



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENSALADAS FRESCAS
COMPONENTES DE MENÚ QUE SE EXPENDEN EN PUESTOS
DE COMIDA DE LOS MERCADOS DE BELLAVISTA Y
LAYKAKOTA, PUNO 2023**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. WENDY ALEXANDRA HANCO HUANCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y
LABORATORIO CLÍNICO**

PUNO – PERÚ

2024



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENSALADAS FRESCAS COMPONENTES DE MENÚS QUE SE EXPENDEN EN PUESTOS DE COMID

AUTOR

WENDY ALEXANDRA HANCO HUANCA

RECuento DE PALABRAS

22665 Words

RECuento DE CARACTERES

124490 Characters

RECuento DE PÁGINAS

114 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.0MB

FECHA DE ENTREGA

Apr 2, 2024 12:25 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Apr 2, 2024 12:27 PM GMT-5

● **17% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 16% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 8% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

BEGO. M.Sc. EVA LAURA CHAUCA
Docente Principal D.E. FCCBS-UNAP
COLBIOP N° 308



DEDICATORIA

*A nuestro Padre Celestial por darme
conocimiento para alcanzar mis metas.*

*A mi madre, Rosa Delia Huanca Quispe,
quien me guio en cada etapa de mi vida con
su fuerza, sabiduría y amor incondicional,
gracias por ser mi luz en los momentos más
oscuros y por creer siempre en mí. Por sus
sacrificios y apoyo constante, que fue la
clave de mi éxito. Este logro es una victoria
para ambas.*

*A mi padre, Ángel Rosendo Hanco
Figueroa, por su apoyo incondicional, los
ejemplos de persistencia que lo
caracterizan que siempre me influyeron
para seguir adelante con valentía.*

*A mi padrino Anibal German Callohuanca
Sanchez, por enseñarme a nunca rendirme
ante los obstáculos de la vida.*

*A Garrieth Ángel, por ser el apoyo moral
mostrado cuando hacía falta.*

Wendy Alexandra Hanco Huanca



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano por brindarme la oportunidad de prosperar en mi carrera profesional. Reconozco a la Facultad de Ciencias Biológicas por brindarme un proceso de aprendizaje científico, basado en la construcción del conocimiento y la investigación.

A mis padres que siempre me han apoyado incondicionalmente para alcanzar mis metas personales y académicas. Ellos también son quienes me brindaron apoyo material y económico para que pudiera enfocarme en mis saberes y no dejarlos inconclusos.

A mi asesora M.Sc. Eva Laura Chauca de Meza, por la paciencia y apoyo inmutable en la evaluación, práctica y finalización de la investigación; Gracias a su enseñanza, que me permitió aprender mucho más de lo aprendido en el proyecto.

A mis jurados D.Sc. Dante Joni Choquehuanca Panclas, D.Sc. Juan José Pauro Roque y en especial al Mg. Juan Pablo Huarachi Valencia por las correcciones en este trabajo de investigación.

A mis compañeros de Laboratorio de Microbiología de Alimentos por su amabilidad y compañerismo en estos meses, especialmente a Linda por su ayuda y disponibilidad en todo momento.

A mis mejores amigos Harol y Antonela por la motivación a seguir adelante y no rendirme; a mis compañeros, de los cuales se convirtieron en amigos, Alexsandra, Epivany, Brandon y Ronal, gracias por las horas que compartimos, el trabajo que hicimos juntos y las historias que compartimos.

Wendy Alexandra Hanco Huanca



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 12

ABSTRACT..... 13

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVO GENERAL 16

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES..... 17

2.2. MARCO TEÓRICO 27

2.2.1. Calidad de un alimento 27

2.2.2. Hortaliza..... 28

2.2.3. Conformación de los criterios microbiológicos 37

2.2.4. Aptitud microbiológica para el consumo humano 38

2.2.5. Planes de muestreo 38

2.2.6. Criterios microbiológicos..... 41

2.2.7. Criterio Microbiológico 42

2.2.8. Microorganismos indicadores de alteración 43



2.2.9. Adhesión microbiana	53
2.2.10. Tipos de muestras.....	56
2.2.11. Técnicas de muestreo	57
2.2.12. Enfermedades asociadas al consumo de verduras y hortalizas	58
2.2.13. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).....	59
2.2.14. Contaminación cruzada de alimentos	61
2.2.15. Buenas prácticas de higiene para ensaladas	61

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ZONA DE ESTUDIO	65
3.2. TIPO DE ESTUDIO	65
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	66
3.3.1 Población.....	66
3.3.2 Muestra.....	66
3.4. METODOLOGÍA.....	67
3.4.1. Metodología para determinar la bacteria <i>Escherichia coli</i> en hortalizas ..	68
3.4.2. Metodología para determinar la bacteria <i>Salmonella sp.</i> en hortalizas.....	71
3.4.3. Prueba bioestadística de datos, para determinar la carga microbiana de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella sp.</i>	73
3.4.4. Calidad microbiológica de ensaladas frescas de consumo popular que se expenden en los mercados de Bellavista y Laykakota.	74

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> EN ENSALADAS FRESCAS DE COMIDA QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE BELLAVISTA Y LAYKAKOTA DE LA CIUDAD DE PUNO.....	75
--	-----------



4.2. DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA DE <i>SALMONELLA SP.</i> EN ENSALADAS FRESCAS DE COMIDA QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE BELLAVISTA Y LAYKAKOTA DE LA CIUDAD DE PUNO.....	87
4.3. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENSALADAS FRESCAS DE CONSUMO POPULAR ESTABLECIDOS EN LA NORMA SANITARIA DEL MINSA.....	90
V. CONCLUSIONES.....	93
VI. RECOMENDACIONES	94
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	95
ANEXOS.....	101

AREA: Ciencias Biomédicas

SUBLÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Diagnostico y Epidemiología

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 10 de abril del 2024



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Recuentos del promedio de carga microbiana de <i>E. coli</i> – mercado Bellavista	76
Figura 2	Recuentos del promedio de carga microbiana de <i>E. coli</i> – mercado Laykakota	79
Figura 3	Calidad Microbiológica en máximo permisible y rechazable de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella sp</i> en los mercados de Bellavista y Laykakota 2023.....	91
Figura 4	Diagrama para la determinación de <i>Escherichia coli</i>	105
Figura 5	Homogeneización y dilución del alimento	106
Figura 6	Índice del Número Mas Probable (NMP) y límites de confianza cuando se realizan 3 tubos	107
Figura 7	Muestras de ensaladas crudas procedentes de los puestos de comida del mercado Bellavista.....	108
Figura 8	Muestras de ensaladas crudas procedentes de los puestos de comida del mercado Laykakota.....	108
Figura 9	Serie de diluciones en caldo Tetrionato	109
Figura 10	Crecimiento de colonias para recuento de <i>Escherichia coli</i> en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) y <i>Salmonella sp.</i> en Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).....	109
Figura 11	Pruebas bioquímicas para la confirmación de <i>Salmonella sp.</i>	110
Figura 12	Recuento de <i>Escherichia coli</i>	110
Figura 13	<i>Escherichia coli</i> en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB).....	111
Figura 14	<i>Salmonella sp.</i> en Agar Salmonella Shigella (SS)	111



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación	40
Tabla 2	Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento.....	42
Tabla 3	Numero de muestras recolectadas por puesto de venta y el total de repeticiones	67
Tabla 4	Frecuencia de carga microbiana (NMP/g) de <i>Escherichia coli</i> determinadas en ensaladas frescas que se expenden en el Mercado de Bellavista de la ciudad de Puno – 2023	75
Tabla 5	Frecuencia de carga microbiana de <i>Escherichia coli</i> determinadas en ensaladas frescas que se expenden en el Mercado de Laykakota de la ciudad de Puno – 2023.....	78
Tabla 6	Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> según limites permisibles en ensaladas frescas que se expenden en el mercado Bellavista en la ciudad de Puno 2023	82
Tabla 7	Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> según limites permisibles en ensaladas frescas que se expenden en el mercado Laykakota en la ciudad de Puno 2023.....	83
Tabla 8	Calidad microbiológica de ensaladas frescas componentes de menú que se expenden en puestos de comida de los mercados de Bellavista y Laykakota, Puno 2023	84
Tabla 9	Frecuencia de la presencia de <i>Salmonella sp.</i> en ensaladas crudas procedentes de los mercados Bellavista de la ciudad de Puno - 2023	87
Tabla 10	Frecuencia de la presencia de <i>Salmonella sp.</i> en ensaladas crudas procedentes de los mercados Laykakota de la ciudad de Puno - 2023	88



Tabla 11	Calidad microbiológica de las ensaladas frescas de comida que se expenden en los mercados de la ciudad de Puno en base a lo permisible y rechazable - 2023.....	90
Tabla 12	Primera repetición del ensayo para la determinación de <i>Escherichia coli</i>	101
Tabla 13	Segunda repetición del ensayo para la determinación de <i>Escherichia coli</i>	101
Tabla 14	Tercera repetición del ensayo para la determinación de <i>Escherichia coli</i>	102
Tabla 15	Número Mas Probable del recuento de <i>E. coli</i> en el mercado Bellavista ..	102
Tabla 16	Numero Mas Probable del recuento de <i>E. coli</i> en el mercado Laykakota.	103
Tabla 17	Prueba estadística Mann Whitney y analisis de normalidad.....	104



ACRÓNIMOS

- n:** Número de muestras examinadas de un lote.
- m:** Limite microbiológico que separa la calidad aceptable de la marginalmente aceptable.
- M:** Límite microbiológico que separa la calidad marginalmente aceptable de la no aceptable.
- c:** Número máximo permitido de unidades de muestra entre m y M.
- NMP:** Número más probable.
- UFC:** Unidades Formadoras de Colonias.
- ETA's:** Enfermedades Transmitidas por Alimentos.
- DIGESA:** Dirección General de Salud Ambiental.
- MINSA:** Ministerio de salud.
- HACCP:** Análisis de Peligros y de los Puntos Críticos de Control.
- AOAC:** Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales.
- FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la agricultura.



RESUMEN

La investigación se realizó en la ciudad de Puno, durante los meses de octubre a diciembre del 2023, en la necesidad de conocer la calidad microbiana de las ensaladas frescas en base que se acompañan en comidas que se expenden en los mercados. El objetivo general fue: evaluar la calidad microbiológica de ensaladas frescas componentes de menús que se expenden en los puestos de comida de los mercados de Bellavista y Laykakota, Puno 2023; y los específicos: a) determinar la carga microbiana de *Escherichia coli* en las ensaladas frescas, b) determinar la carga microbiana de *Salmonella sp.* en las ensaladas frescas, c) establecer la calidad microbiológica de ensaladas frescas de consumo popular. El tipo de investigación fue descriptiva, analítica y transversal, se muestreo en 3 repeticiones para cada una de las 5 muestras de cada mercado 5 puestos del Mercado Bellavista y 5 de Laykakota haciendo un total de 30. Las muestras se recolectaron en condición estéril, y para el análisis microbiológico se aplicó métodos del Número Mas Probable (NMP) y para la justificación de *Salmonella sp.* el método específico según lo establecido por DIGESA – MINSA. La carga microbiana de *Escherichia coli* en ensaladas frescas que se expenden en el mercado Bellavista tuvo un promedio general de 1×10^4 UFC/g, mientras que las ensaladas procedentes del mercado Laykakota tuvieron un promedio de 2×10^4 UFC/g siendo significativamente mayor en este último mercado ($Z = -4.611$, $p = 0.000$) excediendo los límites máximos permitidos; también se ha demostrado que la carga bacteriana de *Escherichia coli* excede lo permisible y más aún se detectó la presencia de *Salmonella sp.* lo cual indica que las ensaladas analizadas tienen mala calidad microbiológica y con riesgo para la salud del consumidor y ocasionar Enfermedad de Transmisión Alimentaria (ETA).

Palabras clave: Calidad microbiológica, Ensalada fresca, *Escherichia coli*, Enfermedad de Transmisión Alimentaria, *Salmonella sp.*



ABSTRACT

The research was carried out in the city of Puno, during the months of October to December 2023, in the need to know the microbial quality of the fresh base salads that are accompanied by meals sold in the markets. The general objective was: to evaluate the microbiological quality of fresh salads that are components of menus sold in the food stalls of the Bellavista and Laykakota markets, Puno 2023; and the specific ones: a) determine the microbial load of *Escherichia coli* in fresh salads, b) determine the microbial load of *Salmonella sp.* in fresh salads, c) establish the microbiological quality of fresh salads for popular consumption. The type of research was descriptive, analytical and transversal, sampling was carried out in 3 repetitions for each of the 5 samples from each market, 5 stalls from the Bellavista Market and 5 from Laykakota, making a total of 30. The samples were collected in sterile condition, and for the microbiological analysis, the Most Probable Number (MPN) methods were applied and for the justification of *Salmonella sp.* the specific method as established by DIGESA – MINSA. The microbial load of *Escherichia coli* in fresh salads sold in the Bellavista market had a general average of 1×10^4 CFU/g, while the salads from the Laykakota market had an average of 2×10^4 CFU/g, being significantly higher in the latter market. ($Z = -4.611$, $p = 0.000$) exceeding the maximum allowed limits; It has also been shown that the bacterial load of *Escherichia coli* exceeds what is permissible and even more so, the presence of *Salmonella sp.* was detected. which indicates that the salads analyzed have poor microbiological quality and pose a risk to the consumer's health and cause Foodborne Disease (ETA).

keywords: Microbiological quality, Fresh salad, *Escherichia coli*, Foodborne illness, *Salmonella sp.*



CAPITULO I

INTRODUCCION

Si bien la alimentación es vital para la existencia de cualquier ser vivo, toda persona tiene derecho a una alimentación saludable, que le aporte la energía y los nutrientes que su organismo requiere; en cantidad, calidad e inocuidad; sin embargo, esa no es una realidad debido a las desigualdades sociales, económicas y políticas de salud no tan acertadas para los cerca de 8 mil millones de personas (Banco Mundial, 2018), se requiere sistemas alimentarios sostenibles que promuevan opciones de alimentación que garanticen la seguridad y la inocuidad de los alimentos (Louise, 2018). En el mundo contemporáneo las enfermedades infecciosas y las transmitidas vía alimentos son problemas de salud pública más importantes, con consecuencias bio-psico sociales y económicas (Castro et al., 2006).

Como problema mundial en salud pública se tiene la obesidad y el estrés, y como contraparte se tiene el consumo de alimentos crudos y frescos, como son las frutas y ensaladas frescas, y para algunas sociedades es el pilar de sus hábitos alimentarios y comprenden el consumo de verduras como cebolla, lechuga, tomate, zanahoria, pepino y otras (OMS, 2020). Sin embargo, no todo es satisfactorio, en el devenir cotidiano el comportamiento humano desvía esa vida saludable, tal como se da con las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) sucesos que lo han relacionado con los vegetales como las verduras y hortalizas por la manipulación indebida, el uso de agua servidas o estancadas, donde pernoctan las causantes del problema: bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y organismos patógenos como las que se aislaron por primera vez en verduras y agua (Narváez et al., 2015).



Los microorganismos indicadores de los alimentos entre ellos *Salmonella sp.*, *Clostridium* y otros, así como sus productos metabólicos (toxinas), causan enfermedades en las personas que lo consumen, de ahí que es importante evaluar el sistema alimentario considerando las normativas legales (Marchand, 2002). Se tiene conocimiento de la *Escherichia coli* como el indicador más común de contaminación fecal (FAO, 2011). Según el Banco Mundial, en los países de renta baja y media se malgastan 110 000 millones de dólares al año en producción y gastos en el seguro médico debido a la mala ingesta de alimentos insalubres. Estos costos se evitarían si se identificaran el problema y se adoptaran medidas preventivas en bienestar de la salud pública (Banco Mundial, 2018). Según la OMS (2010), 600 millones de individuos fueron afectadas por las enfermedades transmitidas por los alimentos en incluido con 428.000 muertes.

La Organización Mundial de la Salud, (2020) señala nueve mil personas pierden la vida cada año en las Américas a causa de la ETA, cada día mueren más de 2.000 niños menores de cinco años de un total de 31 millones de enfermos (OPS, 2022). En el Perú año 2018, la *Salmonella* fue responsable del 37,9% (11/29) de brotes de Salmonelosis igualmente *Escherichia coli* y *Staphilococcus*, determinación de infecciones e intoxicación alimentaria (Vargas, 2019). Las causas principales fuentes de infección fueron la ingesta de carne insuficientemente cocida, frutas y hortalizas contaminadas, mariscos crudos, entre otros (OMS, 2020). El sistema de vigilancia epidemiológica del Perú, expresó que en los años anteriores se presentó una media de 45 brotes de ETA.

La región Puno no escapa a esa realidad, de ahí la importancia del presente estudio que ha permitido a través de los análisis microbiológicos determinar la Calidad Microbiológica de las ensaladas frescas que se acompañan en diversas comidas y se expenden al consumidor en los mercados de la ciudad, en tal razón se ha planteado los siguientes objetivos.



1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica de ensaladas frescas componentes de menús que se expenden en los puestos de comida de los mercados de Bellavista y Laykakota, Puno 2023.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la carga microbiana de *Escherichia coli* en las ensaladas frescas.
- Determinar la carga microbiana de *Salmonella sp.* en las ensaladas frescas.
- Establecer la calidad microbiológica de ensaladas frescas de consumo popular establecidos en la Norma Sanitaria del MINSA.



CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

En el apartado, cuyo objetivo de mejorar el control líneas de preparación de alimentos en cocinas, con atención en ensaladas, utilizando controles básicos y promoviendo prácticas adecuadas de manipulación. Se estudiaron in situ las diferentes fases de la línea de preparación de ensaladas: empezando del suministro de las materias primas hasta la zona de mesa fría durante el autoservicio del usuario, hasta lograr la reducción del número de microorganismos presentes en los productos acabados en un ambiente fresco. Antes del lavado e higienización, se detectó en la ensalada un elevado número de enterobacterias y microorganismos aerobios mesófilos; tras el lavado con hipoclorito sódico, se observó que el número de microorganismos se redujo. Con este estilo de trabajo se obtienen alimentos con elevado margen de seguridad, muy por encima de las normas establecidas por la normativa de higiene microbiológica (Vera & Martinez, 2000).

En la investigación el objetivo del "Estudio Microbiológico de los Alimentos Servidos en los Comedores Escolares de la Isla de Tenerife" fue evaluar la calidad microbioana de las prepares que se sirven en los comederos de estudiantes de Tenerife para determinar si existen discrepancias en los parámetros entre los suministros investigables. acopiados en las escuelas en el que se preparan las comidas y se preparan los alimentos durante las comidas debido a la diferencia en los alimentos y el tratamiento térmico que se les aplica. En esta tesis epidemiológico descriptivo transversal se analizaron 898 ejemplares de suministros recogidas en comederos de 101 colegios de Tenerife, seleccionadas mediante muestreo probabilístico aleatorio estratificado, 58



alimentos de producción propia y 43 muestras de provisiones servidos por Catering (tratamiento por contrato). Como resultado, en ninguna de los ejemplares analizadas se aisló el patógeno *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*. El 79% de las comidas estudiadas presentaban alguno de estos parámetros, (91%) las ensaladas y (85%) los platos principales. Para el total de *Enterobacteriaceae*, el 15% fueron pruebas positivas. *Escherichia coli* se aisló en el 24% de las hortalizas, el 4% de los acompañamientos y el 1% de los platillos principales, y *Staphylococcus aureus* se aisló en tres provisiones. El mayor número se obtuvo para el total de microorganismos aerobios mesófilos. Del total de muestras analizadas un 8,24% de las mismas superaron uno o más de los límites establecidos para los parámetros estudiados llegando a la conclusión de que se acepta la calidad microbiológica de los almuerzos en los comedores escolares, aunque con el porcentaje de alimentos que superen los límites establecidos para los microorganismos, que son indicadores de falta de higiene por lo cual los escolares constituyen un grupo de alto riesgo por ello es necesario revisar el seguimiento de los puntos de control de crisis (Campos et al., 2003).

