

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“EVALUACIÓN BACTERIANA EN UTENSILIOS Y MANOS DE
LOS EXPENDEDORES DE CARNE DE RES EN MERCADOS DE
LA CIUDAD - PUNO 2018”.**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. JACQUELINE ESTEFANY AZA SUAÑA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

“EVALUACIÓN BACTERIANA EN UTENSILIOS Y MANOS DE LOS EXPENDEDORES
DE CARNE DE RES EN MERCADOS DE LA CIUDAD - PUNO 2018”.

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. JACQUELINE ESTEFANY AZA SUAÑA

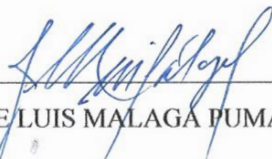
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE:


M.Sc. JOSE LUIS MALAGA PUMARICA

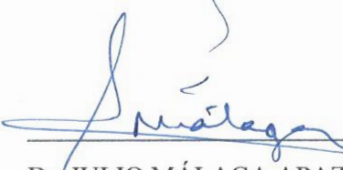
PRIMER MIEMBRO:


MVZ. CIRIACO TEODORO ZUÑIGA ZUÑIGA

SEGUNDO MIEMBRO:


M.Sc. NUBIA LILIA CATACORA FLORES

DIRECTOR / ASESOR:


Dr. JULIO MÁLAGA APAZA

Área : Salud publica

Tema : Evaluación bacteriana en utensilios y manos de los expendedores de carne

FECHA DE SUSTENTACION: 14 de Junio del 2019

DEDICATORIA

De manera muy especial dedico este trabajo a mis queridos padres, por darme ejemplos dignos de superación y perseverancia, porque en gran parte gracias a ellos, hoy puedo ver alcanzado mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera.

AGRADECIMIENTO

- A mi alma mater, Universidad Nacional del Altiplano Puno, Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, por las enseñanzas recibidas mediante sólidos conocimientos, formación científica y humana; impartidos por ilustres maestros de quienes estoy eternamente agradecido por su dedicación y ejemplo de superación.
- Mi gratitud al Dr. Julio Malaga Apaza; Mg. Oscar Oros Butrón, por su acertada y valiosa dirección en la ejecución del presente trabajo de investigación.
- A los miembros del jurado por la revisión y aporte con su experiencia, conocimiento, enseñanza y consejos acertados durante el desarrollo y evaluación del estudio.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	9
RESUMEN	10
ABSTRACT.....	11
I. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Objetivos de la Investigación	13
1.1.1. Objetivo general	13
1.1.2. Objetivos específicos.....	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	14
2.1. MARCO TEORICO	14
2.1.1. MICROORGANISMOS INDICADORES	14
2.1.1.1. Biopelícula o biofilm.....	14
2.1.1.2. Biofilms en superficies vivas	14
2.1.1.3. Biofilms en superficies inerte	15
2.1.2. Microorganismos de peligro que generan riesgos para la salud de los consumidores.....	15
2.1.3. Coliformes.....	17
2.1.3.1. Coliformes totales	18
2.1.3.2. Coliformes fecales.....	19
2.1.4. <i>Escherichia coli</i>	19
2.1.4.2. Enfermedades causadas por E. Coli.....	21
2.1.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.1.5.1. Enfermedades causadas por <i>Staphylococcus aureus</i>	29
2.1.6. Factores que favorecen la reproducción de bacterias	31
2.1.7. Enfermedades transmitidas por bacterias	32
2.1.8. Factores determinantes de las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA)	33
2.1.9. Tipos de medios de cultivo	34
2.1.9.1. Agar Eosina Azul de metileno EMB.....	35
2.1.9.2. Agar Standard Methods Standard Methods o Placa de agar recuento PCA ..	35
2.1.9.3. Agar Manitol.....	35
2.1.9.4. Agua de peptona	36

2.1.10. Clasificación de los alimentos por el riesgo	36
2.1.11. Clasificación de los alimentos peligrosos	37
2.1.12. Normas Alimentarias.	37
2.1.13. Importancia Del Control Higiénico En Las Superficies Alimentarias.....	39
2.1.13.1. Higiene en los expendios de carnes.....	39
2.1.13.2. Condiciones de los materiales	41
2.1.13.3. Condiciones de los manipuladores	42
2.1.14. Límites Microbiológicos	43
2.1.15. Higiene y manipulación de la carne	43
2.1.15.1. Recomendaciones de consumo	44
2.1.16. Manejo higiénico de los alimentos y utilización del agua	45
2.17. Procedimiento para el análisis e interpretación de datos	46
2.17.1. Cálculo superficies regulares	46
2.17.2. Cálculo Superficies Irregulares	46
2.18. Expresión de resultados	46
2.2. REPORTE.	47
2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	47
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	56
III. MATERIALES Y MÉTODOS	71
3.4. METODOLOGÍA	73
3.4.1. Procedimiento de la toma de muestras	73
3.4.2. Diseño de investigación	74
3.4.3. Descripción de métodos por objetivos específicos	74
ii. <i>Método del lavado o enjuague de manos</i>	75
3.4.4. Procedimiento para la siembra de muestras.	77
3.4.5. Método microbiológico para coliformes totales.....	77
3.4.6. Método microbiológico para <i>Staphylococcus aureus</i>	78
3.5. Método estadístico	78
4.1. Cuantificación de coliformes totales en superficies inertes <i>E. Coli</i> UFC/cm ²	79
4.2. <i>Evaluación de contaminación de Staphylococcus aureus en superficies inerte en</i> UFC/cm ²	86
VI. RECOMENDACIONES.....	94
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
ANEXOS.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resultados obtenidos de carga bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los expendedores de los mercados de la ciudad de Puno.	79
Figura 2. Carga Bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los puestos de carne rojas en mercados de Puno periodo octubre- Diciembre 2018.....	81
Figura 3. Interacción de la Carga bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018	84
Figura 4. Números y proporción de Staphylococcus aureus en puestos de carnes rojas en mercados de Puno.....	87
Figura 5. Carga bacteriana de Staphylococcus aureus en utensilios y manos de los puestos de carnes de los mercados de Puno periodo Octubre-Diciembre	89
Figura 6. Carga bacteriana de Staphylococcus sp en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Límites microbiológicos en superficies inertes.	43
Tabla 2: Distribución de muestras según los utensilios y mercados.....	71
Tabla 3: Carga bacteriana de E. Coli UFC/cm ² en puestos de expendio de carnes rojas según mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.	79
Tabla 4: Carga bacteriana de E. Coli en utensilios de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.	81
Tabla 5: Carga bacteriana de E. Coli en utensilios de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.	84
Tabla 6: Números y proporción de Staphylococcus aureus en puestos de carnes rojas en mercados de Puno.	86
Tabla 7: Carga bacteriana de Staphylococcus aureus en utensilios de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.....	88
Tabla 8: Carga bacteriana de Staphylococcus sp en utensilios de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.....	90

