



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:**

“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR”

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico

**Autor:** San Lucas Coque, Segundo Moisés

**Tutora:** Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

Ambato – Ecuador

Octubre 2017

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En calidad de Tutora del Proyecto de Investigación sobre el tema: “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR”, de Segundo Moisés San Lucas Coque estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud

Ambato, Julio 2017

LA TUTORA

.....  
Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO**

Los criterios emitidos en el Trabajo de Investigación

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR”**, como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, Julio 2017

EL AUTOR

.....  
San Lucas Coque, Segundo Moisés

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe de Investigación o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y proceso de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este proyecto, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, Julio 2017

## **EL AUTOR**

.....  
San Lucas Coque, Segundo Moisés

## **APROBACIÓN DE JURADO EXAMINADOR**

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema:

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR”**, de Moisés San Lucas estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Octubre 2017

**Para constancia firman**

.....  
PRESIDENTE/A

.....  
1er VOCAL

.....  
2do VOCAL

## **DEDICATORIA**

Este trabajo se lo dedico al esfuerzo de mis padres por brindarme el legado más valioso que una persona le puede dar a su hijo/a, el estudio y el conocimiento.

*Moisés*

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente, quiero agradecer a Dios en todo sentido, este proyecto de investigación ha sido una gran bendición por lo cual no cesan mis ganas de decir que es gracias a ti Padre.

A mi madre Marlene Coque, por brindarme la vida, su amor incondicional, creer en mí y por apoyarme siempre hasta convertirme en un hombre de provecho.

A mis hermanos, quienes han sido un pilar muy importante a lo largo de mi vida universitaria, brindándome todo su apoyo en los momentos más difíciles y alentándome a culminar una carrera la cual amo.

A Silvana, por ser mi apoyo incondicional y por su cariño sincero a lo largo de todos estos años, por ayudarme hasta donde te era posible, incluso más que eso.

También quiero agradecer a mis maestros, quienes me han brindado sus conocimientos a lo largo de la carrera, y en especial a mi tutora de tesis quien, gracias a su persistencia, manera de trabajar y orientaciones se ha logrado llevar a cabo con éxito la culminación de este trabajo de investigación.

¡Gracias a todos ustedes!

*Moisés*

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

Contenido	Página
Portada.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO .....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DE JURADO EXAMINADOR .....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY .....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I.....	3
1. EL PROBLEMA .....	3
TEMA .....	3
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
1.1.1. Contextualización.....	3
1.1.2. Formulación del Problema .....	5
1.1.3. Interrogantes de la Investigación .....	6
1.2. JUSTIFICACIÓN .....	6
1.3. OBJETIVOS .....	7
1.3.1. Objetivo General .....	7
1.3.2. Objetivos Específicos.....	7
CAPÍTULO II .....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1.- ESTADO DE ARTE.....	8
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	9

2.2.1 Antisépticos y desinfectantes .....	9
2.2.1.1 Antisépticos.....	9
2.2.1.2 Desinfectante.....	10
2.2.1.3 Bactericida.....	11
2.2.2 LA PLATA.....	11
2.2.2.1 Compuestos de plata: .....	12
2.2.2.2 Plata coloidal:.....	12
2.2.2.3 Iones de plata: .....	12
2.2.2.4 Nanopartículas de plata: .....	13
2.2.2.5 Agua de plata: .....	13
2.2.3 Mecanismos de acción de la plata:.....	15
2.2.4 Contaminación de los alimentos .....	16
2.2.5 Enfermedades bacterianas transmitidas por alimentos .....	17
2.2.6 Clasificación de enfermedades alimentarias .....	18
2.2.7 Principales microorganismos involucrados en ETA´s .....	19
2.2.8 Microorganismos indicadores de contaminación en alimentos .....	20
2.2.8.1 Mesófilos aerobios .....	21
2.2.8.2 Coliformes totales .....	21
2.2.8.3 Mohos y Levaduras .....	22
2.2.8.4 Coliformes fecales.....	22
2.2.8.5 Enterococos .....	22
2.2.8.6 Clostridium perfringens .....	23
2.3. HIPÓTESIS.....	23
CAPÍTULO III.....	24
3. MARCO METODOLÓGICO .....	24
3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	24
3.1.1. Modalidad básica de la investigación .....	24
3.1.2. Investigación de campo.....	24
3.1.3. Investigación Bibliográfica – documental .....	25
3.1.4. Investigación De Laboratorio.....	25
3.2. SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO .....	25
3.3. POBLACIÓN .....	26

3.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	26
3.4. DISEÑO MUESTRAL.....	26
3.5. operacionalización de variables .....	27
3.6. Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información. ....	29
3.7 Muestreo, recolección, y transporte de muestras .....	30
3.8 Procesamiento de las muestras.....	32
3.9 Análisis de la actividad bactericida del agua de plata.....	33
3.9.1 Análisis de la concentración.....	33
3.9.2 Análisis de tiempos de contacto.....	33
3.10 Análisis e interpretación de resultados.....	33
3.11 Controles .....	34
3.11.1 Control de calidad del agua de plata .....	34
3.11.2 Control de calidad del agua peptonada .....	34
3.12 ASPECTOS ÉTICOS.....	35
CAPÍTULO IV.....	36
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.3 Análisis estadístico de la carga microbiana inicial .....	39
4.3.1 Mesófilos aerobios .....	40
4.3.2 Coliformes totales .....	41
4.3.3 Escherichia coli .....	42
4.3.4 Mohos.....	43
4.3.5 Levaduras .....	44
4.4 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	45
4.4.1 Análisis del efecto del agua de plata sobre los diferentes microorganismos indicadores de contaminación. ....	45
4.4.1.1 Mesófilos aerobios .....	45
4.4.1.2 Coliformes totales .....	46
4.4.1.3 Escherichia coli .....	47
4.4.1.4 Mohos.....	48
4.4.1.5 Levaduras .....	49
CAPÍTULO V .....	51

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
5.1. Conclusiones .....	51
5.2. Recomendaciones.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54
LINKOGRAFÍA.....	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS – BASES DE DATOS UTA .....	61
ANEXOS.....	62

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Contenido</b>	<b>página</b>
Gráfico 1: Medidas de tamaño en escala.....	14
Gráfico 2: Mecanismo de acción de la plata. ....	15
Gráfico 3: Vías de contaminación de los alimentos.....	17
Gráfico 4: Fase de muestreo.....	31
Gráfico 5: Promedio del crecimiento microbiano para MA.....	45
Gráfico 6: Promedio del crecimiento microbiano para CT .....	46
Gráfico 7: Promedio del crecimiento microbiano para EC .....	47
Gráfico 8: Promedio del crecimiento microbiano para M .....	48
Gráfico 9: Promedio del crecimiento microbiano para L.....	49

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Contenido</b>	<b>página</b>
Tabla 1: Propiedades de los compuestos de plata .....	14
Tabla 2: Principales microorganismos involucrados en enfermedades alimentarias. .....	19
Tabla 3: Variable Independiente: Agua de plata.....	27
Tabla 4: Variable Dependiente: Ensaladas listas para el consumo .....	28
Tabla 5: Cronograma de muestreo .....	30
Tabla 6: Codificación y composición de las muestras. ....	32
Tabla 7: Datos obtenidos antes de la exposición al agua de plata .....	39
Tabla 8: Resumen estadístico para MA .....	40
Tabla 9: Resumen estadístico para CT.....	41
Tabla 10: Resumen estadístico para EC.....	42
Tabla 11: Resumen estadístico para M .....	43
Tabla 12: Resumen estadístico para L .....	44
Tabla 13: Promedio del crecimiento microbiano para MA.....	45
Tabla 14: Promedio del crecimiento microbiano para CT .....	46
Tabla 15: Promedio del crecimiento microbiano para EC .....	47
Tabla 16: Promedio del crecimiento microbiano para M.....	48
Tabla 17: Promedio del crecimiento microbiano para L.....	49

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA  
DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO  
HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE  
EDUCACIÓN SUPERIOR”**

**Autor:** San Lucas Coque, Segundo Moisés

**Tutora:** Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

**Fecha:** Ambato, Julio 2017

**RESUMEN**

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo humano en restaurantes ubicados en las cercanías de la Universidad Técnica de Ambato campus Ingahurco.

El muestreo se realizó del total de ensaladas expandidas en los puestos de comida, y para su análisis se utilizaron placas Petrifilm para indicadores de contaminación: mesófilos aerobios, *E.coli*/coliformes, mohos y levaduras. Se procesó la primera dilución de las muestras para determinar la carga microbiana inicial presente, posteriormente se sometió a un tratamiento de volúmenes iguales con las concentraciones de 5ppm y 10ppm de agua de plata, al primer minuto se elaboró la primera siembra en las placas para los indicadores de contaminación y transcurridos los cinco minutos la segunda siembra. Los cultivos se procesaron según sus requerimientos y una vez culminado el tiempo de incubación se realizó el recuento microbiológico.

Mesófilos aerobios presentaron una carga microbiana superior al permisible en un 45% de las muestras, Coliformes totales en un 35% y levaduras en un 12.5% mientras que *E. coli* y mohos no presentaron cargas microbianas superiores a lo permisible. Para la parte estadística se trabajó con la comparación de las medias del total de los datos obtenidos en los factores en los que se puede observar el efecto que presentó cada concentración sobre la carga microbiana inicial según el tiempo de contacto.

El agua de plata logró reducir considerablemente más del 80% de la carga microbiana inicial presente en el total de las ensaladas estudiadas, siendo aceptables para el consumo humano. La combinación de la mayor concentración y tiempo de exposición fueron eficaces para la reducción de la carga microbiana a excepción de los mohos, quiénes, a pesar de haber sido reducidos en gran medida, por su diferente estructura al de las bacterias no presentaron una disminución considerable.

**PALABRAS CLAVES:**

**BACTERICIDA, MICROBIANO, INDICADORES, CONTAMINACIÓN, CONCENTRACIONES, CULTIVO.**

**TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO  
FACULTY OF HEALTH SCIENCES  
CLINICAL LABORATORY CAREER**

**“DETERMINATION OF THE BACTERICIDAL ACTIVITY OF SILVER  
WATER ON SALADS READY FOR HUMAN CONSUMPTION IN  
RESTAURANTS NEAR AN INSTITUTION OF HIGHER EDUCATION”**

**Autor:** San Lucas Coque, Segundo Moisés

**Tutora:** Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

**Fecha:** Ambato, Julio 2017

**SUMMARY**

The present work had as objective to determine the bactericidal activity of the silver water on salads ready for the human consumption in restaurants located near the Technical University of Ambato campus Ingahurco.

Sampling was performed on the total salads sold at the food stalls, and Petrifilm plates were used for contamination indicators: aerobic mesophiles, E.coli / coliforms, molds and yeasts. The first dilution of the samples was processed to determine the initial microbial load present, then it was subjected to a treatment of equal volumes with the concentrations of 5ppm and 10ppm of silver water, at the first minute the first planting was made in the plates for the Contamination indicators and after five minutes the second planting. The cultures were processed according to their requirements and once the incubation time had elapsed, the microbiological count was performed.

Aerobic mesophiles had a higher than permissible microbial load in 45% of samples, total coliforms by 35% and yeasts by 12.5%, whereas E. coli and molds showed no higher than permissible microbial loads. For the statistical part we worked with the comparison of the means of the total of the data obtained in the factors in which we can observe the effect that each concentration had on the initial microbial load according to the contact time.

The silver water managed to reduce considerably more than 80% of the initial microbial load present in the total of the studied salads, being acceptable for the human consumption. The combination of the highest concentration and time of exposure were effective for the reduction of microbial load except for molds, which, despite being greatly reduced, because of their different structure to that of the bacteria did not present a considerable decrease.

**KEYWORDS:**

**BACTERICIDE, MICROBIAL, INDICATORS, CONTAMINATION, CONCENTRATIONS, CULTURE.**

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) El consumo habitual de alimentos insalubres en puestos de comida ambulantes y algunos restaurantes, tiene una gran participación en la incidencia de enfermedades gastrointestinales, esto debido a que no poseen las correctas medidas sanitarias o carecen de las mismas(1).

En las universidades, debido a las actividades individuales, distancias que recorren los estudiantes diariamente y a los hábitos alimenticios, cada vez tienen menos tiempo disponible para trasladarse a sus hogares para su alimentación, es por ello que esta población se ve en la necesidad de acudir a restaurantes y puestos de comida ambulantes más cercanos a las instituciones educativas con mayor frecuencia, razón por la cual gran parte de esta población ha padecido ocasionalmente enfermedades transmitidas por alimentos (2).

Son muchos los agentes bacterianos que ocasionan procesos diarreicos agudos y crónicos destacándose microorganismos como; *Klebsiella pneumoniae*, (bacteria habitual del tracto digestivo) *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringes*, *Vibrio cholerae* y *Norovirus*(1)(3)(4). los mismos que en su mayoría son adquiridos por alimentos contaminados afectando directamente en la salud del consumidor.

Al ser el al agua de plata una solución con gran poder bactericida cuyo mecanismo de acción involucra varios puntos diana de microorganismos unicelulares como la pared celular, proteínas y enzimas importantes para su metabolismo y reproducción(5).En este estudio se analiza dicho efecto sobre microorganismos indicadores de contaminación presentes en ensaladas expandidas en los restaurantes y puestos de comida ambulantes más cercanos a una institución de educación superior.

El objetivo de este estudio se enfoca en encontrar la mejor combinación de los factores de concentración y tiempo de exposición del agua de plata frente a la carga microbiana presente en las ensaladas con el fin de reducir al mínimo dicha carga y sea aceptable para el consumo humano.

Las concentraciones de agua de plata evaluadas fueron de 5ppm y 10ppm con un tiempo de exposición de 1min y 5min en donde la mejor interacción de variables demostrará una disminución significativa de la carga microbiana inicial, revelando un método eficaz en el proceso de desinfección de verduras y hortalizas, proporcionando a la comunidad un alimento seguro y de calidad lográndose reducir la tasa de morbilidad ocasionada por el consumo de alimentos insalubres.

La comprobación de la hipótesis se logró mediante el análisis global de los datos obtenidos en la matriz de estudio independientemente del restaurante en el que se haya tomado las muestras de ensaladas, comparándose las medias de la carga microbiana para evaluar si existió o no una disminución significativa de la carga microbiana inicial. Encontrándose que el mejor binomio de concentración y tiempo eficaces en la reducción de la flora microbiana presentes en la matriz de estudio son en 10ppm de agua de plata por 5 minutos.

## **CAPÍTULO I**

### **1. EL PROBLEMA**

#### **TEMA**

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR

#### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

##### **1.1.1. Contextualización**

Según la Organización Mundial de la Salud, anualmente alrededor del mundo se estima que una de cada diez personas se enferma por el consumo de alimentos insalubres; aproximadamente 600 millones de casos en total y 42.000 personas fallecen por esta causa(1).

Existen varios factores que pueden afectar a los aspectos relacionados con la inocuidad de los alimentos, tales como: deficiencias sanitarias de los manipuladores (inadecuado lavado de manos, manipulación excesiva o incorrecta y insuficiente protección de los alimentos), controles sanitarios insuficientes y problemas sanitarios originados por los consumidores (hablar sobre los alimentos, tocar los alimentos con las manos y derrame de los alimentos)(6). Factores que favorecen a la contaminación y proliferación de bacterias perjudiciales para la salud.

El primer informe mundial sobre la resistencia bacteriana a los antibióticos lanzada por la OMS pone en manifiesto que: “*La resistencia a los antimicrobianos, y en particular a los antibióticos ha dejado de ser una previsión para el futuro, es en todas las regiones del mundo una realidad que puede perjudicar a cualquier persona*”(7). Incrementándose las campañas de prevención de enfermedades para evitar el contagio de bacterias potencialmente patógenas que atenten contra la salud y puedan desarrollar resistencia a los antibióticos.

En diversos países del mundo, se han reportado resistencias bacterianas a algunos de los recursos terapéuticos para estas bacterias. *Klebsiella pneumoniae* (antibióticos carbapenémicos), *Neisseria gonorrhoeae* (cefalosporinas de tercera generación), *Staphylococcus aureus* (metilicina) y *E. coli* (fluoroquinolonas)(7).

Durante décadas cuando algunos fármacos aparecieron, la resistencia bacteriana era prácticamente nula. Los resultados de las resistencias antibióticas descritos anteriormente pueden corresponder mayormente a las automedicaciones realizadas por la comunidad, el incumplimiento del tratamiento y la reutilización de los mismos.(7)(8).

Existen múltiples estudios que atribuyen a la plata, cualidades bactericidas que pueden ser aprovechados en innumerables campos de la medicina como tratamiento y prevención de enfermedades de origen bacteriano y viral (9)(10).

Un estudio realizado en la universidad de Boston pone en manifiesto las ventajas del uso de la plata como potente bactericida de un número de cepas patógenas, beneficio atribuido debido a los múltiples puntos diana que presenta sobre la membrana bacteriana, el ácido desoxirribonucleico (ADN), y las enzimas que permiten procesos como la respiración y el intercambio de nutrientes con el medio (8)

En Honduras, el estudio denominado “Enfermedades digestivas, respiratorias y circulatorias producidas por los alimentos, en los restaurantes de la Universidad

Pedagógica Nacional Francisco Mozarán” demostró que gran parte de esta población estudiantil ha presentado enfermedades de origen alimentario al menos una vez en el transcurso de su vida universitaria (2) lo cual afecta directamente en la salud y rendimiento escolar.

En Ecuador existen escasas publicaciones sobre las cualidades que otorga la plata coloidal en el tratamiento y prevención de enfermedades; método bactericida con agua de plata que no ha logrado ser introducido en el mercado como una mejor opción en la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos; tomando en cuenta que el mayor número de enfermedades que padece la humanidad son adquiridas a través de la boca, buscándose en el trabajo planteado evaluar la eficacia del agua de plata como bactericida en microorganismos indicadores de contaminación a partir de ensaladas listas para el consumo humano.

En la provincia de Tungurahua no se han registrado estudios microbiológicos sobre el uso del agua de plata. Sin embargo, en un trabajo realizado en la Universidad Técnica de Ambato sobre distintas hortalizas denominado “Desarrollo de una tecnología innovadora de procesamiento mínimo para la conservación de hortalizas frescas previamente tratadas con aceite esencial de tomillo” se evidenció que antes de ser sometidas a diferentes tratamientos estas presentaron altas cargas microbianas no aptas para el consumo humano, incluyéndose la presencia de *Salmonellaspp*, razón por la cual se hace indispensable el empleo de métodos eficaces en la eliminación de cepas patógenas en productos alimenticios como las verduras y hortalizas(11).

### **1.1.2. Formulación del Problema**

¿Cuál es la mejor concentración y tiempo de exposición en que el agua de plata presenta un gran espectro bactericida sobre las bacterias indicadoras de contaminación presentes en ensaladas listas para el consumo humano?

### **1.1.3. Interrogantes de la Investigación**

- ¿Cuáles son los contaminantes presentes en las muestras?
- ¿Cuál es la carga bacteriana presente en las muestras?
- ¿Cuál es el espectro de acción del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación?

## **1.2. JUSTIFICACIÓN**

El presente proyecto de investigación es de interés en la sociedad debido al alto índice de estudiantes que han presentado enfermedades gastrointestinales por haber consumido alimentos contaminados en los distintos restaurantes ubicados en las cercanías de las instituciones educativas. La proliferación de bacterias a partir de manos contaminadas es una de las causas principales que provoca infección en las personas que consumen alimentos en restaurantes(12); la investigación busca evitar las toxiinfecciones por consumo de alimentos contaminados, disminuyendo la carga bacteriana, asegurando la salud del consumidor.

Este trabajo dará a conocer un método seguro, económico y sobre todo eficaz en el proceso de desinfección de alimentos a la población en general, procurando mejorar la salud y evitar enfermedades de origen bacteriano que puedan desencadenar en el descenso de la salud.