En la Tesis publicada en la En la Universidad de San Carlos - Guatemala, donde el autor pretende detectar la presencia de *E. coli*, por lo cual la importancia de la tesis es como las hortalizas promueven el desarrollo de microorganismos patógenos ya sea por una contaminación no intencional. del agua, del suelo o de las personas. antihigiénico, que puede perjudicar la salud. quienes los consumen; Para la tesis se estudiaron 42 ensaladas seleccionadas al azar de diferentes comedores de comida rápida. Para cada ensalada se analizan detalladamente lo siguiente: lechuga, pepino, zanahoria y tomate, para un total de 168 análisis. Se empleó una técnica de placa moldeada manejando agar bilis rojo violeta (VRB) como medio y cepa de *E. coli*, siendo un control positivo y la cepa de *Proteus vulgaris* como control negativo. Posteriormente de la incubación; la



muestra de colonia de *E. coli* presentaba una muestra de *E. coli* sospechosa, se comprobaba mediante el kit de Bactident. De las muestras analizadas, se confirmó que el 2,38% de muestras provenientes del pepino, el 7,14% de zanahoria y el 11,9% de tomate eran positivas para *E. coli*. Se descubrió este patógeno en 7 ensaladas (16,66%) de las 42 ensaladas a base de la lechuga examinadas. Además, pudo determinar muestras contaminadas con *Klebsiella ssp.*, *Enterobacter ssp.* y *Pseudomonas ssp.* La lechuga, los pepinos y las zanahorias generalmente tenían recuentos elevados de coliformes. La contaminación que se logra observar en los comedores se da cuando las instrucciones de acuerdo a las reglas sanitarias no son positivas, fracasando en el cuidado como en la dosis de químicos para esterilizar todo el trabajo. Además, si la carga de materia prima es demasiado alta, es posible que el sistema de saneamiento no sea suficiente para deshacer por completo la población microbiana. Es importante manipular correctamente los alimentos, de manera que el personal esté apto para desempeñar sus cargos de acuerdo a las normas de buenas prácticas de manufactura, que contienen higiene personal diaria, lavado de manos y uñas, cabello corto, buena limpieza, etc. De este estudio se concluye que la hipótesis propuesta no es consistente con el resultado, ya que se esperaba que ninguna muestra de ensalada de lechuga estuviera contaminada por *E. coli* y se recomienda a los restaurantes de comida rápida que realicen monitoreos sistemáticos (Rodríguez, 2005).

En el trabajo “Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del Distrito Dos de la zona Metropolitana de San Salvador” el objetivo fue establecer la contaminación microbiológica en las verduras frescas que se mercantilizan en los puestos de comida al paso del distrito II de la zona urbana de San Salvador. También se buscó el aislamiento de coliformes totales y fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella*, además de bacterias



mesófilas aerobias. Para ello, se cultivaron colonias en agar TSA y, a continuación, se realizaron ensayos bioquímicos para determinar si las colonias eran *Proteus spp.* o *Salmonella*. Las muestras de ensalada fresca resultaron positivas para coliformes (tanto totales como fecales) y patógenos (*Escherichia coli* y *Proteus spp.*). Los hallazgos obtenidos muestran que el 100% de las muestras son inseguras para el consumo humano, ya que se encuentran por encima de los límites recomendados por la norma aprobada: NOM-093-SSA-1994 (Avalos & Santacruz, 2009).

En la Tesis realizada en la ciudad de Puno sobre las “Condiciones sanitarias y la presencia de *Escherichia coli* en lechugas (*Lactuca sativa*) de emparedados, expandidas en los 18 kioscos de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno”, se encontró que 14 son seguros para el consumo humano y 4 no lo son por superar los umbrales de seguridad. Mientras que 5 quioscos han alcanzado un nivel adecuado de saneamiento (definido como una puntuación de 75 o superior), otros 13 siguen trabajando para conseguirlo (Farfán, 2010).

Se realizó la tesis en la región de Tacna donde el objetivo consistió en evaluar la calidad microbiológica de los suministros listos al consumo sin previo tratamiento térmico en los Comederos que pertenecen al distrito coronel Albarracín de Tacna. Diecisiete de los comederos se analizaron dos veces al azar, para un total de 34 cultivos. Se analizaron microbiológicamente las bacterias aerobias mesófilas viables, el recuento total de coliformes, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella sp.* Por encima de los límites microbiológicos permitidos para estos elementos, se halló *Staphylococcus aureus* en el 88,23%, mientras que *Salmonella sp.* se halló en el 2,9%. Se logró aislar *Escherichia coli* en el 29,41%, y los niveles de coliformes totales superaron los límites permitidos en el 76,47%, lo que es indicativo de condiciones insalubres. Ninguna muestra presentaba



niveles de bacterias aerobias mesófilas vivas, un indicador de deterioro, superiores al umbral legal (Arosquipa, 2014).

En el estudio realizado en la Universidad Central de Venezuela “Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas” donde El objetivo es establecer la calidad microbiológica de los suministros servidos en comederos exclusivos. Se analizaron 620 muestras de suministros en las que se determinaron los recuentos de aerobios mesófilos (AM), mohos y levaduras, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sondas; Se realizaron exámenes microbiológicos de agua, equipos, herramientas, ambiente, superficies y trabajadores. Los resultados del análisis realizado; existe una alta contaminación por *E. coli*. Sobre verduras crudas 76,2%, sobre verduras cocidas 15,2%, sobre carne de vacuno y cerdo 15,9%, sobre aves de corral 16,7%, sobre pescado 11,8%, sobre postres 27,3%, sobre equipos y herramientas 57,9%, sobre superficies y medio ambiente 53,6% y sobre trabajadores 21,9%. Los resultados obtenidos permiten concluir que estos alimentos deben estar sujetos a controles microbiológicos continuos y se considera que siguen siendo un factor de riesgo tanto el personal como las superficies y equipos (De Curtis et al., 2016).

En el artículo de la Universidad Nacional del Sur de Argentina el objetivo principal fue evaluar la calidad bacteriológica del alimento e investigar la disminución de bacterias frente a la limpieza con agua bebible y la asepsia con hipoclorito de sodio y con una solución de vinagre el autor trabajó con 30 muestras distintas de ensalada de zanahoria rallada, cada una de las cuales fue analizada dos veces antes y después de ser sometida al tratamiento. La mitad de las muestras no cumplían el AAC para *Escherichia coli*, y no se produjeron cambios significativos al utilizar el programa. Mostraron diferencias muy significativas respecto al resto del grupo cuando se les administró hipoclorito, lo que supuso un aumento del 15% en la aptitud. El 7% de las muestras dieron



positivo en *Salmonella*, que fue destruida por el uso de hipoclorito. No hubo pruebas de *E. coli* O157. Todas las muestras (el cien por cien) tenían niveles de *Staphylococcus aureus* inferiores a 2500 UFC.g-1, lo que indica que no suponían ningún peligro. Los resultados mostraron que el hipoclorito no consiguió neutralizar el 35% de las muestras. Se pueden obtener alimentos microbiológicos más seguros y de mayor calidad mediante el uso de Buenas Prácticas Agrícolas y de Fabricación (Gentili et al., 2017).

En otro estudio sobre la determinación de la cantidad microbiana de lechuga, cilantro y espinaca, procedentes de Calimaya, Toluca y Tenango del Valle, Estado de México. Los investigadores analizaron 180 tipos de verduras, 6 muestras de agua de riego y 6 muestras de suelo de siembra durante la fase de cosecha del ciclo agrícola 2015 para calcular las concentraciones de Mesófilos Aerobios (MA), Coliformes Totales (CT) y Coliformes Fecales (CF). Se utilizaron los procedimientos establecidos por el gobierno mexicano y la Organización Nacional Francesa de Normalización (AFNOR) en su norma NF V08-60. El experimento se realizó mediante un diseño totalmente aleatorizado y los datos se analizaron en un análisis local de varianza seguido de un experimento estadístico de Tukey ($p \leq 0,05$). Las derivaciones revelaron: las cantidades de bacterias MA, CT y CF en los vegetales están muy por debajo de los umbrales de la NOM para niveles aceptables. Las pruebas bioquímicas y serológicas, así como la resiembra en medio selectivo, indicaron la presencia de bacterias del serotipo flagelar *Escherichia coli* O105 ab en las hortalizas sometidas a la prueba de la FC. Había más de 12 UFC/mL de bacterias en el agua de riego utilizada para cultivar lechugas en el municipio de Calimaya. Se ha determinado que es más probable que los gérmenes patógenos hagan autostop en las verduras (Rojas, 2017).

Respecto a la tesis titulada “Calidad microbiana y *listeria monocytogenes* en ensaladas expandidas en pollerías del distrito de los Olivos, Lima Perú”, que se realizó



en muestras de ensalada de 83 diferentes expendios de pollo. Para el examen microbiológico se consideró la Norma Técnica N° 071 del Perú (Minsa/DIGESA, 2018). Los recuentos de coliformes totales, así como la existencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* se determinaron mediante la técnica FDA-BAM, mientras que las bacterias aerobias mesófilas se determinaron mediante el método ICMSF-2000. En cuanto a las bacterias patógenas, el 7,23% de las muestras de ensalada presentaban *Listeria spp.*, el 84,34% con un resultado de 10^5 UFC/g de aerobios mesófilos, el 95,18% de 10^2 NMP/g de coliformes totales, el 24,10% superando 10 NMP/g de *E. coli* y el 21,69% sobrepasando el 10 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Se encontró *Listeria monocytogenes* en el 3,61% y *Salmonella spp.* en el 14,46%. Existe un peligro sustancial para la salud pública, ya que una gran proporción de las ensaladas frescas suministradas en las pollerías de la zona son "no aptas para el consumo humano" y contienen bacterias infecciosas (Soberón, 2017).

Otro estudio fue desarrollado con el objetivo principal de establecer la existencia de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en suministros dispuestos como pollo, arroz y ensaladas en los comedores estudiantiles de los 7 distritos de Colombia. La tesis fue descriptiva y transversal. Se ejecutaron indagaciones sobre temas relacionados con la higiene y el saneamiento y se crearon listas de verificación para evaluar cuestiones de servicios básicos y el uso de equipos de protección personal en la maniobra de suministros. La elección de la muestra se realizó mediante un diseño probabilístico de dos etapas con un nivel de confianza del 95%, para la recopilación de la pesquisa se utilizó el software de captura CSPro y para la estimación de agrupaciones se utilizaron 12 paquetes estadísticos Stata. Resultados: 7 departamentos, 72 municipios. Se visitaron 332 comedores y se recogieron 497 muestras. El 61% correspondieron al arroz, el 23% a ensalada y el 16% a pollo. El patógeno de



mayor frecuencia fue *Listeria monocytogenes* 1,6%, *Salmonella spp* 0,6% y *Staphylococcus aureus* 0,4%. No hubo presencia de *E. coli* O157H7. Conclusiones: Se detectó la presencia de microorganismos patógenos en los restaurantes escolares (Forero et al., 2017).

En la investigación sobre la calidad microbiológica de verduras no cocidas (sin tratamiento térmico) que venden los sitios ambulativos de comida al paso en la ciudad de Maracaibo, Venezuela; donde se utilizó una muestra doble de 15 empresas únicas, espaciadas 30 días, se encontró que los microorganismos enumerados en el medio de cultivo figuraban coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y aerobios mesófilos. Se descubrió *Salmonella* en el 13,3% de la muestra, mientras que los aerobios mesófilos, los coliformes totales y *Escherichia coli* presentaban un número incontable (93,3%). Se concluye que las ensaladas examinadas no cumplen las normas sanitarias y de seguridad, por lo que no son aptas para el consumo humano (Delgado et al., 2018).

Otro estudio realizado en Argentina tuvo como objetivo "evaluar la calidad microbiológica mediante el análisis de parámetros de higiene y calidad, determinando cepas de *Escherichia coli* como indicador microbiológico de ensaladas de hortalizas de hoja crudas, procesadas y previamente envasadas, vendidas directamente en comercios del distrito de Nova Córdoba, Córdoba". Se recogieron cuarenta muestras de ensalada de achicoria seleccionadas al azar en varias fruterías, mercados y supermercados locales. Para el análisis de todas las muestras se utilizaron los métodos ISO/TS 16649-3:2005. El producto demostró que el 65% de las ejemplares se encontraban infectados con *Escherichia coli*, con concentraciones que oscilaban entre 0,74 NMP/g y 110 NMP/g, superando con creces los umbrales determinados por el Código Alimentario Argentino (CAA) para esta categoría de servicios. Además de constituir una amenaza para la salud humana, la presencia de microorganismos marcadores en los alimentos indica que la



materia prima o el producto no se manipularon correctamente o que las técnicas de saneamiento utilizadas fueron insuficientes (Rassi & Rollán, 2018).

En el estudio “Conocimiento y aplicación en prácticas higiénicas en la elaboración de alimentos y auto-reporte de intoxicaciones alimentarias en hogares chilenos”, las enfermedades transmitidas por alimentos en el hogar se consideran un problema nacional; no obstante, hay escasa indagación sobre las prácticas de manejo en casa. El objetivo fue: Establecer el entendimiento y cuidado de destrezas higiénicas en la preparación de suministros y auto informe de infecciones en alimentos de hogares en Chile. Para ello: se preparó una pesquisa de 15 interrogaciones que se realizó en Google Docs, de destrezas en manejo de suministros en la residencia y autoinformes de intoxicación alimentaria. Como efectos: se encontró que de 2,024 personas. 96% preparar comida en casa; De todos los encuestados que sí lo hacen, el 88% considera importantes las buenas destrezas de maniobra de suministros en el hogar y el 76% dice conocer la contaminación cruzada. Más del 40% inicia sus compras en el supermercado con alimentos procedentes de la leche y carne, lo que provoca una ruptura de la cadena de frío; El 56% de de las personas que fueron encuestadas afirman que descongelan los víveres a temperatura del ambiente. Sólo el 12,5% de las frutas y verduras utilizan algún antiséptico. Entre los que preparaban comida en casa, el 17% informó haber tenido intoxicación alimentaria y sólo el 64% de ellos acudió al médico. Conclusión: A pesar de que se considera importante las buenas prácticas de manipulación de alimentos en el hogar, estas prácticas no son ejecutadas (Torres et al., 2018).

En la investigación “La calidad microbiológica de ensaladas elaboradas en pollerías del C.P. Las Américas – Abancay”, el objetivo fue determinar la presencia de microbios en las ensaladas sujeto a la Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de



Consumo Humano (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01.)”; para lo cual utilizaron un conjunto de datos de 16 ensaladas individuales, cada una con un peso de 200 gramos. Estos son los tipos de microorganismos que se contaron: bacterias aerobias mesófilas, recuentos de coliformes y *E. coli* como indicadores de higiene, recuentos de *Staphylococcus aureus* como patógeno e investigaciones sobre *Salmonella spp.* Ninguna muestra tenía niveles de bacterias aerobias mesófilas por encima del rango aceptable, el 81% tenía coliformes por encima del rango aceptable, el 68% tenía *Escherichia coli* por encima del rango aceptable, el 75% tenía niveles de *Staphylococcus aureus* por encima del rango aceptable, y no se encontró *Salmonella spp.* Se determinó que el 55,1% de los gallineros cumplían las normas microbiológicas predeterminadas (Taipe, 2019).

En la tesis realizada en la ciudad de Puno el autor planteó como objetivo determinar la infección microbiológica por *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en naranja y tomate en las metrópolis de Puno y Juliaca”, lo cual utilizaron 300 naranjas y 300 tomates, todos ellos seleccionados aleatoriamente de los contenedores de los proveedores internacionales Unión y Dignidad y Tupac Amaru de Puno y Juliaca, respectivamente. Las muestras se tomaron en un ambiente limpio y se enviaron al Laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas. Se utilizó InfoStat para realizar exámenes estadísticos como la prueba *t de Student*, el análisis de varianza y las pruebas Chi-cuadrado. Los métodos para el examen microbiológico de los alimentos se estandarizaron según las normas microbiológicas de calidad higiénica y seguridad alimentaria establecidas por el Ministerio de Salud (DIGESA). El número medio de unidades formadoras de colonias (NFU) por gramo de *Escherichia coli* encontradas en las muestras de color naranja fue de 1483,59 para Puno y 1484,66 para Juliaca. El 86% de las muestras de tomate estaban infectadas con *Escherichia coli*, con una media de 1783,73 NMP/g para la ciudad de Puno y 2359,6 NMP/g para la ciudad de Juliaca.



Salmonella sp. se encontró en el 70% de las naranjas y el 60% de los tomates en Puno y Juliaca. Los resultados revelaron que los niveles de *Escherichia coli* en las naranjas y los tomates vendidos en ambos mercados eran superiores a lo considerado aceptable por la Norma Sanitaria. Se ha descubierto que las naranjas y los tomates de Puno y Juliaca tienen niveles de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* peligrosamente altos, que superan las normas de calidad aceptables y suponen una amenaza para la salud pública (Flores, 2019).

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Calidad de un alimento

Del latín, quality, conjunto de propiedades que permiten valorar una cosa como igual, mejor o peor que otras según Rodríguez, (2013) es decir, un producto de calidad es aquel que cumple con las buenas perspectivas de los consumidores. El concepto de calidad comienza con su control mediante inspección, con lo que formalmente inicia el concepto de calidad, ya están definidos los criterios para clasificar un producto bueno o malo según las especificaciones establecidas (Cubillos & Rozo, 2009). El control de calidad era y es gestión de calidad. Este control se encarga de la inspección del producto, muestreo e inspección al 100% (Herrera, 2011).

La calidad de los alimentos es lo que requiere la aceptación del cliente; así, el aseguramiento de la calidad da confianza a cualquier producto, cumpliendo con ello los estándares de calidad, además de respetar estos estándares, prediciendo los errores que surgen cuando aparecen (DIF, 2015). La calidad en sí es un conjunto de características del producto que satisfacen las necesidades y expectativas del cliente y la mejora continua, que consiste en nuevos estándares



de calidad para obtener un mejor producto, además de la asociación estratégica, producir un buen producto (Arias, 2003).

2.2.2. Hortaliza

Las hortalizas son plantas que normalmente se cultivan en jardines o campos de regadío y se utilizan como comida, ya sea crudas o cocidas. El vocablo verdura incluye verduras y legumbres como frijoles y guisantes. Las verduras no contienen frutas ni cereales. Sin embargo, esta distinción es bastante arbitraria y no tiene base botánica, por ejemplo, los tomates y los pimientos se consideran hortalizas y no frutas, aunque la parte comestible sea la fruta (Avalos & Santacruz, 2009).

2.2.2.1. Tipo de hortalizas

Los principales tipos de verduras son: acelgas, ajos, apio, huevo, capuchina, coliflor, cebolla, col, tubérculo, espárragos, espinacas, lechuga, nabo, patata, apio, pimiento, puerro, rábano, remolacha, col, rábano (Avalos & Santacruz, 2009).

2.2.2.2. Clasificación de las hortalizas

Dependiendo de la porción comestible del vegetal, se dividen en:

- Frutos: La berenjena, el tomate, entre otros.
- Bulbos: La Cebolla, el ajo seco, etc.
- Hojas y tallos verdes: Se encuentran las acelgas, la lechuga, las espinacas, el perejil, etc.
- Flor: Solo se encuentra la coliflor.



- Tallos jóvenes: El Espárrago.
- Legumbres frescas o verdes: Dentro de ellos se encuentra los guisantes.
- Raíces: Las zanahorias, el nabo, la remolacha y el rábano.