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

°C: Grados centígrados

APPCC: Análisis de peligros y Puntos Críticos de Control

BPM: Las Buenas Prácticas de Manufactura

DCA: Diseño Completamente al Azar

EMB: Eosin methylene blue

ETAs: Enfermedades Transmitidas por Alimentos

ET: Enterotoxinas

ETEC: Enterotoxigenica

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

I.C.M.S.F.: International Commission on Microbiological Specifications for Food

LT: Enterotoxina Termolábil

MERCOSUR: Mercado Común del Sur

FAO: Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR Reacción en cadena Polimerasa

pH: Potencial de hidrógeno

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

RESUMEN

El estudio se realizó en los puestos de venta de carnes de res en los mercados Central, Unión y Dignidad - Puno, entre setiembre a diciembre 2018, con el objetivo de determinar la contaminación bacteriana con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en los cuchillos, balanza, tabla de corte, superficie de mesa y las manos de los expendedores de carne. Para lo cual se obtuvo 50 muestras de los dos mercados, mediante la técnica del hisopado y la técnica de lavado de manos que fueron introducidos en tubos vacutainer, bolsas con cierre hermético que contenían agua peptonada debidamente rotulados y refrigerados para su transporte al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en donde se procesó empleando técnicas consideradas como indicadores de contaminación; recuento de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*. Posterior a la incubación y lectura de unidades formadoras de colonias UFC/cm² se hicieron pruebas confirmatorias de los microorganismos en agar Manitol, Eosina azul de metileno, la información obtenida fue analizada mediante el Diseño completamente al azar. Los resultados para *Escherichia coli* fueron de 329 UFC/cm² en los puestos de venta de carnes rojas del mercado Central y 133 UFC/cm² en Unión y Dignidad; mientras el *Staphylococcus aureus* reflejó 138 UFC/cm² y 122 UFC/cm² en Mercados Central y Unión y Dignidad, respectivamente ($P \leq 0.05$). En utensilios se observó la mayor carga bacteriana de 864 UFC de *E. Coli*/cm² en la mesa de expendio del Mercado Central; seguido en la tabla de cortar con 534 UFC de *E. Coli* /cm² del Mercado Unión y Dignidad. En cuanto a *Staphylococcus aureus*, las manos y las Mesas de expendio muestran la mayor carga de 146.6 y 141.1 UFC/cm², Los valores encontrados superan el límite permisible es < 1 ufc/cm² para *E. coli*.

PALABRAS CLAVES: Bacterias, carne res, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The study was conducted at the stalls selling beef in the Central, Union and Dignity markets - Puno, between September to December 2018, with the aim of determining bacterial contamination with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in knives, scales, cutting board, table surface and the hands of meat vendors. For which 50 samples were obtained from the two markets, using the swab technique and the hand washing technique that were introduced into vacutainer tubes, sealed bags containing peptonada water duly labeled and refrigerated for transport to the Microbiology laboratory. of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, where it was processed using techniques considered as indicators of contamination; count of *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. After incubation and reading of colony forming units CFU / cm², confirmatory tests of the microorganisms were made on agar Manitol, Eosin blue methylene, the information obtained was analyzed by Design completely random. The results for *Escherichia coli* were 329 CFU / cm² in the stalls selling red meat from the Central market; 133 CFU / cm² in the Union and Dignity Market; *Staphylococcus aureus* reflected 138 CFU / cm² and 122 CFU / cm² in Central Markets and Union and Dignity, respectively ($P \leq 0.05$); in utensils the highest bacterial load of 864 CFU of *E. coli* / cm² was observed in the Central Market dispensing table; followed in the cutting board with 534 CFU of *E. Coli* / cm² of the Union and Dignity Market. As for *Staphylococcus aureus*, the hands and the dispensing tables show the highest load of 146.6 and 141.1 CFU / cm². The values found exceed the permissible limit is < 1 cfu / cm² for *E. coli*.

KEYWORDS: Bacteria, beef, *E. coli* and *Staphylococcus aureus*,

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú la producción de carne es creciente, el producto cárnico está constituido por la producción de ganado vacuno, porcino, aves y los mataderos (industriales y municipales); en la comercialización de estos productos se realiza en carnicerías, supermercados, mercados, entre otros. Y cada vez incrementa la población e igualmente el consumo aumenta fuera de casa (restaurantes, comedores de empresas y kioscos escolares), y la mayor población tienen conocimiento sobre los alimentos que consumimos podrían causar algún tipo de malestar, conocidas como enfermedades transmitidas por alimentos ETAs (Food and Agricultural Organization, 2009).