Es de importancia la investigación microbiológica sobre las ensaladas que son componentes principales de alimentos expendidos a la población estudiantil, al igual que mejorar las medidas higiénico – sanitarias de los puestos de comida. Para lo cual, en este estudio se evalúa la actividad bactericida del agua de plata como un eficiente antimicrobiano en el tratamiento de alimentos, gracias a que se dispone de la bibliografía actualizada, recursos económicos, físicos, humanos y el conocimiento necesario para el desarrollo del proyecto, en donde los beneficiarios

serán la población en general ya que podrán evitar contraer enfermedades de transmisión alimentaria y por tal razón tener un buen estado de salud alimentaria.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. Objetivo General**

- Determinar la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo humano en restaurantes, cercanos a una institución de educación superior

#### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- Identificar los tipos de bacterias o agentes contaminantes presentes en las muestras
- Determinar la carga microbiana presente en las muestras.
- Determinar el espectro de acción del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.- ESTADO DE ARTE

Desde hace siglos la plata ha sido utilizada para prevenir y luchar contra una amplia gama de enfermedades (13) al igual que en la desinfección del agua y en el tratamiento de heridas crónicas por el efecto bactericida que presenta frente a los microorganismos Gram positivos y Gram negativos. En el año 1940 con la introducción de los antibióticos al mercado se produjo una baja significativa en su utilización; no obstante, actualmente debido a las múltiples resistencias presentadas por las bacterias a ciertos medicamentos, vuelve a ser aplicada en el tratamiento y prevención de enfermedades de origen bacteriano(14).

Un estudio realizado por Ivan Sondi y Branka Salopek-Sondi titulado: “Las nanopartículas de plata como agente antimicrobiano”(15). Se probó el uso bactericida frente a *E. coli* como un modelo para las bacterias Gram negativas. Estudio que confirmó el daño de la membrana celular bacteriana, observándose la acumulación de nanopartículas de plata en toda la superficie del microorganismo, evidenciándose la presencia de “hoyos” en la membrana cuya morfología pone en evidencia una alta permeabilidad produciendo la muerte celular. De la misma manera evaluaron la efectividad bactericida de la plata frente a *Staphylococcus aureus* para bacterias Gram positivas, encontrándose daños similares a los presentados en la cepa de *E. coli*(16). Otras cepas habitualmente patógenas también presentaron una alta sensibilidad a la exposición de nanopartículas de plata destacándose; *P. Aeuriginosa*, y *Bacillus subtilis*(14).

Jara Santamaría en su estudio “Efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación

superior” reveló la presencia de Coliformes totales, Mesófilos aerobios, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus* en las manos del personal manipulador de cuatro cafeterías estudiadas, donde Mesófilos aerobios y coliformes totales sobrepasan el límite establecido. La presencia de números considerables de *E. coli* en alimentos indica contaminación fecal, implicando un alto riesgo de la existencia de un microorganismo patógeno, como en el caso de la cepa *E. coli* O157:H7 cuya dosis infectiva es extremadamente baja. Tras la exposición de los microorganismos al agua de plata encontró que disminuye la carga bacteriana en más del 50% de su conteo inicial presente en las manos de los manipuladores de alimentos(17).

Después de la Salmonelosis, *Listeria monocitogenes* es la bacteria responsable de una alta mortalidad por enfermedades transmitidas por la dieta alimenticia; siendo importante causa de septicemia, abortos e infecciones del sistema nervioso central(18). Juan J. Quispe y Víctor Sánchez en su estudio titulado: “Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima – Perú”. Afirman: que el uso de elementos crudos en la preparación de ensaladas evidencia una alta concentración de coliformes fecales, además del uso de telas de algodón y cubiertas de plástico para recubrir las ensaladas los cuales potencian la multiplicación microbiana(19)

## **2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

### **2.2.1 Antisépticos y desinfectantes**

#### **2.2.1.1 Antisépticos**

Son sustancias químicas tópicas con actividad biocida de amplio espectro que se aplican sobre la piel y tejidos vivos, con capacidad de destruir o inhibir el crecimiento bacteriano, además deben cumplir con los criterios de eficacia e inocuidad. Al no poseer actividad selectiva, eliminan todo tipo de gérmenes incluyendo aquellos microorganismos patógenos oportunistas(20).

La OMS, describe a los antisépticos como un tipo de desinfectante cuyo objetivo principal es eliminar los microorganismos presentes sin afectar las estructuras celulares humanas, para lo cual debe existir un control adecuado de la cantidad del antiséptico que se aplica, debido a que una exposición a altas concentraciones puede ser tóxico para los tejidos vivos(21). A pesar que algunos antisépticos se aplican sobre piel, mucosas externas, heridas y quemaduras para el control de microorganismos patógenos oportunistas, muchos de estos no son convenientes para aplicarlos sobre heridas abiertas, esto debido a que interfieren en el proceso de cicatrización por sus efectos citotóxicos directos sobre fibroblastos y queratinocitos(20). Una de las normas importantes antes de aplicar un antiséptico es asegurarse que la persona a utilizar el producto no sea alérgica a éste, además de que la piel debe haber sido sometida a una limpieza previa para eliminar un exceso en la carga bacteriana y optimizar la actividad del antiséptico. Otras normas importantes a tomarse en cuenta es respetar las concentraciones recomendadas por el fabricante y finalmente no mezclar diferentes antisépticos(22)

### **2.2.1.2 Desinfectante**

Agentes químicos que destruyen o inhiben la proliferación bacteriana de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulados. Debido a su alta toxicidad celular se aplican sobre materiales y objetos inanimados para prevenir infecciones(21). El procedimiento de desinfección se puede realizar por métodos químicos y físicos, los cuales se clasifican según su efectividad sobre los microorganismos en alto, medio y bajo nivel. Un desinfectante de alto nivel tiene una acción letal sobre todas las formas vegetativas de los microorganismos incluyendo bacterias, virus y hongos, aunque no elimina toda forma de vida bacteriana puesto que no siempre destruye algunas esporas, dentro de este grupo tenemos al glutaraldehído. Los desinfectantes de nivel intermedio como el hipoclorito de sodio y alcohol etílico al 70% no necesariamente eliminan bacterias formadoras de esporas, aunque sí destruyen microorganismos patógenos. Los desinfectantes de nivel bajo como los componentes cuaternarios de amonio destruyen a la mayoría de bacterias no esporuladas, además de la inactivación de

algunos virus (23)(24). Para que un desinfectante sea considerado ideal para su uso debe cumplir con varias características. Deben ser fáciles de usar, no necesitar protección especial para su uso, no presentar toxicidad (no volátil), gran capacidad de limpieza, olor agradable, que no oxide ni altere el material, y no sea dañino para medio ambiente y el medio laboral(23).

### **2.2.1.3 Bactericida**

El sufijo *cida*, proviene del termino latín *caedere* que significa matar. En muchos agentes químicos estos sufijos determinan su actividad, en este caso el termino bactericida significa que mata bacterias independientemente del espectro de acción que presente. Se denomina una sustancia bactericida de amplio espectro aquella capaz de inhibir o eliminar la carga bacteriana de distintas familias Gram positivas y Gram negativas. También se encuentran sustancias fungicidas que eliminan hongos, y aun más que eso se encuentran los germicidas que matan gérmenes en general (25).

### **2.2.2LA PLATA**

La plata, al no ser particularmente toxica para los humanos debido a que cuando es ingerida este se absorbe en pequeñas cantidades, no existe peligro biológico por acumulación en el organismo. No exceptuando la posibilidad de producirse argiriosis si existe una exposición a altas concentraciones de plata durante un largo periodo(5). La dosis de este metal capaz de provocar alteración varía de acuerdo al organismo, el cuerpo humano contiene 1mg de plata aproximadamente, encontrándose valores mínimos de 4-5g en los casos reportados por argiriosis(26)

Desde la antigüedad ha sido uno de los metales más explotados en la industria de la medicina, metalurgia y joyería teniendo un gran impacto en el área de la salud, tratándose de un metal capaz de interrumpir algunos enlaces químicos esenciales en las bacterias para su supervivencia y a la vez presentando una muy baja toxicidad en las células unicelulares(27). Razón por la cual ha sido utilizado durante décadas con propósito de limitar o eliminar la carga bacteriana de patógenos en heridas mucosas y quemaduras(28). Además del tratamiento de potabilización del agua luego de múltiples estudios realizados que informaron

gran efectividad sobre la actividad bactericida de la plata tras el revestimiento de los sistemas de filtración con la misma para esterilizar el agua de uso doméstico (27)(29).

#### **2.2.2.1 Compuestos de plata:**

En el mercado existen muchos compuestos de plata destinados a cumplir una función específica debido a los múltiples beneficios que presenta la misma(30). En el campo de la medicina algunos de estos compuestos potencian la actividad antibiótica sobre bacterias, levaduras y/o mohos(13). Podemos recalcar compuestos como plata coloidal, iones de plata, nanopartículas de plata, sales de plata, óxido de plata, plata metálica y nitrato de plata, de entre las cuales las tres primeras han sido las más utilizadas y estudiadas como bactericidas sin prejuicios para la salud(31)(29)(32).

#### **2.2.2.2 Plata coloidal:**

La plata coloidal es una suspensión de partículas de plata que se obtiene mediante una serie de procesos químicos o eléctricos que las separa a partir de un trozo más grande con un tamaño de 1-10 nm (la millonésima parte de un metro)(10). Las moléculas de plata están disueltas en determinados líquidos de suspensión (soles) dando lugar a la formación de coloides de protección de naturaleza proteica que rodean la partícula de plata brindándole estabilidad en el medio y evitando su aglomeración, además de cargarse eléctricamente debido a la pérdida progresiva de iones de plata(5). Este proceso electro-coloidal para la obtención de partículas de plata presenta un gran poder antibiótico natural y preventivo contra infecciones mediante varios mecanismos de acción(33).

#### **2.2.2.3 Iones de plata:**

Es un producto derivado de la plata obtenido a partir de una dilución de formas químicas de la misma como las sales de plata y el nitrato de plata. Es una

disolución de iones de plata cargados positivamente en un medio acuoso con un tamaño menor a 0.1 nm caracterizado por presentar gran poder bactericida (5).

#### **2.2.2.4 Nanopartículas de plata:**

Son moléculas de plata con un tamaño que oscila entre 1 y 100 nm obtenidas por métodos de producción ascendentes (top-down) y descendentes (bottom-up) que conducen a la obtención de partículas variables en tamaño, estabilidad y morfología. Características que se cree que potencia las cualidades antibacteriales a las nanopartículas de plata según el origen sintético de la misma; Física, Química o biológica(14).

#### **2.2.2.5 Agua de plata:**

Es una solución de iones de plata obtenida por un proceso electrolítico a partir de un trozo puro más grande de este metal, en donde los átomos de plata han perdido un electrón permitiendo que se puedan disolver en un medio acuoso como el agua destilada(17). El proceso de producción del agua de plata es un proceso puro en el que no hay interferencia de productos químicos que en un futuro puedan causar toxicidad y/o reacciones alérgicas en el individuo que la consuma, ni causar un efecto antagonista con medicamentos.

Las propiedades de los compuestos de plata se describen a continuación en la tabla

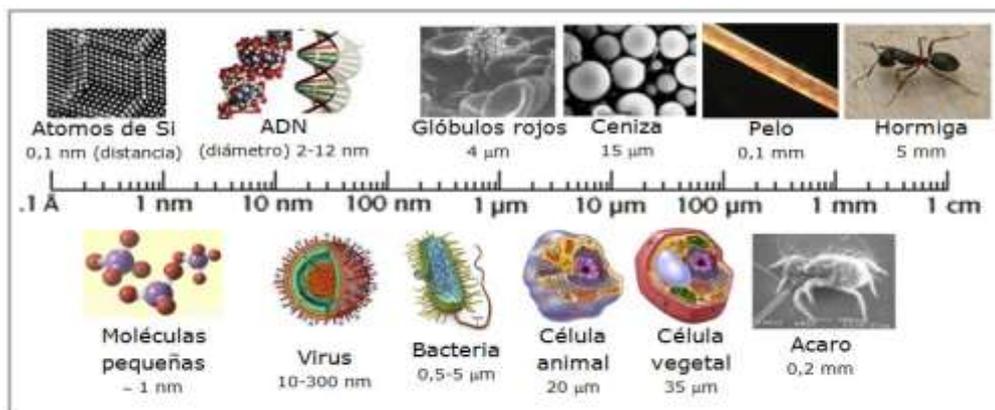
Nº1

**Tabla 1: Propiedades de los compuestos de plata**

COMPUESTO	MÉTODO DE OBTENCIÓN	FUENTE	TAMAÑO	ACTIVIDAD
Plata coloidal	Procesos químicos o eléctricos	Plata pura	1 – 10nm	Germicida
Iones de plata	Diluciones	Otros compuestos (sales de plata)	< 0,1nm	Germicida
Nanopartículas de plata	Métodos Top – down y bottom – up	Plata pura	1 – 100nm	Bactericida
Agua de plata	Procesos electrolíticos	Plata pura	< 0,1nm	Germicida

Elaborado por: Moisés San Lucas

**Gráfico 1: Medidas de tamaño en escala**



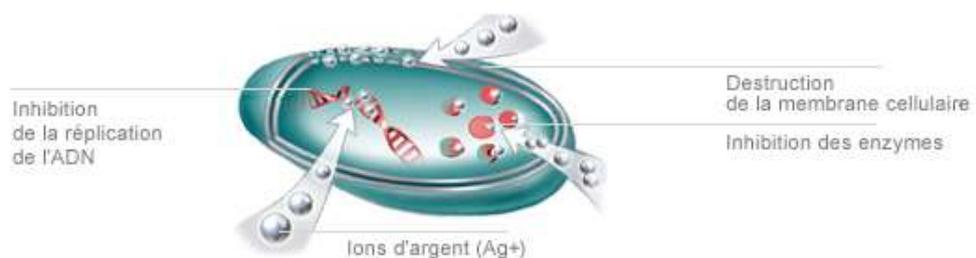
Fuente: (34)

### 2.2.3 Mecanismos de acción de la plata:

La plata al ser un elemento tóxico no selectivo presenta un amplio espectro bactericida a bajas concentraciones frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se han propuesto algunos mecanismos por los cuales la plata causa la muerte bacteriana actuando a nivel de enzimas, ADN, y membrana celular, entre otros. Se cree que al ser un compuesto que presenta alta reactividad con el azufre provoca su reacción con las enzimas, debido a que presentan este elemento en su estructura(8). La presencia de enzimas en la membrana y los iones de plata que ingresan a la bacteria mediante transportadores de metales presentes en la misma, permiten la acumulación de partículas de plata en las vacuolas y gránulos de la pared celular, afectando la permeabilidad y el intercambio de nutrientes con el medio, dificultando procesos como la respiración, y división celular. También impide procesos como la deshidrogenación y actuación sobre los ácidos nucleicos, mediante la formación de complejos con grupos sulfidrilos o tioles de las proteínas los cuales son esenciales para la actividad de algunas enzimas. Una vez dentro de la célula la plata interacciona con el material genético inhibiendo su metabolismo, crecimiento y reproducción(5). Una de las cualidades bactericidas más importantes de este metal es su efecto oligodinámico (liberación lenta y constante) la cual permite que sea utilizado como preservante o desinfectante (35).

Los mecanismos de acción de la plata sobre microorganismos inhibiendo o limitando la carga bacteriana se ilustran en el gráfico N°2.

**Gráfico 2: Mecanismo de acción de la plata.**



Fuente: (28)

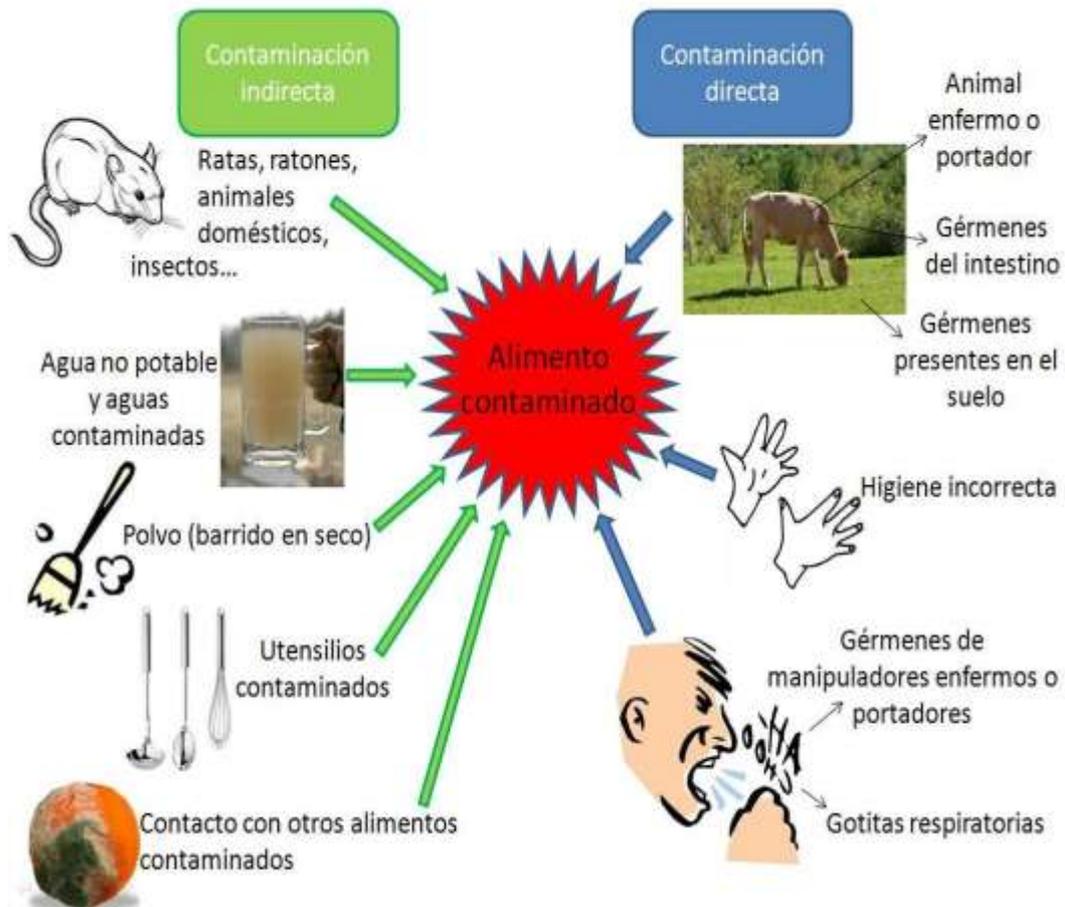
- Interacción con la membrana celular
- Unión al ADN
- Interferencia con el transporte electrónico
- Interacción con ciertas enzimas, inhibiéndolas.
- Formación de compuestos metal-proteína con inactivación de su función (13).

#### **2.2.4 Contaminación de los alimentos**

Por contaminación de alimentos. Se entiende como toda materia anormal no añadida intencionalmente a los alimentos con la capacidad de producir daño al consumidor. Los contaminantes pueden ser agentes físicos, químico, biológico o cualquier otro componente que comprometa la inocuidad o aptitud del alimento para el consumo humano (36)(37).

la contaminación alimentaria se puede dar por distintas vías, las cuales en su mayoría son provocadas por una manipulación y/o medidas sanitarias inadecuadas tomadas por el personal manipulador de alimentos, siendo éste el principal vehículo transportador de agentes patógenos, tal como se muestra en el gráfico 3.