Por el medio de preservación, las hortalizas se catalogan en:

- Hortalizas frescas: Se comercializan a granel.
- Hortalizas congeladas: Poseen las idénticas peculiaridades que contienen las hortalizas frescas.
- Hortalizas deshidratadas o desecadas: Se les ha eliminado el agua (Avalos & Santacruz 2009).

Respecto a la coloración las hortalizas se catalogan en:

- Hortalizas con hoja verde: Se trata de verduras que contribuyen escasas calorías por consiguiente tienen un alto valor nutricional vitamínicos A, C, B, E y K, minerales como el calcio y el hierro así mismo la fibra. El color verde característico se debe a la clorofila. Ejemplos de verduras son: lechuga, repollo, berzas, acelgas, acelgas y espinacas.
- Hortalizas amarillas: verduras ricas en caroteno, que beneficia la formación de vitamina A.
- Hortalizas de otros colores: Contienen poco caroteno, pero son ricas en vitamina C y en las vitaminas del complejo B

(Avalos & Santacruz, 2009).



2.2.2.3. Conservación y almacenamiento de las hortalizas

Las verduras frescas, conviene almacenarse convenientemente hasta que estén listas para comer. Las condiciones y el tiempo de almacenamiento afectan en gran medida la apariencia y el valor nutricional. La totalidad de las verduras deben almacenarse a una temperatura ambiente fresca, por lo que es muy recomendable colocarlas en el refrigerador. Se debe colocar en una bolsa con agujeros o en papel de aluminio y evitar hacer un recipiente hermético. Se pueden conservar en el frigorífico varios días, dependiendo del tipo de verdura. Por ejemplo, las espinacas y la lechuga no se deben almacenar por más de 3 días, los rábanos y la remolacha son menos sensibles y se pueden almacenar por más tiempo. Algunos, como las cebollas secas y el ajo, no necesitan guardarse en el refrigerador, pero es mejor guardarlos en un lugar fresco y seco (Avalos & Santacruz, 2009).

2.2.2.4. Procesamiento de hortalizas (ensaladas)

Básicamente, una ensalada es un plato frío compuesto por una mezcla de verduras cortadas en pedazos y principalmente sal, aceite vegetal y vinagre. Consigue servirse como fuente única, antes o después de la fuente principal y también como fuente complementaria. La relevancia de las hortalizas en la dieta del hombre no habita en el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos, salvo raras excepciones, sino en sus sales minerales, vitaminas y celulosa. En las hojas verdes abundan el hierro y cobre; en su mayoría el calcio, del que la generalidad de los alimentos, a excepción de la leche, son deficientes. Se encuentran buenas cantidades de



calcio en todos los vegetales de hojas verdes crudos. Entre las funciones de las plantas que afectan el metabolismo intestinal se encuentra la interrupción del desarrollo de la flora bacteriana intestinal, ayudando a las fermentaciones responsables, controlando así la flora putrefacta que casi siempre proviene de alimentos de origen animal (López, 2015). La estructura química reconoce a:

- Agua (62-96 por 100).
- Proteínas (0,90-23 por 100).
- Grasas (0,1-1,7 por 100).
- Glúcidos (3-27 por 100).
- Sales minerales (0,5-2,8 por 100).
- Vitaminas (A, B1, B2, C, E y K) (López, 2015).

2.2.2.5. Hortalizas que constituyen las ensaladas

Taxonomía de la cebolla

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Alliaceae

Género: *Allium*

Especie: *Allium cepa* (Avalos & Santacruz 2009).



En el primer año de siembra se produce la "bulbificación" o formación de bulbos, en el segundo año se libera el "espacio floral" o fase reproductiva. La cebolla es un alimento que debemos incluir en nuestra dieta. Tiene fuertes efectos antirreumáticos, similares al ajo (ambos pertenecen a la misma familia taxonómica). Disuelve el ácido úrico (que provoca la gota, que afecta a los riñones y las articulaciones), combate las infecciones gracias a las sales de sodio y potasio que alcalinizan la sangre (Avalos & Santacruz, 2009).

Taxonomía de la lechuga

Reino: Vegetal

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliosida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Lactuca*

Especie: *Lactuca sativa* (Avalos & Santacruz, 2009).

La lechuga es una planta anual, originaria de regiones semitempladas, cultivada como alimento. Debido a las numerosas variedades disponibles y cultivadas en invernaderos, puede consumirse durante todo el año. Suele estar crudo, como ingrediente de verduras y otros platos. El nombre general de lechuga se deriva del latín *lac* (leche). Este origen hace referencia al resultante lechoso (concretamente "leche")



siendo el jugo que segregan los tallos cuando se cortan; sativa significa su naturaleza de especie cultivada. La lechuga tiene bajo valor nutricional ya que cuenta con mayor contenido en agua (90-95%), es rica en antioxidantes como vitaminas A, C, E, B1, B2, B3 y minerales K: fósforo, hierro, calcio, potasio y aminoácidos. Las hojas verdes más externas son las que tienen mayor contenido en vitamina C y hierro (Avalos & Santacruz, 2009).

Taxonomía del tomate

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum*

Especie: *Solanum lycopersicum* (Avalos & Santacruz 2009).

El tomate es un vegetal perteneciente a la familia de las solanáceas (Solanaceae) de lejano origen americano, que se planta internacionalmente por sus frutos comestibles. El fruto es una baya muy agradable que suele ser de color amarillo y rojo debido al licopeno y caroteno. Tiene un saborcillo tenuemente ácido, de 1-2 cm de diámetro en especies rústicos. Los tomates son un alimento bajo en calorías; De hecho, 100 g de tomates contribuyen sólo 18 kcal. En su mayoría la masa se compone de agua,



seguida de carbohidratos. Contiene azúcares simples que le aportan una degustación ligeramente dulce y algunos ácidos orgánicos que le aportan su característico saborcillo picante. Los tomates son una fuente significativa de algunos minerales como el potasio y el magnesio. Contiene vitaminas B1, B2, B5 y C. Asimismo contiene carotenoides como el licopeno (el particular color rojo). La vitamina C y el licopeno facilitan las funciones protectoras de nuestro organismo. Durante los meses de verano, los tomates son una de las principales fuentes de vitamina C (Avalos & Santacruz, 2009).

2.2.2.6. Microbiología de hortalizas

La microflora vegetal vive en superficies en relación con el suelo, el aire, el agua y los animales. El pH de estos suministros frecuentemente es neutro, por lo que las bacterias son más habituales en su microbiota que las levaduras. Las formas formadoras de esporas de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* se encuentran en raíces y tubérculos. Al regar con agua de estiércol es usual la presencia de *Salmonella*, *E. coli* y otras bacterias entéricas. El riego con agua fecal también puede ser causa de transmisión a través de huevos y quistes de parásitos gastrointestinales, generando peligro en el caso de verduras consumidas crudas (López, 2015).

Los vegetales sin un debido preparamiento desempeñan un papel menor en los contagios que son transmitidas por los suministros. Cuando ocurren estos contagios, lo más probable, son causadas por aguas residuales, como quistes de protozoos también se hallan huevos de lombrices, bacterias y enterovirus como la hepatitis A. Las bacterias



causantes de patógenos y las amebas pueden subsistir en el suelo durante algún tiempo y contaminan las plantas crudas. Lavar y desinfectar estos alimentos puede reducir algunos de los problemas, pero no eliminarlos. La prevención de estos accidentes es necesaria para la moderación (Carrillo & Audisio, 2007).

- Impedir la utilización de aguas con contaminación fecal y de estiércol animal.
- Evadir el riego que utilice agua podrida y/o contaminada.
- Lavar anticipadamente los productos básicos con agua bebible.
- Utilizar un agente antiséptico.

Las diferentes etapas por las que debe pasar un producto desde la cosecha hasta el consumo, tanto fresco como procesado, crean innumerables oportunidades para aumentar el nivel de contaminación que transporta naturalmente desde el campo (Carrillo & Audisio, 2007).

Se ha demostrado que algunos patógenos pueden sobrevivir en los productos agrícolas el tiempo suficiente para ser peligrosos para los humanos, y se han informado muchos casos de enfermedades asociadas con el consumo de frutas y verduras (López, 2015).

Básicamente, existen tres tipos de organismos vegetales peligrosos para la salud del ser humano: los virus (p. ej., hepatitis A), las bacterias (p. ej., *Salmonella spp*, *Escherichia coli*) y los parásitos (*Giardia lamblia*). La mayoría de los hongos no son peligrosos por sí mismos, sino por las



micotoxinas que producen. Pero para que esto suceda debe pasar el tiempo necesario para su desarrollo (López, 2015).

2.2.2.7. Factores de contaminación en hortalizas

a) Animales

Los microorganismos provenientes del origen animal proceden de la flora de superficie, respiratoria y digestiva. La flora microbiana de la parte superior de los animales destinados a la carne comúnmente no es importante como las bacterias que contaminan el intestino y el tracto respiratorio. Por lo cual, el pelo, las pezuñas y la piel no sólo contienen grandes cantidades de bacterias que provienen del suelo, el estiércol, el pienso y el agua, así mismo contienen bacterias que provocan el deterioro de los alimentos. Las plumas y patas de aves de corral contienen una contaminación significativa de fuentes similares. (Frazier & Westhoff, 1993).

b) Aguas residuales

Cuando se utilizan aguas residuales domésticas no tratadas para fertilizar cultivos, es posible que los alimentos vegetales recién cosechados se contaminen con microorganismos patógenos para los humanos, especialmente aquellos que causan trastornos gastrointestinales. Además del hecho de que los patógenos de las aguas residuales pueden contaminar los alimentos, otros microorganismos de la misma fuente, como coliformes, bacterias anaeróbicas, enterococos, otras bacterias intestinales y virus, también pueden contaminar los alimentos (Frazier & Westhoff, 1993).



c) A través del suelo

El suelo contiene diversidad de bacterias en su mayoría de todos los orígenes de contaminación. Los suelos productivos contienen no sólo una gran cantidad de especies de bacterias, también aquellas que están listas para contaminar la superficie de las plantas que crecen en ellos o de los animales que crecen en ellos. Se deslizan sobre tierra firme. Las corrientes de aire levantan el polvo del suelo y las corrientes de agua transportan partículas del suelo hacia los alimentos. El suelo es una fuente importante de esporas resistentes al calor (Frazier & Westhoff, 1993).

d) A través del agua

Las aguas nativas contienen no sólo su flora microbiana, asimismo bacterias del suelo y probablemente bacterias de animales y de desecho. La cantidad de bacterias presentes en estas aguas puede variar. Las variedades bacterianas presentes en las aguas oriundas son especialmente los géneros *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Streptococcus* (enterococcus) y *Escherichia coli*. Es factible que los tres últimos microbios sean contaminantes en lugar de ser parte integral de su flora. Las verduras crudas están contaminadas y son potencialmente peligrosas (López, 2015).

2.2.3. Conformación de los criterios microbiológicos

Los discernimientos microbiológicos consisten según DIGESA, (2003) en:

- a) Grupo de alimentos en el que se aplica el criterio.



- b) Sustancias microbiológicas controladas en los diferentes conjuntos de suministros.
- c) Plan de muestreo aplicable a lotes de suministros.
- d) Límites microbiológicos determinados para grupos de provisiones.

2.2.4. Aptitud microbiológica para el consumo humano

Los alimentos y bebidas se consideran microbiológicamente aptos para el consumo humano si cumplen plenamente con los criterios microbiológicos de la Norma de Salud (RM N° 591-2008/MINSA) para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenecen (MINSA, 2008).

2.2.5. Planes de muestreo

Se emplean únicamente a lotes y/o tandas de suministros y líquidos basándose en un peligro de la salud del hombre y de las situaciones de administración y el consumo de alimentos. Los planes de muestra se expresan como planes de 2 o 3 clases, según el grado de peligro (DIGESA, 2003).

Se utiliza un plan de muestreo de Categoría 2 cuando la presencia o cantidades específicas del microorganismo no son tolerables en ninguna unidad de muestreo. Se utiliza un plan de muestreo de categoría 3 cuando se puede resistir un cierto importe de bacterias en ciertas unidades de muestreo. Al trazar un plan de muestreo para una comida específica se deben determinar los valores de n, m, M y c. según MINSA, (2008) el programa de muestreo contempla:

- Clase: El grado de peligro que personifican las bacterias en relación con los contextos de uso y consumo.



- “n”: El número de unidades de muestreo selectas aleatoriamente que se analizarán para cumplir con los requisitos del plan de muestreo dado.
- “c”: El número máximo de unidades de muestreo rechazadas permitidas en un plan de muestreo de Clase 2, o el número máximo de unidades de muestreo que pueden incluirse en el rango de unidades de muestreo, número de microorganismos, en un plan de muestreo de 3 clases. Si se detectan más unidades de muestreo el lote será rechazado.
- “m”: el límite microbiológico que aparta la calidad admisible de la calidad inaceptable. Generalmente, el valor es igual o menor; indica un producto aprobado y valores superiores; indicar producto aceptado y valores mayores indican lotes recibidos o rechazados.
- “M”: Los valores de recuento microbianos superiores a “M” pueden ser rechazados, por lo que el alimento es peligroso para la salud.

Tabla 1

Planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación.

SEVERIDAD, TIPO DE RIESGO PARA LA SALUD	Condiciones normales de manipulación y de riesgo para consumo del alimento luego del muestreo		
	Condiciones que reducen el riesgo	Condiciones que no modifican el riesgo	Condiciones que pueden aumentar el riesgo
Sin riesgo directo para la salud (contaminación general, vida útil y alteración)	Categoría 1 3 clases n=5, c=3	Categoría 2 3 clases n=5, c=2	Categoría 3 3 clases n=5, c=1
Riesgo para la salud bajo, indirecto (indicadores)	Categoría 4 3 clases n=5, c=3	Categoría 5 3 clases n=5, c=2	Categoría 6 3 clases n=5, c=1
Moderado, directo, diseminación limitada	Categoría 7 3 clases n=5, c=2	Categoría 8 3 clases n=5, c=1	Categoría 9 3 clases n=5, c=1
Moderado, directo, diseminación potencialmente extensa	Categoría 10 2 clases n=5, c=0	Categoría 11 2 clases n=10, c=0	Categoría 12 2 clases n=20, c=0
Grave directo	Categoría 13 2 clases n=15, c=0	Categoría 14 2 clases n=30, c=0	Categoría 15 2 clases n=60, c=0

Fuente: (DIGESA, 2003; MINSA, 2008) Excepciones en que “n” es diferente de 5



a) Número de unidades de muestra para registro sanitario de alimentos y bebidas

El número de unidades de muestra de alimentos y bebidas registradas en el registro sanitario (n) puede ser uno ($n=1$) y debe ser el límite más exigente (m), que se especifica en este reglamento para este tipo de comida o bebida.

b) Número de unidades de muestreo para la comprobación del plan HACCP

Con el fin de verificar el plan HACCP, el número de unidades de muestreo puede ser ($n=1$) y debe aceptarse con las metas más estrictas (m). en esta práctica para este tipo de comida o bebida. Lo cual se aplica si la persona encargada que maniobra en un proceso de producción, procesamiento e industrialización de suministros y líquidos demuestra con documentos históricos de al menos seis meses, que cuenta con instrucciones efectivos establecidos en los principios del sistema HACCP.

c) Número de unidades de muestra para la inspección sanitaria de alimentos preparados

Se alcanzara tomar una unidad de muestra ($n=1$) por cada tipo de suministro dispuesto en la inspección sanitaria de alimentos y bebidas preparados desde los puntos de distribución, producción y venta. Se aplica según los límites más exigentes (m) dados en este reglamento (DIGESA, 2003).

2.2.6. Criterios microbiológicos

Los suministros y líquidos deben efectuar plenamente con todos los discernimientos microbiológicos para que su grupo o subgrupo sean considerados aptos para el consumo humano, RM No. 591-2008/MINSA.

Tabla 2

Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento)

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g o ml	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25g	---

Fuente: (DIGESA, 2003; MINSA, 2008)

Donde:

- n: análisis realizado en un número predeterminado de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote.
- c: número máximo autorizado de unidades deplorables en un plan de muestreo de dos clases.
- m: el número de microorganismos por encima o por debajo del cual la calidad se considera inaceptable.
- M: Cuando el recuento microbiano supera el umbral "M", se considera que el alimento no es indudablemente para el consumo.

2.2.7. Criterio Microbiológico

Según NTS (Norma Técnica Peruana) N°071-MINSA/DIGESA-V.01. Criterios de salud estandarización criterios microbiológicos requisitos de calidad y seguridad de salud para suministros y líquidos (RM N°591-2008/MINSA), se han establecido los consecutivos discernimientos microbiológicos, según los cuales los suministros y líquidos deben corresponder a su estado natural. o procesado, considerados aptos para el consumo humano: a) grupo de alimentos al que se emplea el criterio; b) sustancias microbiológicas controladas en diferentes



grupos de alimentos; c) el plan de muestreo aplicable a lotes de provisiones; y (d) límites microbiológicos para grupos de suministros. El desempeño de estos discernimientos generalmente determina si un suministro o líquidos es apto para el consumo humano. Los microorganismos suelen agruparse según criterios microbiológicos de la siguiente manera: microorganismos indicadores de cambio, microorganismos indicadores de higiene y microorganismos patógenos (MINSA, 2008).

2.2.8. Microorganismos indicadores de alteración

Las clases 1, 2, 3 definen los microorganismos implicados en la conservación y el deterioro del producto, como los microorganismos mesófilos aeróbicos, las bacterias heterótrofas, los aerobios mesófilos esporulantes, los mohos, las levaduras, las levaduras osmófilas, las bacterias del ácido láctico y los microorganismos lipolíticos (DIGESA, 2003). La existencia de ciertos microbios en suministros a lo mejor sería útil para establecer la calidad microbiológica de los suministros porque pueden usarse como indicadores. Los grupos microbianos que muestran más cambios en la dieta son los aerobios mesófilos (Frazier & Westhoff, 1993).

2.2.8.1. Microorganismos indicadores de higiene, *Escherichia coli*

Las clases 4, 5 y 6 incluyen los microorganismos no patógenos frecuentemente asociados con ellos, como los coliformes (que en esta norma de salud significa el número total de coliformes), *Escherichia coli*, anaerobios reductores de sulfitos, enterobacterias (excluyendo fórmulas lácteas o fórmulas infantiles, que se consideran un grupo de microorganismos patógenos) (Taipe, 2019).



Taxonomía de *Escherichia coli*

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gamma Proteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	<i>Escherichia</i>
Especie:	<i>Escherichia coli</i>

(Jawetz et al., 2010)

a) Definición

Son bacilos cortos, bacterias gramnegativas. Pertenece a la familia de las enterobacterias lactosa-positivas, se encuentran en el intestino de mamíferos de sangre caliente, produce gases a una temperatura de 44-44,5 °C \pm 0,2. Los discernimientos microbiológicos que incluyen *E. coli* son útiles en los casos en que es necesario establecer el contagio por heces, porque el contagio de los alimentos con este microorganismo significa la inseguridad de encontrar patógenos entéricos peligrosos para la salud. Sin embargo, la ausencia de *E. coli* no garantiza la ausencia de enteropatógenos (Avalos & Santacruz, 2009).

Esto se discurre en un indicador de contagio fecal del mamífero reciente en servicios como agua de botella, leche y jugos, suministros para



bebés y alimentos procesados. Usualmente, la *E. coli* muere con facilidad mediante tratamiento térmico. Su presencia en alimentos a altas temperaturas indica una mala manipulación o, más comúnmente, contaminación posterior al proceso por parte del equipo, los operadores o contaminación cruzada. Sin embargo, si el propósito del análisis es verificar la contaminación después del tratamiento térmico, los organismos de elección deben ser coliformes en lugar de *E. coli* (Avalos & Santacruz, 2009).