Realmente no se sabe si estos alimentos han sido manipulados y preparados con la debida higiene; tampoco es de conocimiento si la tabla de cortar, los cuchillos, la mesa de expendio, la balanza y las manos de los expendedores se mantienen en condiciones higiénicas antes y durante la preparación, por eso es necesario e importante asegurar la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas de consumo humano en las diferentes etapas de la cadena alimentaria adquisición, transporte, recepción, almacenamiento, preparación y comercialización, con el fin primordial de evitar las enfermedades transmitidas por los alimentos (Doldán, 2010).

Desde un enfoque económico el problema de las enfermedades transmitidas por los alimentos no se limita al daño físico que causan, algunas ocasiones puede ser fatal, sino también el impacto socioeconómico negativo que conlleva implícitamente, por las pérdidas económicas que tiene el estado. Sin embargo, se tiene enfermedades transmitidas por alimentos que constituyen un problema de salud, diversos estudios demuestran la alta contaminación microbiológica de la carne *con E. Coli. y Staphylococcus aureus* que son patógenos de importancia en los alimentos y su presencia en estos es perjudicial para los consumidores. Cabe indicar que, por datos del Ministerio de Salud existe un aumento de

pacientes con cuadros clínicos de gastroenteritis de origen infecciosa, producto de las Enfermedades de Transmisión Alimentarias ETAS (Organización Mundial de Salud Animal, 2004).

Este trabajo de investigación se enfoca en puestos de expendio de alimentos de consumo inmediato de los mercados principales de la Ciudad de Puno, dada por su gran afluencia de personas nacionales como extranjeras, este trabajo pretende mostrar la situación higiénica de superficies y manipuladores en contacto con los alimentos y bebidas, mostrándolos desde un punto de vista microbiológico, para dicho fin, los objetivos son los siguientes.

1.1. Objetivos de la Investigación

1.1.1. Objetivo general

Determinar la contaminación bacteriana en utensilios y manos de los expendedores de venta de carne de res en los mercados de la ciudad de Puno

1.1.2. Objetivos específicos

Cuantificar coliformes totales en superficie de mesa, cuchillos, balanza, tabla de corte y las manos de los expendedores en puestos de venta de carne de res de los mercados Central y Unión dignidad de la ciudad de Puno.

Evaluar la contaminación de *Staphylococcus aureus* en superficie de mesa, cuchillos, balanza, tabla de corte y las manos de los expendedores en puestos de venta de carne de res de los mercados Central y Unión dignidad de la ciudad de Puno

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MARCO TEORICO

2.1.1. MICROORGANISMOS INDICADORES

Los microorganismos indicadores sirven para evaluar tanto la seguridad que ofrecen los alimentos en cuanto a microorganismos y sus toxinas, como su calidad microbiológica (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982).

Los microorganismos indicadores evaluados en este estudio y recomendados en la "Guía Técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas (MINSA., 2007).

2.1.1.1. Biopelícula o biofilm

Una biopelícula o biofilm es un ecosistema microbiano organizado, conformado por uno o varios microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, con características funcionales y estructuras complejas. Este tipo de conformación microbiana ocurre cuando las células planctónicas se adhieren a una superficie o sustrato, formando una comunidad, que se caracteriza por la excreción de una matriz extracelular adhesiva protectora (Lopreide, 2009).

2.1.1.2. Biofilms en superficies vivas

Las bacterias pueden adherirse a cualquier parte del cuerpo humano, solo basta con encontrar nutrientes de su preferencia en un lugar húmedo para adherirse. Los lugares más frecuentes donde se encuentra los biofilm en superficies vivas pueden ser: en la superficie de los dientes, manos, uñas, vagina de la mujer, etc. Los manipuladores de alimentos deben evitar hablar en el momento que manipulan los

alimentos, lavarse las manos constantemente y utilizar la ropa apropiada (Serrano-Granger & Herrera, 2005).

2.1.1.3. Biofilms en superficies inerte

Las bacterias son capaces de adherirse fuertemente a una gran variedad de materiales utilizados en la industria alimentaria, tales como: mesa, tabla, pisos, paredes, plástico, etc. Una vez adheridas, las bacterias se reproducen rápidamente y se vuelven muy difíciles de remover, formando una comunidad microbiana denominada "Biopelícula" o biofilm, afectando a los alimentos que están en contacto con ellas (Olave, 2001).

2.1.2. Microorganismos de peligro que generan riesgos para la salud de los consumidores

Los microorganismos correspondientes a las clases de criterios microbiológicos, se agrupan como:

GRUPO 1: Microorganismos que no implican riesgo para la salud, pero si la vida útil del producto.

- a. Mohos.*
- b. Levaduras.*
- c. Aerobios mesófilos.*
- d. Psicrotolerantes.*
- e. Heterótrofos.*
- f. Esporulados termófilos.*
- g. Lactobacillus*

GRUPO 2: Microorganismos de riesgo indirecto (indicadores).

- a. *Escherichia coli*.
- b. *Coniformes*.
- c. *Enterobacterias*.

GRUPO 3: Microorganismos de riesgo directo (patógenos).

Microorganismos de riesgo moderado, directo de diseminación limitada:

- a. *Staphylococcus aureus*.
- b. *Clostridium perfringes*.
- c. *Bacillus cereus*.
- d. *Pseudomonas aeruginosa*.
- e. *Campylobacter jejuni*.
- f. *Yersinia enterocolítica*.
- g. *Vibrio cholerae*.
- h. *Vibrio parahaemolyticus*.
- l. *Listeria monocytogenes*.

Microorganismos de riesgo para la salud moderado, directo de diseminación, posiblemente extensa:

- a. *Salmonella*.
- b. *Shigella*.
- c. *Escherichia colipatógeno*.

