

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
Y DEL MEDIO NATURAL

MASTER EN GESTIÓN Y SEGURIDAD ALIMENTARIA



ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL LAVADO EN LA
REDUCCIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE *Escherichia coli*
EN LA COCINA DEL CONSUMIDOR

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Alumna:

D^a. Esther Alonso Giménez

Director académico:

Dra. Eva Doménech Antich

Dra. Salut Botella Grau

VALENCIA, Julio de 2013

Agradecimientos

A mis directoras Eva Doménech Antich y Salut Botella Grau, por la oportunidad que me han brindado para realizar este trabajo y aprender de él y, por su seguimiento diario tanto en el trabajo de laboratorio como en la redacción del mismo por hacer que las cosas siempre salgan de la mejor manera posible.

A todos los compañeros del laboratorio de Microbiología por hacerme sentir tan a gusto durante la realización de este trabajo y sobre todo, a mi compañera María Álvarez Cubillos por su gran ayuda y dedicación en el transcurso de este trabajo final de máster.

Por último, agradezco a mis padres M^a Fe y José y mi hermano Daniel, por su gran apoyo día tras día y entrega total a lo largo de todo el máster, incluyendo su atención y colaboración en todo lo posible.

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL LAVADO EN LA REDUCCIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE *Escherichia coli* EN LA COCINA DEL CONSUMIDOR

Alonso Giménez, E.; Doménech Antich, E¹; Botella Grau, S².

¹ Departamento Tecnología de los Alimentos, UPV

² Departamento Biotecnología, UPV

RESUMEN

La contaminación cruzada en alimentos listos para el consumo a partir de las materias primas y los utensilios de cocina, constituye una preocupación creciente por la seguridad alimentaria. Estudios recientes demuestran que diversas bacterias, entre las que se incluye *Escherichia coli*, sobreviven durante horas o días, tanto en manos, esponjas/paños, como en utensilios, tras el contacto inicial con los microorganismos. En este sentido, el objetivo del presente trabajo ha sido estudiar los coeficientes de transferencia directa entre alimento y superficies de contacto, y analizar el efecto de distintos tipos de lavado en la reducción de la contaminación cruzada causada por *Escherichia coli*, como una de las principales prácticas preventivas en los hogares. Para ello, se llevaron a cabo análisis microbiológicos con diferentes escenarios para conocer la transferencia entre el alimento, en este caso pechuga de pollo, y la mano, la tabla de corte y cuchillos. Posteriormente, se estudió la transferencia de éstos a un alimento, concretamente, el queso. Los resultados obtenidos demuestran que el lavado en el hogar constituye un paso esencial para garantizar la seguridad del consumidor y reducir en dos unidades logarítmicas la carga que pudiera estar presente en las superficies de contacto debido a pequeñas desviaciones en el control de la cadena alimentaria. El proceso de lavado con jabón es el más efectivo, puesto que se elimina prácticamente la totalidad de los patógenos, siendo la mano y la tabla de corte, las superficies de contacto que más participan en la transferencia de la contaminación al queso, por lo que hay que dedicarle una especial atención a la limpieza de estas superficies.

RESUM

La contaminació encreuada en aliments llestos per al consum a partir de les matèries primes i els utensilis de cuina, constitueix una preocupació creixent per la seguretat alimentària. Estudis recients demostren que diverses bactèries, entre les que s'inclou *Escherichia coli*, sobreviuen durant

hores o diez, tant en mans, esponjes/draps, com en utensilis, després del contacte inicial amb els microorganismes. En aquest sentit, l'objectiu del present treball ha sigut estudiar els coeficients de transferència directa entre aliment y superfícies de contacte, i analitzar l'efecte de distints tipus de llavat en la reducció de la contaminació encreuada causada per *Escherichia coli*, com una de les principals pràctiques preventives en els llars. Per a això, es va dur a terme anàlisis microbiològics amb diferents escenaris per a conèixer la transferència entre l'aliment, en aquest cas pit de pollastre, i la mà, la taula de tall i ganivets. Posteriorment, es va estudiar la transferència d'aquests a un aliment, concretament, el formatge. Els resultats obtinguts mostren que el llavat en el llar constitueix un pas essencial per a garantir la seguretat del consumidor i reduir en dos unitats logarítmiques la càrrega que poguera estar present en les superfícies de contacte degut a xicotetes desviacions en el control de la cadena alimentària. El procés de llavat amb sabó és el més efectiu, ja que s'elimina pràcticament la totalitat dels patògens, sent la mà i la taula de tall, les superfícies de contacte que més participen en la transferència de la contaminació al formatge, pel que cal dedicar-li una especial atenció a la neteja d'aquestes superfícies.

ABSTRACT

Cross contamination in ready foods for the consumption from raw materials and cookware, is a growing concern about food safety. Recent studies indicate that various bacteria, including *Escherichia coli*, for hours or days, survived in hands, sponges/dishcloth and utensils, after the initial contact with the microorganisms. In this sense, the aim of this study has been studying the direct transfer coefficients between food and contact surfaces, and analyzing the effect of different types of washing in reducing cross contamination caused by *Escherichia coli*, as a major preventive practical in the homes. To this end, microbiological analysis carried out with different scenarios for the transfer between the food, in this case chicken breast, and hand, the cutting board and knives. Subsequently, we studied their transfer to a food, specifically cheese. The results obtained show that washing at home is an essential step to ensure consumer safety and to reduce in two logarithmic units of the load that may be present on the contact surfaces due to small deviations in the control of the food chain. The process of washing with soap is the most effective since it practically eliminates all pathogens, being the hand and the cutting board, the contact surfaces most involved in the transfer of contamination to the cheese, so you have to devote special attention to cleaning these surfaces.

PALABRAS CLAVE: contaminación cruzada, coeficiente de transferencia, buenas prácticas, lavado, *Escherichia coli*.

1. INTRODUCCIÓN

Los peligros biológicos presentes en el producto acabado son en su mayoría debidos a fenómenos de contaminación cruzada; la cual es entendida como la transmisión de microorganismos de un alimento a otro de forma directa o indirecta. Su máximo riesgo se adquiere cuando se produce a partir de alimentos crudos, y como consecuencia de una higiene inadecuada, contaminan alimentos elaborados o listos para el consumo. En este caso, los posibles microorganismos patógenos se encuentran con muy pocas barreras y pueden multiplicarse hasta niveles de riesgo. Las vías de contaminación más frecuentes son los manipuladores, las superficies de contacto y/o equipos, las materias primas sin procesar y los vectores (Fuster, 2006).