La presencia de este microorganismo en los alimentos suele indicar contagio directa o indirecta con heces. *E. coli* es un indicador clásico de la potencial existencia de enteropatógenos en agua, moluscos, productos lácteos y otros suministros. La cantidad de *E. coli* en los alimentos puede verse afectada por los siguientes factores: proliferación del microorganismo, su muerte o inactivación, o adhesión a partículas de alimentos (Avalos & Santacruz, 2009).

b) Características

E. coli es una bacteria gramnegativa perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo no esporulado, llega a tener alas pericíticas es anaerobio facultativo. El crecimiento esta a una temperatura mínima de 2,5 °C y la temperatura máxima es de 45 °C; Puede soportar temperaturas altas. El pH en el que se observó su crecimiento es de 4,4 - 9,0 y la actividad mínima de agua para el crecimiento es 0,95. *E. coli* es fundamental en la microbiota del intestino humano, lo habita en las primeras horas de vida y luego se convierte en un habitante intacto y



establece una relación de beneficio mutuo con su huésped. Sin embargo, algunas cepas han desarrollado la capacidad de causar enfermedades en humanos, principalmente infecciones del tracto gastrointestinal, del tracto urinario y del sistema nervioso central (Avalos & Santacruz, 2009).

c) Tipos

Los serotipos de especies patógenas para los seres humanos a menudo se denominan *Escherichia coli* la cual es nociva y con el propósito de causar enfermedades está determinada por ciertos factores de virulencia lo cual lo permite infectar al huésped y superar los componentes de defensa, como la elaboración de adhesinas, enterotoxinas, citotoxinas y otras proteínas. que admiten al microbio subsistir en condiciones ambientales desfavorables.

Las cepas nocivas responsables de la catarsis se transmiten inmediatamente con los suministros y provocan diversos síndromes clínicos; Las heces de animales fermentadas, el agua contaminada y los portadores infectados tienden a ser las fuentes más comunes de contaminación de los alimentos. Hay varios grupos que pueden causar síntomas entéricos de leves a graves, que incluyen:

- *E. coli* enteropatógeno (EPEC) – causa la diarrea infantil.
- *E. coli* enterotoxigénico (ETEC) – gastroenteritis
- *E. coli* enteroinvasivo (EIEC) – disentería bacilar
- *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) – colitis hemorrágica.



Se localizan en los intestinos de mamíferos y humanos. La fuente de contaminación son suministros de origen dudoso. La contaminación se produce a través del tracto gastrointestinal (Avalos & Santacruz, 2009).

2.2.8.2. Recuento e identificación de *E. coli*

La determinación del número total por el procedimiento del número más probable (NMP) se basa en la capacidad de ese conjunto de microbios para fermentar la lactosa, produciendo ácido y gas, cuando se incuban a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Medio que contiene sales biliares. La configuración constituye de dos fases, una fase predeterminada y una de validación. Por defecto, se utiliza lauril sulfato de sodio como medio, lo que admite la salvación de microbios dañados de la muestra utilizando lactosa como fuente de carbohidratos. En la fase de control se utiliza como medio caldo verde lactosa-bilis, que es selectivo. La determinación del recuento más probable se realiza a partir de tubos de ensayo supuestamente positivos y se basa en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gases cuando se incuban a $44,5 \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. durante 24 a 48 horas (Avalos & Santacruz, 2009).

Los tubos de caldo EC positivos se analizan para detectar *E. coli* mediante inoculación en medios selectivos y diferenciales (agar MacConkey, agar eosina azul de metileno) mediante transferencia, y luego se realizan pruebas bioquímicas básicas (IMViC) para colonias típicas (Avalos & Santacruz, 2009).



2.2.8.3 Microorganismos patógenos, *Salmonella*

Se pueden encontrar del 7 al 15 de la clase. Las clases 7, 8 y 9 corresponden a microbios nocivos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, cuya cantidad en los suministros determina el riesgo de desarrollar estas enfermedades alimentarias. A partir de la clase 10, corresponde a microorganismos patógenos como *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes* (si el alimento puede promover el desarrollo de *L. monocytogenes*), *Escherichia coli* O157:H7 y *Vibrio cholerae* entre otros patógenos, cuya sola presencia en el alimento define un peligro para la salud (Taípe, 2019).

Taxonomía de *Salmonella*

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gamma/proteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	<i>Salmonella</i>
Especie:	<i>Salmonella sp</i> (Durango et al., 2004)

a) Definición

Los miembros de la familia *Salmonella* causan infecciones intestinales en hombres y los animales. Entre las causas de malestares transmitidas por suministros, la familia *Salmonella* es uno de los casos más importantes que provocan la muerte por complicaciones de la enfermedad.



La tasa de mortandad es aproximadamente del 4,1% los huevos, la carne son los alimentos que con mayor frecuencia transfieren la salmonelosis a los humanos. El principal hábitat de los microorganismos de esta familia son los intestinos de personas, animales domésticos, aves, reptiles e insectos. Al ser una bacteria originada en el intestino, se excreta en las heces, lo que contamina el ambiente y el agua. Cuando el agua o alimentos contaminados ingresan a una persona o animal, el microorganismo regresa al sistema digestivo, donde se multiplica y es eliminado nuevamente (DIGESA, 2003).

Actualmente, la salmonelosis es la primordial causa de muerte en los países “tercer mundistas”. A nivel mundial, la *Salmonella* está asociada con la enfermedad diarreica aguda (EDA), que sigue siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad, particularmente entre los bebés, los niños y los ancianos (Durango et al., 2004).

b) Características del género

A sido ampliamente estudiado, sobre todo en suministros de los que suele aislarse, y su representación pertenece a un bacilo gramnegativo típico de la familia *Enterobacteriaceae* Serovares móviles y algunos inmóviles que tienen flagelos peritricos que envuelven al microorganismo y no desarrollan cápsula ni esporas. Producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa, pero no lactosa y no producen ureasa, que tiene una rica composición antigénica y se utiliza para identificar a sus miembros como serotipos (Orozco et al., 2014).



La *Salmonella* es un bacilo patógeno primario (como *Shigella*, *Yersinia* y ciertas cepas de *Escherichia coli*), anaeróbico facultativo, parcialmente móvil y no fermentador de lactosa. *Salmonella typhi* es el único serotipo que no produce gases al fermentar el azúcar. Clásicamente, sólo se han distinguido tres especies patógenas primarias: *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerae-suis* y *Salmonella enteritidis*. (Jawetz et al., 2010).

Según Jawetz et al. (2011), la especie *Salmonella entérica* tiene seis subespecies:

- I *entérica*
- II *salamae*
- IIIa *arizonae*
- IIIb *diarizonae*
- IV *houtenae*
- V *Salmonella bongori*, ya incluida en una especie distinta
- VI *indica*

c) **Ambiente de crecimiento y fuentes de aislamiento**

La contaminación fecal no siempre es el único e inmediato precursor de casos o brotes de salmonelosis humana, porque, por ejemplo, los huevos de aves, que también se ponen en situaciones higiénicas que descartan la presencia de heces, pueden ser portadores del patógeno. De forma natural, así como en el agua y el suelo, las verduras y frutas pueden estar contaminadas con *Salmonella*, ya sea directa o indirectamente a partir de excrementos animales o humanos. También se han identificado como



fuentes de infección las verduras frescas consumidas crudas en ensaladas. Estos alimentos cumplen con las características de suministros de alto riesgo porque no son procesados previamente o es mínima la revisión, se consumen crudos, se preparan en contacto directo con las manos, el pH permite la formación de cancerígenos o favorece su conservación. para los patógenos, no se utiliza un agente bactericida para garantizar la eliminación del patógeno, etc. También es muy importante saber que *Salmonella* no necesita componentes específicos de los alimentos para desarrollarse (Orozco et al., 2014).

2.2.8.4. Enfermedades Emergentes

La salmonelosis humana es una enfermedad infecciosa que incluye varias condiciones clínicas, uno de cuyos síntomas principales es la gastroenteritis aguda, una de las enfermedades transmitidas por alimentos más frecuentes ya sea por el agua y suministros contaminados. *Salmonella* no sólo causa una condición, sino que depende del tipo de serovar que causa la infección los cuales son:

a) Enteritis

Las sintomatologías principales son algunos días de fiebre leve, náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea, pero en algunos casos puede durar una semana o más; son frecuentes la mialgia y la cefalea. El periodo de incubación puede ser de 12 a 48 horas después del consumo, y normalmente la enfermedad es asintomática y dura de 1 a 4 días. El cuidado circunscribe compensar los refrescos y la sal; no se recomiendan los antibióticos porque alargan la eliminación de microbios. Este es el tipo



más común de salmonelosis, con una tasa de mortalidad del 0,1 al 0,2 por ciento, y los grupos de edad más afectados son los niños y los ancianos (Orozco et al., 2014).

b) Enfermedad sistémica

Causada por *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*, que son más invasivas. Esta enfermedad se conoce como tifus y su periodo de incubación es de 3-56 días, aunque es de 10-20 días (Orozco et al., 2014).

c) Colonización asintomática

La salmonella persiste en el portador humano; entre el 1% y el 5% de los pacientes perciben colonización crónica durante más de un año. Estos portadores pueden propagar la enfermedad y provocar brotes (Orozco et al., 2014)..

2.2.8.5. Aislamiento y selección de *Salmonella*

Para aislar e identificar *Salmonella* se utilizan en primer lugar medios de enriquecimiento que favorecen su desarrollo, ejemplos de los cuales son: caldo tetrionato, Rappaport o caldo selenito. En estos medios impiden el crecimiento de algunas bacterias y permiten el crecimiento de *Salmonella* porque son resistentes a algunas sustancias, como el tetrionato, componente de uno de los caldos antes mencionados. Después del enriquecimiento para el crecimiento bacteriano, se utiliza un medio selectivo; como *Salmonella-Shigella*, Selenito de Bismuto y Agar Rambach, luego del aislamiento del microorganismo sospechoso, se realiza la identificación mediante pruebas bioquímicas y los resultados obtenidos se comparan con la tabla correspondiente para resumir los



resultados, finalmente con pruebas de aglutinación con un suero específico (Orozco et al., 2014).

Las primordiales fuentes de contagio son las provisiones poco cocidas y la contaminación cruzada, que se causa cuando los productos cocidos entran en relación con suministros crudos. Por lo tanto, una buena atención médica al cocinar y manipular alimentos puede ser de gran ayuda para prevenir infecciones emergentes (Romero, 2018).

2.2.9. Adhesión microbiana

Permite a los microbios formar una base donde puedan invadir los tejidos. Las adhesinas y los receptores del huésped a los que se acoplan estas moléculas son adherencias. Los aceptadores del huésped contienen restos de azúcar de la superficie y proteínas de la superficie (p. ej., fibronectina) que promueven la ligación de ciertos microbios grampositivos. Otros factores que determinan la adhesión son las finas estructuras presentes en las paredes de algunos microbios, como las Enterobacteriaceae (por ejemplo, *Escherichia coli*), tienen orgánulos de adhesión característicos llamados franjas o pili. Las membranas permiten que el microorganismo se adhiera a casi todas las células del cuerpo humano, incluidos los neutrófilos y las células epiteliales del tracto gastrointestinal, la boca y los intestinos (Ábalos, 2005).

La Biopelícula, es una capa viscosa formándose en torno a algunos microbios, y eso les da firmeza a la fagocitosis y a los antibióticos. La totalidad de las células pueden adaptarse porque se fijan a superficies con sustratos. Se considera biopelícula a una matriz biológicamente activa



desarrollada por células y sustancias extracelulares de una o más variedades junto con una zona sólida, incluidas superficies minerales, tejidos vivos y/o muertos de animales o ya sea de plantas, polímeros sintéticos, cerámicas y aleaciones metálicas.

Las biopelículas naturales residen en conjuntos de microbios primarios vivos y no vivos resguardados por sustancias poliméricas extracelulares (EPS) polianiónicas de superficie. El EPS puede contener polisacáridos, proteínas, fosfolípidos, ácidos nucleicos, entre otras sustancias poliméricas hidratadas con un contenido de agua del 85-95%. El EPS protege a los microorganismos que pertenecen a la biopelícula de sustancias antimicrobianas, previene la entrada de biocidas, seguidores de metales, toxinas, previene el secado, fortalece la resistencia de la biopelícula a las influencias ambientales y permite a los microbios capturar nutrientes.

Las verduras frescas han sido reconocidas como medio de envío de microorganismos patógenos de gran importancia para la salud pública, como *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*. Las bacterias que no son dañosas pueden formar grupos de biopelículas en verduras como la lechuga y el tomate, en estas biopelículas se pueden mantener y proteger microorganismos potencialmente patógenos. A diferencia de las células planctónicas, las biopelículas bacterianas en la parte superior de las plantas son más resistentes a los desinfectantes debido a la elaboración de enzimas que descomponen las sustancias antimicrobianas. El ácido láctico al 0,2% seguido de cloro y cloruro de lauril dimetil bencil amonio a 0,1 mg/ml demostró ser el desinfectante más



eficaz. Reduciendo las poblaciones de *E. coli* e en verduras, dependiendo de la masa del inóculo, el tipo de verdura y el tiempo entre el saneamiento y el consumo. La FDA (Food and Drug Administration) propuso que el tratamiento de vegetales frescos con desinfectantes por lo cual debe reducir el número de patógenos al menos 5 log ufc sin afectar las características sensoriales del producto procesado (Ortega & Hernández, 2018).

Factores intervinientes

a) Condiciones de la superficie

Una superficie sólida puede tener diversas propiedades significativas para el proceso de adhesión. La colonización microscópica aumenta a medida que incrementa la rugosidad de la superficie y sube el área de la superficie. Las propiedades fisicoquímicas de la superficie pueden influir significativamente en la adhesión microbiana; Muchos investigadores han descubierto que la adhesión microbiana es más rápida en superficies hidrófobas como el teflón y otros plásticos que en materiales hidrófilos como el vidrio o el metal (Zambrano & Suárez, 2016).

b) Especies bacterianas

La capacidad de las células microbianas para adherirse está influenciada por la superficie hidrofóbica de la célula, la existencia de fimbrias y flagelos así como la elaboración de exopolisacáridos (EPS). La hidrofobicidad de la superficie celular es significativa para la adhesión, ya que las interacciones hidrofóbicas tienden a aumentar a medida que aumenta la despolaridad natural entre una o ambas superficies



comprometidas. Además de participar en la transferencia de ácidos nucleicos virales o bacterianos, las fimbrias y los flagelos también añaden hidrofobicidad a la superficie celular, ya que muchos de ellos tienen aminoácidos hidrofóbicos.

Al parecer, el flagelo juega un papel significativo en la fase inicial de la adhesión bacteriana al superar las fuerzas repulsivas asociadas al sustrato. La fijación de microorganismos a las superficies es un proceso muy complejo, cuyo éxito depende de muchas variables (Zambrano & Suárez, 2016).

c) Factores ambientales

Otros rasgos del medio acuático, como el pH, el contenido de nutrientes, las cargas iónicas, la temperatura y la fluidez, pueden ser importantes para la adhesión bacteriana al medio ambiente. Varios estudios muestran la influencia del ambiente acuático en la adhesión bacteriana y la formación de biopelículas.

Un aumento en la concentración de nutrientes en el medio se asocia con un aumento en el número de células bacterianas adheridas, y la velocidad cambiante de turbulencia del medio también puede afectar la formación de biopelículas (Zambrano & Suárez, 2016).

2.2.10. Tipos de muestras

Consta de uno o más conjuntos de unidades de producción extraídas, las unidades de muestra se seleccionan aleatoriamente sin considerar su calidad. El



número de unidades de producto en la muestra es el tamaño de la muestra (DIGESA, 2003).

a) Muestra no representativa

Se realiza mediante la técnica de muestreo aleatorio y en pequeñas cantidades para fines de investigación de laboratorio. También se implementa para ayudar a los trabajadores a que puedan perfeccionar la calidad de los suministros manteniendo al mismo tiempo la salud pública.

Estas muestras no reflejan las peculiaridades que tiene un lote. Sería un error seleccionar sólo muestras dañadas del lote, pero el inspector también debe seleccionar muestras buenas (DIGESA, 2003).

b) Muestra representativa

Se toma una muestra representativa sólo en determinados casos en los que surgen dudas tras la inspección preliminar, como por ejemplo sobre la calidad del lote.

La toma de una muestra representativa se puede realizar por razones sanitarias e higiénicas. Estas muestras representan las características del conjunto (DIGESA, 2003).

2.2.11. Técnicas de muestreo

El muestreo se realiza según los productos preferidos por los consumidores, teniendo en cuenta los productos con mayor riesgo epidemiológico. Por ejemplo, ceviche de pescado, almejas, ensaladas de verduras, salsa, chile con queso, carne, leche, refrescos, etc. Son alimentos peligrosos para



la salud del consumidor. La cantidad de muestra recolectada debe ser de 100 a 200 gramos.

El muestreo deberá realizarse en las mismas condiciones en las que se distribuye en tienda. Deben recogerse en frascos, bolsas esterilizadas y debidamente identificados y colocados en hieleras con bolsas de hielo. Las muestras deben entregarse al laboratorio en el menor tiempo posible. Dependiendo del tipo de investigación a realizar, se deben llenar los formatos con el nombre del lugar donde se realiza el muestreo y de los que van a manipular. En la información nutricional se deben considerar los siguientes puntos (DIGESA, 2003; Taípe, 2019).

- Hora de la preparación.
- Tiempo de exhibición del suministro.
- Temperatura en la que se mantiene.
- Fecha y hora en que se toma la muestra.
- Lugar de recolección donde se tomó la muestra.

2.2.12. Enfermedades asociadas al consumo de verduras y hortalizas

En la última década, varios estudios científicos han dado a conocer que una dieta fortalecida en frutas y verduras brinda protección contra muchos cánceres y reduce las enfermedades coronarias. Esto, dado que la gente dedica mucho tiempo a cocinar durante la semana, ha provocado un aumento en el dispendio de verduras en los restaurantes de comida al paso. No obstante, se han reportado varios casos en los que el nuevo fruto es vector de propagación de enfermedades causadas por diversos microorganismos. La contaminación microbiológica de estos alimentos es más grave si tenemos en cuenta que la



persistencia de los microbios patógenos puede durar semanas o meses, especialmente si la bacteria se encuentra en las partes más húmedas de la planta y están protegidos de los rayos del sol. Varios estudios de campo y de laboratorio han demostrado que los patógenos inoculados pueden sobrevivir en agua seca o en riego de vegetales hasta dos meses, tiempo suficiente para su consumo (Taipe, 2019).

2.2.13. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

Según la OMS, (2010) las enfermedades transmitidas por alimentos son "síntomas causados por el consumo de agua y/o alimentos que contienen agentes biológicos (bacterias o parásitos) o no biológicos (pesticidas o metales pesados). Las cantidades en los que afecten de forma aguda o crónica la salud del consumidor a nivel individual o grupal". Existen varios tipos de ETA con diferentes síntomas según el tipo de contagio y la cantidad de alimentos contaminados consumidos. Los síntomas más habituales son vómitos y diarrea, asimismo pueden aparecer dolor en el abdomen, cefalea, temperatura elevada, síntomas neurológicos, etc. Además, determinados ETA pueden provocar enfermedades crónicas a largo plazo y en casos extremos la muerte (Fernández et al., 2021).

Las ETA son uno de los mayores problemas en el mundo actual y por su incidencia y reemergencia así como nuevos escenarios y formas epidemiológicas, son una causa importante de pérdida de productividad para países, empresas, familias e individuos; así como la infección, aumento de la resistencia a los antimicrobianos e impactos sociales y económicos se dividen en dos grupos (Fernández et al., 2021).



a) Enfermedades transmitidas por alimentos

Se origina por el consumo de suministros y/o aguas descompuestas con ciertos agentes patógenos como bacterias, virus, hongos y parásitos que se reproducen o se pudren en el intestino y producen toxinas o se adhieren a la pared intestinal. quizás usando otros sistemas.

b) Intoxicaciones alimentarias

Se producen cuando se forman toxinas en el organismo, en los tejidos de las plantas, animales o ya sean procedentes por microbios o sustancias químicas como también radiaciones que entran en ellos de forma ocasional. Se reconocen los siguientes tipos de intoxicaciones.