Microorganismos de riesgo para la salud grave directo:

- a. *Brucella*.
- b. *Clostridium botulinum*.
- c. *Clostridium perfringes*.
- d. *Shigella disenteriae*.
- e. *Vibrio cholerae*.
- f. *Virus de la hepatitis*.
- g. *E. coli enterohemorrágico*.
- h. *Salmonella Typhi*.
- i. *Salmonella paratyphi* (Flores, 2009).

2.1.3. Coliformes

El grupo de microorganismos llamados coliformes pertenecen a la Familia Enterobacteriaceae. Estos microorganismos son de forma bacilar, Gram negativos, aerobios y anaeróbicos facultativos, no forman esporas y fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 35°C dentro de 48 horas. A este grupo pertenecen bacterias del género: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* y *klebsiella*. Las dos fuentes principales de coliformes son los desechos humanos y animales y el ambiente. Los coliformes fecales fermentan lactosa con producción de ácido y gas en 24 horas a temperaturas 44,5°C (Larrea Murrell, Rojas Badía, Romeu Álvarez, Rojas Hernández, & Heydrich Pérez, 2013).

2.1.3.1. Coliformes totales

Son Gram negativas capaces de crecer y fermentar la lactosa a temperaturas de 44-45.5 oC a las 48 horas de incubación con producción de gas, este grupo no incluye una especie determinada; sin embargo, la más prominente es la *Escherichia coli.*) (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982)

Coliforme significa con forma de *coli*, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la *Escherichia coli*. El grupo Coliformes agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

1. Ser aerobias o anaerobias facultativas.
2. Ser bacilos gram positivos.
3. Ser oxidasa negativa.
4. No ser esporógenas.
5. Fermentar la lactosa a 35° C. en 48 hrs. Produciendo ácido láctico y gas.

Bacterias que forman el grupo:

1. *Escherichia*
2. *Klebsiella*
3. *Enterobacter*
4. *Citrobacter* (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982)

Los Coliformes totales son los que comprenden la totalidad del grupo y los Coliformes fecales, son aquellos de origen intestinal. Las cepas de Coliformes

totales y Coliformes fecales se encuentran en el suelo, alimentos, agua, polvo y principalmente en el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente. Estos organismos se transmiten por contacto con el agua y alimentos contaminados y falta de higiene (Sagnay, 2014)

2.1.3.2. Coliformes fecales

Se presentan normalmente en el intestino del hombre y los animales. Es natural suponer que su presencia en los alimentos indica reciente contaminación con heces (Sagnay, 2014)

2.1.4. *Escherichia coli*

Es un bacilo corto gram negativo que se encuentra clasificado dentro de la familia Enterobacteriaceae (Bacterias entéricas), existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales. Sin embargo, existen algunas cepas de *E. coli* patógenas que provocan enfermedades diarreicas. Estas se clasifican con base en las características que presentan sus factores de virulencia únicos, se sabe que sus propiedades de adherencia a las células epiteliales de los intestinos grueso y delgado son codificadas por genes situados en plásmidos. De manera similar las toxinas son mediadas por plásmidos o fagos. Este grupo de bacterias se encuentra constituido por las siguientes cepas: *E. Coli enterotoxigénica (ETEC)*, *E. Coli enteropatógena (EPEC)*, *E. Coli enterohemorrágica (EHEC)*, *E. coli enteroinvasiva (EIEC)*, *E. coli enteroagregativa (EAEC)*, *E. coli entero adherente difusa (DAEC)*. Existen otras cepas que no han sido perfectamente caracterizadas; de las cepas anteriores, las cuatro primeras están implicadas en intoxicaciones causadas por el consumo de aguas y alimentos contaminados (De Vinatea, 1990).

2.1.4.1. *Escherichia coli*, un microorganismo de importancia.

Escherichia coli fue descubierta en el año 1885, aislada por primera vez en heces de niños por el Pediatra de origen Alemán Theodore Von Escherich, quien denominó al microorganismo como: *Bacterium coli commune*. Años después Castellani y Chalmers en honor a su descubridor la nombraron: *Escherichia coli*, nombre con el que se conoce actualmente a esta bacteria. La primera cepa patógena se denominó *E. coli* enteropatógena clásica (EPEC Clásica). Hoy en día el grupo de serotipos patógenos causantes de enteritis es más amplio (Faleiro Naves, 2010).

El género *Escherichia* se encuentra formado por 5 especies las cuales son: *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* y *E. vulneris*, de las cuales la de importancia clínica es *E. coli*, por lo que los demás géneros son poco estudiados. Este género está formado por bacterias de morfología bacilar, sus formas jóvenes presentan formas cocobacilares, soportan temperaturas relativamente altas y toleran bastante bien los agentes del medio ambiente. *Escherichia coli* forma parte del microbiota normal de algunos animales, en el hombre es el aerobio más abundante, cada gramo de heces humanas pueden contener hasta 10⁸ bacterias de *E. coli* por lo que este microorganismo es un ideal indicador de la contaminación fecal de agua y alimentos. (Nataro JP, 2007, pág. 323)

La estructura celular de muchas se caracteriza por la posesión de fimbrias, así como de plásmidos en el citoplasma, los cuales son responsables de muchas actividades biológicas (adhesión, fermentación de azúcares, producción de colicina, hemolisina y enterotoxina y resistencia a los antibióticos, metales pesados y luz ultravioleta). 12 las cepas de esta bacteria son:

- a) *E. coli enterotoxigénica*
- b) *E. coli enteropatogénica*
- c) *E. coli enteroinvasiva*
- d) *E. coli enterohemorrágica*
- e) *E. coli enteroadherente o enteroagregativa* (Escribá, 2005).