La exposición de patógenos en las superficies puede llevarse a cabo por contacto directo con objetos contaminados o indirectamente a través de partículas del aire. Algunas bacterias se adhieren a las superficies como forma predominante de supervivencia. Kusumaningrum et al. (2003), indican que diversas bacterias, incluyendo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp., son capaces de sobrevivir durante horas o días tanto en manos, esponjas/paños, como en utensilios, tras el contacto inicial con los microorganismos.

Los alimentos preparados o consumidos en el hogar constituyen alrededor del 87% de los brotes transmitidos por los alimentos. Sin embargo, existen grandes diferencias entre países, y la mayoría informan que entre el 10 y el 50% de los brotes se asocian a viviendas particulares. A pesar de estas diferencias, es evidente que la contaminación cruzada en el hogar es un factor importante que debe ser incluido en las evaluaciones de riesgos microbiológicos. Los principales factores que determinan la inocuidad de los alimentos en el hogar son una adecuada cocina, un correcto almacenamiento, higiene personal y la prevención de la contaminación cruzada. Sin embargo, se desconoce en gran medida cómo estos factores influyen en la carga bacteriana final en el punto de consumo (van Asselt et al., 2008).

Con el fin de cuantificar el efecto del comportamiento del consumidor sobre la seguridad alimentaria, Mylius et al. (2007) desarrollaron un modelo de contaminación cruzada durante la preparación de alimentos sobre la evaluación de riesgos en *Campylobacter*. Este estudio mostró que los parámetros para cuantificar la contaminación cruzada son escasos. Aunque se dispone de algunos datos que demuestran la contaminación a través de las tablas de cortar y manos, estos datos se centran sólo en una parte de la contaminación. Por lo tanto, Jong et al. (2008) estudiaron la transferencia de bacterias de las materias primas a una comida preparada en un entorno realista para observar la transferencia total de microorganismos. Estos autores estudiaron el efecto de las diferentes vías de contaminación (las tablas de cortar, las manos y cuchillos) usando una variedad de escenarios de laboratorio con y sin el lavado de los utensilios para preparar un producto listo para su consumo, como es el caso de la ensalada (van Asselt et al., 2008).

Escherichia coli fue descubierta por primera vez en el intestino en 1885 por el bacteriólogo alemán Theodore von Escherich, quien la llamó *Bacterium coli commune* (Mora et al., 2011). Es la especie tipo de la familia Enterobacteriaceae. En la actualidad, esta familia está formada por 30 géneros y 110 especies. Las enterobacterias son bacilos gram negativos no esporulados de 0,3-3 µm. No son exigentes desde el punto de vista nutritivo y crecen tanto en atmósfera aerobia como anaerobia. Poseen una elevada actividad metabólica, fermentan la glucosa y son citocromo-oxidasa-negativas. Crecen bien en los medios de cultivo convencionales y en los selectivos. El tiempo de generación es corto, de modo que a las 18-24 horas de incubación pueden observarse colonias bien desarrolladas con un brillo metálico característico. Aunque *E. coli* constituye el paradigma de microorganismo comensal en el tubo digestivo de los animales de sangre caliente (incluido el hombre), se ha demostrado que algunas cepas poseen factores de virulencia y producen enteritis (Ausina y Moreno, 2006).

Existen cinco categorías principales de *E. coli* diarreogénicas: enteropatógena clásica (ECEP), enteroinvasora (ECEI), enterotoxigénica (ECET), enterohemorrágica o productor de toxina Shiga o verotoxinas (ECEH/STEC/VTEC) y enteroagregativa (ECEA), cada una de las cuales engloba diversos serotipos y causa diarrea por un mecanismo patogénico diferente (Mora et al., 2011).

Los serotipos identificados con mayor frecuencia como causantes de estas toxiinfecciones alimentarias son *E. coli* O157:H7 y recientemente *E. coli* O104:H4.

En 1994, *E. coli* O157:H7 perteneciente a la categoría de las enterohemorrágicas, fue detectado en Washington y California tras un brote producido por salami seco fermentado donde el proceso de cortado jugó un papel importante en la transferencia superficial microbiana entre equipos y embutidos (Shiowshuh y Cheng-An, 2010). En el sureste de Massachusetts, *E. coli* O157:H7 fue asociado con un brote por el consumo de sidra de manzana donde se utilizó el estiércol como fertilizante en la huerta. En este caso, *E. coli* sobrevivió en el zumo de manzana durante 20 días a valores de pH<4, condiciones que antes se consideraban suficientes para inhibir el crecimiento y la supervivencia de bacterias patógenas y cepas no toxigénicas de *E. coli*. Esta capacidad imprevisible de sobrevivir en condiciones extremas y la amplia variabilidad entre cepas hace difícil asociar la incidencia del patógeno con un conjunto de condiciones o parámetros restrictivos. Aunque fue originalmente asociada con la carne picada, el organismo ha causado más recientemente una serie de brotes en verduras de hoja para ensaladas como la lechuga. En 2006, se produjo un gran brote de espinacas en EE.UU, donde relacionaban a *E. coli* O157:H7 con animales salvajes presentes en el campo y el agua (Pérez et al., 2011).

En la primavera de 2011, se detectó un brote de *E. coli* O104:H4 productor de toxina Shiga (STEC) en Alemania, notificándose posteriormente casos en otros 12 países europeos, entre los que destacan Suecia, Dinamarca y Holanda. Por evidencias epidemiológicas, la infección se asoció al consumo de cierto tipo de semillas germinadas. En este brote se pone de manifiesto la importancia de la higiene personal (lavado de manos), tanto para las personas que trabajan en todos los niveles de la cadena alimentaria

(desde la producción hasta la distribución), así como en los consumidores, al manipular los alimentos (BES, 2011).

En los últimos años, ha habido un aumento de los brotes epidémicos vehiculados por alimentos, con un impacto significativo en los sistemas de salud y la producción agrícola (Ausina y Moreno, 2006).