La sintomatología de las ETA consigue persistir varios días lo cual incluye los vómitos, dolor abdominal, diarrea y fiebre. Sintomatologías neurológicas como hinchazón de los ojos, problemas renales y visión doble. La duración y gravedad de los síntomas depende de la cantidad de bacterias y toxinas en los alimentos, la cantidad ingerida, la salud del individuo y otros factores (Fernández et al., 2021).

Prevención de las ETA's

Se refiere a todos los cuidados y precauciones que se deben tener en cuenta para evitar que los alimentos procesados afecten la salud del consumidor (MINSa, 2021). Los alimentos no deben ser manipulados con manos desnudas; los platos que contengan comida no deberán apilarse cuando se exhiban, almacenen o sirvan; Quien manipule alimentos, no debe manipular dinero. Si esta manipulación fuera necesaria, el operador deberá lavarse las manos antes de volver a tocar el alimento.



Todos los alimentos cocinados y bebidas preparadas que no puedan almacenarse adecuadamente deben desecharse de forma higiénica al final del día (Minsa, 2021).

2.2.14. Contaminación cruzada de alimentos

La contaminación cruzada por contacto con los alimentos es una fuente muy frecuente de transmisión infecciosa entre productos y es muy común: cuando los alimentos crudos se transportan incorrectamente con otros alimentos procesados o semiprocados a lo cual se almacenan con alimentos sin cultivar, con una aplicación inadecuada de pesticidas, y los productos se manipulan a mano o con utensilios de poca higiene. Este tipo de contaminación significa cualquier tipo de contaminación (bacteriana, química, física), desde alimentos contaminados u orgánicos hasta alimentos contaminados, incluyendo la limpieza de superficies de contacto (mesas y/o utensilios). En concreto, las formas más comunes de interacción se producen cuando el consumidor permite que los alimentos crudos y los alimentos cocidos listos para comer entren en contacto, por ejemplo, cuando se corta carne cruda o sin cocer con un cuchillo, y luego con el mismo cuchillo sin lavar que corta carne cruda que es comida lista para comer (Jiménez, 2014).

2.2.15. Buenas prácticas de higiene para ensaladas

La correcta maniobra de los suministros, desde su producción hasta su consumo, está directamente ligada a la salud de las personas. Un experto de la alimentación es responsable de mantener y salvaguardar la salud de los consumidores mediante un manejo cuidadoso. Algunas prácticas básicas de higiene son:



a) Lavado de las manos

Cada vez que el manipulador cambie de acción, y vuelva a manipular el alimento (MINSA, 2021).

- Usar el tipo de ropa que sea exclusivamente para el trabajo y que no haya estado en relación con otros próximos.
- Separar la ropa de trabajo con el que se usa en la calle.
- No utilizar joyas ni relojes al manipular alimentos.
- Utilización de guantes para reducir la propagación de bacterias, revisar que no estén gastados.
- Proteger posibles lesiones en las manos del manipulador con fundas impermeables para evitar el contacto con los alimentos.
- No comer, toser y prohibido el uso de goma de mascar durante la manipulación del alimento.
- No hablar sobre la comida.
- No manipular platos sucios, no recoger utensilios que se hayan caído al suelo sin lavarse después las manos y seguir preparando y sirviendo los suministros.
- No manipular la cabeza u otras áreas ya que puede haber bacterias.
- No usar cuchillos que tengan el mango de madera.
- Si el suministro cae accidentalmente al suelo, no reutilizarla para su procesamiento.
- No volver a congelar los alimentos.
- Almacenar los alimentos cocidos para su consumo inmediato aplicando calor, asegurando una temperatura superior a 70°C en el centro de la masa hasta que estén listos para servir.



b) Salud del personal

La dirección del restaurante es responsable de los exámenes médicos periódicos de los trabajadores de suministros que laboran en dichas empresas. No se debe permitir que las personas con malestares infecciosos, diarrea, heridas infectadas, úlceras en la piel sigan manipulando alimentos hasta que se encuentren bien (MINSA, 2021).

c) Higiene y hábitos

Los operadores de suministros deberán observar una estricta higiene personal, principalmente al lavarse las manos, de la siguiente manera (MINSA, 2021).

- Antes del inicio de la preparación del alimento.
- Después de ir a los SSHH.
- Después de estornudar.
- Después de tocarse alguna parte del cuerpo.
- Después de manejar recipientes u otros apartados corrompidos.
- Después de la manipulación de alimentos crudos.
- Después de barrer, recoger y/o manipular recipientes, tocar dinero.

d) Vestimenta

Las personas que manipulan alimentos (en la cocina) deben usar ropa protectora blanca que cubra su cuerpo. Mantenga su cabello completamente cubierto y use calzado adecuado. Toda la ropa debe ser lavable, mantenerse limpia y en buenas condiciones. El resto del personal deberá utilizar ropa defensora en



buen estado e higiénica. Los trabajadores en operaciones de limpieza y desinfección deberán utilizar delantal y calzado impermeable (MINSA, 2021).



CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ZONA DE ESTUDIO

La Investigación se realizó en la ciudad de Puno, ubicada en el altiplano a una altura de 3 848 m sobre el nivel del mar, a orillas del lago Titicaca, tiene una superficie: 15,57 km²; las coordenadas ubicadas son 15° 50' 22.67" latitud sur y 70° 1' 17.5" de longitud Oeste del Meridiano de Greenwich.

Como puntos de muestreo se consideró el Mercado de Bellavista se encuentra en la intersección de la Av. El sol con el Jr. Lampa de la ciudad de Puno, las coordenadas ubicadas son 15° 83'32,43" latitud sur y 70° 0'23,5 de longitud Oeste del Meridiano de Greenwich. El Mercado Laykakota está localizado en la avenida El Sol s/n piso 1 kilómetro 0, A una cuadra del parque Dante Nava en la ciudad de Puno sus coordenadas son 15° 84'65,60" latitud sur y 70° 0'20,73 de longitud Oeste del Meridiano de Greenwich.

La recolección de muestras se realizó en los meses de septiembre - noviembre del año 2023, cada 7 días, realizando el análisis microbiológico en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno.

3.2. TIPO DE ESTUDIO

Este estudio trata de la calidad microbiológica de las ensaladas de verduras frescas, por lo que pertenece al nivel descriptivo de la investigación; y dado que no se realizan alteraciones en las variables se clasifica como estudio observacional.



Se considera analítico porque su finalidad es justificar una presunta relación causal entre un factor (causa-efecto).

En cuanto a temporalidad es transversal porque se recolectan las muestras en tiempo definido

3.3. POBLACION Y MUESTRA

3.3.1. Población

La población está constituida por 10 establecimientos que expenden comida, cuya característica es que acompañan a la preparación culinaria ensaladas frescas: lechuga, tomate y cebolla. Se consideró cinco (5) puestos ubicados en el Mercado Bellavista y cinco (5) en el Mercado Laykakota.

3.3.2. Muestra

Se analizaron 30 muestras de ensaladas frescas (crudas) compuestas por 3 hortalizas: lechuga, tomate y cebolla; 5 muestras con cultivos triplicados (3 repeticiones) procedentes del mercado Bellavista (total 15) y 5 muestras con cultivos triplicados (3 repeticiones) procedentes del mercado Laykakota (total 15).

Tabla 3*Numero de muestras recolectadas por puesto de venta y el total de repeticiones*

Zona de muestreo		N° de repetición	Total
Mercado	Puesto de venta		
Mercado Bellavista	P1	3	15
	P2	3	
	P3	3	
	P4	3	
	P5	3	
Mercado Laykakota	P1	3	15
	P2	3	
	P3	3	
	P4	3	
	P5	3	
Total	10		30

Fuente: Elaboración propia

3.4. METODOLOGIA

Las técnicas están establecidas por el CODEX alimentario de la OMS/OPS la metodología de Laura, (2017) y se aplicó la norma sanitaria (RM N°598-2008 MINSA) para establecer los criterios microbiológicos.



3.4.1. Metodología para determinar la bacteria *Escherichia coli* en hortalizas

Homogenización y dilución del alimento

Se pesó 10 gr de muestra en una balanza digital, la cual se trituró en un mortero estéril, la muestra previamente triturada se vertió en un recipiente estéril al que se le añadió 90 ml de agua peptonada que procedió a homogeneizar (Laura, 2017).

Serie de diluciones por el método del Número Mas Probable (NMP)

Por el método más probable según DIGESA, (2008) se realizaron una serie de diluciones en la muestra de ensalada cruda, en un medio fluido apropiado para el desarrollo de dicho patógeno. Luego, se incubaron las muestras de esos tubos y, pasado un tiempo, se examinaron los tubos. La mayoría de tubos que recibieron una o más células microbianas procedentes de la muestra, se pusieron turbios, mientras que los tubos que no recibieron ninguna célula permanecían transparentes (Laura, 2017).

Lectura de los tubos enriquecidos

Se utilizó 9 tubos de ensayo con el contenido de Caldo Lactosado 9m c/u con un tubo Durham invertido.

a) Test presuntivo

Se interpretó, la presencia de Coliformes, en los tubos de ensayo en los que fermentó lactosa y se note la producción y presencia de gas después de 24



horas, la fermentación lenta se incubó nuevamente otras 24 horas volviendo a leer y marcar como positivo los tubos que produjeron gas y ácido (Laura, 2017).

b) Test de confirmación

Los tubos con caldo lactosado positivo se transfieren a un caldo (Verde brillante bilis lactosa que produjeron gas y fermentaron lactosa, con tubo Durham invertida y luego se incubaron durante 48 horas a 37°C. transcurrido el tiempo se realizó la lectura; la presencia de gas confirma la presencia de bacterias coliformes totales, se registró el número de tubos con reacción positiva; los resultados obtenidos se comparan en la tabla del Números Más Probable (Laura, 2017).

c) Test de Aislamiento

Con ese fin se realizó el aislamiento de *Escherichia coli* del cultivo previo en Caldo Verde Brillante bilis Lactosa, se adquirió la muestra con el asa de kolle y se sembró en el agar selectivo Eosin Azul de Metileno (EMB), rápidamente se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 a 48 horas. El tiempo transcurrido se realizó la lectura reconociendo las colonias que presentan coloración verde con brillo metálico lo cual nos indica la presencia de *E. coli*, para confirmar se realizó las pruebas bioquímicas correspondientes (Laura, 2017).

Identificación bioquímica en medios diferenciales

- **Agar Triple Azucarado (TSI):** Con un asa de platino en vértice se carga la colonia y se realizó una punción en la base del medio y estrías sobre la superficie del agar, se incubó durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C. para lo cual se aclaró de la siguiente manera: El medio está agregado por tres azúcares, glucosa, lactosa y sacarosa, para acentuar la producción de



hidrogeno sulfato. El color original es rojo ladrillo ph 7,4. La producción de ácido por efecto de la degradación de la lactosa, glucosa y sacarosa (Laura, 2017).

- **Citrato de Simmons:** Se inoculó en un tubo que contenía el medio citrato solo realizando una estría superficial y se incubo durante 48 horas a 37°C, Prontamente se inspeccionó para comprobar el crecimiento de la bacteria y el cambio de color del medio de verde a azul, lo que indica el uso de citrato como fuente de carbono.
- **Descarboxilación de la Lisina (LIA):** Las colonias se inocularon realizando 2 punturas en el fondo y estrías, se incubaron durante 24 horas a 37°C. Si se vuelve violeta después de la proliferación, la reacción es positiva y muestra LIA (+) esto por la descarboxilación del aminoácido lisina, la lectura es K/K (Laura, 2017).
- **Reacción en Indol:** La colonia se inoculó en caldo de peptona, prontamente se incubó durante 48 horas a 37°C, acontecido el tiempo se agregaron 1-2 gotas del reactivo de Kovac y se prestó atención a la reacción cuando se produjo la creación de indol en la superficie del medio. Se forma un anillo rojizo y se califica como reacción positiva. Las muestras positivas con la identificación de *E. coli*, se comparan en las tablas de Hoskin para determinar la carga bacteriana (Laura, 2017).

VARIABLES ANALIZADAS

- Variable Independiente

Ensaladas de lechuga, cebolla y tomate



- Variable Dependiente

Carga bacteriana de *Escherichia coli* en NMP/g

3.4.2. Metodología para determinar la bacteria *Salmonella sp.* en hortalizas

Fundamento

Así, el método se basa en admitir un reducido número de *Salmonellas* normales o afectadas para que puedan desarrollarse por primera vez en un medio no líquido selectivo a 37 °C (pre - enriquecimiento). Por lo cual también se desarrolla en este medio y a esta temperatura otras bacterias, así que se sigue subcultivando el medio pre - enriquecido a un medio selectivo líquido (enriquecido) que se incuba a una temperatura de 42 a 43 °C, por último, se inocula en un medio sólido, selectivo y diferencial, es decir, fueron examinadas después de la incubación a 37°C para observar colonias que, como resultado de sus propiedades, puede considerarse como *Salmonella* (Laura, 2017).

Procedimiento

Homogeneización del alimento, se pesó 25 gr de muestra en una balanza digital, posteriormente se trituró en un mortero estéril.

a) Fase de Pre-enriquecimiento

El alimento triturado se cultivó en caldo lactosado 90ml. contenido en un recipiente de vidrio estéril, luego se homogeneizó y se incubó a una temperatura de 37° durante 24 horas.



b) Fase de enriquecimiento:

Se vertió del anterior cultivo, tubos de caldo Tetratonato y caldo Selenito contenido 10ml, luego se homogeneizo y se llevó a cultivar a temperatura de 42 °C y se incubo durante 48 horas.

c) Versión en placas

Transcurrido el tiempo se cultivó con el asa de platino y se realizó siembra por agotamiento del agar Salmonella Shigella (SS) y en agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD). Se incubó durante 24 horas a 37°C. Trascurrido el tiempo, se reconocieron las placas Petri sembradas, para identificar si contiene colonias típicas de Salmonella (incoloras, transparentes con un punto negro en el medio).

Identificación bioquímica en medios diferenciales

Se optaron cinco colonias propias de *Salmonella sp.*, y se sembró en estría sobre la placa o tubos de agar nutriente, se incuban a 37 °C por 24 horas. Las colonias apartadas en agar nutriente se inoculan en los siguientes medios diferenciales:

- **Agar triple hierro azúcar (TSI):** Con el asa en vértice se cargó una colonia y se realizó una punción en la base realizando estrías sobre la superficie inclinada del agar, luego se incubaron durante 24 a 48 horas a 37 °C.
- **Agar lisina hierro (LIA):** De igual manera se inoculó una colonia, realizando 2 punzadas al fondo y estrías en la superficie del medio inclinado, después se incubo a 37 °C. durante 24 horas.



- **Citrato de Simmons:** Se inoculó en un tubo que contenía el medio citrato solo realizando una estría superficial y se incubó durante 48 horas a 37°C. Prontamente se examinó para demostrar el crecimiento de la bacteria y el cambio de color del medio de verde a azul, lo que indica el uso de citrato como fuente de carbono.
- **Medio de Indol:** Se inoculó la colonia en el medio para indol y se incubó a 37 °C. durante 24 horas, se añadió 1ml del reactivo de kovac. La presencia de un anillo rojo da la indicación de una reacción positiva.

Variables analizadas

- Variable Independiente
Ensalada de cebolla, lechuga y tomate.
- Variable Dependiente
Presencia de *Salmonella sp.*

3.4.3. Prueba bioestadística de datos, para determinar la carga microbiana de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*

Se evaluó la carga bacteriana de *Escherichia coli* y la presencia de *Salmonella sp.*, en hortalizas, considerando el siguiente análisis estadístico:

Prueba Estadística

Mann Whitney

La prueba de Mann-Whitney es una prueba no paramétrica que se maneja para contrastar dos grupos independientes cuando los datos no cumplen con los supuestos de normalidad.



$$Z = \frac{U \frac{n_1 n_2}{2}}{\sqrt{\left(\frac{n_1 n_2}{N(N-1)}\right) \left(\frac{N^2 - N}{12} - \sum T\right)}}$$

$$T = \frac{t^3 - t}{12}$$

U = valores estadísticos de U Mann-Whitney

n_1 = tamaño de la muestra del grupo 1

n_2 = tamaño de la muestra del grupo 2

\sum = sumatoria de los rangos

3.4.4. Calidad microbiológica de ensaladas frescas de consumo popular que se expenden en los mercados de Bellavista y Laykakota.

Diseño de muestreo

Se consolidó los resultados de cada uno de los análisis microbiológicos realizados de las ensaladas frescas (lechuga, tomate y cebolla) en los puestos de comida de los mercados de Bellavista y Laykakota de la ciudad de Puno.

VARIABLES ANALIZADAS

- Variable Independiente

Carga microbiana de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*

- Variable Dependiente

Calidad microbiológica (buena o mala calidad/apta para el consumo o inadecuado para el consumo).

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de la carga microbiana de *Escherichia coli* en ensaladas frescas de comida que se expenden en los mercados de Bellavista y Laykakota de la ciudad de Puno.

Tabla 4

Frecuencia de carga microbiana (NMP/g) de Escherichia coli determinadas en ensaladas frescas que se expenden en el Mercado de Bellavista de la ciudad de Puno – 2023.

MERCADO	BELLAVISTA
Puestos de venta	<i>E. coli</i> NMP/g
P1	1×10^3
P2	3×10^3
P3	9×10^3
P4	3×10^4
P5	6×10^2
\bar{x}	1×10^4

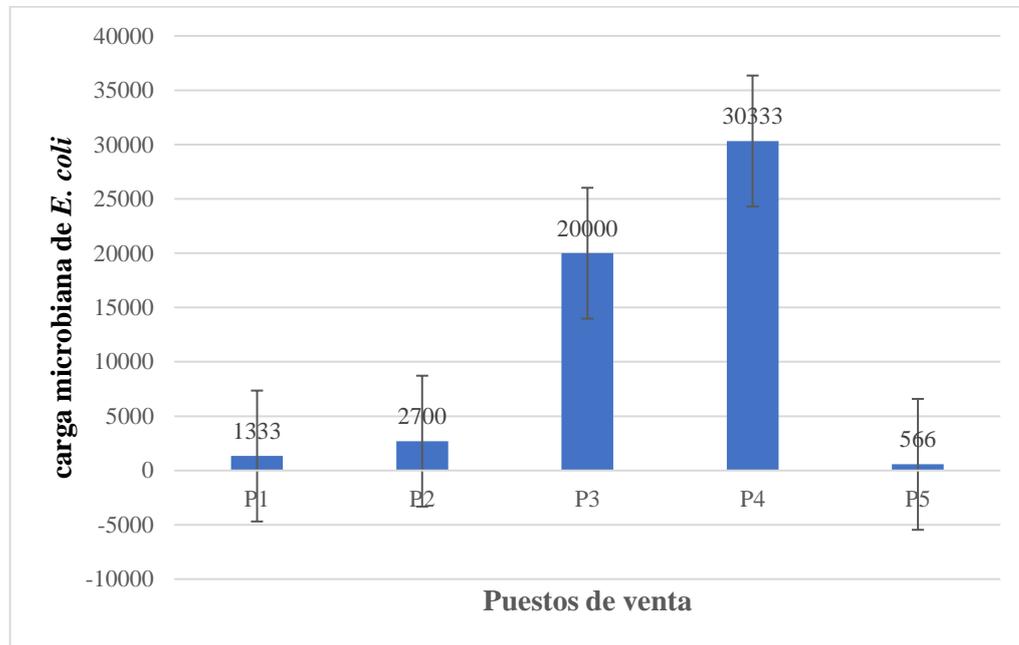
Nota: P (Puesto de comida) \bar{x} (Promedio) NMP (Numero Mas Probable)

Fuente: Elaboración propia

Los resultados del análisis de la carga bacteriana de *Escherichia coli* en ensaladas frescas en NMP/g, comercializados en el mercado Bellavista muestran los promedios de 3 repeticiones por puesto de venta, para el P1: 1×10^3 UFC/g; P2: 3×10^3 UFC/g; P3: 9×10^3 UFC/g; P4: 3×10^4 UFC/g y P5: 6×10^2 UFC/g en promedio general la carga bacteriana para los 5 puestos de comida de ensaladas es de 1×10^4 UFC/g, obteniendo un valor elevado en el P4: 3×10^4 UFC/g. y el menor valor en el P5: 6×10^2 UFC/g.