2.1.4.2. Enfermedades causadas por E. Coli

El hábitat natural de este microorganismo es el intestino de los animales vertebrados. Los criterios microbiológicos que incluyen *E. coli* son de utilidad en casos en que se desea determinar contaminación fecal. La contaminación de un alimento con *E. coli* implica el riesgo de que puedan encontrarse en el mismo patógenos entéricos que constituyan un riesgo para la salud. Sin embargo, la ausencia de *E. coli* no asegura la ausencia de patógenos entéricos (ANMAT, 2014).

Escherichia coli es una causa emergente de enfermedad transmitida por los alimentos. La infección conduce a menudo a la diarreas, vómitos y cólicos, en algunos casos severo. La mayor parte de la enfermedad ha estado asociada por consumir carne de vacuno molida contaminada e insuficientemente cocinada. El contacto de una persona a otra, después de beber leche cruda, después de nadar o beber agua contaminada (Organización Mundial de Salud Animal, 2004).

2.1.4.3. Enfermedades causadas por E. Coli 0157

En la mayoría de los casos, la transmisión se efectúa por ingestión de alimentos descompuestos, crudos o contaminados, especialmente:

- Carne vacuna cruda o insuficientemente cocida, en el caso de una carne contaminada por contacto con materias fecales.

- Frutas y verduras frescas en caso que sean lavadas con agua contaminada.
- Zumos de fruta no pasterizados.
- Leche cruda.

Los consumidores pueden prevenir la infección con la *E. coli* O157:H7 cocinando bien la carne de vacuno picada, evitando la leche no pasteurizada y lavándose bien las manos.

Debido a que el organismo vive en los intestinos de ganado vacuno saludable, se están investigando medidas preventivas en los criaderos de vacuno y durante la elaboración de la carne (Organización Mundial de Salud Animal, 2004).

Escherichia coli es una bacteria que habita normalmente en el intestino de los animales de sangre caliente, incluyendo al humano. Por ser un habitante regular y normal del intestino se usa desde hace un siglo como “el mejor” indicador de contaminación del alimento con materia fecal. El serotipo O157:H7 pertenece a las *E. coli* enterohemorrágicas y enterotóxicas productoras de toxinas parecidas a *Shigella*. La presentación clínica de la enfermedad en las personas puede ser leve o severa y se caracteriza por diarrea acuosa usualmente con sangre, dolores abdominales severos, náuseas, vómitos, y ocasionalmente fiebre. La colitis hemorrágica puede derivar en una falla aguda del riñón o en Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) en el 5 % de los infectados, el cual puede derivar en la muerte (Favila Humara, 2011).

2.1.4.4. *Escherichia coli* enteropatógena – EPEC

(Romero Cabello, 2007 2009) Tiene distribución mundial, se relaciona con brotes de diarrea en guarderías y hospitales infantiles en el verano. En el intestino se adhiere de manera localizada a las células del epitelio, causando señales de

transducción asociadas con los cambios producidos por la adherencia íntima de la bacteria, entre los que se incluyen: disolución de la glicocálix con aplanamiento y destrucción de las microvellosidades intestinales, daño en el borde del cepillo y disminución de la absorción.

(Romero Cabello, 2007 2009) Hay dos tipos de cepas de *E. coli* enteropatógenos que causan enfermedad diarreica las EPEC típicas y las atípicas. Las cepas típicas de EPEC no producen toxinas (TL y TS), provocan lesiones histopatológicas, que poseen el plásmido EAF (factor de adherencia de *E. coli*). Es decir,

Según (Romero Cabello, 2007), las cepas EPEC atípicas tienen las características anteriores, con la excepción de que no poseen el plásmido EAF. Las cepas de EPEC se unen a las células epiteliales del intestino delgado y producen la lesión histopatológica citada. Las microvellosidades intestinales desaparecen, y la bacteria se encuentra en adherencia íntima con la membrana de las células epiteliales, induciendo múltiples cambios en el citoesqueleto.

Se desconoce el mecanismo exacto por el cual EPEC coloniza el intestino delgado, pero se consideran las siguientes etapas según (Romero Cabello, 2007 2009).

La primera Adherencia localizada la cual inicia con la interacción a "distancia" relativa entre el organismo y la capa de enterocitos. a través de fimbrias, en grupos denominadas BFP (del inglés, bundle-forming pilus), que se encuentran codificadas en el plásmido EAF junto con otros genes reguladores de virulencia. La interacción de la bacteria con el enterocito resulta en la promoción por parte del epitelio intestinal de la formación de estructuras parecidas a un pedestal en los sitios de

adherencia. EPEC forma microcolonias que focalmente se adhieren herméticamente a la superficie de la mucosa del intestino delgado y grueso; la siguiente etapa es la señal de transducción en la cual la adherencia de las cepas EPEC a las células epiteliales induce múltiples señales de transducción en las células eucarióticas. Los genes responsables de esta actividad se localizan en el cromosoma bacteriano, en un locus denominado de “desaparición de enterocitos”. Entre las alteraciones que se presentan están: el incremento en los niveles de calcio intracelular de las células epiteliales, lo que puede inhibir la absorción de sodio y cloro intestinal. Además, interviene en la acumulación de actina polimerizada directamente debajo del sitio de adhesión de la bacteria y se asocia con la presentación de las 25 lesiones A/E. También producen disolución del glicocálix y aplanamiento de las microvellosidades intestinales. La fosforilación de proteínas sobre los residuos de tirosina forma parte de las lesiones A/E. aunque también se observa miosina de cadena ligera. La activación de la proteína cinasa (PKC) conduce a los cambios en la secreción de agua y electrólitos. Otras señales de transducción incluyen la migración de leucocitos polimorfonucleares a través de la monocapa epitelial y la última etapa Adherencia íntima: el gen *cae*. En el cromosoma bacteriano, codifica algunas proteínas de membrana externa (OMP). Entre ellas, la principal es la adhesina bacteriana llamada intimina. Por medio de esta proteína, la bacteria se adhiere íntimamente con la membrana epitelial que conduce a la disrupción del citoesqueleto. y, además, se ha sugerido que puede intervenir en la protección inmunitaria contra la enfermedad. Se han identificado algunas proteínas extracelulares (Esp) que son liberadas durante la enfermedad, y se consideran esenciales para las lesiones A/E y para las señales de transducción. Asimismo, se han detectado respuestas de anticuerpos ante ellas. Las cepas EPEC