Los peligros microbiológicos que pueden provocar los alimentos frescos listos para el consumo, como vegetales, hace necesario su lavado constituyendo éste uno de los pasos más importantes para eliminar los microorganismos de la superficie. Sin embargo, no todos los métodos de lavado y las concentraciones utilizadas son igual de efectivas (Gómez, 2011). Por tanto, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar los coeficientes de transferencia directa entre alimento y superficies de contacto, y analizar el efecto de distintos tipos de lavado en la reducción de la contaminación cruzada causada por *Escherichia coli* como una de las principales prácticas preventivas en los hogares.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia prima y utensilios utilizados

La materia prima y los utensilios empleados en este estudio (Figura 1) fueron pechugas de pollo de peso medio 230g y queso semicurado precortado en triángulos, procedentes de distintos comercios de la provincia de Valencia, guantes de látex, cuchillo liso (C1), cuchillo de sierra (C2) y una tabla de corte.



FIGURA 1. Materia prima y utensilios utilizados: A) Pechugas de pollo, B) Queso semicurado precortado, C) Guante de látex, cuchillo de sierra (C2), cuchillo liso (C1) y tabla de corte utilizados para la preparación de los alimentos.

2.2. Inoculación artificial de pechuga de pollo con *Escherichia coli*

2.2.1. CEPA BACTERIANA

Para la realización del presente estudio se empleó una cepa de *E. coli* 515 procedente de la colección del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Politécnica de Valencia. Esta cepa es inocua, por lo que no entraña ningún riesgo para la manipulación y salud del trabajador. Se trata de una cepa indicadora de la contaminación por malas prácticas de manipulación.

2.2.2. PREPARACIÓN DEL INÓCULO

La cepa de *E. coli* se sembró para su mantenimiento en placa de Endo Agar incubándose a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24h, y el inóculo se preparó realizando una emulsión de la bacteria en 10mL de Caldo nutritivo bajo las mismas condiciones de incubación.

La concentración del inóculo se valoró por recuento en Endo Agar y Plate Count Agar, donde se sembró, por duplicado, mediante alícuotas de 0,1mL en cada placa, procedente de las diluciones decimales seriadas realizadas al inóculo en tubos de 9mL de agua destilada estéril. Se utilizaron dos medios de cultivo diferentes para valorar la concentración del inóculo, ya que se quería observar que el medio no interfería en el resultado del recuento.

La inoculación por inmersión es el método más adecuado que se puede utilizar para simular un proceso de contaminación reciente (Beuchat et al., 2001).

2.2.3. DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli* EN PECHUGA DE POLLO INOCULADA

La inoculación se realizó en un recipiente con 990mL de PBS y 10mL de inóculo a los que se le añadió los trozos de pechuga cortados de 10g cada uno. Tras mantenerlos en inmersión durante 10 minutos, se siguió el protocolo utilizado en el laboratorio para el recuento de *Escherichia coli* en alimentos.

Se tomaron 10g de pechuga de pollo inoculada y se homogenizó con 90mL de Agua de Peptona estéril en una bolsa de Stomacher durante 1minuto. Se utilizó 1mL de la solución homogeneizada para preparar diluciones decimales seriadas en tubos de 9mL de agua destilada estéril, y se sembraron por triplicado 0,1mL de las diluciones en placas de Endo Agar. La lectura del recuento se realizó tras el periodo de incubación a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h}\pm 2\text{h}$.

2.3. Escenarios ensayados

En este apartado se describen los tres escenarios estudiados (Figura 2) en este trabajo.

2.3.1. ESCENARIO SIN LAVADO

Se realizó un primer experimento estudiando la transferencia directa de la pechuga contaminada al queso por medio de las superficies de contacto. Para ello, se depositó sobre la tabla de corte una porción de 10g de pechuga de pollo contaminada que sujetamos con la mano izquierda y se cortó con el cuchillo liso (C1) situado en la mano derecha. Una vez cortada la pechuga, los trozos de carne se introdujeron en una bolsa de Stomacher con 90mL de Agua de Peptona estéril para analizar la carga de *E. coli* presente en la misma.

Para investigar la transferencia de la contaminación de la pechuga a la mano, analizamos el guante vertiendo 100mL de Agua de Peptona estéril sobre la zona del guante que ha estado en contacto con la contaminación, dentro de la bolsa de Stomacher. Del mismo modo, procedemos a analizar la transferencia de la contaminación de la pechuga al cuchillo liso (C1) y a la tabla.

Una vez terminado el proceso de cortado de la pechuga, se cogió un trozo de queso de 10g de peso y se depositó sobre la misma tabla con la que se cortó la pechuga. Se procedió al cortado del queso con el cuchillo liso (C1) y se introdujeron los trozos en una bolsa de Stomacher con 90mL de Agua de Peptona estéril para evaluar la transferencia directa de la mano, C1 y tabla contaminados por la pechuga al queso. Posteriormente, se procedió al análisis con el cuchillo de sierra (C2) siguiendo el mismo protocolo.

Las bolsas de Stomacher se homogeneizaron durante 1minuto y posteriormente se procedió al análisis de diluciones decimales seriadas en tubos de 9mL de agua destilada estéril. De cada una de estas diluciones, se sembraron por duplicado 0,1mL en placas de Endo Agar. Transcurrido el periodo de incubación a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h}\pm 2\text{h}$ se procedió a la lectura. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.3.2. ESCENARIO DE LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR LAVADO CON AGUA

En un segundo experimento, se estudió la reducción de la contaminación de la mano, los cuchillos (C1 y C2) y la tabla al queso después de someter estas superficies de contacto a un lavado con agua. La metodología empleada en este escenario es la misma que la descrita en el apartado anterior, salvo que una vez terminado el proceso de cortado de la pechuga, las superficies de contacto se sometieron a un lavado con agua. Posteriormente, se cortó el queso y se analizaron por triplicado los trozos para evaluar la eficacia del lavado con agua sobre las superficies de

contacto con las que se había cortado la pechuga contaminada y se observó la reducción de la transferencia de la contaminación al queso.

