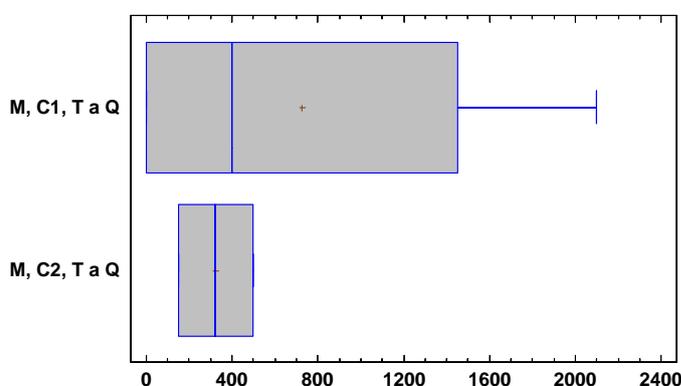


FIGURA 10. Gráfico de cajas y bigotes. Transferencia de la mano, el cuchillo liso y la tabla al queso, y de la mano, el cuchillo de sierra y la tabla al queso, con reducción del inóculo.

4. CONCLUSIONES

La mano, junto con la tabla, son las superficies de contacto que más contribuyen a la transferencia de contaminación de la pechuga al queso dada su rugosidad y fácil adherencia. El cuchillo liso transfiere más carga que el de sierra, ya que los microorganismos se arrastran fácilmente.

El lavado con estropajo y jabón ha sido el más efectivo en todos los casos. En cambio, el lavado con agua sólo ha sido efectivo con el cuchillo liso. Como es de suponer, el escenario sin lavado no es recomendable.

El estudio ha demostrado que el consumidor tiene un papel esencial en la reducción de la contaminación cruzada y que no se deben escatimar esfuerzos en su formación y sensibilización, ya que no sólo deben realizar tareas de limpieza, sino que éstas además deben efectuarse de manera correcta.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del marco del proyecto PAID-06-10-2287 financiado por la Universitat Politècnica de València.

5. REFERENCIAS

- Carrasco, E., Morales-Rueda, A., García-Gimeno, R.M^a., 2011. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International* 45, 545-556.
- Dawson, P., Han, I., Cox, M., Black, C., Simmons, L., 2006. Residence time and food contact time effects on transfer of *Salmonella typhimurium* from tile, wood and carpet: testing the five-second rule. *Journal of Applied Microbiology*, 1364-5072.
- de Boer, E., Hahné, M., 1990. Cross-contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. from raw chicken products during food preparation. *Journal of Food Protection* 53, 1067-1068.
- Doménech, E., Filip, C., Escriche, I., 2012. El transporte al hogar y su relación con el aumento de la temperatura de la lechuga fresca y la verdura congelada. Calidad y seguridad alimentaria. Retos del presente. 1^a jornada en calidad y seguridad alimentaria. Valencia a 1 de junio de 2012. Ed. *Universidad Politècnica de València*.
- Foschino, R., Picozzi, C., Civardi A., Bandini, M., Faroldi, P., 2003. Comparison of surface sampling methods and cleanability assessment of stainless steel surfaces subjected or not to shot peening. *Journal of Food Engineering* 60 (2003), 375-381.
- Gómez Edo, R. 2011. Viabilidad de *Listeria monocytogenes* en lechuga (*Lactuca sativa*) inoculada artificialmente: Valoración del lavado con agua clorada. Tesis Final de Carrera. Universitat Politècnica de València.
- Hoelzer, K., Pouillot, R., Gallagher, D., Silverman, M.B., Kause, J., Dennis, S., 2011. Estimation of *Listeria monocytogenes* transfer coefficients and efficacy of bacterial removal through cleaning and sanitation. *International Journal of Food Microbiology* 157, 267-277.
- Luber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K., Bartelt, E., 2005. Quantification of *Campylobacter* Species Cross-Contamination during Handling of Contaminated Fresh Chicken Parts in Kitchen. *Applied and Environmental Microbiology*, 66-70
- Mattick, K., Durham, K., Domingue, G., Jørgensen, F., Sen, M., Schaffner, D. W., Humphrey, T., 2002. The survival of foodborne pathogens during domestic washing-up and subsequent transfer onto washing-up sponges, kitchen surfaces and food. *International Journal of Food Microbiology* 85, 213-226.
- Montville, R., Chen, Y., Schaffner, D.W., 2000. Glove barriers to bacterial cross-contamination between hands to food. *Journal of Food Protection*, Vol. 64, No. 6, 2001, 845-849.
- Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., Carrasco, E., García, R.M^a., Zurera, G., 2008. Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in Food Science & Technology* 19, 131-144.

- Ravishankar, S., Zhu, L., Jaroni, D., 2009. Assessing de cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different food-handling scenarios. *Food Microbiology* 27, 791-794.
- Ryan, M.J., Wall, P.G., Gilbert, R.J., Griffin, M., Rowe, B., 1996. Risk factors for outbreaks of infectious intestinal disease linked to domestic catering, [en línea]. *PubMed*. Dirección URL: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8990573>> [Consulta: 23 de Jun. 2013].
- van Asselt, E.D., de Jong, A.E.I., de Jonge, R., Nauta, M.J., 2007. Cross-contamination in the kitchen: estimation of transfer rates for cutting boards, hands and knives. *Journal of Applied Microbiology*, 1364-5072.