Figura 1

Promedios de recuentos de la carga microbiana de *E. coli* – mercado Bellavista



Nota: P (Puesto de comida) \bar{x} (Promedio)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4 y Figura 1, muestran los resultados del análisis microbiológico realizados en ensaladas frescas constituido por cebolla, tomate y lechuga que acompañan las comidas diversas; que se expenden en puestos de comida del mercado Bellavista se analizaron 5 muestras con 3 repeticiones por puesto de venta, que hacen un total de 15 muestras (ANEXO 2).

Considerando la normatividad de MINSA, (2008) relacionada a la mínima presencia de *Escherichia coli* (límite /g de 10^2) y máxima (límite /g de 10^3) de carga microbiológica y por ende a la calidad higiénica de hortalizas frescas, se encontró que los puestos 3 y 4 presentaron una carga microbiana que excede el límite máximo permisible, mientras que el P1 y P5 presenta una carga dentro del rango de aceptación como se observa en la Figura 1 y Tabla 4.



Resultados obtenidos en el trabajo son similares a los obtenidos por Avalos y Santacruz, (2009) quienes al analizar una muestra de ensaladas frescas que se comercializan en los establecimientos de comida rápida hallaron *Escherichia coli* y *Proteus spp*, microorganismos patógenos que dañan la fisiología de quienes consuman estos alimentos; por otra parte Delgado et al., (2018) refuerza lo hallado en la presente investigación, ya que, al identificar la calidad microbiológica de ensaladas crudas expandidas en puestos de comidas al paso, encontraron coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en número incontable; por otro lado, también presentaron las muestras un 13 % de *Salmonella*. La presencia de estos dos especímenes microbióticos son un riesgo para la salud del ser humano.

Con los resultados encontrados en los puestos de venta mencionados del mercado de Bellavista, que tiene un promedio de 1×10^4 se observa un riesgo para la salud pública, por cuanto la presencia en más de ellos es considerada como contaminación, y precursores de la presencia de las ETAs.

La existencia de *E. coli* en un suministro no establece un indicador de la presencia directa de un patógeno, según Campos et al. (2003), simplemente indica algún riesgo de que pueda existir. Dado que es un huésped permanente en los intestinos de mamíferos de sangre caliente, se considera como un indicador de que la comida haya estado en contacto con heces. Su desventaja es que vive insuficiente tiempo fuera del intestino, por lo que su existencia en los suministros indica contaminación reciente de heces. Una gran cantidad de esta bacteria en los alimentos indica una impureza y un almacenamiento insuficiente. Así como lo menciona Zamora & Barbosa, (2019) la adecuada manipulación de los alimentos, desde que se producen hasta que se consumen, incide directamente sobre la salud de la población. Está confirmada la relación entre una impropia manipulación de los suministros y los padecimientos transmitidos a través de estos. A diferencia de lo

que muchos creen, según Torres et al. (2018), Tener buena salud no necesariamente es la carencia de enfermedades, sino que debe una persona debe mantenerse en buena salud física, tener un estado mental activo y poder socializar con su entorno. Proporcionarles suministros saludables es fundamental para evitar que enfermen al comerlos, pero también para alimentarse adecuadamente.

El medio más eficaz para prevenir tales padecimientos son las medidas higiénicas, porque en la totalidad de los casos el cuidador intercede como intermediario en el contagio de los suministros debido a acciones inadecuadas.

Tabla 5

Frecuencia de carga microbiana de Escherichia coli determinadas en ensaladas frescas que se expenden en el Mercado de Laykakota de la ciudad de Puno – 2023.

MERCADO	LAYKAKOTA
Puestos de venta	<i>E. coli</i> NMP/g
P1	6×10^2
P2	7×10^4
P3	3×10^4
P4	2×10^3
P5	1×10^3
\bar{x}	2×10^4

Nota: P (Puesto de comida), \bar{x} (Promedio)

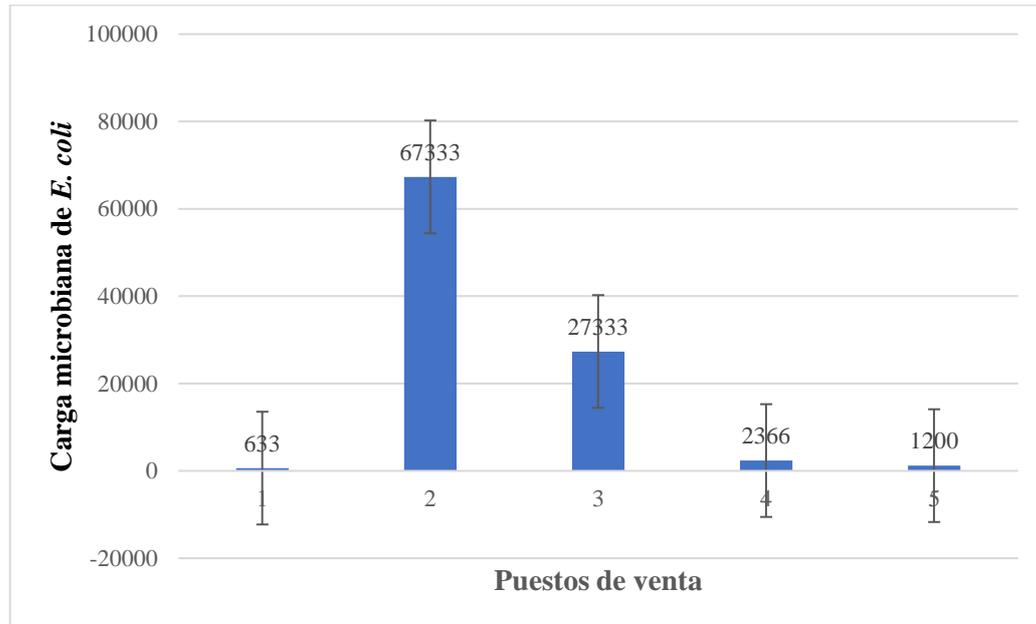
Fuente: Elaboración propia

Los resultados del análisis de la carga bacteriana de *Escherichia coli* para las ensaladas frescas procedentes del mercado Laykakota muestran los promedios de 3 repeticiones por puestos de venta, para el P1: 6×10^2 UFC/g, P2: 7×10^4 UFC/g, P3: 3×10^4 UFC/g, P4: 2×10^3 UFC/g y por último el P5: 1×10^3 UFC/g en promedio la carga

bacteriana para *E. coli* es de 2×10^4 UFC/g, obteniendo un valor elevado en el P2: 7×10^4 UFC/g y el menor valor en el P1: 6×10^2 UFC/g.

Figura 2

Promedio del recuento de la carga microbiana de E. coli – mercado Laykakota



Nota: P (Puesto de comida) \bar{x} (Promedio)

Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos y presentados en la Tabla 5 y Figura 2, muestran que los puestos de expendio de ensalada fresca del mercado de Laykakota presentaron productos alimenticios de consumo humano con carga microbiana diversa, información que se comparó con la normativa de la DIGESA para diagnosticar la calidad higiénica de hortalizas frescas.

Observando que las ensaladas del P2 presentaban el valor de 7×10^4 UFC/g. de *Escherichia coli* y del P3 se encontró 3×10^4 NMP/g; ambos presentan valores altos; los P1 y P5 dieron como resultado valores que se encuentran en el rango de aceptación como se observa en la Tabla 5 y Figura 2; sin embargo, según los criterios microbiológicos que



establece la Norma Sanitaria (NTS N°071-MINSA- DIGESA-V.1) el P2, P3 y P4 exceden el máximo permisible (límite /g de 10^2) y máxima (límite /g de 10^3).

Los resultados, del presente trabajo son similares a los realizados por Rassi y Rollán, (2018) al evaluar la calidad microbiológica estudiando los parámetros profilácticos y de calidad a través de la determinación de cepas de *Escherichia coli* como marcador microbiológico de verduras de hoja cruda, los resultados expresaron que el 65.0 % de las muestras estaban contaminadas con la bacteria *Escherichia coli*, con UFC/g muy por encima de los estándares mínimos del Código Alimentario Argentino.

Arosquipa, (2014) realizó una investigación para evaluar la calidad microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico en comedores, encontró que el 29.41% de la muestra tenían *Escherichia coli* y el 76% superaba la presencia de coliformes totales; en el estudio de Soberon, (2017) sobre de la calidad microbiana de ensaladas expandidas en pollerías, en la cual también corroboró que la presencia de *Escherichia coli* en las hortalizas le daban la característica de patogenicidad, no apta para el consumo humano.

Los antecedentes y los efectos encontrados en la actual investigación, expresan tácitamente que las muestras de hortalizas son inseguras para el consumo del hombre, siendo de riesgo para la salud pública, más aún considerando que son productos de cotidiano consumo.

La *Escherichia coli*, es un patógeno, que su presencia en el organismo altera la fisiología del sistema digestivo, llevando a una morbilidad a la población en general y hasta a una mortalidad en el caso de los niños.

En el análisis conjugado de la Tabla 4 y Tabla 5, se observa que los valores del P3: 9×10^3 UFC/g y el P4: 3×10^4 UFC/g correspondiente al mercado de Bellavista y el P2:



7×10^4 UFC/g y el P3: 3×10^4 UFC/g pertenecientes al mercado Laykakota, se concluye que el mayor riesgo de salud pública son los valores altos, que se encuentran por encima de los estándares de aceptación según la Norma Sanitaria (NTS N°071-MINSA-DIGESA-V.1).

Además, si se considera los promedios de esos resultados por mercado, es notorio que el de Laykakota tiene los valores más críticos de contaminación y salubridad de productos alimenticios de consumo cotidiano por el poblador, en este caso de consumo de hortalizas: tomate, lechuga y cebolla.

Si bien se ha observado que la maniobra de los suministros tiene un papel importante y significativo en la calidad finalizada de un producto, también puede verse afectada por otros factores, como la mala disposición de los residuos, la mala limpieza de las herramientas utilizadas para picar las ensaladas, la acumulación. el desperdicio de alimentos, que crea un ambiente favorable para la llegada de vectores como moscas y roedores; Los resultados también muestran un manejo inadecuado de las hortalizas durante su procesamiento por parte de los trabajadores que las preparan, Delgado et al. (2018), es uno de los principales focos de contaminación y por ello es importante seguir evaluando estos establecimientos para determinar con mayor precisión el alcance del problema, ya que esta venta ambulante ha aumentado en nuestra región. sin ningún control sanitario que pueda poner en peligro la salud de los residentes. Según Zamora & Barbosa, (2019) los minoristas se capacitan en el adecuado manejo de suministros saludables a través de revisión bibliográfica que son válidos para llegar a la necesidad de suscitar su uso, respetando la higiene de los alimentos. procesar y elevar el nivel de seguridad y así prevenir enfermedades transmitidas por alimentos; promover el uso de terapias alternativas para algunas de las enfermedades crónicas que afectan a la humanidad.

Tabla 6

Frecuencia de Escherichia coli según límites permisibles en ensaladas frescas que se expenden en el mercado Bellavista en la ciudad de Puno 2023.

Mercado	Puestos de venta	Mínimo permisible (n)		Máximo permisible (M)	
		Nº	%	Nº	%
Bellavista	1	0	0.0	3	20.0
	2	0	0.0	3	20.0
	3	0	0.0	3	20.0
	4	0	0.0	3	20.0
	5	0	0.0	3	20.0
Total		0	0.0	15	100.0

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 6, demuestra los resultados, según la Norma Sanitaria (NTS N°071-MINSA- DIGESA-V.1) en cuanto a los límites m o M de la bacteria *Escherichia coli* de las muestras de ensalada fresca de los diferentes puestos de venta del mercado Bellavista; encontramos que ningún puesto expende ensaladas que tengan un límite permisible de esta bacteria, sin embargo, considerando las repeticiones de análisis encontramos que el total de las preparaciones están cerca al límite máximo permisible. El resultado es de gran preocupación, por cuanto la presencia elevada del microorganismo es reflejo de contaminación, mala manipulación, lavado con agua contaminada, almacenamiento deplorable y demás causales, pero los efectos en la salud humana del consumidor son críticos.

Al respecto Flores, (2019) realizó una investigación para establecer la contaminación microbiológica por *Escherichia coli* en naranjas y tomates en la ciudad de Puno y Juliaca, encontrando que los niveles de *Escherichia coli* en estos productos fueron

superiores a lo considerado aceptable por la norma sanitaria, siendo el 100% de las muestras contaminadas. Resultados concomitantes al presente estudio.

El riesgo en salud pública de la presencia de este microorganismo por encima de los niveles de permisividad es crítico, muy en especial para el grupo vulnerable infantil, por cuanto se aloja en el sistema digestivo generando daños en el tejido interno y ocasionando diarrea, deshidratación, cólico, pudiendo llegar a la mortandad.

Tabla 7

Frecuencia de Escherichia coli según límites permisibles en ensaladas frescas que se expenden en el mercado Laykakota en la ciudad de Puno 2023.

Mercado	Puestos de venta	Mínimo permisible (n)		Máximo permisible (M)	
		Nº	%	Nº	%
Laykakota	1	0	0.0	3	20.0
	2	0	0.0	3	20.0
	3	0	0.0	3	20.0
	4	0	0.0	3	20.0
	5	0	0.0	3	20.0
Total		0	0.0	15	100.0

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 7, encontramos que de acuerdo a la Norma Sanitaria (NTS N°071-MINSA- DIGESA-V.1), y realizado el análisis de las ensaladas para encontrar valores límites mínimos de permisibilidad, ninguno de los puestos de venta del mercado de Laykakota, tuvieron esos valores, muy al contrario los resultados tienden hacia el límite máximo permisible de carga microbiana, en otras palabras la tendencia a que sean productos no aptos para el consumo humano y si se diera el caso de ser consumidos se presentaría disfunciones en el organismo.

Resultados preocupantes determinados en las ensaladas que es parte de las preparaciones culinarias que se expende todos los días, y de los consumidores que frecuentan los mercados es la importancia que la importancia de las buenas prácticas de higiene (BPH), teniendo en cuenta todas las prácticas que se relacionan con las condiciones y procedimientos para garantizar la inocuidad de los suministros en cada una de las etapas en la cadena alimentaria.

Tabla 8

Calidad microbiológica de ensaladas frescas componentes de menús que se expenden en puestos de comida de los mercados de Bellavista y Laykakota, Puno 2023.

Puestos de venta	MERCADOS	
	BELLAVISTA	LAYKAKOTA
	<i>E. coli</i> NMP/g	
P1	1x10 ³	6x10 ²
P2	3x10 ³	7x10 ⁴
P3	9x10 ³	3x10 ⁴
P4	3x10 ⁴	2x10 ³
P5	6x10 ²	1x10 ³
\bar{x}	1x10 ⁴	2x10 ⁴

Nota: P (Puesto de venta), \bar{x} (Promedio) NMP (Numero Mas Probable)

Fuente: Elaboración propia

La prueba de Shapiro-Wilk para la variable carga microbiana arrojó un estadístico de 0.662 con un valor de significancia (p) de 0.000, esta derivación sugiere que los datos no siguen una distribución normal.

Por lo que se optó por la prueba de Mann-Whitney para realizar la comparación con los límites máximos permisibles si son mayores o menores a 1x10³ según la Norma Sanitaria (NTS N°071-MINSA- DIGESA-V.1) el máximo permisible (límite /g de 10²) y máxima (límite /g de 10³).



La hipótesis planteada indica que la calidad microbiológica de las ensaladas frescas trasferidas en los mercados de Bellavista y Laykakota en el distrito de Puno supera los límites permisibles de presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* confirmado por el valor de $p < 0.05$ ($p = 0.000$), lo que indica una diferencia estadísticamente significativa en la carga microbiana entre los dos grupos definidos por los límites máximos permisibles. El estadístico Z de -4.611 refuerza esta conclusión al señalar que la mediana de la carga microbiana en el grupo asociado con los límites máximos permisibles es significativamente más baja que en el otro grupo.

En términos prácticos, esto sugiere que las ensaladas frescas en relación a los mercados asociados con valores mayores a 1×10^3 tienen una carga microbiana que excede los límites permitidos. Los límites establecidos para *Escherichia coli* y *Salmonella sp* están siendo superados, lo que plantea preocupaciones sobre la seguridad microbiológica de estas ensaladas y su impacto en la salud pública.

Estos resultados subrayan la necesidad de abordar y mejorar los estándares de seguridad alimentaria en los puestos de los mercados de Bellavista y Laykakota para garantizar la calidad microbiológica de las ensaladas ofrecidas y proteger la salud de los consumidores.

Sobre esto, Rodríguez, (2005) estudio la calidad microbiológica de ensaladas, encontrando microorganismos como *Echerichia coli*, *Salmonella*; considerando que la presencia de este último es reflejo de la falta de higiene; al igual que el estudio de Taipe, (2019) donde el 68% tenía *Escherichia coli* por encima del rango aceptable. Por el contrario en el trabajo de Farfán, (2010) se encontró que 14 son seguros para el consumo humano y 4 no lo son por superar los umbrales de seguridad. Mientras que 5 quioscos han alcanzado un nivel adecuado de saneamiento.



Asimismo, Flores, (2019) realizó una investigación para determinar la contaminación microbiológica por *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en naranjas y tomates en la ciudad de Puno y Juliaca, se encontró que los niveles de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en las ciudades de Puno y Juliaca sobrepasan los límites permisibles de la calidad de un alimento con presencia de contaminación de origen fecal, formando un peligro para la salud del consumidor; estos productos fueron superiores a lo considerado aceptable por la norma sanitaria.

Según la OPS, (2022) Los contaminantes ocurren durante el procesamiento de alimentos y se definen como agentes biológicos o químicos, sustancias extrañas u otras sustancias no agregadas intencionalmente que pueden afectar su seguridad o idoneidad. La contaminación se refiere a la entrada de un contaminante en los suministros o en el entorno alimentario. Pero Zamora & Barbosa, (2019) en su artículo da a entender que el suministro descompuesto es aquel que contiene bacterias, parásitos, hongos, virus; o toxinas procedentes de microorganismos. Los alimentos asimismo pueden estar contaminados por sustancias desconocidas (tierra, pelos, etc) o aditivos químicos. Por ello es preferible tener el alimento refrigerado ya que una mala refrigeración así como lo establece Fernández et al. (2021), Los suministros que pretenden un procesamiento importante durante su elaboración y luego se almacenan a altas temperaturas, como en los países tropicales, pueden causar intoxicación. Corroborando sobre la manipulación Flores, (2019) indica que Su manipulación convierte a este tipo de suministros en un potencial portador de microbios patógenos que pueden perturbar la salud de la población. Además, en el mercado circulan constantemente animales domésticos abandonados (perros), porque transmiten patógenos y multiplican microorganismos que alteran la calidad del producto comercializado.

4.2. Determinación de la carga microbiana de *Salmonella sp.* en ensaladas frescas de comida que se expenden en los mercados de Bellavista y Laykakota de la ciudad de Puno.