2.3.3. ESCENARIO DE LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR LAVADO CON JABÓN

En el tercer experimento se estudió la reducción de la transferencia de la contaminación de los utensilios al queso tras lavarlos con estropajo y jabón. El procedimiento empleado es el mismo que el descrito en el apartado anterior, pero en vez de lavar las superficies de contacto solamente con agua, en esta ocasión se someten a un proceso de lavado con estropajo y jabón. Posteriormente se procede al cortado y análisis del queso. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

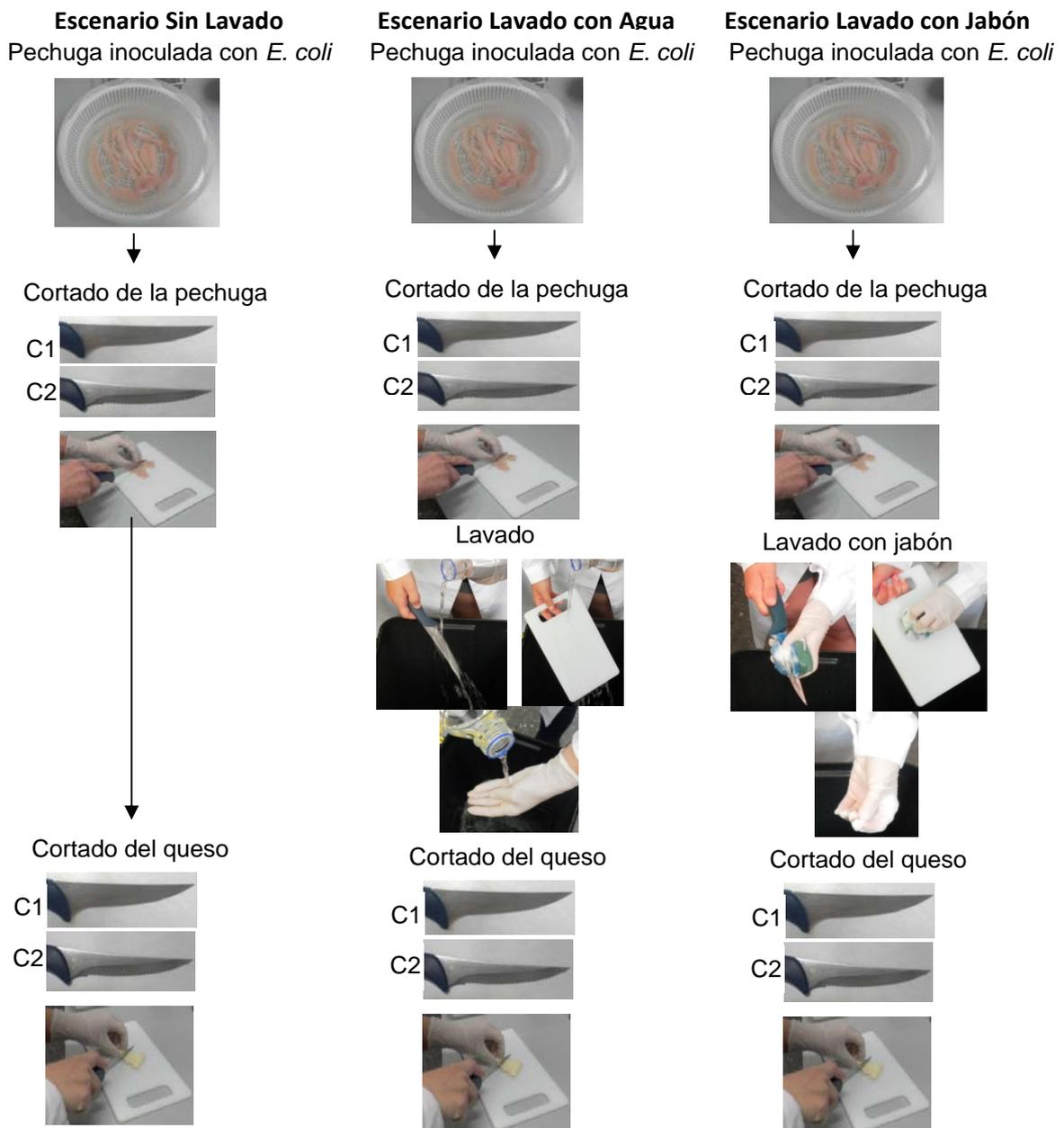


FIGURA 2. Metodología empleada en los tres escenarios estudiados (sin lavado, lavado con agua y lavado con jabón).

2.4. Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el programa Statgraphics Centurión XVI, a través del análisis ANOVA simple para determinar el nivel de significación de los resultados obtenidos. Los resultados del recuento de cada escenario fueron el factor, y las variables, fueron cada uno de los escenarios estudiados. Se utilizó la caja-bigotes 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 y tercer cuartil (Figura 3). 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 (Gómez, 2011). En todos los casos se ha tomado como límite de la significatividad estadística una $p < 0,05$.

CAJA- BIGOTES

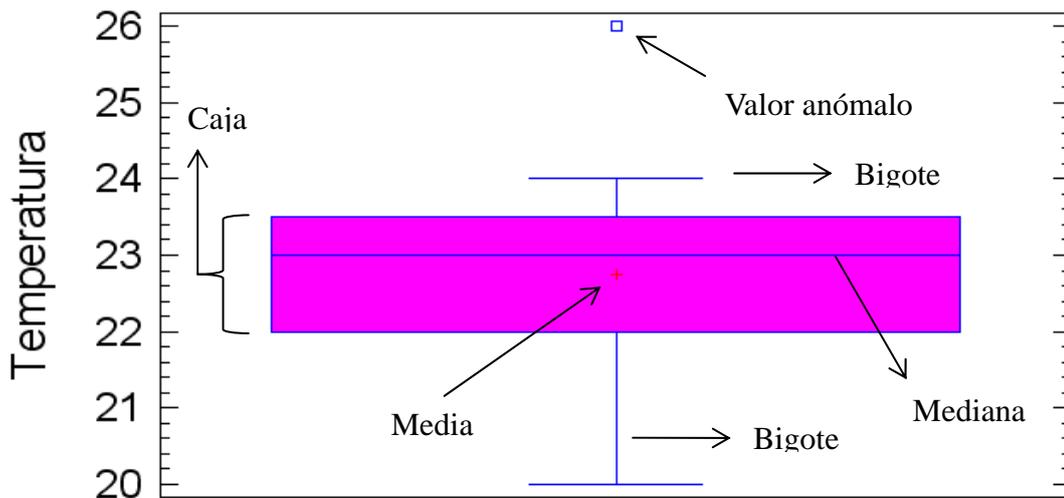


FIGURA 3. Ejemplo de diagrama Caja-Bigotes (Box-Whisker)

También se ha utilizado un histograma como gráfico descriptivo de los valores, en el que se representa la frecuencia con la que se dan los distintos datos obtenidos en la transferencia directa de la pechuga a la mano, tabla y cuchillos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la cuantificación de la transferencia de *E. coli* desde el alimento contaminado a las superficies de contacto (Tabla 1) y de ellas, a otro alimento (Tabla 3), y los distintos tipos de lavado para cada escenario, se desarrolla en los siguientes apartados.