poseen un sistema de secreción especializado, necesario para la translocación de determinantes críticos de virulencia al medio externo, donde se localizan los enterocitos. Otros factores de virulencia se encuentran bajo estudio, e incluyen otras fimbrias y el EAST1 (factor enteroadherente termoestable), codificado en el gen *astA*, que se relaciona con la secreción intestinal; entre las cepas de EPEC solo algunas lo producen. Las etapas anteriores se han observado *in vitro*, pero pudieran efectuarse *in vivo*, aunque se ha considerado que las tres etapas pudieran presentarse simultáneamente (Romero Cabello, 2007 2009).

2.1.4.5. *Escherichia coli* enterotoxigénica – ETEC

Las enfermedades causadas por este tipo de bacteria ocurren principalmente en países en desarrollo, se estiman unos 650 millones de casos al año y 80.000 casos en viajeros procedentes de EE.UU. La diarrea se produce después de un período de incubación de 1 a 2 días y persiste entre 3 y 5 días, los síntomas son similares a los del cólera estos son: diarrea líquida con dolores cólicos abdominales, las náuseas y vómitos son poco frecuentes (Corteguera, 2009).

Las cepas de *E. coli* enterotoxigénica producen dos tipos de enterotoxinas distintas las cuales son las responsables de la diarrea estas son: la enterotoxina termoestable (ET) y la enterotoxina termolábil (LT) (Willey, 2009).

(Walker, 2010) “Los microorganismos ETEC colonizan el intestino delgado proximal donde se adhieren a la mucosa mediante pili y liberan ET o LT. La ET o LT ocasiona hipersecreción de líquidos y electrolitos y ello conduce a la diarrea acuosa”.

“Las cepas enteropatógenas de *E. coli* fueron las primeras en asociarse a la enfermedad diarreica infantil en los países pobres” (Corteguera, 2009).

Las cepas EPEC se adhieren al borde vellosos de las células del epitelio intestinal, causando una lesión celular específica llamada lesión de borrado o lesión de adhesión-borrado AE (attaching-effacing), esta destrucción celular da lugar a cuadros diarreicos (Willey, 2009).

La EPEC ocasiona epidemias y diarreas en lactantes, en particular en los que habitan en áreas urbanas o los que se encuentran hospitalizados, casi nunca producen enfermedades en niños mayores de un año y la mayoría de los pacientes tienen 6 meses de edad o menos, se encuentra relacionada con brotes de diarreicos en guarderías. Y estas bacterias EPEC se adhieren con fuerza a las membranas enterocíticas, mediante pili tipo IV y forman microcolonias diferenciadas. Las bacterias hacen que los niveles de calcio dentro de las células blanco se eleven provocando la desaparición de los microvellos. Posteriormente una segunda adhesina llamada intimina favorece su fuerte adhesión, lo cual conduce a la producción de actina filamentosa debajo de cada bacteria adherida, esto produce cierto grado de penetración celular, como consecuencia se origina diarrea copiosa, líquida no sanguinolenta y con presencia de moco (Walker, 2010).

2.1.5. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es Anaerobio facultativo Gram positivo, células esféricas de 0.5-1.5 μm , que se presentan aisladas, en pares, tétradas o cadenas cortas y en grupos irregulares o racimos, inmóviles, no son esporuladas. Las colonias son usualmente opacas y pueden ser blancas o cremas y algunas veces amarillas o anaranjadas. Usualmente catalasas positivas, oxidasa negativa. El nitrato a menudo es reducido a nitrito. Susceptible a la lisis por lisostamina pero no a la lisozima. La temperatura óptima es de 30-37 °C. (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982)

Staphylococcus aureus es parte del microbiota normal del hombre, cuyo hábitat principal es la piel, sus glándulas anexas y las mucosas de los animales de sangre caliente siendo el sitio de portación principal las fosas nasales. Por lo que debe ser considerado como un patógeno oportunista. La portación es un factor de riesgo importante para la infección por esta bacteria. Puede causar una amplia variedad de infecciones: lesiones superficiales, infecciones sistémicas con riesgo de vida (endocarditis, osteomielitis, neumonía, abscesos cerebrales, meningitis y bacteriemia), y en enfermedades producidas por toxinas (intoxicación alimentaria, síndrome de la piel escaldada o síndrome de shock tóxico) (Paredes, 1993). En los portadores humanos se multiplica primeramente en la nariz, sitio que puede ser colonizado durante los primeros días de vida. Muchos portadores nasales también lo portan en la piel, ya que el hábito de tocarse la nariz hace que el *Staphylococcus aureus* pase a las manos. Si bien es considerado un comensal, parte de la microbiota normalmente permanente o transitoria, en ocasiones se convierte en un patógeno oportunista, causando desde infecciones menores a la piel hasta cuadros sistémicos, que pueden llevar a la muerte. *Staphylococcus aureus* es, por lo tanto, un microorganismo de gran importancia en clínica, en especial por cepas Meticilino resistentes (SAMR) conocidas desde más de 30 años (Adams & Moss, 1997).