**Gráfico 3: Vías de contaminación de los alimentos**



Fuente:(38)

### 2.2.5 Enfermedades bacterianas transmitidas por alimentos

Las hortalizas (verduras y legumbres) son plantas que pueden ser cultivadas en cualquier huerto y regadío, las cuales pueden ser consumidas crudas y/o cocidas. Este tipo de alimentos permanecen expuestos a contaminación durante el proceso de cultivo, a través del agua de riego, suelo, aire y abono. Factores que favorecen al potencial riesgo de adquirir enfermedades gastrointestinales por ingesta de bacterias patógenas como en el caso de los Coliformes totales, bacterias que pueden ser causantes de diversas enfermedades alimentarias. Posterior a su cosecha, estos productos son expuestos una vez más a factores de contaminación como: la maquinaria, recipientes, utensilios y trabajadores asintomáticos portadores de microorganismos patógenos (39)

### **2.2.6 Clasificación de enfermedades alimentarias**

Según la organización mundial de la salud (OMS) el 70% de las enfermedades diarreicas son provocadas por la ingesta de alimentos contaminados y el 30% restante por alergias, medicamentos, entre otros(40). Las enfermedades transmitidas por alimentos pueden clasificarse en intoxicaciones e infecciones alimentarias(41).(ver tabla 2)

**Intoxicaciones alimentarias:**

Provocada por la producción de toxinas preformadas en los alimentos, en donde no necesariamente las bacterias tienen que estar vivas al momento de ingerirlos. Las toxinas generalmente no tienen color o sabor, capaces de producir daños en la salud(40).

**Infecciones alimentarias:**

Ocasionada por la presencia de agentes patógenos vivos (virus, bacterias, hongos y parásitos) en los alimentos con la capacidad de producir toxinas y multiplicarse considerablemente para llegar a producir daño en el tracto digestivo de la persona que las consuma (41)

**Tabla 2: Principales microorganismos involucrados en enfermedades alimentarias.**

MICROORGANISMO	FUENTE DE INFECCION	ENFERMEDAD
<i>Staphylococcus aureus</i>	Fosas nasales y piel del cuerpo humano	Intoxicación alimentaria
<i>Bacillus cereus</i>	Alimentos secos (cereales)	
<i>Clostridium botulinum</i>	Conservas	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Productos lácteos	Infección alimentaria
<i>Salmonella</i> spp	Aguas, huevos crudos, leche no pasteurizada, carnes (aves)	
<i>Shigella</i> spp	Contaminación fecal – oral	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Mariscos	
<i>Escherichia coli</i>	Contaminación fecal	Toxiinfección alimentaria
<i>Vibrio cholerae</i>	Productos marinos, aguas contaminadas	

Modificado por: Moisés San Lucas.

Fuente: (42)

### 2.2.7 Principales microorganismos involucrados en ETA's

Según la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos, entre los principales patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos que pueden afectar en la salud individual y colectiva de las personas se encuentran: *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Norovirus* (Virus del tipo Norwalk), *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*(43).

A continuación, se describen las generalidades de los microorganismos habituales en enfermedades de origen alimentario.

*Escherichia coli:*

Bacilo Gram negativo, oxidasa negativa, perteneciente a la familia de las enterobacterias, anaerobio facultativo, con flagelos en toda su superficie (perítricos), capaz de crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C con un valor óptimo de 37 °C. presente en el tracto gastrointestinal del hombre y animales de sangre caliente. Es una de las bacterias más relevantes en infecciones gastrointestinales en el hombre, además de otros sistemas como: sanguíneo, urinario y nervioso. La mayoría de las cepas son inofensivas, con excepción de algunas como el caso de *E. coli O157: H7* productora de toxina Shiga. Toma este nombre debido a la capacidad de producir toxinas semejantes a las de *Shigella dysenteriae*.

Esta bacteria es capaz de proliferar en alimentos ácidos hasta con un pH de 4.4, y causar enfermedades diarreicas acompañadas con: calambres abdominales, fiebre y vómitos, con la probabilidad de progresar a diarreas sanguinolentas (colitis hemorrágica)(44).La cadena de infección en enfermedades alimentarias en su mayoría es provocada por contaminación fecal, mala cocción y/o falta de higiene en la preparación de alimentos(45).

*Staphylococcus aureus:*

Cocos Gram positivos apelonados en racimos, aerobios, coagulasa positiva. Bacteria habitual de nariz, garganta y piel humanas. Se transmite por medio de secreciones nasales, salivales, manos y alimentos contaminados. Esta bacteria es capaz de producir toxinas termoestables que reaccionan en el intestino a las pocas horas de haberlas ingerido provocando síntomas como cólicos, diarrea y vómitos(45).

### **2.2.8 Microorganismos indicadores de contaminación en alimentos**

Los microorganismos indicadores de contaminación en los alimentos advierten oportunamente de un mal manejo y/o contaminación aumentando la probabilidad

de existencia microbiana patógena en los alimentos. Ponen en manifiesto deficiencias en la calidad de los mismos, debido a que poseen características similares a los patógenos, una vez confirmado su presencia se puede inferir que los microorganismos patógenos pueden estar presentes. Además de ser rápida, fácilmente y económicamente detectables(46). Estos microorganismos también permiten conocer qué tipo de agente contaminante está presente, y un aproximado de su carga bacteriana(47).

Los microorganismos utilizados para la determinación de salubridad en los alimentos se clasifican en dos grupos: indicadores de contaminación (Mesófilos aerobios, Coliformes totales, mohos y levaduras) y los indicadores de contaminación fecal (Coliformes fecales, E. coli, Enterococos, Clostridium perfringens)(48).

#### **2.2.8.1 Mesófilos aerobios**

Este tipo de bacterias son dependientes de oxígeno y capaces de crecer a una temperatura entre 30 - 37°C y son utilizados para evaluar la calidad bacteriológica en los alimentos. A pesar que no existe una relación directa de estos microorganismos con la presencia de patógenos de procedencia intestinal o cualquier otra bacteria capaz de producir infección o intoxicación alimentaria, un conteo elevado de estos agentes es un indicativo de un mal almacenamiento de los alimentos, de modo que permiten la proliferación de cualquier tipo de bacterias en los mismos(49).

#### **2.2.8.2 Coliformes totales**

Bacterias Gram negativas, oxidasa negativa, no esporulados, aerobias o anaerobias facultativas, fermentadoras de lactosa con producción de gas a 35°C +/- 2°C (47). Se encuentran en gran cantidad en la naturaleza y su presencia en alimentos no necesariamente implica contaminación fecal. Este tipo de microorganismos sugiere falta de higiene o que se produjo una contaminación

posterior en los alimentos, con la probabilidad de contaminación por miembros de este género como: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *E. coli* y *Klebsiella spp*(50).

#### **2.2.8.3 Mohos y Levaduras**

Los mohos y levaduras son organismos ubicuos, eucarióticos con reproducción sexual y asexual capaces de formar esporas. En los alimentos, en particular, se las pueden encontrar formando parte de la flora normal y/o como contaminante de los mismos. El riesgo de toxicidad aumenta debido a que existen varios tipos de hongos que producen metabolitos tóxicos termoresistentes capaces de soportar varias sustancias químicas y alterar sustratos perjudiciales, permitiendo el crecimiento de microorganismos patógenos y provocar alteraciones fisicoquímicas en los productos(51).

#### **2.2.8.4 Coliformes fecales**

También denominados coliformes termoresistentes por la organización mundial de la salud (OMS). Son bacterias productoras de Indol pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, capaces de fermentar la lactosa a 44-45 °C. comprenden el género *Escherichia* y en menor grado especies de *Enterobacter*spp, *Citrobacter*spp y *Klebsiella*spp. Se las encuentra en grandes cantidades en el intestino de personas y animales, razón por la cual su presencia en alimentos o agua es indicio de contaminación fecal(52).

#### **2.2.8.5 Enterococos**

Cocos Gram positivos, no esporulados, anaerobios facultativos, dispuestos en pares o cadenas cortas, ubicuos, muy resistentes al ambiente y a la presencia de algunos detergentes. Identificados como patógenos oportunistas en humanos, son bacterias de origen entérico y abundan en el tracto gastrointestinal de personas y animales de sangre caliente, aunque también se las puede encontrar en el tracto

genitourinario y saliva. Su presencia indica contaminación fecal o un manejo deficiente de medidas sanitarias en la preparación de alimentos ocasionando el riesgo de aparición de bacterias patógenas(53).

#### **2.2.8.6 Clostridium perfringens**

Bacilos Gram positivos, anaerobio facultativo, formadores de esporas, abundante en el intestino de animales de sangre caliente. Su presencia indica contaminación fecal, debido a su capacidad de formar esporas es muy resistente a ambientes hostiles y desfavorables para su crecimiento. Además, produce una potente enterotoxina termolábil que ocasiona cuadros clínicos caracterizados por dolor abdominal y diarreas severas(54).

### **2.3. HIPÓTESIS**

El agua de plata presenta actividad bactericida eficiente sobre ensaladas listas para el consumo humano.

## **CAPÍTULO III**

### **3. MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El presente trabajo es de tipo experimental, debido a que se realizaron exámenes bacteriológicos y contaje de colonias para cumplir con el objetivo del proyecto. Además, el enfoque cuantitativo fue utilizado con la finalidad de generar los resultados mediante procesos estadísticos, como gráficos y la tabulación de datos numéricos que aportan en la confiabilidad y validez del trabajo denominado “determinación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo humano”.

#### **Explicativa**

Porque se explica la determinación de la actividad bactericida del agua de plata estableciendo generalizaciones a través de la deducción de la teoría lográndose la identificación y análisis de la variable independiente y los resultados verificables de la variable dependiente.

#### **3.1.1. Modalidad básica de la investigación**

#### **3.1.2. Investigación de campo**

Porque para establecer la relación entre las variables de estudio, se tuvo como actividades acudir a los restaurantes ubicados en los alrededores de la Universidad Técnica de Ambato, campus Ingahurco para la toma de muestras, siendo el espacio donde se da lugar al acontecimiento a una de las variables a estudiarse, actuando en la realidad para recabar información sobre el problema investigado.

### **3.1.3. Investigación Bibliográfica – documental**

La modalidad se constituye en una variante para el análisis bactericida del agua de plata sustentándose en la utilización de documentos mediante la recolección con el proceso de selección, para lograr la obtención de resultados coherentes en base al análisis y síntesis de artículos científicos, trabajos realizados anteriormente e información escrita, constituyéndose en la base para la construcción del conocimiento.

### **3.1.4. Investigación De Laboratorio**

Porque se realizaron pruebas microbiológicas para la determinación e identificación de microorganismos presentes en las muestras de estudio, como: cultivo, dilución de la muestra a diferentes concentraciones de plata y contaje de colonias para determinar la carga microbiana de las distintas muestras estudiadas.

## **3.2. SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO**

### **DELIMITACIÓN TEMPORAL**

Este estudio se realizó en el periodo Septiembre 2016 – Mayo 2017

### **DELIMITACIÓN ESPACIAL**

La investigación está comprendida en los restaurantes ubicados a una distancia no mayor a 100 metros de la Universidad Técnica de Ambato, campus Ingahurco. Las muestras de ensaladas de dichos restaurantes se procesaron en el área de microbiología del laboratorio de la Universidad.

### **3.3. POBLACIÓN**

La población estudiada fueron todos los restaurantes ubicados en los alrededores de la Universidad Técnica de Ambato campus Ingahurco que expenden ensaladas a la comunidad.

#### **3.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

##### **CRITERIOS DE INCLUSION**

- 1.- Ensaladas constituidas por ingredientes sin tratamiento térmico y/o con algún ingrediente sometido a tratamiento térmico.
- 2.- Que estén siendo expandidas al momento de la toma de muestra.
- 3.- Restaurantes que aprueben el estudio en su producto

##### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- 1.- Restaurantes que no aprueben el estudio en su producto.
- 2.- Ensaladas que no se encuentren a la venta al momento de la toma de muestra.

### **3.4. DISEÑO MUESTRAL**

Se trabajó con todos los restaurantes, de los cuales se obtuvo un total de 16 muestras de ensaladas ofertadas en los alrededores de la Universidad Técnica de Ambato campus Ingahurco, en las cuales se hace presente el problema para el desarrollo del trabajo de investigación, cumpliendo con los criterios de inclusión y exclusión planteados.

### 3.5.operacionalización de variables

**Tabla 3: Variable Independiente: Agua de plata**

CONCEPTUALIZACION	CATEGORIA	INDICADOR	ITEMS	TECNICA E INSTRUMENTO
<p><b>Agua de plata</b></p> <p>Las microscópicas partículas de plata suspendidas en agua poseen un gran poder bactericida, por lo cual son capaces de destruir hasta los microbios más resistentes a los antibióticos, esto dependiendo de su tiempo de exposición al microorganismo.</p>	<b>BACTERICIDA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agar sin crecimiento bacteriano</li> <li>• Ausencia de hongos</li> </ul>	¿Cómo determino la eficacia del agua de plata como bactericida?	<p><b>Observación</b></p> <p><b>Registro de Notas</b></p>
	<b>TIEMPO DE EXPOSICIÓN AL MICROORGANISMO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducción del número de colonias según el tiempo de exposición al agua de plata</li> </ul>	¿Cuál es el tiempo necesario para que se produzca el efecto bactericida?	<p><b>Observación</b></p> <p><b>Registro de Notas</b></p>

Elaborado por: Moisés San Lucas

**Tabla 4: Variable Dependiente: Ensaladas listas para el consumo**

CONCEPTUALIZACION	CATEGORIA	INDICADOR	ITEMS	TECNICA E INSTRUMENTO
<p><b>Ensaladas listas para el consumo</b></p> <p>Las ensaladas por lo general se encuentran a una fácil accesibilidad y sin protección, por lo cual están expuestas a contaminación tanto ambiental como por manipulación.</p> <p>Es un tipo de alimento generalmente crudo, lo cual significa que al estar exentos del factor de la temperatura que en muchos casos mata un gran número de bacterias, estas pueden multiplicarse y ocasionar daños a la salud del consumidor</p>	<p><b>CONTAMINACIÓN AMBIENTAL</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Productos expuestos al ambiente</b></li> </ul>	<p>¿Cómo determino si el producto puede estar contaminado con bacterias u hongos?</p>	<p><b>Observación</b></p> <p><b>Registro de Notas</b></p>
	<p><b>CONTAMINACIÓN POR MANIPULACIÓN</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Personal de cocina sin uso de equipo de protección personal</b></li> </ul>	<p>¿Cómo verifico la salubridad de los alimentos?</p>	<p><b>Observación</b></p> <p><b>Registro de Notas</b></p>

Elaborado por: Moisés San Lucas

### **3.6. Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información.**

Para el presente estudio no existieron limitaciones de ningún tipo, ya que los propietarios de los restaurantes dieron su aprobación verbal del desarrollo de la investigación en su producto, siempre y cuando se maneje con discreción y confidencialidad el nombre del restaurante participante en el proyecto. De igual manera, el personal de laboratorio puso a disposición los materiales necesarios para la elaboración del trabajo antes mencionado.

La encuesta dirigida a los estudiantes de la facultad de ciencias de la salud se elaboró según el horario y fecha establecido en el oficio dirigido al decano de la facultad (ver anexo1). Con el propósito de obtener datos reales que proporcionen solides al trabajo de investigación, sobre los hábitos alimenticios y de salud en la población estudiantil (ver anexo2).

#### **MATERIALES Y REACTIVOS:**

Micropipeta de 1ml calibradas

Pipetas serológicas de 5ml y 10ml estériles

Puntas desechables

Fundas Ziploc

EPP (Guantes, mandil, bata, mascarilla, toca, zapatones)

Alcohol al 70%

Cronómetro

Mechero

Frascos para toma de orina estériles

Agua peptonada 0.1%

Placas petrifilm para: Mesófilos Aerobios, *E. coli*/Coliformes, Mohos y Levaduras

#### **EQUIPOS:**

Autoclave

Estufa

Refrigeradora

Contador de colonias

Balanza analítica calibrada

Licuada

### 3.7 Muestreo, recolección, y transporte de muestras

Procurando el cumplimiento de los criterios de inclusión planteados para el muestreo de ensaladas, se realizó una visita programada con los propietarios de los restaurantes ubicados en las cercanías de la Universidad Técnica de Ambato, campus Ingahurco, con el fin de elaborar un cronograma de muestreo adecuado para el desarrollo del trabajo planteado. (Ver Tabla 5)

**Tabla 5: Cronograma de muestreo**

Ensaladas		
Restaurante	Muestras	Fecha de muestreo y siembra
R1	M (3)	02/05/2017
R2	M (1)	02/05/2017
R3	M (1)	02/05/2017
R4	M (1)	02/05/2017
R5	M (1)	02/05/2017
R6	M (1)	02/05/2017
R7	M (1)	02/05/2017
R8	M (1)	02/05/2017
R9	M (1)	02/05/2017
R10	M (1)	02/05/2017
R11	M (1)	02/05/2017
R12	M (1)	02/05/2017
R13	M (1)	02/05/2017
R14	M (1)	02/05/2017

Para la toma de muestras, el investigador utilizó todo el equipo de protección personal y las pinzas ubicadas junto a los recipientes de las ensaladas para su manipulación, las cuales fueron desinfectadas previamente con alcohol al 70%, evitando de esta manera la contaminación cruzada, este proceso se repitió para cada ensalada sometida al estudio (Ver Gráfico 4). Las muestras fueron recolectadas en fundas ziploc y colocadas en un recipiente hermético con hielogel para mantener las muestras refrigeradas para su transporte e inmediato análisis en el laboratorio, cumpliendo así con las recomendaciones descritas para el transporte de alimentos en el reglamento de buenas prácticas para alimentos procesados (55).

**Gráfico 4: Fase de muestreo**



El muestreo se realizó en 14 restaurantes, los cuales fueron codificados según el orden en que se procedió a la toma de muestras y el número de las mismas que fueron expandidas al consumidor, las cuales se encuentran detalladas en la Tabla N. 6: codificación y composición de las muestras.

**Tabla 6: Codificación y composición de las muestras.**

Restaurante	Código	Ingredientes-Ensaladas
R1	M1	Lechuga, Col, Zanahoria
	M2	Zanahoria, Col morada
	M3	Tomate, Cebolla paiteña, Perejil, Limón
R2	M1	Zanahoria, Chochos, Col morada, Aguacate
R3	M1	Remolacha, Tomate, Huevo
R4	M1	Lechuga, Tomate, Cebolla paiteña, Jamón
R5	M1	Lechuga, Tomate, Pepinillo, Perejil
R6	M1	Lechuga, Tomate, Perejil
R7	M1	Lechuga
R8	M1	Lechuga, Tomate, Perejil
R9	M1	Zanahoria, Choclo, Vainitas, Mayonesa
R10	M1	Coliflor, Brócoli
R11	M1	Lechuga, Tomate, Aguacate
R12	M1	Cebolla paiteña, Tomate
R13	M1	Zanahoria, Vainitas, Perejil
R14	M1	Tomate, Chochos, Pepinillo

### 3.8 Procesamiento de las muestras

Las muestras de ensaladas que se recolectaron de los diferentes restaurantes, se procesaron para determinar la carga microbiana presente. Para lo cual, se licuaron las muestras por separado a una velocidad moderada con el fin de obtener una mezcla homogénea y evitar injuria bacteriana. La licuadora se esterilizo en el autoclave proporcionado por el laboratorio después de cada muestra para descartar una contaminación cruzada (ver anexo N°13).

Se pesaron 10g de la muestra y se realizó una dilución con agua peptonada de la cual se sembró 1ml en cada una las placas petrifilm según las indicaciones recomendadas por el fabricante para Mesófilos aerobios (56), *E.coli*/Coliformes

(57), Mohos y levaduras (58). En base a los métodos oficiales 990.12,991.14 y 997.02, validados por la AOAC (*Association of Analytical Communities*) (59), se realizó el cultivo bacteriano, según los requerimientos de tiempos y temperatura para cada microorganismo. Se recomienda, para Mesofilos aerobios un tiempo de incubación de 48 horas (+/- 3h) a 35 °C (+/- 1°C). *E.coli*/Coliformes por 24 horas (+/- 2h) a 35 °C (+/- 1°C). Mohos y Levaduras de 3 a 5 días a 25 °C (+/- 1°C).