3.1. Transferencia pechuga a mano

En la Figura 4 se muestra la transferencia de la contaminación de la pechuga a la mano en los tres escenarios ensayados, sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón. En cuanto al proceso sin lavado se observó que la transferencia directa de la pechuga contaminada a la mano fue elevada, siendo su valor máximo de 4 unidades logarítmicas, ya que se trata de una superficie rugosa por lo que los microorganismos tienden a adherirse. También es la primera superficie que entra en contacto con la pechuga contaminada, por lo que la carga microbiana será mayor. Sin embargo, al someter la superficie de contacto a un lavado con agua, la concentración de microorganismos disminuye considerablemente, siendo su valor mínimo de 3 unidades logarítmicas y de 2 unidades logarítmicas en el lavado con jabón. Estos resultados coinciden con lo descrito por Chen et al. (2001) que encontraron que el lavado de las manos produce una disminución de 2 unidades logarítmicas.

El análisis estadístico realizado por ANOVA presentó diferencias significativas (valor- $p=0,0088$) entre los diferentes escenarios.

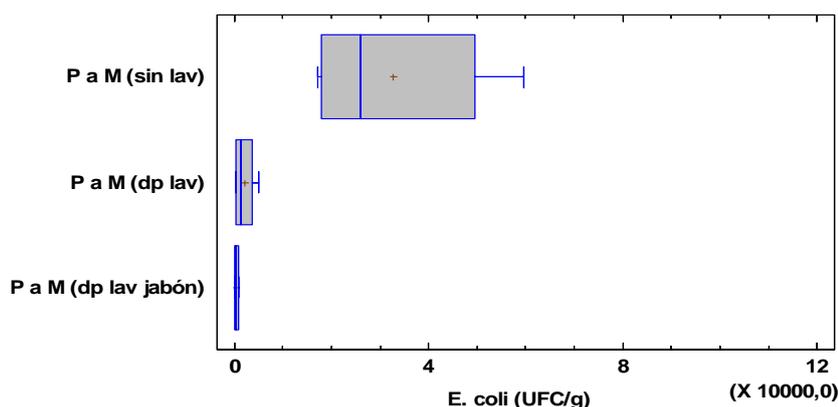


FIGURA 4. Transferencia de la contaminación de la pechuga (P) a la mano (M) en los tres escenarios ensayados: sin lavar (sin lav), lavado con agua (lav) y lavado con jabón (lav jabón).

3.2. Transferencia pechuga a tabla

En la Figura 5 se muestra la transferencia de la contaminación de la pechuga a la tabla en los tres escenarios (sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón). Al igual que ocurría con la mano, al tratarse de un material rugoso, especialmente después de varios usos, los microorganismos tienden a adherirse, por lo que la transferencia de la pechuga contaminada a la tabla es mayor en el proceso sin lavado. Sin embargo, al someter la superficie de contacto a un lavado con agua, la concentración de microorganismos disminuye 1 unidad logarítmica, obteniendo valores próximos a cero en el lavado con jabón. Estos resultados coinciden con lo descrito por Jong et al. (2008), cuyo objetivo fue determinar el efecto de las medidas de higiene sobre la contaminación cruzada de *Campylobacter jejuni* en el hogar. Estos autores indican que las principales vías de contaminación cruzada en la cocina del hogar son las manos y las tablas de cortar. Además, consideran que la tabla de corte necesita un procedimiento de limpieza más profundo, como puede ser un enjuague con agua caliente, con lo que se obtiene una cierta reducción del nivel de contaminación en los alimentos. Soares et al. (2012) estudiaron la transferencia de *Salmonella enterica* en cuatro tipos de superficies después de ser sometidas a un proceso de limpieza, y la contaminación cruzada de estas a los tomates, indicando que enjuagando sólo con agua fría después de manipular el pollo crudo, no es el mejor método para limpiar las tablas de corte.

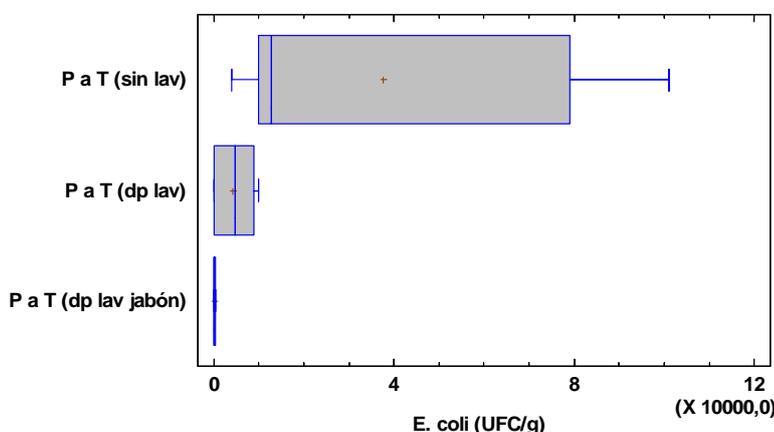


FIGURA 5. Transferencia de la contaminación de la pechuga (P) a la tabla (T) en los tres escenarios ensayados: sin lavar (sin lav), lavado con agua (lav) y lavado con jabón (lav jabón).

Los resultados del ANOVA indican que existen diferencias significativas (valor-p=0,0314) entre los diferentes escenarios.

Partiendo de esta información, se deduce que si el lavado con jabón se realiza correctamente, éste es eficaz. Destacando que solo el enjuagado con agua no es suficiente.

3.3. Transferencia pechuga a cuchillo liso y cuchillo de sierra

En este apartado se muestra la diferencia entre la transferencia de la contaminación de la pechuga al cuchillo liso (C1) (Figura 6) y al cuchillo de sierra (C2) (Figura 7). En la experiencia con el C1 al tratarse de una superficie totalmente lisa, los microorganismos se arrastran mejor, y el lavado con agua es igual de efectivo que el lavado con jabón. El ANOVA muestra que no existen diferencias significativas entre ambos tratamientos (valor- $p=0,2174$).