Tabla 9

Frecuencia de la presencia de Salmonella sp. en ensaladas crudas procedentes del mercado de Bellavista de la ciudad de Puno - 2023.

Puestos de venta	N° de Muestras	Mercado	
		Bellavista	
		N°	%
1	3	0	0.0
2	3	0	0.0
3	3	1	50.0
4	3	1	50.0
5	3	0	0.0
Total	15	2	100.0

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 9, nos indica que las cinco muestras obtenidas y sometidas a 3 repeticiones de exámenes, sólo 2 denotaron la presencia de *Salmonella sp.*, los 13 que completan la muestra se caracterizaron por no presentar la bacteria. Indudablemente es una tranquilidad estos resultados frente a los anteriores, en las que si se encontraron valores muy por encima de los estándares de la Norma Sanitaria (NTS N°071-MINSA-DIGESA-V.1).

Concerniente a esto, Delgado et al. (2018), estudio la calidad microbiológica de ensaladas crudas, encontrando microorganismos entre ellos *Salmonella* lo cual se detectó en 4 (13.3%) muestras; considerando que la presencia de este es reflejo de la falta de higiene por lo tanto no son aptas para el consumo humano. Sin embargo en el trabajo de Flores, (2019) quien realizó una investigación para determinar la contaminación

microbiológica por patógenos de lo cual la presencia de *Salmonella sp.* fue en un 70% en naranjas y tomates en la ciudad de Puno y Juliaca, se encontró que los niveles de estos microorganismos que superan los límites permisibles de calidad de alimentos y presentando contaminación de origen fecal, esto constituye un peligro para la salud del consumidor.

Tabla 10

Frecuencia de la presencia de Salmonella sp. en ensaladas crudas procedentes del mercado de Laykakota de la ciudad de Puno - 2023

Puestos de venta	N° de Muestras	Mercado	
		Laykakota	
		N°	%
1	3	0	0.0
2	3	1	50.0
3	3	1	50.0
4	3	0	0.0
5	3	0	0.0
Total	15	2	100.0

Fuente: Elaboración propia

De los resultados de la investigación, encontramos valores que se encuentran por encima de la normativa, y se consideran un riesgo para la salud pública, en la presente tabla se observa que dos puestos se caracterizan por presentar a *Salmonella sp.*

Gentili et al. (2017), en su investigación también encontró que el 7% de la muestra de estudio presentaron *Samonella sp.* corroborando con los estudios de Delgado et al. (2018), encontraron que el 13.3% de la muestra presentaban *Salmonella sp.*, mientras que otras especies como la *Echerichia coli* presentaron un número incontable, concluyendo



que la preparación culinaria con estas ensaladas es de riesgo por la carga microbiana presente y la patogenicidad.

Peligrosamente altos son los resultados del recuento microbiano de los mercados Bellavista y Laykakota que superan las normas de calidad aceptable y son una amenaza para la salud pública. En el estudio de Vargas, (2019), se estiman que 250 son los agentes patógenos causantes de las ETA de los cuales serían; bacterias, virus, parásitos o algunas sustancias químicas, siendo los principales: *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.*, *Bacillus cereus* y *Vibrio cholerae*, considerados como aquellos agentes clásicos, y bacterias emergentes los cuales serían *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.*, y *Yersinia sp.*

La infección por *Salmonella* (salmonelosis) es un padecimiento bacteriano común que perturba los intestinos. La bacteria *Salmonella* se interna en los intestinos de animales y humanos por ello se trasfiere a través de las heces. La forma más habitual de infección en humanos es a través de agua y/o alimentos contaminados.

Se evidenció que los alimentos con ensaladas es el alimento fuente de mayor contaminación por *Salmonella sp.* lo cual coincide con una revisión sistemática realizada de brotes en el año 2012 y con otros estudios como los del laboratorio Nacional de Referencia de *Salmonella* y *Shigella* de España y el trabajo de Forero et al. (2017), en donde se encontró una fuerte asociación entre consumo de pollo con ensalada e infecciones alimentarias especialmente por *Salmonella spp.*, aunque la prevalencia bacteria es muy baja comparada con estos estudios, la sola presencia de este microorganismo en los alimentos de comedores, es un importante hallazgo y pone en riesgo la salud personas quienes son los comensales, además que se relaciona con el incumplimiento de buenas prácticas de manufactura.

4.3. Calidad microbiológica de ensaladas frescas de consumo popular establecidos en la Norma Sanitaria del MINSA.

Tabla 11

Calidad microbiológica de las ensaladas frescas de comida que se expenden en los mercados de la ciudad de Puno en base a lo permisible y rechazable.

Mercados	Muestras/ Repeticiones	<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella sp.</i>		Total	
		Máximo permisible	%	Rechazable	%	%	
Bellavista	15	13	44.12	2	5.88	15	50.0
Laykakota	15	13	44.12	2	5.88	15	50.0
Total		26	88.24	4	11.76	30	100.0

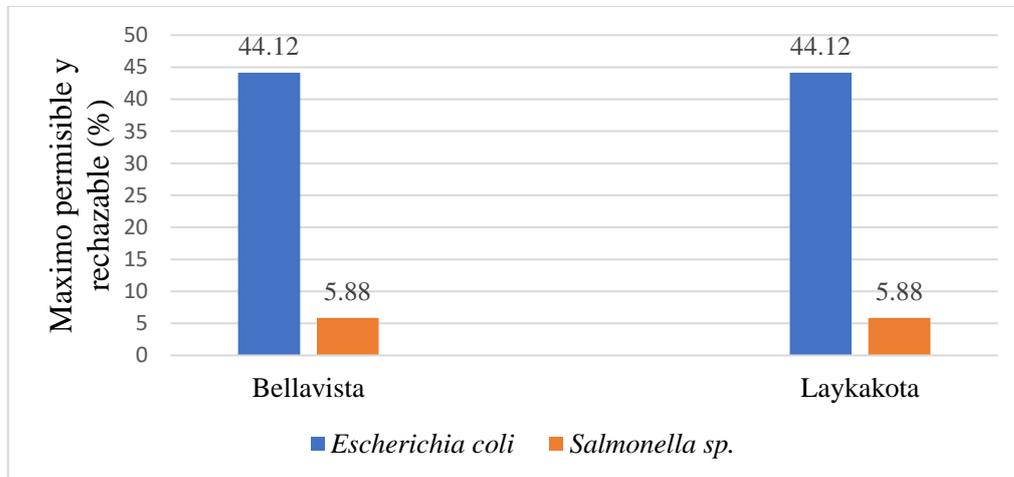
Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 11 se tiene datos que denotan la presencia de microorganismos en las muestras estudiadas, en el mercado de Bellavista y Laykakota se encontró un máximo permisible de presencia de *Escherichia coli* en un número de 13 repeticiones para cada uno de los mercados siendo (88.24%) y 4 muestras rechazables (11.76%) por la presencia de *Salmonella sp.* en ambos mercados, lo que significa que las ensaladas en base a hortalizas: cebolla, lechuga y tomate no son apto al consumo humano (DIGESA, 2003).

En el estudio de Soberon, (2017), demostró que el 96,39% (80) de las muestras de ensaladas eran “no aptas” para el consumo humano corroborando con los resultados del estudio realizado; demostrando un elevado porcentaje de ensaladas frescas que se expenden en puestos de comida es “no apto” para el consumo humano, y un porcentaje significativo está contaminado con microbios patógenos, lo que constituye un riesgo para la salud de los comensales.

Figura 3

Calidad microbiológica en máximo permisible y rechazable de *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en los mercados de Bellavista y Laykakota 2023.



Fuente: Elaboración propia

En relación a la presencia de *Salmonella sp.*, en la investigación, nos informa cuantificaciones en número de 2 repeticiones de análisis de muestras para cada mercado, siendo un total de 4 repeticiones rechazables, expresados en no apto para el consumo humano (DIGESA, 2003).

Indudablemente, lo expresado anteriormente en la Figura 3, se centra en los límites de permisibilidad de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, siendo el intervalo de aceptación entre el límite mínimo permisible por gramo de muestra de 10^2 con el límite máximo permisible por gramo de muestra de 10^3 ; el porcentaje de 88.24% siendo el total del máximo permisible de *Escherichia coli* en ambos mercados y siendo rechazable el 11.76% de microorganismos de *Salmonella sp* en el mercado Bellavista así como en el mercado Laykakota lo cual en el rango de valores que se expresa como los parámetros de calidad serian rechazables para el consumo humano.

Se piensa que la calidad microbiológica de los suministros proporcionados en los mercados de Bellavista y Laykakota es inaceptable y debe mejorarse; sin embargo, La



dificultad es que uno de los factores más significativos que afectan la calidad, los trabajadores informales, cambia constantemente, lo que dificulta la capacitación constante de nuevas personas involucradas en cocinar y servir alimentos.

Los límites microbianos que se mantienen para los suministros en este tipo de instituciones podrían ser un comienzo para mantener una calidad microbiológica adecuada, sin poner en riesgo al usuario desde el lado de la salud pública. Según De Curtis et al. (2016), estos casos dependen de la persona que esta a cargo de la supervisión ya que administra los métodos en la cadena de producción y servicio. Por ello, pensamos urgente en establecer límites que proporcionen a los usuarios la salubridad de servir alimentos de calidad, para evitar enfermedades alimentarias tolerables, que recientemente se han convertido en una dificultad de la salud pública a nivel nacional y regional. También es necesario que se observen los controles microbiológicos de la calidad de los alimentos en las empresas y la vigilancia epidemiológica de ETA; por esta razón, Vera & Martínez, (2000) sugirieron que, luego del lavado con hipoclorito de sodio, se observaba una reducción en el número de microorganismos. Con este estilo de trabajo se obtienen alimentos con un alto margen de seguridad, incluso por encima de los estándares establecidos por las normas de higiene microbiológica.

Dado que en estas empresas no se siguió la implementación del sistema HACCP, es necesario gestionar este conocimiento en el servicio de alimentos y elaborar diagramas de flujo del proceso productivo, definiendo puntos críticos de control si es necesario. es más fácil actuar inmediatamente para mejorar las situaciones; Se necesitan inspectores bien capacitados. Esto puede complementarse con formación, educación y sensibilización del trabajador participante y poder realizar evaluaciones periódicas.



V. CONCLUSIONES

- La carga microbiana de *Escherichia coli* en ensaladas frescas para el mercado Bellavista tuvo un promedio general de 1×10^4 UFC/g, mientras que las ensaladas procedentes del mercado Laykakota tuvieron un promedio de 2×10^4 UFC/g siendo significativamente mayor en este último mercado ($Z = -4.611$, $p = 0.000$) excediendo los límites máximos permitidos.
- Se determinó la carga microbiana de *Salmonella sp.* en las ensaladas frescas, donde su presencia en los 2 puestos de venta por cada mercado sugiere que no sea apto para el consumo humano.
- Considerando la normatividad de DIGESA de permisibilidad de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, siendo el intervalo de aceptación entre el límite mínimo permisible por gramo de muestra es de 10^2 , se encontró que el 88.24% cae dentro del límite máximo permisible de *Escherichia coli* y un 11.76% para *Salmonella sp* indica que la calidad sanitaria de las ensaladas fresca es crítica en su mayoría.



VI. RECOMENDACIONES

- Alertar a la DIRESA para un mejor control sanitario de los puestos de comida que se comercializan en los mercados de la ciudad de Puno.
- Realizar muestreos de diversos alimentos que se expenden en forma ambulatória, en puestos de venta de comida.
- Continuar con el estudio de microbiológico de diversos alimentos crudos y/o cocidos que se expenden a los consumidores.
- Ampliar el estudio determinado de microorganismos patógenos.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ábalos, C. (2005). Adhesión bacteriana a biomateriales. *Avances En Odontoestomatología*, 21(1), 347–353. <https://doi.org/10.4321/s0213-12852005000100003>
- Arias, A. (2003). La gestión de la calidad: Conceptos Básicos. In *Facultad de Ciencias de la Educación* (Vol. 10, Issue 9, pp. 640–641). [https://doi.org/10.1016/s1134-2072\(03\)76026-5](https://doi.org/10.1016/s1134-2072(03)76026-5)
- Arosquipa, P. (2014). *Calidad Microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el programa de complementación alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna]. <https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/171/6/727.xml>
- Avalos, C., & Santacruz, F. (2009). *Determinacion de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del Distrito Dos de la zona Metropolitana de San Salvador* [Tesis de pregrado, Universidad de el Salvador]. <http://ri.ues.edu.sv/2539/1/16101513.pdf>
- Banco Mundial. (2018). Las enfermedades transmitidas por los alimentos cuestan USD 110 000 millones al año a los países de ingreso bajo e ingreso mediano. In *COMUNICADO DE PRENSA N.º 2019/072/AGR*. <https://doi.org/10.1596/978-1-4648-1345-0>
- Campos, J., Rodriguez, C., Sierra, A., & Arias, A. (2003). Estudio Microbiológico de las comidas servidas en los comedores escolares de la Isla de Tenerife. *Revista Española de Salud Pública*, 77(6), 749–760.
- Carrillo, L., & Audisio, M. (2007). Manual de Microbiología de los Alimentos. In *Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias* (1st ed.).
- Castro, J., Rojas, M., Noguera, Y., Santos, E., Zúñiga, A., & Gómez, C. (2006). Calidad sanitaria de ensaladas de verduras crudas , listas para su consumo. *Alfa Editores Técnicos*, 1(1), 9–21. https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_MicroAlim/Javier_Castro/15.pdf



- Cubillos, M., & Rozo, D. (2009). El concepto de calidad: Historia, evolución e importancia para la competitividad. *Revista Universidad de La Salle*, 0(48), 80–99. <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1170&context=ruls>
- De Curtis, M., Franceschi, O., & De Castro, N. (2016). Determinacion de la calidad microbiologica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 50(2), 9.
- Delgado, A., Sandrea, L., Bonfini, G., Higuera, Y., Avila, Y., & Valero, K. (2018). Calidad microbiológica de ensaladas crudas que se expenden en puestos ambulantes de comida rápida de la ciudad de Maracaibo-Venezuela. *Kasmera*, 46(2), 116–126. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1008103>
- DIF. (2015). Gestión de Calidad: concepto, características de productos de calidad para la alimentación saludable. *Secretaria de Salud, DIF Nacional*, 260. http://sitios.dif.gob.mx/dgadc/wp-content/uploads/2015/02/GuiaAseguramientoCalidadAlimentaria_2015.pdf
- DIGESA. (2003). Norma sanitaria que establece los Criterios Microbiologicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo Humano. *Ministerio de Salud de La República Del Perú*, 24. http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf
- Durango, J., Arrieta, G., & Mattar, S. (2004). Presencia de Salmonella spp. en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública. *Biomédica*, 24(1), 89. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i1.1252>
- FAO. (2011). Prevención de la E.coli en los alimentos. *El Marco de Gestión de Crisis Para La Cadena Alimentaria (FCC)*, 4–13. http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
- Farfan, F. (2010). *Condiciones sanitarias y presencia de Escherichia coll en lechugas (Lactuca sativa) de emparedados, exp kioscos de la Universidad Nacional del Altiplano Puno - Perú, 2010* [Tesis de grado, Universidad Nacional del Altiplano Puno]. https://biblioteca.unap.edu.pe/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=63652
- Fernández, S., Bu, J., Chavez, V., & Montoya, H. (2021). Enfermedades transmitidas por



- Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284–2298. https://doi.org/10.37811/cl_rem.v5i2.433
- Flores, E. (2019). *Contaminación microbiológica por Escherichia coli y Salmonella sp. en Citrus sinensis (naranja) y Solanum lycopersicum (tomate) en las ciudades de Puno y Juliaca, 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano de Puno].
http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11666/Flores_Aduviri_Erika.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Forero, Y., Galindo, M., & Ramirez, G. (2017). Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia. *Rev Chil Nutr*, 44(4), 8.
- Frazier, W., & Westhoff, D. (1993). *Microbiología de los Alimentos* (ACRIBIA, S).
- Gentili, A., Marzocca, M., Oriani, A., & Baldini, M. (2017). Calidad bacteriológica de ensaladas de zanahoria rallada y eficacia de tratamientos previos a su consumo.pdf. *Revista de Salud Pública y Nutrición*, 16(1), 7.
<https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/25/25>
- Herrera, J. (2011). *Introducción a la Calidad Capítulo 1 Contenido de Módulo. 1:32*.
- Jawetz, E., Melnick, J., & Adelberg, E. (2010). *Microbiología médica (25a. ed.)*.
- Jiménez, F. (2014). El filtro de cocina: Como factor de riesgo en la contaminación cruzada de los alimentos. *Revista Electronica de Veterinaria*, 15(5), 54–59.
- Laura, E. (2017). *Métodos de Análisis Microbiológico de los Alimentos* (Mayvar Imp). 1 edición.
- López, A. (2015). *Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. Del campo al mercado* (p. 50).
- Louise, P. (2018). La nutrición y los sistemas alimentarios. *Informe Del Grupo de Alto Nivel de Expertos En Seguridad Alimentaria y Nutrición Del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial, Roma*, 172.
<http://www.fao.org/3/I7846ES/i7846es.pdf%0Ahttp://www.fao.org/cfs/cfs-hlpe/informes/es/>



- MINSA. (2008). *Normas Legales. NTS N° 071-MINSA/DIGESA V.01 “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”* (p. 26). Diario Oficial El Peruano.
- MINSA. (2021). *Manual de buenas practicas de manipulación de alimentos* (p. 58).
- Narváez, C., Parra, K., Huerta, N., Rodas, A., & De Moreno, L. (2015). Aislamiento de Salmonella y Escherichia coli patógenas durante el procesamiento de hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 15(6), 551–559.
- Organización Mundial de la Salud. (2010). La financiación de los sistemas de salud. In R. E. y G. H. David B. Evans (Ed.), *OMS* (Ediciones, Vol. 12, Issue 1). https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44373/9789243564029_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *Inocuidad de los alimentos* (pp. 1–7). <https://www.bancomundial.org/es/news/feature/2019/11/18/alimentos-seguros-desarrollo-latinoamerica>
- Organización Panamericana de la Salud. (2022). Día Mundial de la Inocuidad de los Alimentos 2022. In *Organización Mundial de la Salud* (p. 8). <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-inocuidad-alimentos-2022>
- Orozco, L., Garay, L., & Torres, R. (2014). *Investigaciones en Inocuidad de Alimentos*. <http://www.nber.org/papers/w16019>
- Ortega, S., & Hernández, E. (2018). Microbial biofilms and their impact on medical areas: Physiopathology, diagnosis and treatment. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 75(2), 79–88. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.M18000012>
- Rassi, M., & Rollán, R. (2018). *Evaluación de la calidad microbiológica de verduras de hoja cruda, procesadas y envasadas* (p. 1). Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Católica de Córdoba. Córdoba, Argentina. https://pa.bibdigital.ucc.edu.ar/1613/2/P_Rassi_Rollan.pdf
- Rodríguez, A. (2005). *Determinación de Escherichia coli en ensaladas a base de lechuga preparadas en restaurantes de comida rápida* [Tesis de pregrado, Universidad de



- San Carlos de Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/tesis/QF901.pdf>
- Rodriguez, A. (2013). *Administracion de la Calidad*. Universidad Autonoma de Chihuahua.
- Rojas, I. (2017). *Calidad Microbiologica en Tres Hortalizas Producidas en el Estado de Mexico* [Tesis de pregrado, Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/65583>
- Romero, R. (2018). *Microbiologia y parasitología humana: bases etiologicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (4ta ed.).
- Soberon, J. (2017). *Calidad microbiana y listeria monocytogenes en ensaladas expandidas en pollerías del distrito de los Olivos – Lima , Perú* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6208/Soberon_aj.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Taipe, C. (2019). *Calidad Microbiologica de ensaladas elaboradas en pollerías del Centro Poblado las Americas - Abancay* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac]. https://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/891/T_0557.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Torres, J., Voisier, A., Berríos, I., Pitto, N., & Agüero, S. (2018). Conocimiento y aplicación en prácticas higiénicas en la elaboración de alimentos y auto-reporte de intoxicaciones alimentarias en hogares chilenos. *Revista Chilena de Infectología*, 35(5), 483–489. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000500483>
- Vargas, E. (2019). Las enfermedades transmitidas por alimentos: un grave problema de salud pública. *Boletín Epidemiológico del Perú. Boletín Epidemiológico Del Perú*, 28(08), 191. <https://www.dge.gob.pe/>
- Vera, A., & Martinez, T. (2000). Mejora higiénica en la línea de elaboración de ensaladas en comedores colectivos. *Area Nutricion y Bromatologia, Campus de Espinardo, Universidad de Murcia, Apdo. 4021, 16(3–14)*, 13. <https://revistas.um.es/analesvet/article/view/16361/15771>



Zambrano, M., & Suárez, L. (2016). Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad. *Universitas Odontológica*, 25(57), 19–25. <https://www.redalyc.org/pdf/2312/231220955004.pdf>

Zamora, I., & Barbosa, Y. (2019). Los riesgos de manipulación de los alimentos funcionales y su importancia para la salud. *Correo Científico Médico de Holguín*, 23(3), 1–20. <https://orcid.org/0000-0002-4258-5495>

ANEXOS

ANEXO 1: Valores de Numero Mas Probable

Tabla 12

Primera repetición del ensayo para la determinación de Escherichia coli.