### **3.9 Análisis de la actividad bactericida del agua de plata**

#### **3.9.1 Análisis de la concentración**

Para el análisis de concentración se utilizó dos concentraciones diferentes del agua de plata 5ppm y 10ppm, en donde, se mezcló 5ml de la dilución de la muestra con 5ml del agua de plata a una concentración de 5ppm. Este procedimiento se repitió con la concentración de 10ppm del agua de plata. La siembra en las placas petrifilm para microorganismos indicadores de contaminación se realizó en base al procedimiento antes mencionado en el punto 3.8

#### **3.9.2 Análisis de tiempos de contacto**

Se procesó primero el agua de plata de 5ppm. Mediante un cronómetro se tomó el tiempo de exposición desde el momento de contacto entre las soluciones. Al primer minuto se realizó la primera siembra, y transcurridos los cinco minutos la segunda siembra. Este proceso se repitió con la concentración de 10ppm del agua de plata.

### **3.10 Análisis e interpretación de resultados**

Una vez transcurrido el período de incubación se realizó la cuantificación de la carga bacteriana, tanto de las muestras puras como de las sometidas a tratamiento con agua de plata. Las unidades formadoras de colonias (UFC) cuantificadas en

los cultivos microbiológicos fueron reportadas en una matriz de datos detallados en el (anexo N°12). Ejemplos de los cultivos microbiológicos se pueden apreciar en el (anexo N°14)

Independientemente del restaurante que se haya muestreado las ensaladas, se realizó un análisis de la carga microbiana inicial en cada indicador de contaminación en el total de las muestras

### **3.11 Controles**

Se realizó controles microbiológicos del agua peptonada y el agua de plata por lote de frascos utilizados y las diferentes concentraciones empleadas en el estudio. Además, se llevó un registro de la temperatura diario de las incubadoras con el fin de evitar errores en la interpretación de resultados (ver anexo 3).

#### **3.11.1 Control de calidad del agua de plata**

Se sembró 1ml del agua de plata de 5ppm y 10ppm por lote en las placas petrifilm para los indicadores de contaminación: Mesófilos aerobios, *E.coli*/Coliformes, Mohos y Levaduras (ver anexo N°15). El certificado de calidad del agua de plata se encuentra detallado en el (anexo N°4)

#### **3.11.2 Control de calidad del agua peptonada**

Para el control de calidad se sembró 1ml del agua peptonada en las placas petrifilm para los diferentes indicadores de contaminación: Mesófilos aerobios, *E.coli*/Coliformes, Mohos y Levaduras (ver anexo N°15). Su incubación se realizó según las recomendaciones descritas en el punto 3.8 en el procesamiento de las muestras.

### **3.12 ASPECTOS ÉTICOS**

Todos los análisis de las muestras incluidas en el presente proyecto de investigación, así como la información recopilada fueron manejados con estricta confidencialidad.

Los investigadores de este estudio declaran no tener ningún conflicto de interés con ninguna institución pública o privada en el manejo y procesamiento de alimentos que se incluyen en esta investigación.

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de la encuesta fueron analizados e interpretados en su totalidad para obtener un criterio significativo sobre la realidad estudiantil con respecto a la salud y hábitos alimenticios que proporcionan la importancia y validez a este estudio.

Con una población de 2674 estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud se muestrearon 337 estudiantes, los cuales circulaban por los pasillos de las instalaciones en la fecha y horario detallados en la solicitud de autorización dirigida al decano de la facultad.

Para el muestreo se trabajó con un nivel de confianza del 95% y un margen del 5% utilizando la ecuación estadística para proporciones poblacionales descrita a continuación.

$$n = \frac{Z^2 (N)(p)(q)}{[E^2 (N - 1)] + [Z^2 (p)(q)]}$$
$$n = \frac{(1,96)^2(2674)(0,5)(0,5)}{[0,05^2(2674 - 1)] + [1,96^2 (0,5)(0,5)]}$$
$$n = \frac{2568,1096}{[6,6825] + [0,9604]}$$
$$n = \frac{2568,1096}{7,6429}$$
$$n = 337$$

n= Tamaño de la muestra

z= Nivel de confianza deseado

p= proporción de la población con la característica deseada

q= proporción de la población sin la característica deseada

e= Nivel de error dispuesto a cometer

N= Tamaño de la población

En la encuesta realizada a los estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato se obtuvo como resultado que: en la primera pregunta referente a la frecuencia en que los estudiantes acuden a los puestos de comida ubicados en las cercanías de la Institución para su alimentación, un 88% de los estudiantes contestaron que sí, de los cuales en la segunda pregunta sobre la composición de los alimentos que consumen en estos restaurantes, el 76% de los estudiantes manifiestan mantener una dieta rica en verduras y hortalizas, razón por la cual es importante que estas sean tratadas adecuadamente antes de su comercialización en los alimentos.

En la tercera pregunta, sobre el estado de salud de los estudiantes en los últimos años el 90% de esta población confirma haber padecido enfermedades gastrointestinales al menos una vez en el transcurso de su vida universitaria, de los cuales en la cuarta pregunta referente al origen de las enfermedades gastrointestinales provocados en la comunidad estudiantil el 95% considera que los alimentos expendidos en las cercanías de la universidad, en su mayoría son responsables de dichas enfermedades, razón por la cual en la quinta pregunta el 100% de los estudiantes manifiestan estar de acuerdo en que debe realizarse un análisis microbiológico de los alimentos ofertados en las cercanías de la universidad.

Por otra parte, los datos obtenidos del estudio microbiológico fueron procesados de manera global independientemente del restaurante que se haya muestreado las ensaladas, es decir, la carga microbiana inicial y el efecto del agua de plata sobre cada microorganismo indicador de contaminación se analizaron en la totalidad de las muestras, de modo que nos permitirá conocer si existió o no disminución de la carga microbiana inicial a la exposición del agua de plata.

## **DISCUSIÓN**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) tienen un gran impacto en la sociedad, debido a la alta tasa de morbilidad causada por las mismas, razón por

la cual se han realizado estudios microbiológicos para determinar la carga microbiana presente, al igual que el empleo de métodos bactericidas no convencionales para la desinfección de los alimentos como lo es el agua de plata.

En un estudio realizado por Bonifáz D. sobre este tipo de alimentos se evidencio que el 57% de los alimentos presentó cargas bacterianas de Mesófilos aerobios superiores a lo permisible en un 57% del total de las muestras, Coliformes totales en un 9.5% y Levaduras en un 19%, utilizando los mismos valores de referencia que en este estudio, mientras que *E. coli* y mohos no presentaron cargas microbianas superiores a lo permisible, aunque se evidencio su presencia en el 23,8% y 66,6% respectivamente. El estudio confirma la contaminación de este tipo de alimentos compuestos por verduras y hortalizas expendidos a la comunidad, razón por la cual se potencia la transmisión de enfermedades transmitidas por los mismos incrementándose la tasa de morbilidad poblacional, dato que se comprueba en este estudio tras la obtención de resultados. Aunque el agua de plata no fue capaz de eliminar la carga microbiana de mohos y levaduras, logró reducir a los límites permisibles para el consumo humano, evidenciándose un amplio espectro de acción bactericida(60).

Jara V. en su estudio “Efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación superior” realizado en la Pontificia Universidad Católica de Quito, se encontró que el 100% de la población presentaron un crecimiento superior al límite permisible para Mesófilos aerobios siendo  $>3000$  UFC/mano, Coliformes totales en el 50 % de las muestras se encontraron por encima del límite permisible de  $\leq 100$  UFC/mano, *Escherichia coli* estuvo presente en 4.16% de las muestras (17), evidenciándose una relación directa de contaminación por manipulación de los alimentos. También se registra una alta eficiencia del agua de plata frente a una concentración inicial conocida de un microorganismo indicador de contaminación en donde se demostró una disminución superior al 80% en la reducción de la carga microbiana inicial.

En esta investigación de las 16 muestras de ensaladas procesadas al contaje microbiano Mesófilos aerobios presentaron una carga microbiana superior al permisible en un 45% de las muestras, Coliformes totales en un 35% y levaduras en un 12.5% según los valores de referencia descritos por Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” (61) mientras que *E. coli* y mohos no presentaron cargas microbianas superiores a lo permisible, aunque se evidencio su presencia en el 50% y 62.5% respectivamente en el total de las muestras. Tras la exposición al agua de plata se encontró una disminución superior al 85% de la carga microbiana inicial presente, determinando su acción microbicida para bacterias, mohos y levaduras

#### 4.3 Análisis estadístico de la carga microbiana inicial

**Tabla 7: Datos obtenidos antes de la exposición al agua de plata**

Ensaladas				
Mesófilos aerobios (Unidades Formadoras de Colonias)	Coliformes totales (Unidades Formadoras de Colonias)	<i>Escherichia coli</i> (Unidades Formadoras de Colonias)	Mohos (Propágulos)	Levaduras (Unidades Formadoras de Colonias)
680	90000	6	3	116
90000	420	0	0	480
90000	103	2	9	1800
90000	90000	0	4	10800
90000	69	0	2	112
720	91	3	0	930
930	85	1	1	270
480	96	2	2	840
1500	110	0	0	360
1620	500	0	0	720
90000	66	0	3	16
780	159	2	0	125
1600	3400	1	1	72
90000	90000	0	3	15
90000	90000	0	0	840
1500	3800	4	26	90000

Elaborado por: Moisés San Lucas

Los datos obtenidos tras el análisis de la carga microbiana inicial de cada uno de los microorganismos indicadores de contaminación de las 16 muestras de ensaladas recolectadas en los catorce restaurantes participantes se pueden observar en la tabla N°7. Para la estadística, el contaje estimado más alto está representado por la cifra de 90000 según el procedimiento de lectura de resultados descritos en el punto 3.8.1

A continuación, se detalla un análisis individual de cada microorganismo indicador de contaminación

#### 4.3.1 Mesófilos aerobios

**Tabla 8: Resumen estadístico para MA**

Media	39988
Mediana	1610
Moda	90000
Desviación estándar	45554,05
Varianza de la muestra	2075171110
Rango	89520
Mínimo	480
Máximo	90000
Cuenta	16

En el indicador de Mesófilos aerobios tenemos un total de 16 datos de los cuales se obtiene una media de 39988 UFC/g con una varianza de 2075171110. Al recuento, este microorganismo presento valores entre 480 – 90 000 en donde la cifra más alta fue utilizada como una estimación para representar los cultivos que presentaron un valor muy numeroso para contar de unidades formadoras de colonias.

Según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria”(61)para verduras y hortalizas, el rango de Mesófilos aerobios recomendable para este tipo de alimentos es de  $m = 10^2$  y  $M = 10^5$  en donde los valores de 0 – m son aceptables, los valores entre m – M medianamente aceptables y los valores

superiores a M rechazables, en este tipo de microorganismo indicador los resultados son medianamente aceptables por lo que se encuentra en los valores de 0 y m siendo  $4 \times 10^4$  UFC/g lo que indica que el proceso de desinfección de las verduras y hortalizas no es lo suficientemente adecuado, por lo que se debe intensificar el proceso de desinfección para reducir la carga bacteriana y sea considerado como aceptable.

#### 4.3.2 Coliformes totales

**Tabla 9: Resumen estadístico para CT**

Media	23056
Mediana	289,5
Moda	90000
Desviación estándar	39934,199
Varianza de la muestra	1594740248
Rango	89934
Mínimo	66
Máximo	90000
Cuenta	16

En el indicador de Coliformes totales tenemos un total de 16 datos de los cuales se obtiene una media de 23056 UFC/g con una varianza de 1594740248. Al recuento, este microorganismo presento valores entre 66 – 90 000 en donde la cifra más alta fue utilizada como una estimación para representar los cultivos que presentaron un valor muy numeroso para contar de unidades formadoras de colonias.

La carga bacteriana de Coliformes totales recomendable para verduras y hortalizas Según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” (61), es  $dem = 10^2$  y  $M = 10^4$  en donde los valores de 0 – m son aceptables, los valores entre m – M medianamente aceptables y los valores superiores a M rechazables, en este microorganismo indicador los resultados obtenidos son rechazables por lo que sus valores son superiores a M siendo  $23 \times 10^3$  UFC/g lo que indica que el proceso de desinfección de las verduras y hortalizas no es el adecuado, por lo que se debe

intensificar el proceso de desinfección de las mismas para reducir la carga microbiana y sea considerado como aceptable.

#### 4.3.3 *Escherichia coli*

**Tabla 10: Resumen estadístico para EC**

Media	1,3125
Mediana	0,5
Moda	0
Desviación estándar	1,77
Varianza de la muestra	3,1625
Rango	6
Mínimo	0
Máximo	6
Cuenta	16

En el indicador de *Escherichia coli* tenemos un total de 16 datos de los cuales se obtiene una media de 1.31 UFC/g con una varianza de 3.1625. Al recuento, este microorganismo presento valores entre 0 – 6.

La carga bacteriana de *Escherichia coli* recomendable para verduras y hortalizas Según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” (61), es  $dem = 10$  y  $M = 10^2$  en donde los valores de 0 – m son aceptables, los valores entre m – M medianamente aceptables y los valores superiores a M rechazables, en este microorganismo indicador los resultados obtenidos son aceptables por lo que sus valores se encuentran entre 0 y m siendo 1.31 UFC/g lo que indica que el proceso de desinfección de las verduras y hortalizas es el adecuado.

#### 4.3.4 Mohos

**Tabla 11: Resumen estadístico para M**

Media	3,375
Mediana	1,5
Moda	0
Desviación estándar	6,4691576
Varianza de la muestra	41,85
Rango	26
Mínimo	0
Máximo	26
Cuenta	16

En el indicador de Mohos tenemos un total de 16 datos de los cuales se obtiene una media de 3 propágulos/g con una varianza de 41.85. Al recuento, este microorganismo presento valores entre 0 – 26.

La carga microbiana de Mohos recomendable para verduras y hortalizas Según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” (61), es de  $m = 10$  y  $M = 10^4$  en donde los valores de 0 – m son aceptables, los valores entre m – M medianamente aceptables y los valores superiores a M rechazables, en este microorganismo indicador los resultados obtenidos son aceptables por lo que sus valores se encuentran entre 0 y m siendo 3 propágulos/g lo que indica que el proceso de desinfección de las verduras y hortalizas es el adecuado.

Cabe resaltar que una de las ensaladas presento una carga microbiana de mohos superiores a m por lo que se debe tener un mayor cuidado en el proceso de desinfección de las mismas.

#### 4.3.5 Levaduras

**Tabla 12: Resumen estadístico para L**

Media	6718,5
Mediana	420
Moda	840
Desviación estándar	22362,085
Varianza de la muestra	500062854
Rango	89985
Mínimo	15
Máximo	90000
Cuenta	16

En el indicador de levaduras tenemos un total de 16 datos de los cuales se obtiene una media de 6718.5 UFC/g con una varianza de 500062854. Al recuento, este microorganismo presento valores entre 15 – 90 000 en donde la cifra más alta fue utilizada como una estimación para representar los cultivos que presentaron un valor muy numeroso para contar de unidades formadoras de colonias.

La carga microbiana de Levaduras recomendable para verduras y hortalizas Según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” (61), es de  $m = 10$  y  $M = 10^4$  en donde los valores de 0 – m son aceptables, los valores entre m – M medianamente aceptables y los valores superiores a M rechazables, en este microorganismo indicador los resultados obtenidos son medianamente aceptables por lo que sus valores se encuentran entre m y M siendo  $6 \times 10^3$  UFC/g lo que indica que el proceso de desinfección de las verduras y hortalizas no es el adecuado, por lo que se debe intensificar el proceso de desinfección de las mismas para reducir la carga microbiana y sea considerado como aceptable.

## 4.4 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

### 4.4.1 Análisis del efecto del agua de plata sobre los diferentes microorganismos indicadores de contaminación.

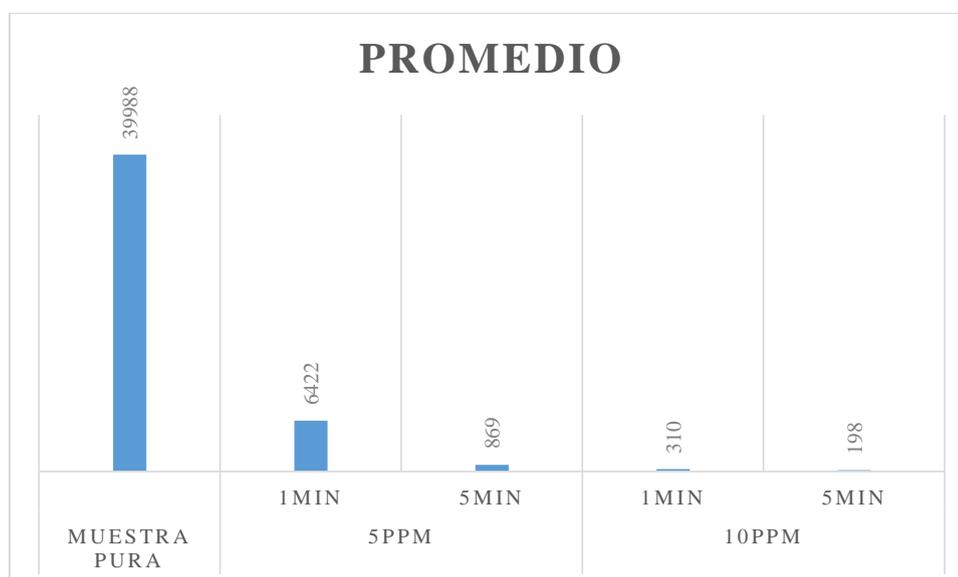
Para la comprobación de la hipótesis en el análisis del efecto bactericida del agua de plata sobre los microorganismos indicadores de contaminación se trabajó con la comparación de las medias del total de los datos obtenidos en los factores en los que se puede observar el efecto que presento cada concentración sobre la carga microbiana inicial según el tiempo de contacto.

#### 4.4.1.1 Mesófilos aerobios

**Tabla 13: Promedio del crecimiento microbiano para MA**

Concentración del agua de plata	Muestra pura	5ppm		10ppm	
		1min	5min	1min	5min
Promedio	39988	6422	869	310	198

**Gráfico 5: Promedio del crecimiento microbiano para MA**



En el gráfico N°5 se puede observar la interacción de los factores y el efecto que presento cada concentración según el tiempo de exposición a la carga microbiana de Mesófilos aerobios.

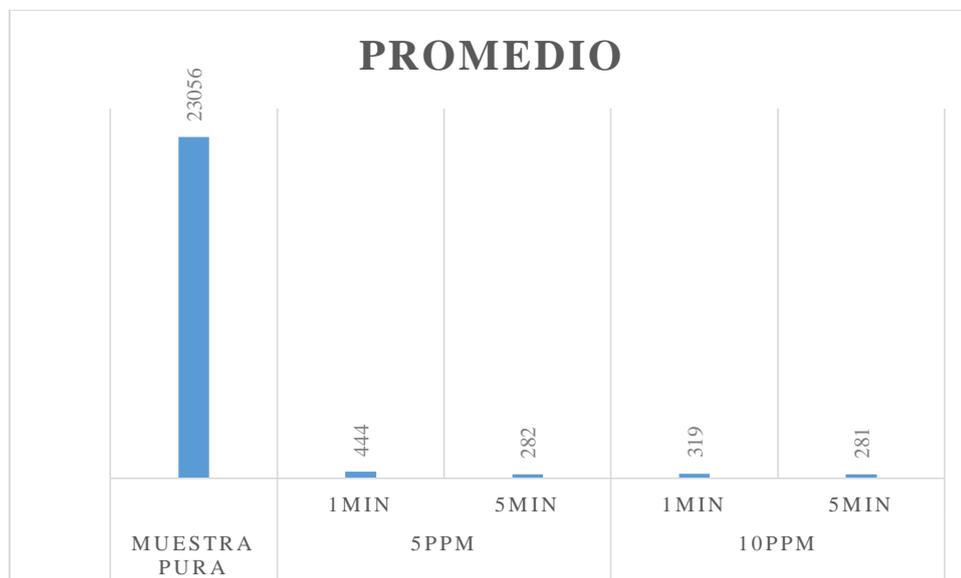
La mejor concentración y tiempo de exposición para reducir la carga microbiana de Mesófilos aerobios se pudo conseguir utilizando una concentración de 10ppm y un tiempo de exposición de 5min. La razón por la que se utilizó la máxima concentración y tiempo de exposición es que dentro de este grupo de microorganismos se encuentran incluidos Mohos y Levaduras, por lo que al existir una alta carga microbiana impide el efecto de los iones de plata sobre la estructura celular y por ende la reducción de dicha carga. Sin embargo, la carga microbiana inicial se redujo al mínimo, cumpliendo con el objetivo planteado.