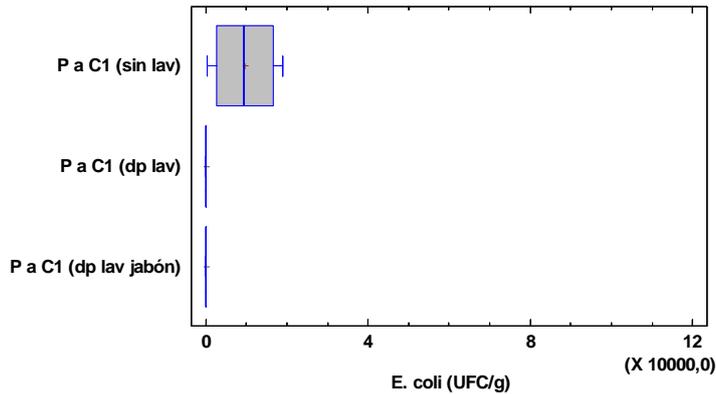


FIGURA 6. Transferencia de la contaminación de la pechuga (P) al cuchillo liso (C1) en los tres escenarios ensayados: sin lavar (sin lav), lavado con agua (lav) y lavado con jabón (lav jabón).

Mientras que el C2 al presentar un filo dentado, los microorganismos se quedan adheridos en la sierra y es más difícil eliminarlos, lo que indica que se necesita la ayuda de un estropajo que permita el arrastre para que el lavado sea efectivo. Estos resultados se confirman con el estudio estadístico, indicando que no existen diferencias significativas entre ambos escenarios (valor- $p=0,5012$).

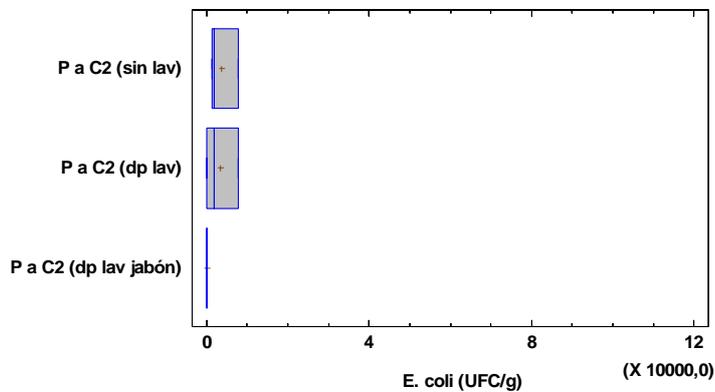


FIGURA 7. Transferencia de la contaminación de la pechuga (P) al cuchillo de sierra (C2) en los tres escenarios ensayados: sin lavar (sin lav), lavado con agua (lav) y lavado con jabón (lav jabón).

A la vista de los resultados, se observa que el escenario correspondiente a la manipulación sin lavado, en todos los casos es el más desfavorable, siendo la mano y la tabla las superficies que mayor contaminación transfieren. El escenario 2 solamente es efectivo en el cuchillo liso (C1), por lo que el lavado con agua no es suficiente en el resto de superficies de contacto. Por último, el tercer escenario permite la reducción hasta un nivel aceptable en todos los casos.

3.4. Coeficientes de transferencia de la pechuga inoculada a las diferentes superficies de contacto.

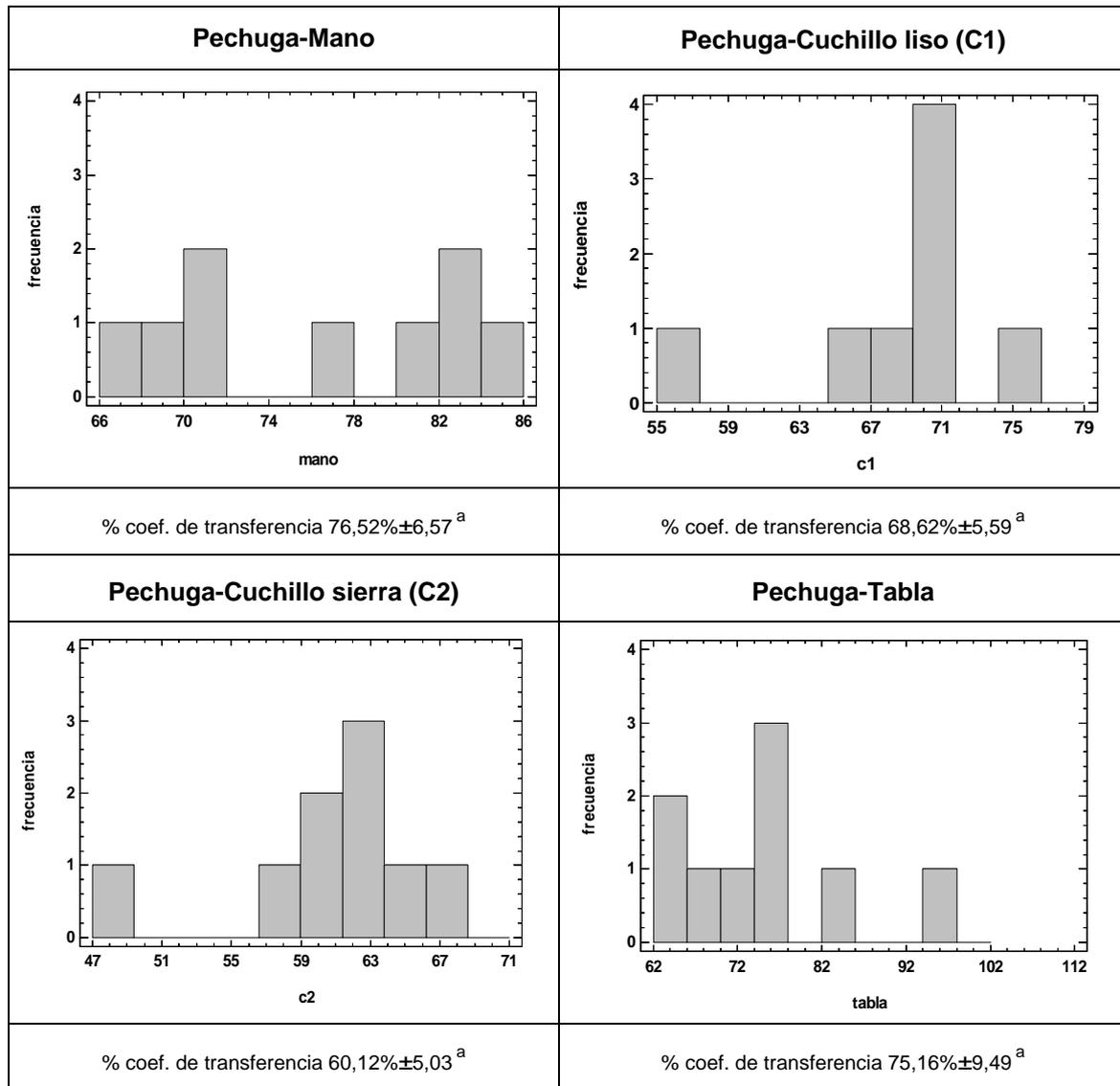
La Tabla 1 muestra los resultados de la transferencia de la pechuga inoculada a las diferentes superficies de contacto en los tres escenarios ensayados (sin lavado, lavado con agua y lavado con estropajo y jabón).