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria capaz de producir una toxina estable al calor que causa enfermedad en los humanos. La intoxicación se produce por ingestión de enterotoxinas producidas en el alimento por *S. aureus*, usualmente a causa de que el alimento se dejó a temperatura ambiente por períodos considerables (Eroski Consumer, 2012) Esta bacteria se encuentra en la piel de los animales, pero también de las personas, así como en su garganta y fosas nasales, hasta el punto que la casi totalidad de la población humana podrá ser portadora del microorganismo a

lo largo de su vida. Por ello, la probabilidad de contaminar los alimentos es muy alta, no solo por los manipuladores, también por los clientes al tocar u oler los alimentos. Casi todas las cepas producen un grupo de enzimas y citotoxinas que incluyen 4 hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta) nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasa. La principal función de estas proteínas sería convertir tejidos del huésped en nutrientes requeridos para el desarrollo bacteriano (Jerez, 2012.)

Staphylococcus aureus causa un cuadro de intoxicación que resulta de la enterointoxicación de uno o más enterotoxinas (ET) preformadas en el alimento. Son proteínas de bajo peso molecular que resisten la acción de las enzimas digestivas y son relativamente estables al calor. Por métodos serológicos pueden diferenciarse 14, de las cuales 7 están bien caracterizadas bioquímicamente: A, B, C1, C2, C3, D y E. Se han hecho muchos esfuerzos por intentar relacionar la producción de ET con diferentes propiedades bioquímicas de los Estafilococos, principalmente las pruebas de coagulasa y termonucleasa. Sin embargo, no todas las cepas Coagulasa y/o termonucleasa positivas son enterotoxigénicas y recientemente se demostró que cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de enterotoxinas, eran coagulasa y/o termonucleasa negativas (Ratto Flores & Vega Morales, 2003).

El *Staphylococcus aureus* conjuntamente con bacterias del grupo coliformes se emplean como medidas de la manipulación y evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos y establecer si es inocuo y apto para el consumo (Schlech, W. 1988), es alarmante que el 89% de las muestras estén fuera de los requerimientos microbiológicos de la (NTE INEN1346:2010), llegando a la cuantificación de hasta 107 UFC/g. La significativa presencia de Salmonella

71.33%, en la carne molida de las tercenas del mercado, esta bacteria está asociada con la patología diarreica aguda, propagándose por la ingestión de alimentos contaminados y la mala manipulación (Durango. J, et al., 2004). Es alarmante la falta de control por parte de las autoridades sanitarias. Las Bacterias *Salmonella*, *Campilobacter* y *Escherichia coli* enterohemorrágica, forman los patógenos más comunes en transmisión alimentaria afectando a millones de personas al año, ocasionando consecuencias graves o mortales (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982)

La presencia de *Staphylococcus aureus* generalmente se debe a la contaminación directa por los manipuladores colonizados. Dado que es mal competidor, el problema se presenta durante la manipulación de alimentos ya procesados o cocidos, en los que la flora competitiva esta inhibida o fue eliminada. De acuerdo a la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (Food and Drug Administration, 1992), cuando la población de *Staphylococcus aureus* es superior a 10⁵ organismos por gramo de alimento contaminado se alcanza la dosis efectiva de ET para causar la intoxicación. Por lo tanto, entre los factores que conducen a brotes por *Staphylococcus aureus*, el mantenimiento del alimento, por un tiempo prolongado en la zona de temperaturas peligrosas (entre 4 y 60 °C), es esencial. De esta manera el microorganismo se multiplica y produce la toxina que no se destruye por tratamiento térmico posterior (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982).

2.1.5.1. Enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*

S. aureus, tiene una amplia gama de determinantes de virulencia, que abarca componentes de pared celular y una gran variedad de exoproteínas que contribuyen en su habilidad para colonizar y causar enfermedad en mamíferos.

El envenenamiento alimentario causado por *Staphylococcus* es el nombre dado a la condición causada por las enterotoxinas producidas por algunas cepas de *S. aureus*. La aparición de los síntomas de esta intoxicación es usualmente rápida y en la mayoría de los casos severa, dependiendo de la susceptibilidad individual a la toxina, de la cantidad de alimentos contaminados ingeridos, de la cantidad de toxinas presentes en los alimentos consumidos y de la salud general del hospedero. Los síntomas más comunes son náuseas, vómito, arcadas, calambres abdominales y postración. En algunos individuos no siempre se presentarán todos los síntomas asociados con la enfermedad. En los casos más severos, puede ocurrir dolor de cabeza, calambres musculares, cambios pasajeros en la presión arterial y en el pulso. La recuperación tarda dos días aproximadamente, sin embargo, no es inusual que la recuperación completa se tarde tres días y a veces aún más en los casos severos. Dosis infecciosa – Una dosis de toxina de menos de 1.0 microgramo por alimento contaminado producirá los síntomas de intoxicación alimentaria causada por *Staphylococcus*. Este nivel de toxina se alcanza cuando la población de *S. aureus* excede los 100.000 organismos por gramo (Baeza, Rossler, Mielnicki, & Zamora, 2010)

2.1.5.2. Intoxicación por bacterias estafilocócicas

Se produce por la ingestión de una exotoxina formada en el alimento por el *Staphylococcus aureus* y la toxina se denomina enterotoxina estafilocócica, este tipo de bacterias son anaeróbicas se transfieren al alimento por el contacto con las manos y gotas originarias de la nariz y boca de las personas que participan en la elaboración, transporte, almacenamiento y en la preparación del alimento. La producción de esta toxina se puede prevenir manteniendo el alimento en refrigeración (Brizzio, 2009)

La manifestación en el cuerpo al intoxicarse con esta bacteria es violenta la manifestación de la sintomatología como náuseas, vómito, diarrea, salivación excesiva y espasmo a nivel abdominal. La característica más evidente de este tipo de intoxicación alimentaria y se diferencia de otros síndromes gastrointestinales, es que el tiempo de incubación es relativamente corto y las manifestaciones aparecen a las 3 horas después de ingerir el alimento contaminado (Brizzio, 2009)