#### 4.4.1.2 Coliformes totales

**Tabla 14: Promedio del crecimiento microbiano para CT**

Concentración del agua de plata	Muestra pura	5ppm		10ppm	
		1min	5min	1min	5min
Promedio	23056	444	282	319	281

**Gráfico 6: Promedio del crecimiento microbiano para CT**



En el gráfico N°6 se puede observar la interacción de los factores y el efecto que presenta cada concentración según el tiempo de exposición a la carga microbiana de Coliformes totales.

La mejor concentración y tiempo de exposición para reducir la carga microbiana de Coliformes totales se pudo conseguir utilizando una concentración de 10ppm y un tiempo de exposición de 5min. Al tratarse de un grupo de microorganismos más pequeño que el de mesófilos aerobios se logró una disminución considerable de la carga microbiana inicial gracias a una mayor facilidad de contacto e interacción entre los iones de plata y las estructuras celulares microbianas.

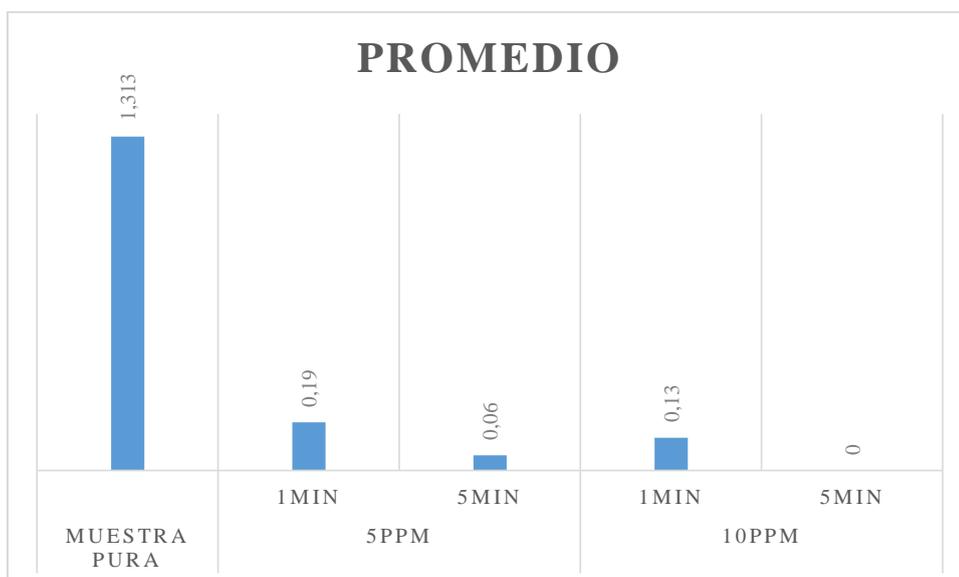
Este grupo bacteriano al abarcar microorganismos Gram negativos, los iones de plata cargados positivamente forman enlaces en la membrana provocando su debilitamiento y entrada de los iones a la célula formándose más enlaces con enzimas y proteínas interrumpiendo el correcto funcionamiento celular. Por lo tanto, el efecto bactericida del agua de plata es considerable en la reducción al mínimo para este grupo microbiano.

#### 4.4.1.3 *Escherichia coli*

**Tabla 15: Promedio del crecimiento microbiano para EC**

Concentración del agua de plata	Muestra pura	5ppm		10ppm	
		1min	5min	1min	5min
tiempo					
Promedio	1,313	0,19	0,06	0,13	0

**Gráfico 7: Promedio del crecimiento microbiano para EC**



En el gráfico N°7 se puede observar la interacción de los factores y el efecto que presenta cada concentración según el tiempo de exposición a la carga bacteriana de *Escherichia coli*.

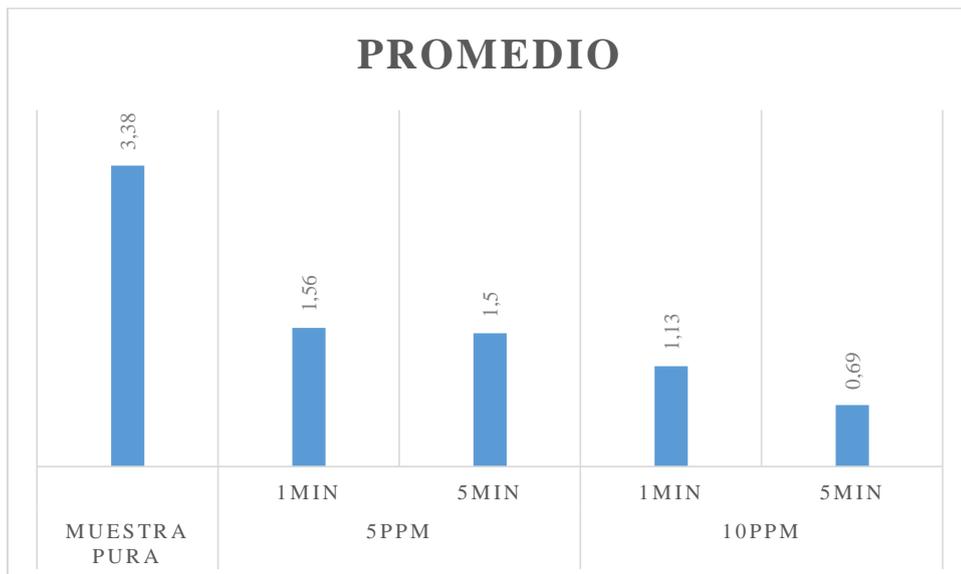
La mejor concentración y tiempo de exposición para reducir la carga microbiana de *E. coli* se pudo conseguir utilizando una concentración de 10ppm y un tiempo de exposición de 5min logrando eliminar la carga bacteriana en su totalidad. Siendo *E. coli* un microorganismo perteneciente al grupo indicador de coliformes totales, el efecto de los iones de plata sobre esta bacteria es el mismo.

#### 4.4.1.4 Mohos

**Tabla 16: Promedio del crecimiento microbiano para M**

Concentración del agua de plata	Muestra pura	5ppm		10ppm	
		1min	5min	1min	5min
Promedio	3,38	1,56	1,5	1,13	0,69

**Gráfico 8: Promedio del crecimiento microbiano para M**



En el gráfico N°8 se puede observar la interacción de los factores y el efecto que presenta cada concentración según el tiempo de exposición a la carga microbiana de Mohos.

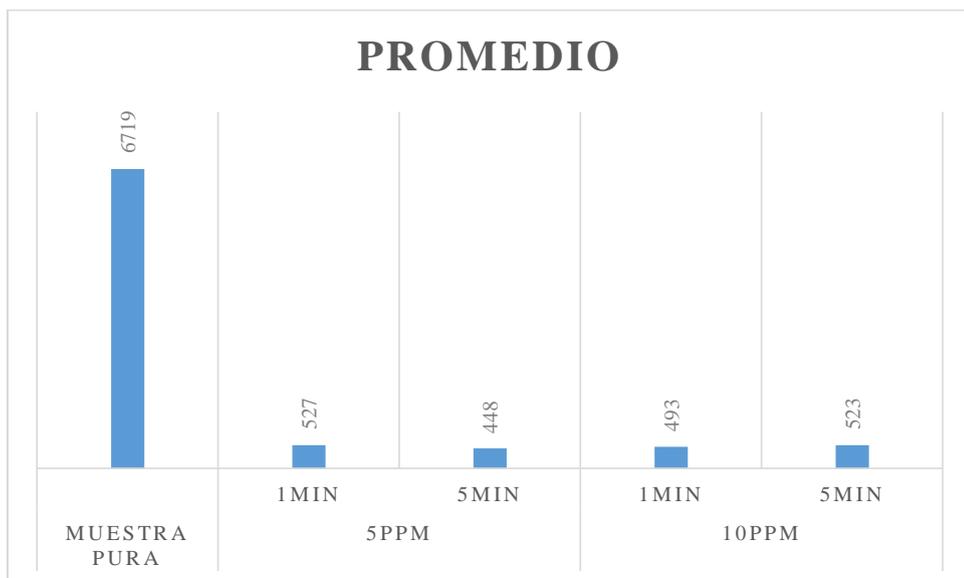
La mejor concentración y tiempo de exposición para reducir la carga microbiana de Mohos se pudo conseguir utilizando una concentración de 10ppm y un tiempo de exposición de 5min. Debido a la diferente estructura que presentan estos microorganismos con respecto a las bacterias, su pared celular es más gruesa, lo cual dificulta la entrada de los iones de plata a la célula. Sin embargo, se logró reducir la carga microbiana inicial tras la exposición al agua de plata, comprobándose que posee un amplio espectro de acción antimicrobiano.

#### 4.4.1.5 Levaduras

**Tabla 17: Promedio del crecimiento microbiano para L**

Concentración del agua de plata	Muestra pura	5ppm		10ppm	
		1min	5min	1min	5min
Promedio	6719	527	448	493	523

**Gráfico 9: Promedio del crecimiento microbiano para L**



En el grafico N°9 se puede observar la interacción de los factores y el efecto que presento cada concentración según el tiempo de exposición a la carga microbiana de Levaduras.

La mejor concentración y tiempo de exposición para reducir la carga microbiana de Levaduras se pudo conseguir utilizando una concentración de 5ppm y un tiempo de exposición de 5min. A pesar de que la carga de levaduras se redujo considerablemente, estas no pudieron ser reducidas al mínimo debido a que su carga microbiana inicial fue muy elevada, además, se observó que a medida que pasa el tiempo dicha carga incrementa dificultando la efectividad del agua de plata sobre este tipo de microorganismos. La pared celular posee glicoproteínas y polisacáridos muy parecidos a los de las bacterias Gram positivas los cuales actúan impidiendo la entrada de moléculas del entorno a la célula, estudios han demostrado que según el tipo y la edad de las levaduras, la pared celular suele ser más gruesa, razón por la cual este tipo de microorganismos presentan mayor resistencia a la acción microbicida del agua de plata que las bacterias Gram negativas las cuales después de realizar el estudio se demostró que son más propensas a las nanopartículas de plata.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Al terminar el estudio se concluye que el agua de plata presenta un amplio espectro de acción microbicida, ya que éste ha logrado reducir en más del 50% la carga microbiana inicial de varios tipos de microorganismos indicadores de contaminación presentes en las ensaladas, tales como bacterias, mohos y levaduras ya que la carga microbiana inicial se disminuye a valores por debajo de “m”(valor inferior a medianamente aceptables) establecidos para cada tipo de indicador de contaminación, siendo aceptable para el consumo humano según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” para alientos que contengan verduras y hortalizas.

Se confirmó la presencia de microorganismos pertenecientes a grupos de Mesófilos aerobios, Coliformes Totales, *Escherichia coli*, Mohos y Levaduras en el total de las ensaladas objeto de estudio. Pese a que en este estudio para la estadística se trabajó de manera global con la media de los datos obtenidos en la matriz de estudio, cabe recalcar que varias muestras presentaron cargas microbianas superiores a “M”(valor superior a medianamente aceptable) establecidos para cada tipo de indicador de contaminación, siendo rechazables para el consumo humano según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” para este tipo de alimento

Siendo *E. coli* un indicador específico de contaminación la carga microbiana aceptable es relativamente baja con respecto a indicadores como Mesófilos aerobios, coliformes totales, Mohos y Levaduras los cuales al estudio sin tratamiento con agua de plata presentaron cargas microbianas con valores inferiores a m siendo aceptables y superiores a “M” siendo rechazables, mientras

que *E. coli* únicamente presento valores inferiores a “m” siendo aceptable para el consumo humano según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria”

Debido a que mohos y levaduras presentan una composición estructural diferente al de las bacterias, se dificulta el ingreso de los iones de plata a la célula y por ende se inhibe su efecto antimicrobiano. Sin embargo, pese a poseer una estructura más dura, la carga microbiana logro ser reducida a valores entre m y M siendo moderadamente aceptables para el consumo humano según Rosario Pascual “Microbiología Alimentaria” con lo cual se comprueba un amplio espectro bactericida del agua de plata.

## **5.2. Recomendaciones**

Es de gran importancia que los propietarios de los distintos puestos de comida brinden una mayor importancia en lo referente al proceso de limpieza y desinfección de verduras y hortalizas que no son sometidos a tratamientos térmicos y forman parte de ensaladas listas para el consumo humano.

Los utensilios destinados para la preparación y manipulación de ensaladas deben ser previamente sometidos a un proceso de limpieza y desinfección, para de esta manera evitar una posible contaminación cruzada.

Las ensaladas listas para el consumo humano deben ser conservadas en un recipiente estéril y cubierto hasta su comercialización, de manera que se eviten posibles contaminaciones ambientales y se pueda garantizar un producto seguro y de calidad.

Además de la limpieza y desinfección de verduras y hortalizas, es importante brindar atención a la higiene del personal encargado de la elaboración de las ensaladas

Se debería realizar un estudio microbiológico para evaluar la eficiencia y eficacia de los desinfectantes de verduras, hortalizas y superficies utilizados en el área de cocina frente a microorganismos indicadores de contaminación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### Bibliografía

1. Bonifáz D. Evaluación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo en cafeterías de una institución de educación superior. Tesis. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Bioanálisis; 2015. 60
2. Bravo F. El manejo higienico de los alimentos / Hygiene Handling of Food: Editorial Limusa; 2004. 47
3. Domínguez A, Oliver R. Manipulador de alimentos: la importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comidas: IdeasPropias Editorial; 2007. 42
4. Fontecha F. Estudio de la eficacia bactericida y bacteriostatica de productos químicos embebidos en materiales. Tesis. Bellaterra: Universidad Autónoma de Barcelona, Ciencia Animal y de los Alimentos; 2014 12
5. Gámez A, Lagos E, Munguía V. Enfermedades digestivas, respiratorias y circulatorias producidas por los alimentos, en los restaurantes de la Universidad Pedagógica Nacional Francisco Mozarán. Investigación. Tegucigalpa: UNIVERSIDAD NACIONAL PEDAGÓGICA FRANCISCO MORAZÁN, Facultad de Humanidades; 2015. 2
6. Gerhard W, Escobar E. Limpieza y desinfeccion en la industria alimentaria Zaragoza, España: Acribia; 2006. 24
7. Gutiérrez J. Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos: Ediciones Díaz de Santos; 2000. 46
8. Hernández F. Epidemiológica, Fundamentos de Epidemiología: El arte detectivesco de la investigación. 1st ed. Zamora C, editor. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia; 2002. 25
9. Jara V. Efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación superior. Tesis. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Bioanálisis; 2016. 17
10. Magdaleno E. 3(aril)-2-Sulfanilpropenoatos de plata y oro con potencial actividad farmacológica. Compostela USd, editor.; 2007. 13

11. Padlewska K. Argiria. Medscape. 2015 Oct. 26
12. Quispe J, Sanchez V. Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima - Perú. Scielo. 2001; 18(1-2): p. 27-32. 19
13. Ramírez R. EL USO DE LA PLATA EN LOS ANTIBIOTICOS DEL FUTURO. Revista Digital Universitaria. 2009 Oct 10; 10(10). 8
14. Rossi L. Brotes de infección por histeria monocytogenes: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. Scielo. 2008; 25(5): p. 328-335. 18
15. Sánchez L, Sáenz E. Antisépticos y Desinfectantes. Dermatología Peruana. 2005 Jun; 15(2): p. 82-103. 20
16. Sanz A. Seguridad e higiene en la manipulación de alimentos: Hostelería y turismo Madrid: Paraninfo; 2012. 45
17. Warren J. El poder curativo de la plata coloidal Barcelona: Ediciones Obelisco; 2005. 9

## Linkografía

1. Borbolla M, Vidal R. Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. [Online].; 2004 [cited 2017 2 25]. Available from: <http://148.215.2.10/articulo.oa?id=48710206>. 51
2. BullionVault. Usos Industriales de la Plata. [Online].; 2017 [cited 2017 1 30]. Available from: <https://oro.bullionvault.es/guia-plata/demanda-industrial-plata>. 27
3. C P. Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de salud. [Online].; 2016 [cited 2017 1 25]. Available from: <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/04/260-Nanoparti%CC%81culas-de-plata.pdf>. 14
4. Camean M, Repetto M. Toxicología alimentaria. [Online].; 2012 [cited 2017 2 15]. Available from: <https://books.google.es/books?id=SbUticcNWoMC>. 36
5. Coutiño R, Pérez A. Los compuestos de plata y la salud. [Online].; 2007 [cited 2017 1 30]. Available from: <http://132.248.9.34/hevila/Altepepaktli/2007/vol3/no5/5.pdf>. 35
6. Department of Medicine BHU. NANOTECHNOLOGY IN MEDICINE AND ANTIBACTERIAL EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES. [Online].; 2008 [cited 2017 1 30]. Available from: [http://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1266358681491\\_61904531\\_13251/NANOTECHNOLOGY%20IN%20MEDICINE%20AND%20ANTIBACTERIAL%20EFFECT%20OF.pdf](http://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1266358681491_61904531_13251/NANOTECHNOLOGY%20IN%20MEDICINE%20AND%20ANTIBACTERIAL%20EFFECT%20OF.pdf). 33
7. Díaz M, Rodríguez C. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. [Online].; 2010 [cited 2017 2 26]. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1561-30032010000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1561-30032010000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es). 53
8. Feng Q, Chen G. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. [Online].; 2000 [cited 2017 1 13]. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/247939816\\_A\\_mechanistic\\_study\\_of\\_the\\_antibacterial\\_effect\\_of\\_silver\\_ions\\_onEscherichia\\_coli\\_andStaphylococcus\\_aureus](https://www.researchgate.net/publication/247939816_A_mechanistic_study_of_the_antibacterial_effect_of_silver_ions_onEscherichia_coli_andStaphylococcus_aureus). 16
9. Fernández Á, Torres C, Lengomín E. Causas más frecuentes de problemas sanitarios en alimentos. [Online].; 1998 [cited 2017 1 12]. Available from: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12\\_1\\_98/ali04198.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12_1_98/ali04198.htm). 6

10. FDA. Health Educators - Seguridad alimentaria para futuras mamás: Profesionales de la medicina - Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos. [Online].; 2014 [cited 2017 2 3. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/HealthEducators/ucm091976.htm>. 43
11. FUCADHU F|. Enfermedades transmitidas por alimentos: Intoxicaciones e infecciones. [Online].; 2017 [cited 2017 2 6. Available from: <http://fucadhu.org/noticia/enfermedades-transmitidas-por-alimentos-intoxicaciones-e-infecciones.html>. 40
12. Guerrero J. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. [Online].; 2016 [cited 2017 1 10. Available from: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20opor%20alimentos.pdf>. 3
13. Gómez M. Plata coloidal, el antibiótico natural. [Online].; 2008 [cited 2017 1 13. Available from: <http://www.dietametabolica.es/platacoloidal.htm>. 10
14. González R, Aravena M. Protocolo de uso y manejo de antisépticos y desinfectantes en el Hospital Regional Rancagua. [Online].; 2015 [cited 2016 2 15. Available from: <http://hospitalrancagua.cl/wp-content/uploads/2014/10/GCL-3.3.6-Protocolo-de-uso-y-manejo-de-Antisepticos-y-Desinfectantes-HRR-V2-2015.pdf>. 22
15. Herrera J, Torres G. DETERMINACIÓN DE LA INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA DE DOS MARCAS DE ENSALADAS EMPACADAS LISTAS PARA CONSUMO, COMERCIALIZADAS EN LOS SUPERMERCADOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR. [Online].; 2008 [cited 2017 1 30. Available from: <http://ri.ues.edu.sv/2990/1/16100398.pdf>. 39
16. Larrea A, Rojas M. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura | Revista CENIC Ciencias Biológicas. [Online].; 2013 [cited 2017 2 24. Available from: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/articulos/bacterias-indicadoras-de-contaminaci%C3%B3n-fecal-en-la-evaluaci%C3%B3n-de-la-calidad-de-las-aguas>. 50
17. Los variados usos de la plata a través de la historia. [Online].; 2013 [cited 2017 1 29. Available from: [http://www.bibliotecapleyades.net/ciencia/ciencia\\_industryhealthiermedica204.htm](http://www.bibliotecapleyades.net/ciencia/ciencia_industryhealthiermedica204.htm). 29
- 18.- Marchand O. Microorganismos indicadores de la calidad de agua de consumo humano en Lima Metropolitana\_ante. [Online].; 2015 [cited 2017 2 25. Available from: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/Tesis/Basic/Marchand\\_P\\_E/anteced.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/Tesis/Basic/Marchand_P_E/anteced.htm). 52
19. Martínez L. Guía de antisépticos y desinfectantes. [Online].; 2013 [cited 2017 2 16. Available from: 23

[http://www.ingesa.msssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Guia\\_Anti\\_septicos\\_desinfectantes.pdf](http://www.ingesa.msssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Guia_Anti_septicos_desinfectantes.pdf).