Tabla 1. Resultados medios de las repeticiones de la transferencia de la pechuga inoculada a las diferentes superficies de contacto en los tres escenarios estudiados.

	Escenarios		
	Sin Lavado	Lavado con agua	Lavado con jabón
	Nº (UFC/g)	Nº (UFC/g)	Nº (UFC/g)
Pechuga inoculada	1,07x10 ⁶	-	-
Pechuga a Mano	3,57x10 ⁴	1,10x10 ³	5x10 ²
Pechuga a Cuchillo liso (C1)	9,53x10 ³	0	0
Pechuga a Cuchillo sierra (C2)	1,63x10 ³	1,08x10 ³	0
Pechuga a Tabla	3,30x10 ⁴	7,38x10 ³	1,25x10 ²

La Figura 8 presenta los valores medios de los coeficientes de transferencia de la pechuga contaminada a la mano, cuchillo liso (C1), cuchillo de sierra (C2) y tabla. Las superficies de contacto que mayor transferencia de contaminación adquieren son la mano (76,52%) y la tabla (75,16%), ya que como se ha comentado anteriormente se trata de un material rugoso donde los microorganismos se adhieren mejor y es más difícil de eliminarlos. Por lo que, hay que dedicarle un mayor tiempo de limpieza a estas superficies de contacto. Además, se han representado los histogramas con los valores de transferencia de cada uno de los experimentos realizados para estimar dicho coeficiente. Como puede

observarse, no siguen una distribución normal, lo que justifica que el valor obtenido de desviación es amplio en la mayoría de los casos. Esto puede ser debido, a que la experiencia la han realizado diferentes operarios, aplicando diferentes presiones en las manos o imprimiendo mayor o menor fuerza durante el cortado de la pechuga.



^a Los valores representan la media de las repeticiones \pm el error estándar.

FIGURA 8. Porcentajes medios de los coeficientes de transferencia de la pechuga contaminada a la mano, al cuchillo liso (C1), al cuchillo sierra (C2) y a la tabla del proceso sin lavado.

La Tabla 2 muestra los valores de los coeficientes de transferencia tras el lavado con agua y estropajo con jabón. Los resultados confirman la eficacia del lavado con jabón y la necesidad de incorporarlo como práctica habitual en los hogares.

Tabla 2. Porcentajes medios de los coeficientes de transferencia tras el lavado con agua y lavado con jabón de las distintas superficies de contacto.

	%Transferencia	
	Lavado agua	Lavado jabón
Pechuga-Mano	54,94±9,16 ^a	45,70±4,90
Pechuga-Cuchillo liso (C1)	0	0
Pechuga-Cuchillo sierra (C2)	57,12±7,87	0
Pechuga-Tabla	44,40±3,31	29,40±5,52

^a Los valores representan la media de las repeticiones ± el error estándar.

3.5. Transferencia de las superficies de contacto al queso

La segunda parte del trabajo se centra en la transferencia de la contaminación de las superficies de contacto (mano, C1 o C2 y tabla) al queso en los mismos escenarios (sin lavar, lavado con agua y lavado con jabón), Figura 9 y Tabla 3. En el primer escenario se observa una mayor transferencia de la contaminación de la mano-C2-tabla al queso, ya que como se ha comentado anteriormente el cuchillo de sierra (C2) retiene más microorganismos en su parte dentada que el cuchillo liso (C1), por lo que la transferencia de la contaminación al queso será mayor. Como se ha visto con anterioridad, la experiencia del lavado con jabón es muy importante, en este caso la transferencia de la contaminación al queso es mínima, obteniendo valores próximos a cero, tanto en el escenario con el cuchillo liso como con el cuchillo de sierra. Estos resultados coinciden con lo descrito por Ravishankar et al. (2010) que estudiaron la contaminación cruzada y los coeficientes de transferencia de *Salmonella entérica*, del pollo a la lechuga en diferentes escenarios de manipulación de alimentos. Estos autores también observaron bajos recuentos (<1 log ufc/g) de la transferencia de la contaminación de las superficies de contacto a la lechuga después de ser sometidas a un lavado.

Tabla 3. Resultados medios de las repeticiones de la transferencia de las diferentes superficies de contacto al queso en los tres escenarios estudiados.

	Escenarios		
	Sin Lavado	Lavado con agua	Lavado con jabón
	Nº (UFC/g)	Nº (UFC/g)	Nº (UFC/g)
Mano+Cuchillo liso (C1)+Tabla a Queso	$1,16 \times 10^4$	$5,88 \times 10^3$	$7,5 \times 10^1$
Mano+Cuchillo sierra (C2)+Tabla a Queso	$1,58 \times 10^4$	$3,95 \times 10^3$	$4,25 \times 10^2$