NMP para <i>Escherichia coli</i>					
Mercado	Número de Puestos	Placas			Lectura del cuadro
		01:10	100	1000	
BELLAVISTA	P1	1	1	1	11
	P2	3	0	0	23
	P3	3	2	2	210
	P4	3	3	1	460
	P5	1	0	0	4
Promedio					141.6
LAYKAKOTA	P1	1	1	0	3
	P2	3	3	1	460
	P3	3	2	1	150
	P4	3	0	0	23
	P5	2	0	1	14
Promedio					130

Nota: Primera repetición que se realizó de acuerdo a la tabla del Número Mas Probable en placas.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 13

Segunda repetición del ensayo para la determinación de Escherichia coli.

NMP para <i>Escherichia coli</i>					
Mercado	Número de Puestos	Placas			Lectura del cuadro
		01:10	100	1000	
BELLAVISTA	P1	2	0	1	14
	P2	3	0	1	30
	P3	3	3	0	240
	P4	3	2	2	210
	P5	2	0	0	9
Promedio					100.6
LAYKAKOTA	P1	2	0	0	9
	P2	3	3	2	1100
	P3	3	2	2	210
	P4	3	2	1	28
	P5	2	2	0	11
Promedio					271.6

Nota: Segunda repetición que se realizó de acuerdo a la tabla del Número Mas Probable en placas.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 14

Tercera repetición del ensayo para la determinación de Escherichia coli.

NMP para <i>Escherichia coli</i>					
Mercado	Número de Puestos	Placas			Lectura del cuadro
		01:10	100	1000	
BELLAVISTA	P1	2	1	0	15
	P2	3	2	1	28
	P3	3	2	1	150
	P4	3	3	0	240
	P5	1	0	0	4
Promedio					87.4
LAYKAKOTA	P1	1	1	0	7
	P2	3	3	0	240
	P3	3	3	1	460
	P4	2	1	1	20
	P5	1	1	1	11
Promedio					147.6

Nota: Tercera repetición que se realizó de acuerdo a la tabla del Número Mas Probable en placas.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 2: Número de repeticiones y el promedio en NMP.

Tabla 15

Numero Mas Probable del recuento de E. coli en el mercado Bellavista.

MERCADO BELLAVISTA				
Nº de Puesto	Nº de Repetición	\bar{x}	NMP	
1	1º	110	133.33	1333.33
	2º	140		
	3º	150		
2	1º	230	270	2700
	2º	300		
	3º	280		
3	1º	2100	2000	8633.33
	2º	2400		
	3º	1500		
4	1º	4600	3033.33	30333.33
	2º	2100		
	3º	2400		
5	1º	40	56.67	566.67
	2º	90		
	3º	40		

Nota: NMP (Numero Mas Probable), \bar{x} (Promedio)

Fuente: Elaboración propia



Tabla 16

Numero Mas Probable del recuento de E. coli en el mercado Laykakota.

MERCADO LAYKAKOTA			
N° de Puesto	N° de Repetición	\bar{x}	NMP
1	1°	30	63.33
	2°	90	
	3°	70	
2	1°	4600	6733
	2°	11000	
	3°	4600	
3	1°	1500	2733.33
	2°	2100	
	3°	4600	
4	1°	230	236.67
	2°	280	
	3°	200	
5	1°	140	120.00
	2°	110	
	3°	110	

Nota: NMP (Numero Mas Probable), \bar{x} (Promedio)

Fuente: Elaboración propia



ANEXO 3: Pruebas estadísticas

Tabla 17

Prueba estadística Mann Whitney y análisis de normalidad

Estadísticos de prueba

	Carga Microbiana
U de Mann-Whitney	0,000
W de Wilcoxon	171,000
Z	-4,611
Sig. asintótica(bilateral)	0,000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,000 ^b

Nota:

a. Variable de agrupación: Límites Máximos Permisibles

b. No corregido para empates

Pruebas de normalidad

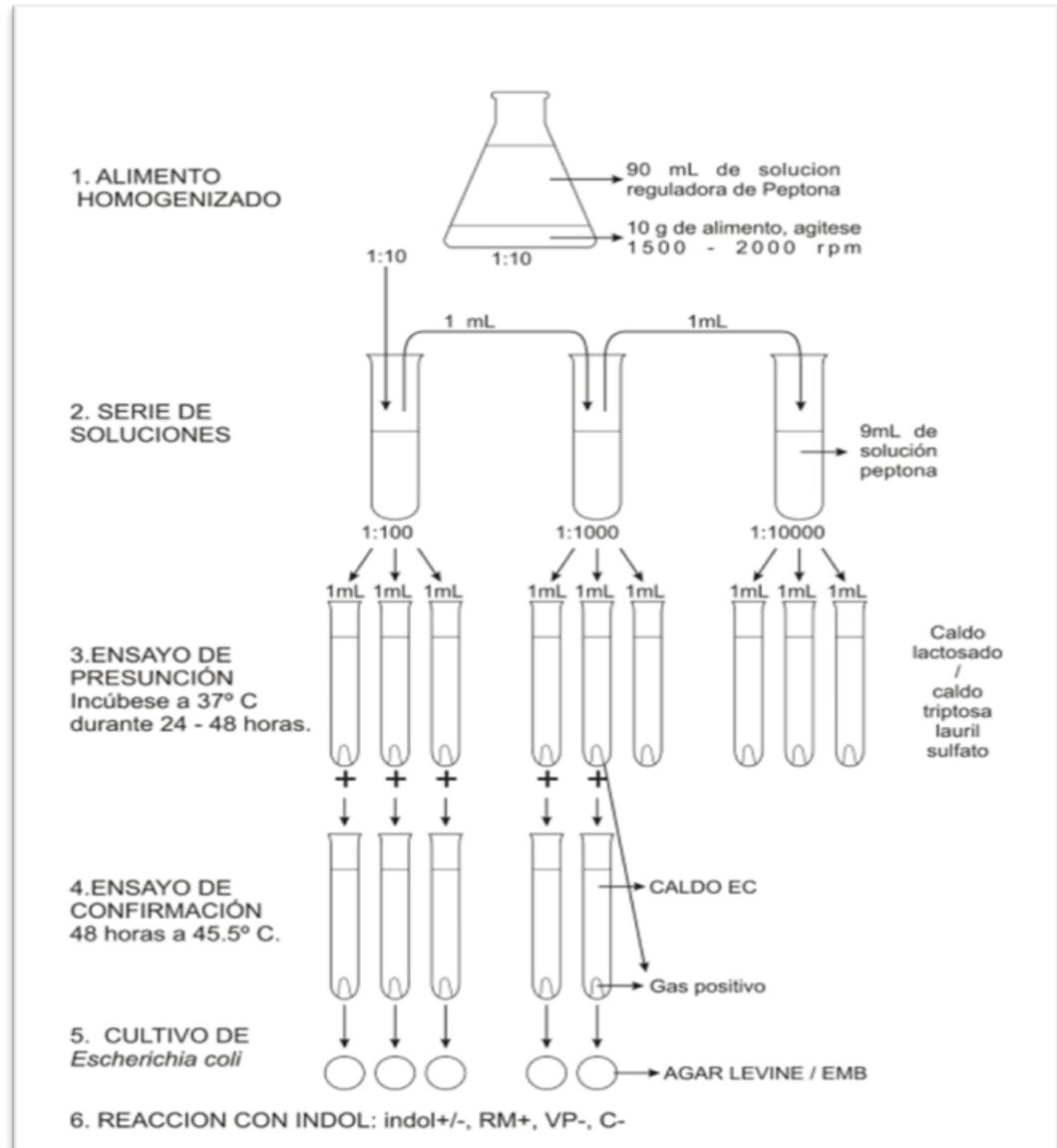
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Carga	0,295	30	0,000	0,662	30	0,000
Microbiana						

Nota: Corrección de significación de Lilliefors

ANEXO 4: NUMERO MAS PROBABLE DE *Escherichia coli* (NMP)

Figura 4

Diagrama para la determinación de Escherichia coli

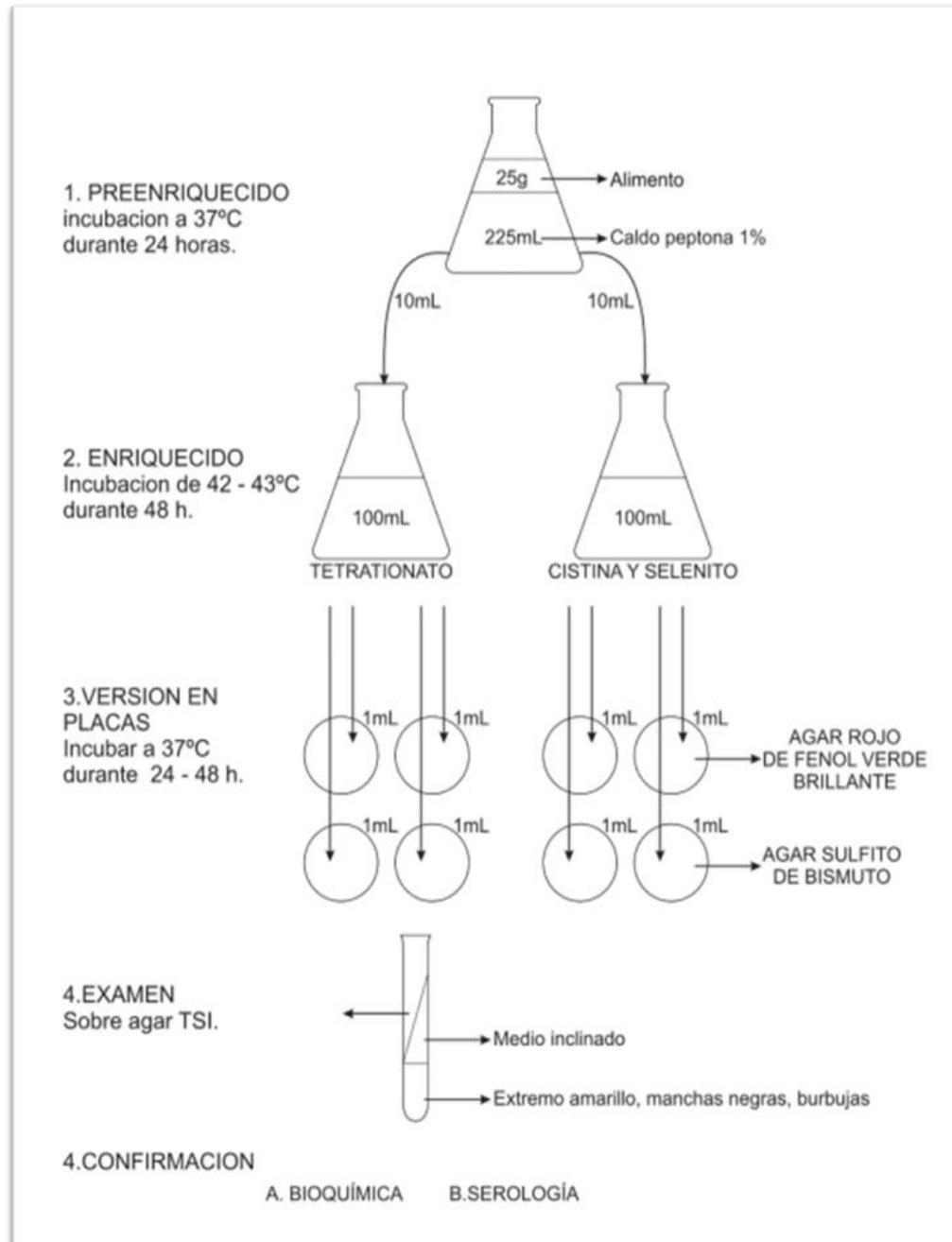


Fuente: Laura, (2017).

ANEXO 5: Investigación de *Salmonella*

Figura 5

Homogeneización y dilución del alimento



Fuente: Laura, (2017).

ANEXO 6: Número Mas Probable para series de diluciones.

Figura 6

Índice del Número Mas Probable (NMP) y límites de confianza cuando se realizan 3 tubos

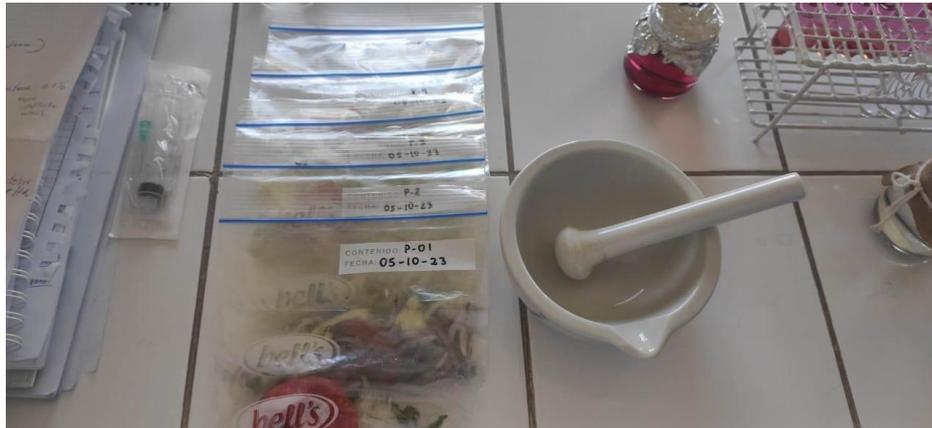
Número de tubos positivos		NMP por gramo o mL		Índice de confianza 95%	
0	1:100	1:1000	1:10	Inferior	Superior
0	0	0	<3	<0.5	9
0	0	1	3	<0.5	13
1	1	0	3	<0.5	20
1	0	0	4	1	21
1	0	1	7	1	23
1	1	0	7	3	36
1	1	1	11	3	36
2	2	0	11	1	36
2	0	0	9	3	37
2	0	1	14	3	44
2	1	0	15	7	51
2	1	1	20	4	60
2	2	0	21	10	100
3	2	1	28	4	120
3	0	0	23	7	130
3	0	1	30	15	380
3	0	2	64	7	210
3	1	0	43	14	230
3	1	1	55	30	380
3	1	2	100	15	380
3	2	0	95	30	440
3	2	1	150	25	470
3	2	2	210	36	1300
3	3	0	240	71	2400
3	3	1	460	150	4800
3	3	2	1100		
3	3	3	>2400		

Fuente: Laura, (2017).

ANEXO 7: Panel fotográfico de la Investigación.

Figura 7

Muestras de ensaladas crudas procedentes de los puestos de comida del mercado Bellavista.



Fuente: Elaboración propia

Figura 8

Muestras de ensaladas crudas procedentes de los puestos de comida del mercado Laykakota.



Fuente: Elaboración propia

Figura 9

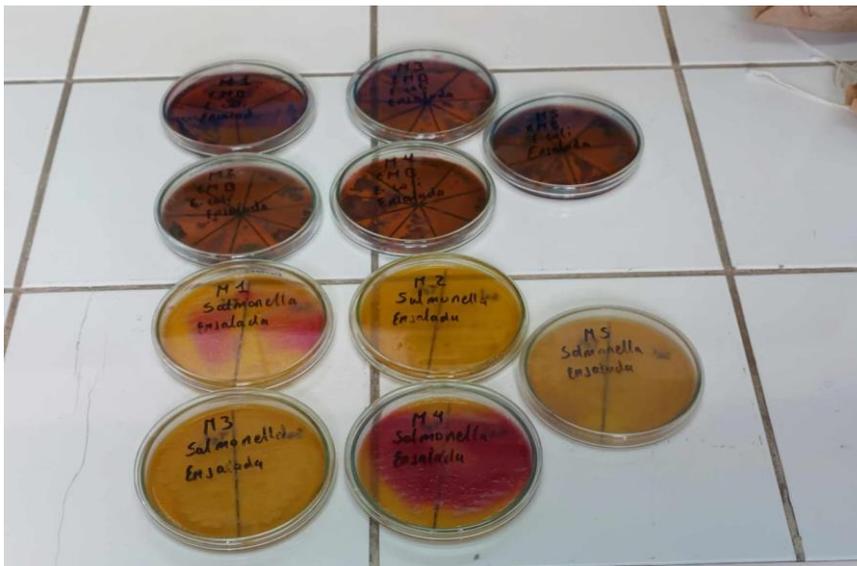
Serie de diluciones en caldo Tetracionato.



Fuente: Elaboración propia

Figura 10

Crecimiento de colonias para recuento de Escherichia coli en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) y Salmonella sp. en Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).



Fuente: Elaboración propia

Figura 11

Pruebas bioquímicas para la confirmación de Salmonella sp.



Fuente: Elaboración propia

Figura 12

Recuento de Escherichia coli.



Fuente: Elaboración propia

Figura 13

Escherichia coli en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)



Fuente: Elaboración propia

Figura 14

Salmonella sp. en Agar Salmonella Shigella (SS).



Fuente: Elaboración propia



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS



CONSTANCIA

LA JEFE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO (UNA) PUNO

HACE CONSTAR:

Que la Srta. **BACHILLER WENDY ALEXANDRA HANCO HUANCA**, egresada de la Facultad de Ciencias Biológicas, Especialidad Microbiología y Laboratorio Clínico ha realizado su trabajo de investigación motivo de tesis, titulado: **CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENSALADAS FRESCAS COMPONENTES DE MENÚ QUE SE EXPENDEN EN PUESTOS DE COMIDA DE LOS MERCADOS DE BELLAVISTA Y LAYKAKOTA, PUNO 2023**; ejecutando el trabajo experimental en el laboratorio de Microbiología de Alimentos durante los meses Octubre, Noviembre y Diciembre del año 2023; desempeñándose con responsabilidad, dedicación y puntualidad.

Se expide el presente a solicitud de la interesada y para los fines convenientes.

Puno, 04 de Enero de 2024.


Sc. Eva Ladra Chauca
JEFE DE LABORATORIO
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Wendy Alexandra Hanco Huanca identificado con DNI 74390427 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

De Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Calidad microbiológica de ensaladas frescas componentes de menús que se expenden en puestos de comida de los mercados de Bellavista y Laykakota ”

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 29 de enero del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Wendy Alexandra Hanco Huanca,
identificado con DNI 74390427 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
De Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Calidad Microbiológica de ensaladas frescas
componentes de menús que se expenden en puestos de
comida de los mercados de Bellavista y Laykakota ”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 29 de enero del 2024



FIRMA (obligatoria)



Huella