20. MedlinePlus. Infecciones por Norovirus. [Online].; 2017 [cited 2017 1 20. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/norovirusinfections.html>. 4
21. MERITXELL. LA PLATA, TAMBIÉN ES ÚTIL EN MEDICINA y EN COSMÉTICA. [Online].; 2012 [cited 2017 1 30. Available from: <http://blog.hola.com/farmaciameritxell/2012/11/la-plata-tambien-es-util-en-medicina-y-en-cosmetica.html>. 28
22. METALOR. Aleaciones de plata y pseudo aleaciones. [Online].; 2015 [cited 2017 1 30. Available from: <http://www.metalor.com/es/electrotechnics/Productos/Aleaciones-de-plata>. 30
23. Microorganismos Indicadores. [Online].; 2015 [cited 2017 2 15. Available from: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores\\_6422.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf). 48
24. Monge M. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. [Online].; 2009 [cited 2017 1 30. Available from: <http://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/632>. 31
25. Moragas. NORMAS MICROBIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS Y ASIMILADOS. [Online].; 2017 [cited 2017 6 3. Available from: [https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/sanidad\\_alimentaria/es\\_1247/adjuntos/NORMAS%20MICROBIOLOGICAS%20DE%20ALIMENTOS%20Y%20ASIMILADOS%202017.pdf](https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/sanidad_alimentaria/es_1247/adjuntos/NORMAS%20MICROBIOLOGICAS%20DE%20ALIMENTOS%20Y%20ASIMILADOS%202017.pdf). 61
26. News F. ¿Qué son los AEROBIOS MESOFILOS? [Online].; 2015 [cited 2017 2 20. Available from: <http://www.foodnewlatam.com/inocuidad/53-control-calidad/2499-¿que-son-los-aerobios-mesofilos.html>. 49
27. Noboa G. Reglamento de buenas prácticas para alimentos procesados. [Online].; 2002 [cited 2017 6 29. Available from: <http://www.epmrq.gob.ec/images/lotaip/leyes/rbpm.pdf>. 55
28. Nutrition C. Bad Bug Book - BBB - Clostridium perfringens. [Online].; 2014 [cited 2017 2 13. Available from: <http://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/causesofillnessbadbugbook/ucm070483.htm>. 53
29. OMS. Desinfectantes y Antisépticos. [Online].; 2004 [cited 2017 2 15. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/19.html>. 21
30. OMS. E. coli. [Online].; 2016 [cited 2017 2 13. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>. 44

31. OMS. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. [Online].; 2017 [cited 2017 1 10. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>. 7
32. OMS. Inocuidad de los alimentos. [Online].; 2015 [cited 2017 01 10. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>. 1
33. Pancorbo F. DESINFECCIÓN DEL AGUA MEDIANTE PROCEDIMIENTOS ELECTROFÍSICOS COBRE / PLATA. [Online].; 2016 [cited 2017 1 30. Available from: <http://docplayer.es/9610468-Desinfeccion-del-agua-mediante-procedimientos-electrofisicos-cobre-plata.html>. 5
34. Peñate B, Castellano J. La Nanotecnología para el Tratamiento de las Aguas. [Online].; 2012 [cited 2017 7 1. Available from: <https://www.iagua.es/blogs/baltasar-penate/nanotecnologia-tratamiento-aguas> 34
35. Petrifilm Levaduras y Mohos. [Online].; 2004 [cited 2017 5 22. Available from: [https://system.netsuite.com/core/media/media.nl?id=4025&c=3339985&h=a14ff49b1e011d9b4721&\\_xt=.pdf](https://system.netsuite.com/core/media/media.nl?id=4025&c=3339985&h=a14ff49b1e011d9b4721&_xt=.pdf). 58
36. Placas Petrifilm para el Recuento de E.coli/Coliformes. [Online].; 2006 [cited 2017 5 22. Available from: <http://multimedia.3m.com/mws/media/4449500/3m-petriefilm-e-coli-coliform-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>. 57
37. Medline plus. Gastroenteritis bacteriana. [Online].; 2017 [cited 2017 1 20. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000254.htm>. 12
38. Salud Ecdl. Contaminación de los alimentos. [Online].; 2011 [cited 2017 2 15. Available from: <https://elclubdelasalud.wordpress.com/2011/08/07/contaminacion-de-los-alimentos/>. 38
39. Sanchez J. OPS OMS | Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). [Online].; 2015 [cited 2017 2 6. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10836%3A2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836%3A2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es). 41
40. Scfarmclin. Compuestos de Plata. [Online].; 2015 [cited 2017 1 30. Available from: <http://www.scfarmclin.org/docs/higiene/part2/2382.pdf>. 32
41. Soledad G, Bosmediano V. PROPUESTA DE MEJORAMIENTO PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA EN LOS RESTAURANTES DE LA CIUDAD DE OTAVALO. [Online].; 2011 [cited 2017 2 15. Available from: <http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/101/1/T72555.pdf>. 37

42. Tixilema S. “DESARROLLO DE UNA TECNOLOGÍA INNOVADORA DE PROCESAMIENTO MÍNIMO PARA LA CONSERVACIÓN DE HORTALIZAS FRESCAS LECHUGA, COL DE REPOLLO, COL MORADA, ESPINACA PICADAS, PREVIAMENTE TRATADAS CON ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO. [Online].; 2015 [cited 2017 1 13. Available from: <http://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9370/1/AL%20563.pdf>. 11
43. 3M Placas Petrifilm para el Recuento de Aerobios. [Online].; 2004 [cited 2017 5 22. Available from: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount\\_19100.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount_19100.pdf). 56
44. 3M Petrifilm Plate Certificates, Recognitions and Validations. [Online].; 2004 [cited 2017 5 22. Available from: <http://multimedia.3m.com/mws/media/241188O/3m-petrifilm-plate-certificates-recognitions-validations.pdf>. 59

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS – BASES DE DATOS UTA**

**EBRARY:** Cordero, D. C. M., & Rojo, V. F. A. (2007). Parasitología general. España: McGraw-Hill España recuperado el 11/02/2017

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10505109&p00=parasitologia>

**EBRARY:** López, P. M. C., Corredor, A. A., & Nicholls, O. R. S. (2012). Atlas de parasitología (2a. ed.). Colombia: Editorial El Manual Moderno Colombia. Recuperado el 11/02/2017

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10995520&p00=parasitologia>

**EBRARY:** Rodríguez, P. E. G. (2013). Parasitología médica. México: Editorial El Manual Moderno. Recuperado el 11/02/2017

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10853474&p00=parasitologia>

**EBRARY:** Rodríguez, B. E. (2009). Manual de prácticas de parasitología I y II. México: Universidad Autónoma de Guerrero. Recuperado el 11/02/2017

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10287194&p00=parasitologia>

**EBRARY:** Vidal, M. V. M., Aguirre, M. M. L., & González, S. D. (2010). Atlas de los helmintos parásitos de cíclidos de México. México: Instituto Politécnico Nacional. Recuperado el 11/02/2017

<http://site.ebrary.com/lib/utasp/detail.action?docID=10365908&p00=parasitologia>

# ANEXOS

## Anexo 1

### Solicitud al decano para la autorización de la encuesta a los estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, 20 de abril de 2017

Doctor. Mg  
Marcelo Ochoa Egas  
**DECANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
Presente.

De mi consideración:

Yo, **SEGUNDO MOISES SAN LUCAS COQUE con C.C. 0503585929**, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, por medio de la presente solicito a usted muy comedidamente se me permita realizar una Encuesta dirigida a los estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud el día viernes 21 de abril del presente año a partir de las 08:00 a 17:00 referente a mi tema de Investigación: **"DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL AGUA DE PLATA SOBRE ENSALADAS LISTAS PARA EL CONSUMO HUMANO EN RESTAURANTES CERCANOS A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR"**.

Por la gentil atención a lo manifestado, agradezco y suscribo.

Atentamente,



**Segundo Moisés San Lucas Coque**  
**C.C. 0503585929**  
Correo: sanlucas.moi22@hotmail.es  
Teléfono: 0983566932



*aceptado  
20 de abril 2017  
[Signature]*

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
Teléfono(s): 032521081

Documento No. : UTA-FCS-2017-0693-E  
Fecha : 2017-04-24 09:42:46 GMT -05  
Recibido por : Lourdes Paola Silva Chávez  
Para verificar el estado de su documento ingrese a  
<https://documentos.uta.edu.ec>

## **Anexo 2**

### **Formato de encuesta dirigida a los estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato**

Marque con una X los incisos que considere propios en su diario vivir.

**1.-** ¿Usted frecuenta los puestos de comida ubicados en las cercanías de la Universidad para su alimentación?

SI ( )

NO ( )

**2.-** ¿Los alimentos que consume en estos puestos de comida, en su mayoría contienen ensaladas?

SI ( )

NO ( )

**3.-** En el transcurso de su vida universitaria, ¿ha padecido enfermedades gastrointestinales?

SI ( )

NO ( )

**4.-** ¿Usted considera que los alimentos ofertados en las cercanías de la Universidad, en su mayoría, son responsables de un gran número de enfermedades gastrointestinales?

SI ( )

NO ( )

**5.-** ¿Considera usted que se debería realizar un estudio microbiológico sobre estos alimentos con el fin de prevenir daños en la salud de los estudiantes?

SI ( )

NO ( )

### Anexo 3

#### Control de temperaturas (incubadoras)

##### Control de temperaturas (incubadoras)

FECHA	T° C INCUBADORA 1	T° C INCUBADORA 2	NOMBRE DEL RESPONSABLE
02/05/2017	26° C	35° C	Moisés San Lucas
03/05/2017	25° C	34° C	Moisés San Lucas
04/05/2017	25° C	35° C	Moisés San Lucas
05/05/2017	24° C		Moisés San Lucas

Elaborado por: Moisés San Lucas

## Anexo 4

### CERTIFICADO DE CALIDAD DEL AGUA DE PLATA

 **Reinheitszertifikat Silberstäbe 8cm**

<http://pulsar.li> garantiert die 99,99% Reinheit dieser Silberstäbe.  
[Http://pulsar.li](http://pulsar.li) bezieht Feinsilber- und Feingolddraht nur von renommierten Edelmetall Scheideanstalten.  
[Http://pulsar.li](http://pulsar.li) verkauft seit 2001 Feinsilberstäbe 99,99%, geeignet zur Herstellung von kolloidalem Silberwasser, wo die Reinheit des Metalls besonders wichtig ist.

Mit dieser Berechnung können Sie jederzeit selber überprüfen, ob die vorliegenden Silberstäbe rein sind:  
Silber hat ein spezifisches Gewicht von 10,5. Das bedeutet:  
1 dm<sup>3</sup> Silber wiegt 10,5Kg (1 Liter)  
1 dm<sup>3</sup> = 1000cm<sup>3</sup>  
1 cm<sup>3</sup> Silber wiegt 10,5g

.....

Die vorliegenden Silber - Stäbe haben ein Mass von 2,5mm Ø x 80mm Länge.  
Das ergibt ein Volumen von:  
 $r^2 \times \text{Pi} \times 80 = 1,25^2 \times \text{Pi} \times 80 = 392,7 \text{ mm}^3$   
 $392,7\text{mm}^3 = 0,3927 \text{ cm}^3$   
Volumen mal spezifisches Gewicht ergibt das Gewicht:  
 $0,3927 \times 10,5 = 4,12\text{g}$

**Das beweist, dass 8cm lange, 2,5 mm Ø dicke Feinsilberstäbe 4,12 g wiegen müssen. 10 Stäbe wiegen also 41,2 g.**  
**Wenn es weniger sein sollte, dann sind sie entweder nicht neu (durch Elektrolyse abgebaut) der nicht rein.**

Umrechnung auf andere Längen: z.B. 10cm:  $4,12 / 8 \times 10 = 5,15\text{g}$

Sie können also mit einer Feinwaage kontrollieren, ob die vorliegenden Stäbe echt, neu und 99,99% rein sind.

Übrigens wiegt ein 10 Eurocent Stück auch 4,1g, also können sie mit einer einfachen Schalenwaage das Gewicht kontrollieren. Ein 5 Cent Stück wiegt 4g

## Anexo 5

# RECOMENDACIONES DE USO PLACAS PETRIFILM MESÓFILOS AEROBIOS

### 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios

Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

#### Almacenamiento



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46\text{ }^{\circ}\text{F}$ ). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



2 Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y sellelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura  $\leq 25\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77\text{ }^{\circ}\text{F}$ ) y una humedad relativa  $\leq 50\%$ . No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo 1 mes después de haberlo el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelos en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelos en congelación. Para usar las placas, saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto en las mismas condiciones antes descritas hasta su fecha de caducidad.

#### Preparación de la muestra



4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pase o pipete la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón DF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptonada (método ISO 6887); buffer de agua de peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

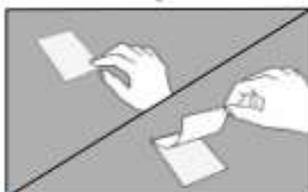


6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

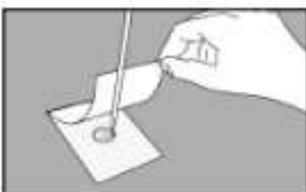
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2. Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH. Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfato o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

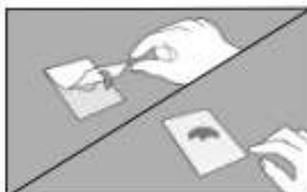
#### Inoculación



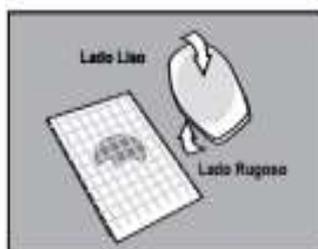
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



8 Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.



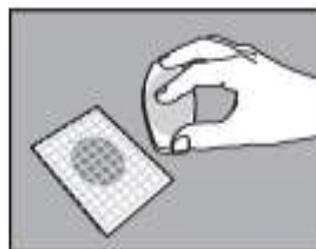
9 Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.



**10** Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.

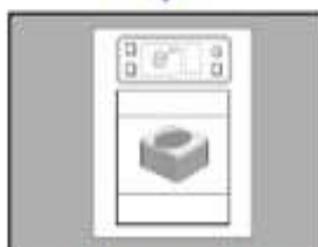


**11** Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.



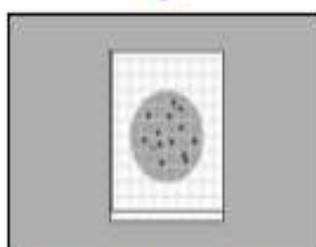
**12** Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

### Incubación



**13** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



**14** Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para su identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos aprobados más conocidos son:

- AOAC método oficial 986.33 (leche y productos lácteos)  
Incubar 48 hrs. (x 3 hrs.) a 32 °C (x 1 °C).
- AOAC método oficial 990.12  
Incubar 48 hrs. (x 3 hrs.) a 35 °C (x 1 °C).
- AFNOR método validado 3M 01/1-09/89  
Incubar 72 hrs. (x 3 hrs.) a 30 °C.
- Método MNKL 148.1993  
Incubar 72 hrs. (x 3 hrs.) a 30 °C.

### Comentarios adicionales

\* Si tiene dudas o preguntas, llame al 1-851-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

**3M**

Microbiology Products  
3M Center Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
microbiology@mmm.com  
www.3M.com/microbiology

3M México  
Av. Santa Fe 55  
Col. Santa Fe, CP 01210  
México, D.F.  
Tel. (55) 5270-0454  
microbiologiamx@mmm.com  
www.3M.com/microbiologia

3M Argentina  
Los Árboles 842  
Hurlingham  
Buenos Aires, Argentina  
Tel. (11) 4469-8200  
microbiologia-ar@mmm.com

Petrifilm es una marca registrada de 3M.  
Impreso en México.  
Revisión: 2004.  
Referencia 70-2009-81024.

## Anexo 6

### RECOMENDACIONES DE USO PLACAS PETRIFILM *E. coli*/Coliformes

#### 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli* / Coliformes Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

#### Almacenamiento



- 1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura 18 °C (64.6 °F). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



- 2** Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y sellelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



- 3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura a25 °C (77 °F) y una humedad relativa 450%. No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

#### Preparación de la muestra



- 4** Prepare una dilución de una muestra de alimento.\* Pase o pipete la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado. \*Vea las indicaciones para Productos Lácteos y Jugos.



- 5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Buterfield (tampón DF fosfato, 0.0425 g/L de  $KH_2PO_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de sulfato o agua destilada.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o fosfito de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

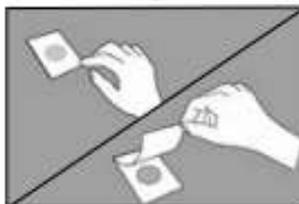


- 6** Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.8 y 7.2:

- Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
- Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

#### Inoculación



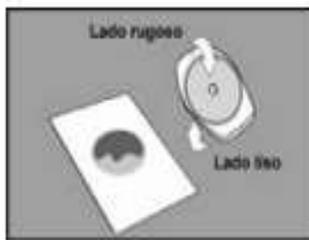
- 7** Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



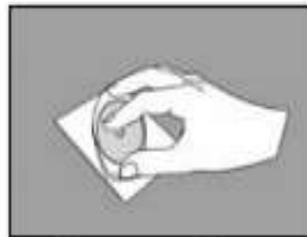
- 8** Con la Pipeta Electrónica 3M™, o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior.



- 9** Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.



**10** Con el lado liso hacia abajo, coloque el dispensador en la película superior sobre el inóculo.

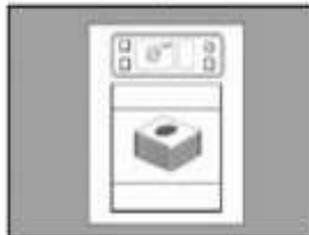


**11** Presione suavemente el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador.



**12** Levante el dispensador. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

### Incubación



**13** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humedecer el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



**14** Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método.  
Los métodos aprobados más conocidos son:

- **ADAC método oficial 991.14**  
Para coliformes:  
Incubar 24 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C.  
Para E. coli:  
Incubar 48 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C.
- **ADAC método oficial 998.08**  
Para E. coli (carnes, aves, marinos):  
Incubar 24 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C.
- **Método NMKL (147.1993)**  
Para coliformes:  
Incubar 24 h ± 2 h a 37 °C ± 1 °C.  
Para E. coli:  
Incubar 48 h ± 2 h a 37 °C ± 1 °C.

### Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Microbiología en Latinoamérica, visitenos en nuestra página de internet: [www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección [serviciotecnico@mmm.com](mailto:serviciotecnico@mmm.com) o llame al 5255-5270-2223.

**3M**

3M Microbiology  
3M Center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
[microbiology@mmm.com](mailto:microbiology@mmm.com)  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

3M México  
Av. Santa Fe 190  
Col. Santa Fe, C.P. 01210  
México, D.F.  
Tel. (55-52) 5270-0454  
01 800-712-2527  
[microbiologiamx@mmm.com](mailto:microbiologiamx@mmm.com)

3M Argentina  
Olga Cossetini 1031  
Buenos Aires,  
CP C1107CEA  
Argentina  
Tel. (54-11) 4339-2400  
[microbiologia-ar@mmm.com](mailto:microbiologia-ar@mmm.com)

Petrifilm es una marca  
registrada de 3M.  
Impreso en México.  
Revisión: 2006-01  
Referencia 70-3008-8 105-3.

## Anexo 7

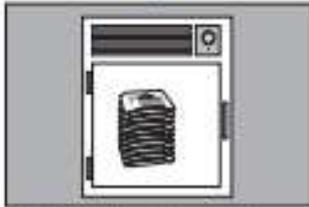
### RECOMENDACIONES DE USO PLACAS PETRIFILM MOHOS Y LEVADURAS

3M™ Petrifilm™  
Levaduras y Mohos

Instrucciones  
de uso



#### Almacenamiento



1 Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.



2 Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.



3 Mantener las bolsas cerradas de nuevo a -21 °C, a <50% HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en 1 mes desde su apertura.

#### Preparación



4 Preparar una dilución del producto alimenticio a 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución, o cualquier otro contenedor estéril apropiado.

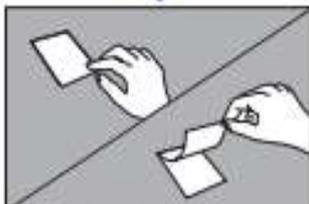


5 Añadir una cantidad adecuada de diluyente. Pueden ser los métodos standard de tampón fosfato, agua peptonada al 0,1 %, triptona sal, agua destilada, solución salina fosfato tamponada o tampón de Butterfield. No utilizar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

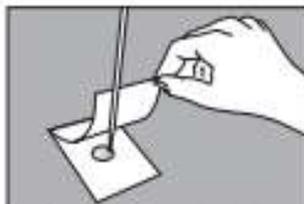


6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales. Si se requiere una sensibilidad mayor con productos lácteos o zumos consultar el folleto para Petrifilm en productos lácteos y zumos.

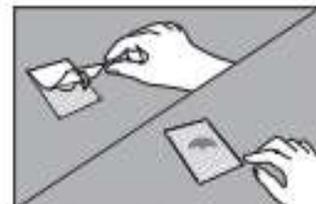
#### Inoculación



7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.



8 Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1 mL de muestra en el centro del film inferior.



9 Dejar caer el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire.



**10** Sujetando el aplicador por la barra superior, colocar el aplicador para Petrifilm levaduras y mohos sobre la placa Petrifilm.

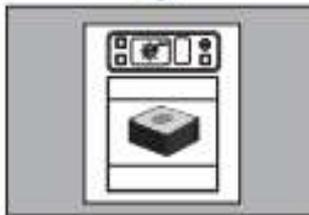


**11** Ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



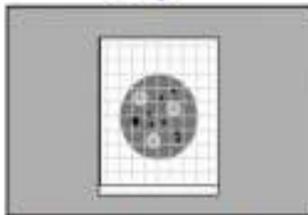
**12** Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

### Incubación



**13** Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas a temperatura de 25°C ± 1°C durante 3-5 días.

### Interpretación



**14** Leer las placas Petrifilm en un contador de colonias standard tipo Quebec o una fuente de luz con aumento. Para leer los resultados consultar la Guía de Interpretación.

### Comentarios adicionales

- los pasos 9 y 10 son únicos para las placas Petrifilm levaduras y Mohos.
- Nota: recordar inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.

Date	Version
Février 2004	1.0

**3M**

**prosac**



Calle San Ignacio de Loyola 711, Miraflores  
Lima - Perú  
Tel: 314 1312 Fax: 846 4119  
E-mail: [prosac@3m.com](mailto:prosac@3m.com)  
Web: [www.3m.com/prosac](http://www.3m.com/prosac)

For Europe, please contact:  
Laboratoire 3M Santé  
Tel.: (33) 1 30 21 45 71  
Fax: (33) 1 30 21 45 76



## Anexo 8

### MÉTODOS VALIDADOS POR LA AOAC INTERNACIONAL (*Association of Analytical Communities*)

#### 3M™ Petrifilm™ Plate Certificates, Recognitions and Validations

3M Food Safety is certified to ISO-9001 for design and manufacturing

#### International Recognition

##### ◆ AFNOR

All foods	Aerobic Count Plates	NF Validation Certificate Number 3M D1/1-09/89 (as compared to ISO 4833 method)
All foods (except raw shellfish)	Coliform Count Plates 24 hour total coliform result	NF Validation Certificate Number 3M D1/3-09/89A (as compared to ISO 4832 VRBL method)
		NF Validation Certificate Number 3M D1/3-09/89B (as compared to ISO 4831 MPN method)
All foods	Coliform Count Plates 24 hour thermotolerant coliform result	NF Validation Certificate Number 3M D1/3-09/89C (as compared to V08-069 VRBL at 44°C method)
	Select E. coli Count Plates	NF Validation Certificate Number 3M D1/8-06/01 (as compared to ISO 16649-2 E. coli method)
	Rapid Coliform Count Plates 14 hour result (incubate at 30°C for processed pork products)	NF Validation Certificate Number 3M D1/5-03/07A (as compared to ISO 4832 VRBL 30°C method)
	Rapid Coliform Count Plates 24 hour result (incubate at 30°C for processed pork products)	NF Validation Certificate Number 3M D1/5-03/07B (as compared to ISO 4832 VRBL 30°C method)
All foods (except processed pork products)	Rapid Coliform Count Plates 24 hour result (incubate at 30°C for seafood products)	NF Validation Certificate Number 3M D1/5-03/07C (as compared to ISO 4831 MPN method)
All foods	Enterobacteriaceae Count Plates	NF Validation Certificate Number 3M D1/5-09/97 (as compared to ISO 21528 part 2 VR66 method)
	High-Sensitivity Coliform Count Plates	NF Validation Certificate Number 3M D1/7-03/99 (as compared to ISO 4831 MPN method)
	Staph Express Count System	NF Validation Certificate Number 3M D1/9-04/03 (as compared to EN ISO 6888-1 method)

##### ◆ AOAC® INTERNATIONAL Official Method of Analysis<sup>SM</sup>

Raw and pasteurized milk	Aerobic Count, Coliform Count Plates	Method 986.33
Dairy products	Aerobic Count, Coliform Count Plates	Method 982.10
	High-Sensitivity Coliform Count Plates	Method 996.02
Foods	Aerobic Count Plates	Method 990.12
	Coliform Count, E. coli/Coliform Count Plates	Method 991.14
	Yeast and Mold Count Plates	Method 997.02
	Rapid Coliform Count Plates	Method 2009.15
Poultry, meats and seafood	E. coli/Coliform Count Plates	Method 998.08
Selected foods	Rapid S. aureus Count System	Method 2001.05
	Enterobacteriaceae Count Plates	Method 2003.01
Selected processed and prepared foods	Staph Express Count System	Method 2003.07
Selected dairy foods	Staph Express Count System	Method 2003.08
Selected poultry, meats and seafood	Staph Express Count System	Method 2003.11

## Anexo 9

### GUÍA DE INTERPRETACIÓN MESÓFILOS AEROBIOS

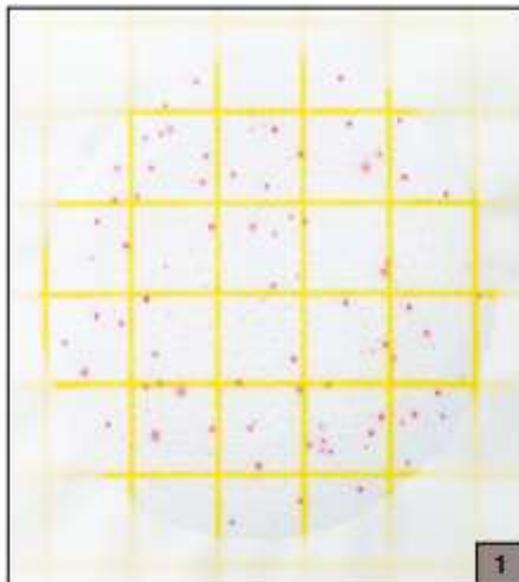
**3M** Guía de interpretación

# Petrifilm™

## Placas para el Recuento de Aerobios AC

Esta guía lo familiarizará con las Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios (cuenta total en placa o aerobios mesófilos). Para mayor información, contacte al Representante Autorizado de Productos Microbiológicos de 3M más cercano.

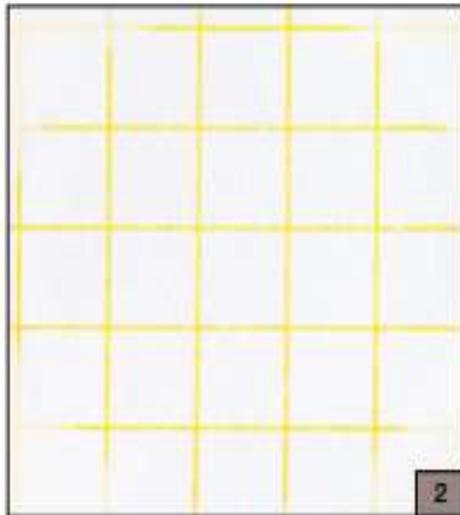
Las Placas Petrifilm™ para Recuento de Aerobios Totales (Aerobic Count AC) son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del *Agar Standard Methods*, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias. Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc.



#### Conteo de Bacterias Aerobias #152

El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.

## 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC



**Conteo de Bacterias Aerobias = 0**

La Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios Totales es de fácil interpretación. La figura 2 muestra una placa sin crecimiento de colonias.



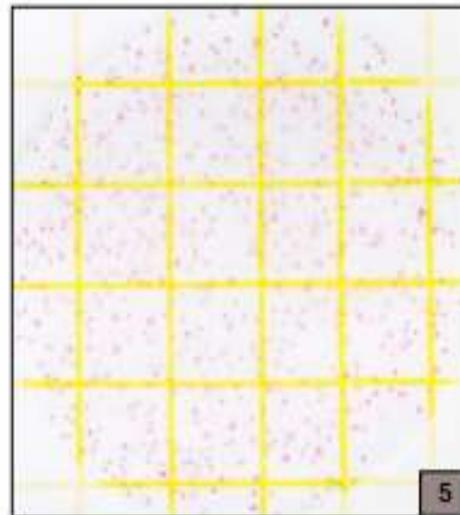
**Conteo de Bacterias Aerobias = 16**

La figura 3 muestra una Placa Petrifilm AC con crecimiento bajo de colonias.



**Conteo de Bacterias Aerobias = 143**

El rango recomendado de conteo en la Placa Petrifilm AC está entre 25-250 colonias. Obsérvese la figura 4.



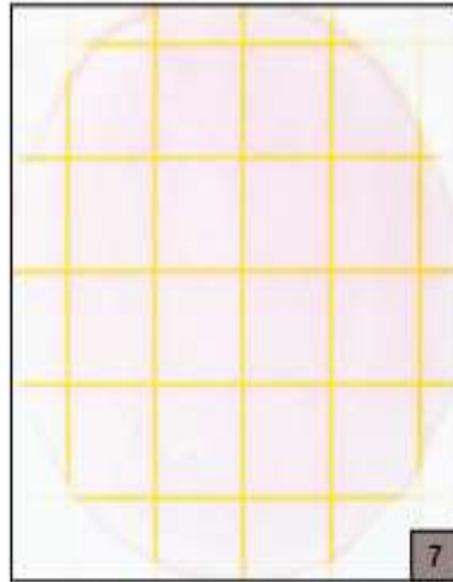
**Conteo de Bacterias Aerobias = 560 "estimado"**

Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se puede observar en la figura 5), por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplíquelo por 20 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm AC es de 20 cm<sup>2</sup>.



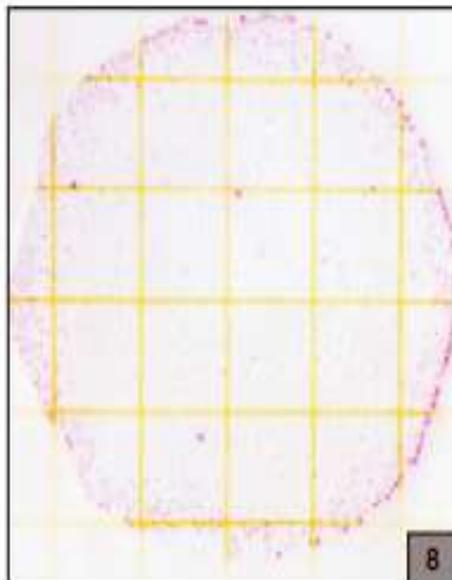
**Conteo de Bacterias Aerobias • MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^2$**

La figura 6 muestra una Placa Petrifilm AC con colonias muy numerosas para contar.



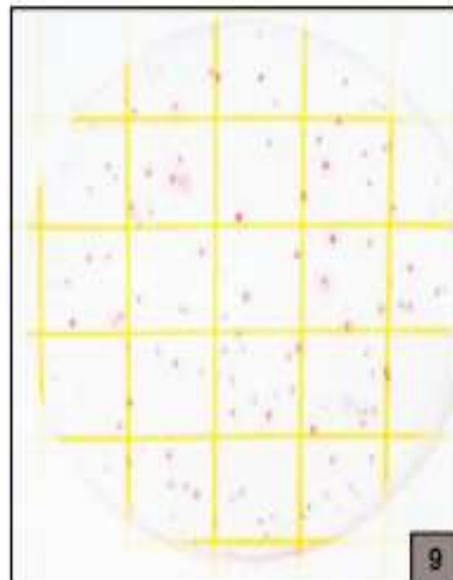
**Conteo de Bacterias Aerobias • MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^6$**

Con conteos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse rosa, como se muestra en la figura 7. Usted podría observar colonias individuales sólo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre este conteo como muy numeroso para contar (MNPC).



**Conteo de Bacterias Aerobias • MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^6$**

Ocasionalmente, la distribución de las colonias puede aparecer de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8. Esto también es una indicación de un resultado MNPC.



**Conteo de Bacterias Aerobias • MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^6$**

Las colonias de la figura 9 podrían confundirse como contables a primera vista. Sin embargo, si usted observa detalladamente el borde o filo del área de crecimiento, podrá visualizar una alta concentración de colonias. Registre este resultado como MNPC.

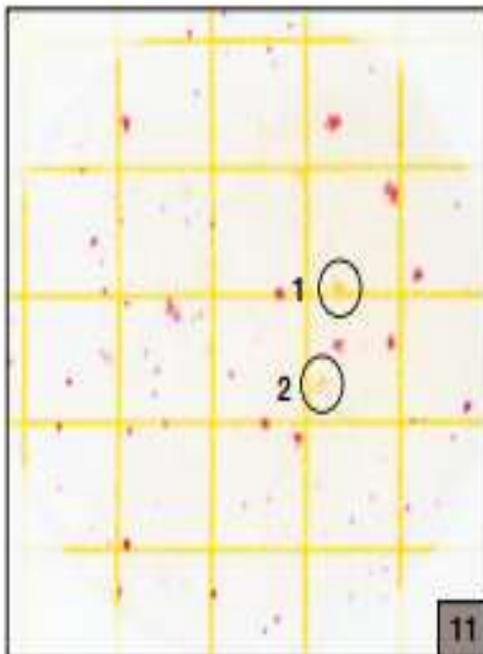


**Conteo de Bacterias Aerobias = 160**

Como se aprecia en la figura 10, algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las Placas Petrifilm AC.

Quando esto ocurra:

1. Determine el promedio en los cuadros no afectados y estime los resultados.
2. Realice conteos preliminares para verificar el crecimiento; la licuefacción generalmente se presenta de manera tardía.



**Conteo de Bacterias Aerobias = 83**

Debido a que en las Placas Petrifilm AC las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se las puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).

## Anexo 10

### GUÍA DE INTERPRETACIÓN *E. coli*/Coliformes

**3M**

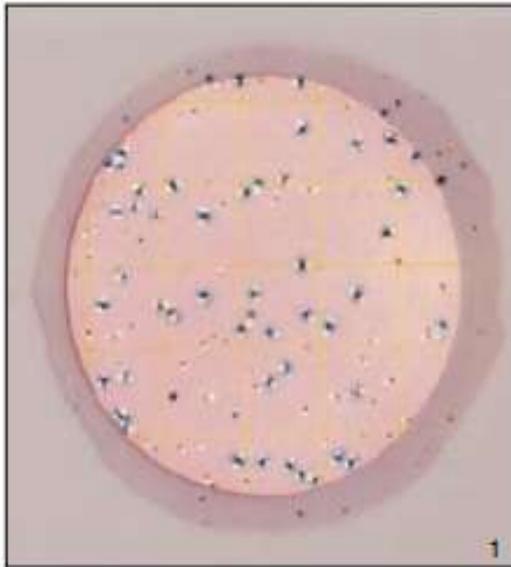
Guía de interpretación

## Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes. Para mayor información, contacte al representante autorizado de productos de 3M Microbiología más cercano.

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.



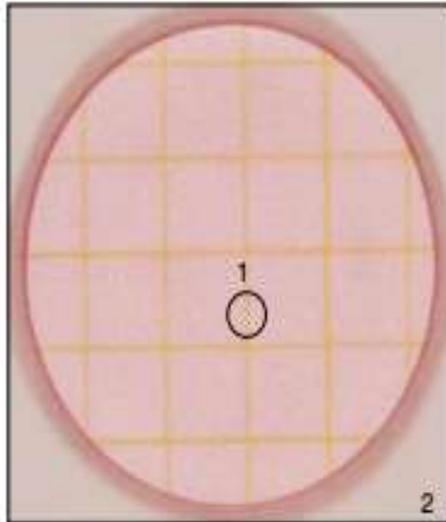
La identificación de la *E. coli* puede variar de país a país (ver en "Recomendaciones de uso" tiempos de incubación y temperaturas).

Método validado por la AOAC Internacional

*E. coli* = 49 (colonias azules con gas)

Total coliformes = 87 (colonias rojas y azules con gas)

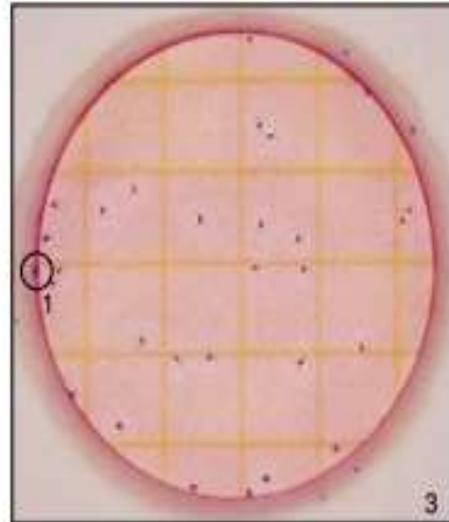
(NO use esta placa sola para la detección de *E. coli* O157. Como la mayoría de otros medios para enumeración de *E. coli* coliformes, esta placa no señalará específicamente si está presente algún O157).



**No crecimiento = 0**

Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el círculo 1.



**Recuento de *E. coli* = 13**

**Total de recuento de coliformes = 28**

El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150.