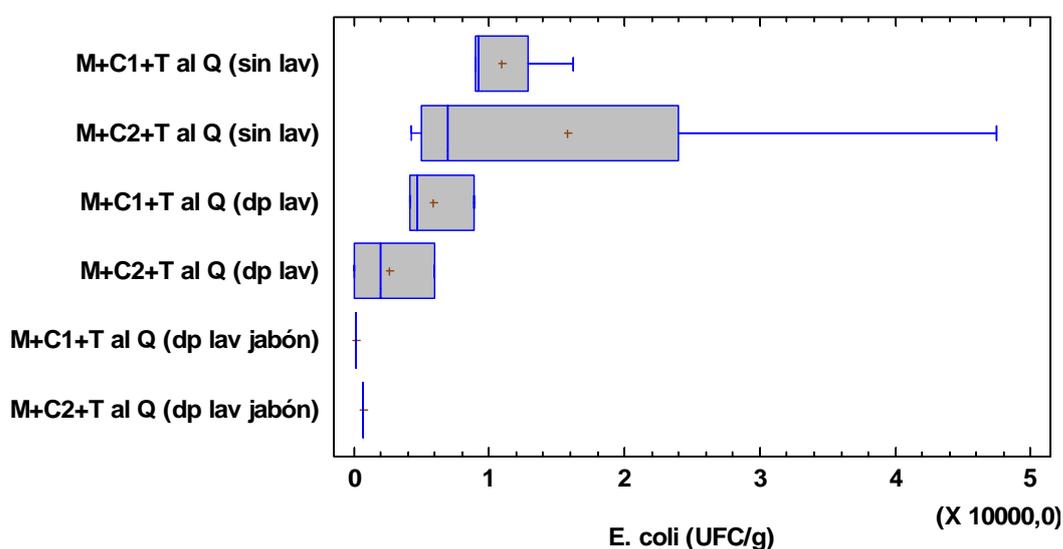


FIGURA 9. Transferencia de la contaminación de la mano (M), cuchillo liso (C1), cuchillo sierra (C2) y tabla (T) al queso (Q) en los tres escenarios ensayados: sin lavar (sin lav), lavado con agua (lav) y lavado con jabón (lav jabón).

El estudio estadístico realizado con el ANOVA, refleja que no existen diferencias significativas (valor $p=0,9045$) entre el escenario sin lavado mano-C1-tabla al queso y el escenario mano-C2-tabla al queso, después del lavado con agua.

También indica que no hay diferencias significativas (valor $p=0,0609$) entre los procesos de lavado con agua y sin lavado que comprenden la transferencia de la contaminación cuando el cuchillo es de sierra (C2). Esto puede ser debido a que la contaminación se queda en la sierra y el chorro de agua no es suficiente para eliminar los microorganismos presentes.

4. CONCLUSIONES

1. El lavado constituye un paso esencial para garantizar la seguridad del consumidor y reducir en dos unidades logarítmicas la carga que pudiera estar presente en las superficies de contacto debido a pequeñas desviaciones en el control de la cadena alimentaria.
2. El proceso de lavado con jabón es el más efectivo, ya que se reduce prácticamente la totalidad de microorganismos existentes.
3. La mano y la tabla de corte son las superficies de contacto que más participan en la transferencia de la contaminación al queso.
4. El cuchillo liso permite un mejor lavado, pero también una mejor transferencia si está contaminado. Mientras que en el cuchillo de sierra no es suficiente un lavado con agua, por lo que hay que dedicarle una limpieza más profunda.
5. El consumidor juega un papel fundamental en la manipulación de los alimentos, por lo que para evitar la contaminación cruzada debe actuar con buenas prácticas y someter las superficies de contacto a una correcta limpieza.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado dentro del marco del proyecto (PAID-06-10-2287), financiado por la Universidad Politécnica de Valencia, a la cual los autores quieren expresar su agradecimiento.

6. REFERENCIAS

- Ausina, V.; Moreno, S. 2006. Tratado SEIMC de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Ed. Médica Panamericana. Madrid
- Beuchat, L. R., Faber, J. M., Garrett, E., Harris, L. J., Parish, M. E., Suslow, T. V., *et al.*, 2001. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. *Journal of food protection* 55, 844-814.
- Boletín Epidemiológico semanal. Centro Nacional de Epidemiología. Área de Vigilancia de la Salud Pública. 2011. Vol. 19 Nº 7, 86-99.
- Chai, L., Lee, H., Ghazali, F., Bakar, F., Malakar, P., Nishibuchi, M., Nakaguchi, Y. y Radu, S. 2008. Simulation of Cross-Contamination and Decontamination of *Campylobacter jejuni* during Handling of Contaminated Raw Vegetables in a Domestic Kitchen. *Journal of food protection*, Vol. 71, Nº 12, 2448-2452.
- Chen, Y., Jackson, K., Chea, F. y Schaffner, D. 2001. Quantification and variability analysis of bacterial cross contamination rates in common food service tasks. *Journal of food protection*, Vol. 64, Nº 1, 72-80.
- Fuster, N. 2006. Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. Tesis doctoral. Universidad autónoma de Barcelona.

- Gómez, R. 2011. Viabilidad de *Listeria monocytogenes* en lechuga (*Lactuca sativa*) inoculada artificialmente: Valoración del lavado con agua clorada. Trabajo final de Carrera. Universidad Politécnica de Valencia.
- Gorman, R., Bloomfield, S. y Adley, C. 2002. A study of cross-contamination of food-borne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. *International journal of food microbiology*, 76, 143-150.
- Jong, A., Verhoeff-Bakkenes, L., Nauta, M. y Jonge, R. 2008. Cross-contamination in the kitchen: effect of hygiene measures. *Journal of Applied Microbiology* 105, 615-624.
- Kusumaningrum, H.D., Riboldi, G., Hazeleger, W.C. y Beumer, R.R. 2003. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology* 85, 227-236.
- Mora, A., Herrera, A., López, C., Dahbi, G., Mamani, R., Pita, J., Alonso, M., Llovo, J., Bernárdez, M., Blanco, J., Blanco, M y Blanco, J. 2006. Characteristics of the Shiga-toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain. *International Microbiology* 14, 121-141.
- Pérez, F., Campos D., Ryser E.T., Buchholz A.L., Posada-Izquierdo G.D., Marks B.P., Zurera G., Todd E. 2011. A mathematical risk model for *Escherichia coli* O157:H7 cross-contamination of lettuce during processing. *Food Microbiology* 28, 694-701.
- Ravishankar, S., Zhu, L. y Jaroni, D. 2010. Assessing the cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different food-handling scenarios. *Food Microbiology* 27, 791-794.
- Redmond, E.C. y Griffith, C.J. 2003 Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *Journal of food protection* 66, 130-161.
- Reij, M.W. y Den Aantrekker, E.D. 2004. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. *International Journal of Food Microbiology* 91, 1-11.
- Shiowshuh, S y Cheng-An, H. 2010. Mathematical modeling the cross-contamination of *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of ready-to-eat meat product while slicing. *Food Microbiology* 27, 37-43.
- Soares, V., Pereira, J., Viana, C., Izidoro, T., Bersot, L. y Pinto, J. 2012. Transfer of *Salmonella* Enteritidis to four types of surfaces after cleaning procedures and cross-contamination to tomatoes. *Food Microbiology*, 30, 453-456.
- van Asselt, E.D., de Jong, A.E.I., de Jonge, R. y Nauta, M. 2008. Cross-contamination in the kitchen: estimation of transfer rates for cutting boards, hands and knives. *Journal of Applied Microbiology* 105, 1392-1401.