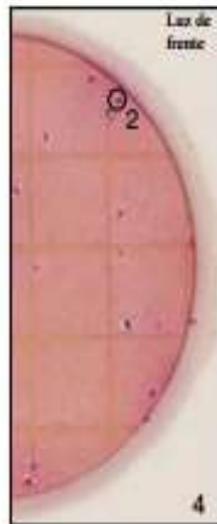
No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.



**Recuento de *E. coli* = 3**

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia.

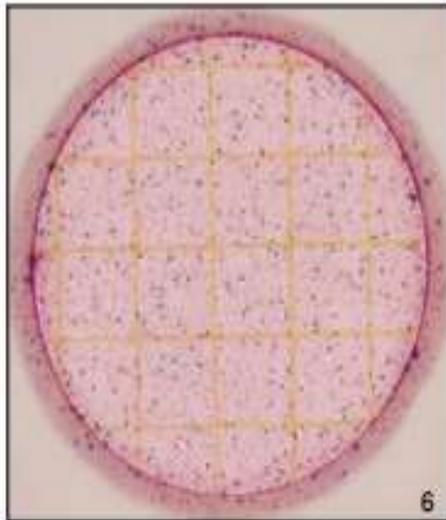
El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.



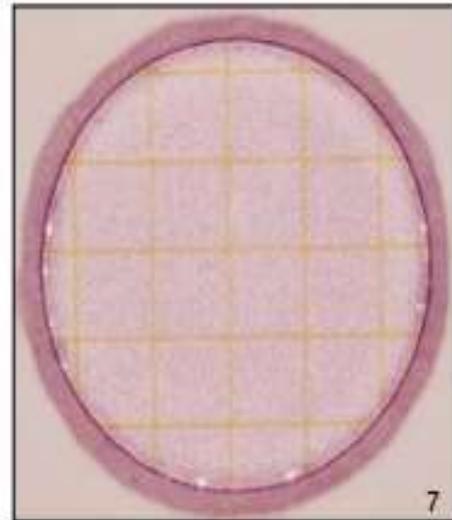
**Recuento de *E. coli* = 17**

**Recuento total estimado de coliformes = 150**

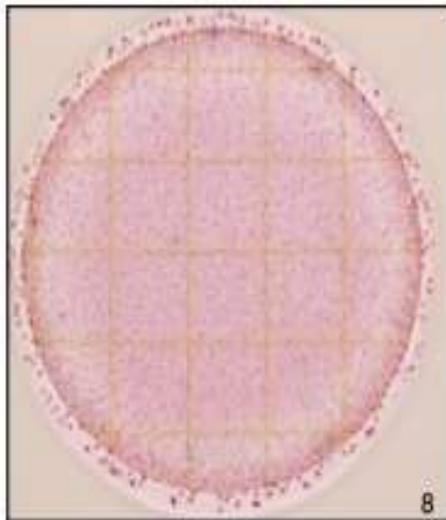
El área circular de crecimiento es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el conteo estimado por placa.



**Recuento actual aprox.  $\sim 10^8$**   
 Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características:  
 Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.



**Recuento actual aprox.  $\sim 10^8$**   
 Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.

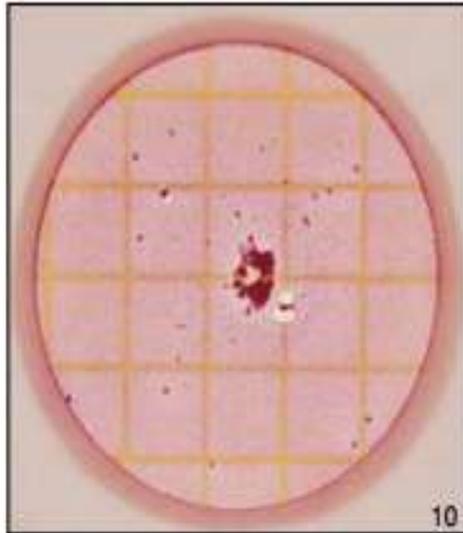


**Recuento presuntivo de *E. coli*  $\sim 8$**   
**Recuento total estimado de coliformes aprox.  $\sim 10^8$**   
 Cuando existen cifras altas de coliformes ( $10^8$ ), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuento todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *E. coli*. Si es necesaria la confirmación, aisle las colonias azules con gas para su posterior identificación.

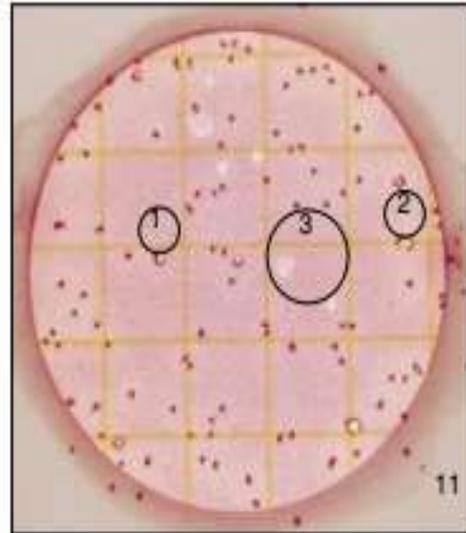


**Recuento actual aprox. de  $\sim 10^8$**   
 Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.

## Burbujas

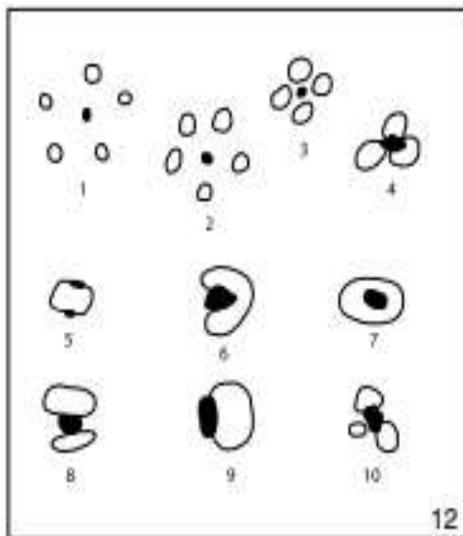


**Recuento total de coliformes = 3**  
 Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



**Recuento total de coliformes = 78**  
 Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2.

Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3.



Los ejemplos 1 a 10 muestran varios patrones de burbujas asociados con colonias que producen gas. Todas deben ser enameradas.

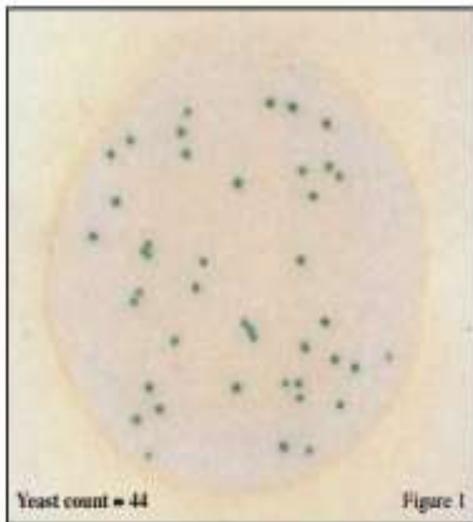
## Anexo 11

### GUÍA DE INTERPRETACIÓN MOHOS Y LEVADURAS

**3M**

**Petrifilm™**  
Levaduras y Mohos

Guía de  
Interpretación



Hacer un recuento con placas Petrifilm Levaduras y Mohos es fácil. Contienen un indicador colorante para levaduras y mohos para proporcionar contraste y facilitar el recuento.

Para diferenciar las colonias de levaduras y mohos en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos, buscar una o más de las siguientes características típicas:

#### LEVADURAS

- Colonias pequeñas
- Las colonias tienen bordes definidos
- De color rosa-tostado a azul-verdoso
- Las colonias pueden aparecer alzadas ("3D")
- Generalmente no tienen un foco (centro negro) en el centro de la colonia

#### MOHOS

- Colonias grandes
- Las colonias tienen bordes difusos
- Color variable (los mohos pueden producir sus propios pigmentos)
- Las colonias son planas
- Generalmente con un foco en el centro de la colonia

Las colonias en la figura 1 son ejemplos de levaduras características: colonias pequeñas, de color azul-verdoso, con bordes definidos y sin foco (Recuento de levaduras = 44).

Las colonias de la figura 2 son ejemplos de mohos característicos: grandes, colonias de color variable, con bordes difusos y un foco en el centro (Recuento de mohos = 27).



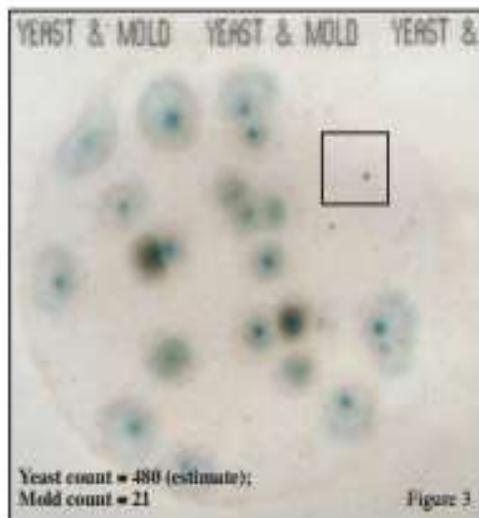


Figure 3

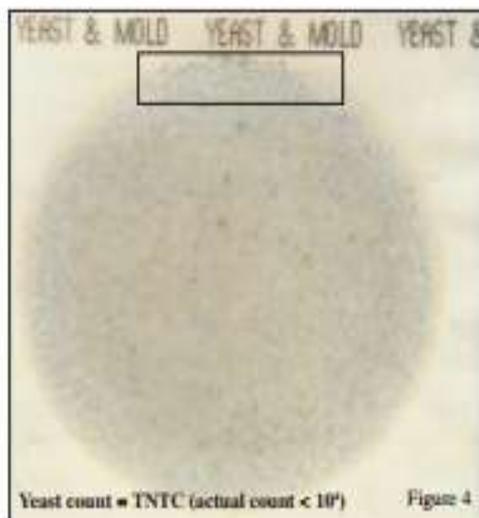


Figure 4



Figure 5

## Levaduras

La placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 3 contiene un número fácilmente contable de mohos, (colonias grandes, verdes, con bordes difusos y un foco central) y un gran número de colonias de levaduras. Las colonias de levaduras son pequeñas, de color tostado, con bordes definidos y sin foco. Cuando el número de colonias es más de ISO, se debe hacer una estimación: determinar el número medio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplicar por 30 para obtener el recuento total por placa. El área inoculada de una placa Petrifilm Levaduras y Mohos es de aproximadamente 30 cm<sup>2</sup> (Recuento de levaduras = 480 (estimado) ; Recuento de mohos = 21).

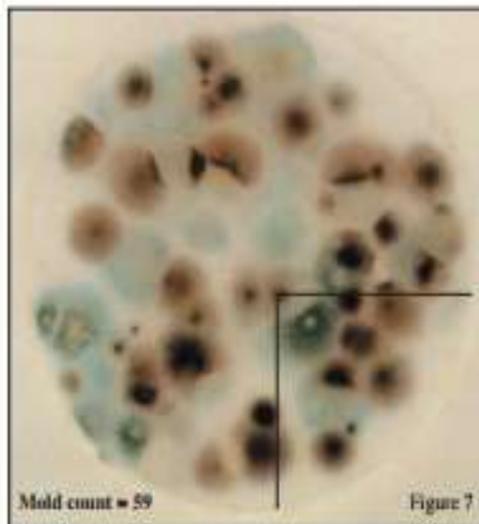
La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 4 contiene un elevado número de colonias de levaduras, demasiado numeroso para ser contado (TNTC). Las colonias pequeñas y azules en el borde de la placa la diferencian de una placa de mohos TNTC (Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10<sup>6</sup>).

Algunas veces las placas Petrifilm Levaduras y Mohos con un número alto de colonias de levaduras pueden parecer que tengan un crecimiento azul sólo en los bordes (figura 5). También es un recuento de levaduras TNTC (Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10<sup>6</sup>).

Si las placas Petrifilm Levaduras y Mohos parecen no tener crecimiento, levantar el film superior (figura 6). Si hay presentes muchas levaduras, se verán colonias blancas en el gel. Se anota como un recuento de levaduras TNTC (Recuento de levaduras = TNTC).



Figure 6



## Mohos

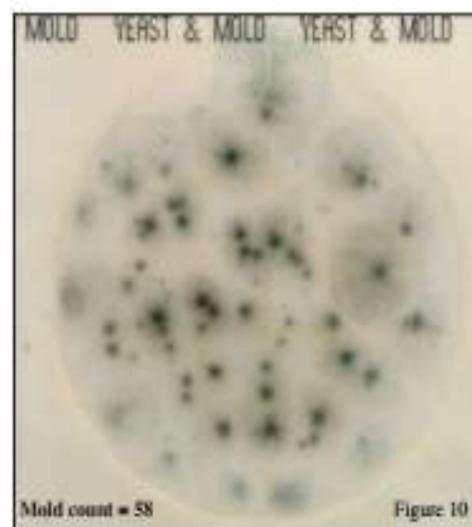
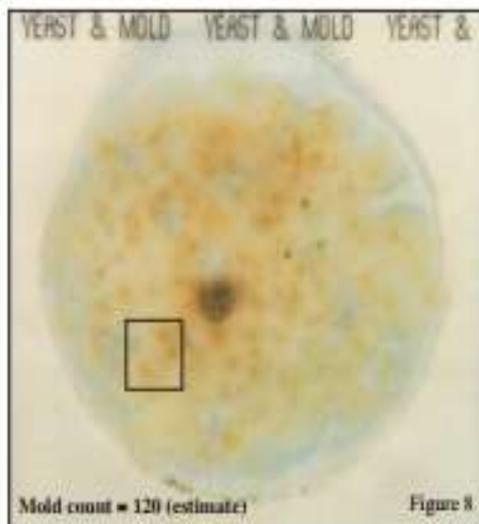
Las colonias de mohos en la placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 7 son colonias de pigmentación variable, con bordes difusos y un foco central. Son grandes, empezando a esporular y superponerse entre sí en la placa. Para facilitar el recuento dividir la placa en secciones y buscar focos que permitan distinguir colonias individuales. El recuadro muestra 15 mohos (Recuento de mohos = 59).

Notar la pigmentación variable con bordes vellosos en la placa de la figura 8, causado por el elevado número de colonias de mohos y la esporulación que ha tenido lugar. Estimar el número contando los focos. En el cuadrado que se muestra hay 4 colonias (Recuento de mohos = 120 (estimado)).

Igual que con todos los métodos de recuento en placas, las placas con muchas colonias pueden mostrar características de colonias atípicas. Es importante hacer una correcta dilución para asegurar un recuento exacto.

Las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 9 y 10 son diluciones 1 : 10 y 1 : 100, respectivamente, del mismo producto. Las colonias de la figura 9 son pequeñas, pálidas y numerosas, haciendo el conteo difícil de estimar. Hay una burbuja como artefacto (Recuento de mohos = TNTC).

La dilución del producto para obtener un recuento de colonias en el margen deseado ( 15-150 colonias) facilita el recuento. Los mohos de la figura 10 son grandes, con bordes difusos y focos centrales (Recuento de mohos = 58). El apilamiento de las colonias de la placa en la figura 9 impide su crecimiento típico.



## Anexo 12

### MATRIZ DE DATOS OBTENIDOS

CONTAJE																									
		Mesófilos aerobios				Coliformes Totales					<i>E. coli</i>					Mohos					Levaduras				
Concentración del agua de plata	Muestra pura	5ppm		10ppm		Muestra pura	5ppm		10ppm		Muestra pura	5ppm		10ppm		Muestra pura	5ppm		10ppm		Muestra pura	5ppm		10ppm	
Tiempo de contacto		1min	5min	1min	5min		1min	5min	1min	5min		1min	5min	1min	5min		1min	5min	1min	5min		1min	5min	1min	5min
código de muestra																									
R1M1	680	280	185	71	46	90000	110	93	62	11	6	0	0	0	0	3	0	1	0	0	116	42	37	20	41
R1M2	90000	123	62	67	31	420	6	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	480	28	9	13	3
R1M3	90000	90000	3800	93	60	103	99	75	49	42	2	0	0	0	0	9	10	10	6	4	1800	12	16	4	1
R2M1	90000	4300	2500	2100	1400	90000	2600	1800	2200	2000	0	0	0	0	0	4	1	2	0	1	10800	4800	4500	5400	6300
R3M1	90000	2000	2600	88	71	69	58	43	56	39	0	0	0	0	0	2	0	1	1	0	112	42	37	44	25
R4M1	720	91	110	50	42	91	20	27	33	7	3	1	0	1	0	0	0	2	1	0	930	450	480	480	420
R5M1	930	210	153	15	8	85	40	36	14	10	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	270	83	42	69	38
R6M1	480	98	105	56	39	96	24	27	38	7	2	0	0	1	0	2	1	1	0	2	840	480	510	600	450
R7M1	1500	740	540	128	85	110	18	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	360	270	270	150	210
R8M1	1620	115	80	27	25	500	21	13	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	720	780	510	450	420
R9M1	90000	73	39	12	5	66	8	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	1	16	19	6	0	0
R10M1	780	231	193	74	41	159	118	123	103	57	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	125	82	71	49	38
R11M1	1600	38	30	50	22	3400	187	135	48	69	1	0	0	0	0	1	2	1	2	0	72	7	6	10	6
R12M1	90000	3600	2800	2000	1200	90000	3000	1900	2200	2200	0	0	0	0	0	3	2	0	4	1	15	22	16	8	8
R13M1	90000	760	660	105	87	90000	580	12	180	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	840	870	630	570	390
R14M1	1500	90	46	16	13	3800	210	226	94	59	4	2	0	0	0	26	6	6	4	2	90000	450	32	27	15
Unidades	UFC/g				UFC/g					UFC/g					PROPAGULOS/g					UFC/g					

## Anexo 13

### PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Toma de muestra



Trituración de la muestra



Pesaje y dilución de la muestra



Siembra de la muestra



Incubación de la muestra  
Incubadora 1



Lectura de resultados



Incubación de la muestra  
Incubadora 2



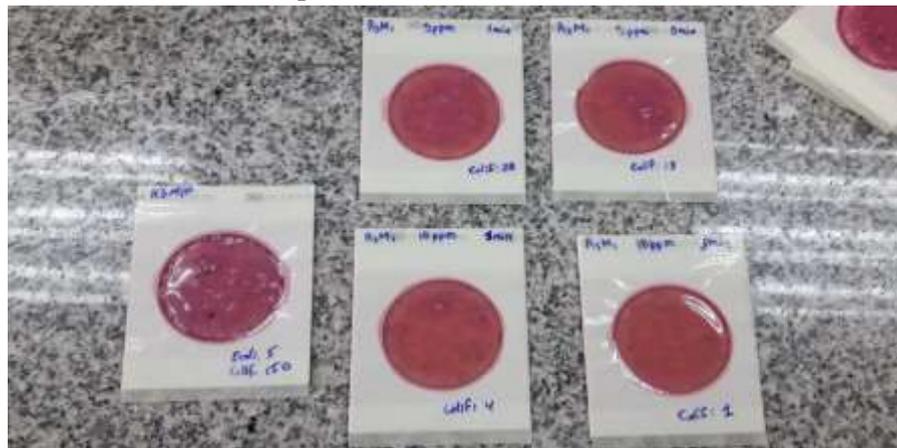
## Anexo 14

### IMÁGENES DEL RECUENTO FINAL PLACAS PETRIFILM

Recuento placas Petrifilm Mesófilos aerobios



Recuento placas Petrifilm *E. coli*/Coliformes



Recuento placas Petrifilm Mohos y levaduras



## Anexo 15

### CONTROLES DE CALIDAD

Control de Calidad Agua de Plata

Mesófilos aerobios

*E. coli*/Coliformes



Mohos y Levaduras



Control de Calidad del Agua Peptonada