2.1.6. Factores que favorecen la reproducción de bacterias

- **NUTRIENTES:** los embutidos contienen grasas, agua, y minerales que son necesarios para el crecimiento de las bacterias.
- **AGUA:** es netamente necesario para la vida de las bacterias.
- **TEMPERATURA:** las bacterias crecen en diferentes temperaturas, pero en temperatura ambiente su crecimiento es superior.
- **OXIGENO:** en los embutidos las bacterias son capaces de reproducirse aun sin presencia de oxígeno (ANMAT, 2014)

2.1.6.1 Accesorios peligrosos

- El trapito: Hay estudios que demuestran que un trapo de rejilla de cocina tiene más bacterias que un zócalo sucio.
- El delantal: Es otro lugar propicio para coleccionar microbios.
- Tablas, ollas y fuentes deterioradas: Cuando la madera, el teflón o la loza presentan canaletas por el uso, albergan bacterias.
- El detergente: Barre la suciedad, pero no mata agentes contaminantes. Hoy día se consiguen en los comercios productos bactericidas y desengrasantes.

- El aluminio: evitar los utensilios de este metal. El acero, el vidrio, el teflón la loza, la madera dura, si están en buen estado, son los materiales más nobles (Flores, 2009).

Los manipuladores de alto riesgo, son aquellos que mantienen contacto directo con los alimentos que no sufren un tratamiento posterior, antes de llegar al consumidor, también son aquellas personas que intervienen en la elaboración de alimentos.

Los manipuladores de bajo riesgo, mantienen contacto con el alimento que sufrirá un proceso de elaboración posterior antes de llegar al consumidor. Ejemplos de manipuladores de alimentos de alto riesgo son: carniceros, panaderos, camareros, etc. Los manipuladores representan un riesgo potencial de transmisión de gérmenes causantes de enfermedades en los consumidores. Ser manipulador de alto riesgo no supone riesgo de enfermar, supone ser más responsable. La salud de los consumidores se encuentra en las manos de los manipuladores (Flores, 2009).

2.1.7. Enfermedades transmitidas por bacterias

La carne contaminada puede ocasionar trastornos o perturbar la salud del que la ingiere; en este concepto se encuentra también la carne no apta para consumo humano, y que pueden ser origen de un decomiso total o parcial por parte de las autoridades sanitarias. Las alteraciones de la carne se pueden clasificar en dos grupos:

- a) Alteraciones que tienen origen antes de la obtención de la carne:
 1. las carnes zoonóticas o antropozoonóticas,
 2. las carnes parazoonóticas o toxinfeciosas,

3. las carnes tóxicas
 4. las carnes peligrosas; las carnes repugnantes.
 5. la carne indigesta y poco nutritiva.
- b) Alteraciones que sobrevienen después de su obtención:

1. las carnes sucias,
2. las carnes parasitadas,
3. las carnes enmohecidas,
4. las carnes fosforescentes,
5. las carnes coloreadas o pintas, y
6. las carnes putrefactas (Ordaz, 1994)

2.1.8. Factores determinantes de las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA)

- Fallas en la cadena de frío de alimentos potencialmente peligrosos.
- Conservación de los alimentos tibios o a temperatura ambiente (a una temperatura de incubación para los agentes bacterianos).
- Preparación del alimento varias horas o días antes de su uso con inadecuado almacenamiento hasta el consumo.
- Manipuladores con escasas prácticas de higiene personal (pueden presentar o no enfermedades o lesiones).
- Uso de materias primas contaminadas para preparar un alimento que generalmente es servido crudo o la adición de alimentos crudos contaminados a otro ya cocido.

- Alimentos preparados con materias primas contaminadas que llevan microorganismos a la cocina y dan lugar a contaminaciones cruzadas.
- Condiciones ambientales que permiten el crecimiento de patógenos selectivos e inhiben los microorganismos competidores.
- Uso de utensilios o recipientes que contienen materiales tóxicos.
- Adición intencional o accidental de sustancias químicas tóxicas a los alimentos
- Utilización de agua de una fuente suplementaria no controlada.
- Contaminación del agua por averías en la red, construcción, reparación de cañerías, conexiones cruzadas, inundaciones, desbordes de cloacas, ubicación inadecuada de la cisterna, etc.

2.1.9. Tipos de medios de cultivo

Al no existir un medio universal y abarque a las necesidades de todas las bacterias, la deliberación del medio de cultivo, se realiza a partir a sus necesidades nutritivas y hábitat. (Alvarez, 1995) Según el fin que estén destinados a emplearse se clasifican en:

- Medios selectivos: son aquellos que se emplean para inhibir en su totalidad el crecimiento de bacterias diferentes al que se quiere aislar y están presentes en la muestra; como la acida sódica que permite el crecimiento de cocos Gram (+)
- Medios de enriquecimiento: son aquellos que favorecen las condiciones para el crecimiento de una bacteria en particular, que se encuentra en una cantidad mínima como el caldo selenito y tetrionato que se emplea para incrementar el número de Salmonella (Alvarez, 1995).
- Medios de diferenciación: son aquellos que se emplean para poner en notorio a las bacterias que dan positiva en alguna prueba bioquímica. Como los medios

empleados para enterobacterias que en su composición incluyen lactosa (Alvarez, 1995).

- Medios de identificación: se emplean para la identificación de un solo tipo de bacteria. - Medios de multiplicación: aquellos que poseen una composición categórica y óptima para un grupo de microorganismo al cual va encaminado.

- Medios de conservación: en su composición favorece para el mantenimiento de los microorganismos y se incuban a $+2 \pm 4$ °C.

2.1.9.1. Agar Eosina Azul de metileno EMB

Es un medio diferencial para el cultivo de Enterobacteriaceae, en su composición contiene eosina y azul de metileno y la inserción de lactosa permite distinguir los microorganismos que fermentan el azúcar y los que no (NEOGEN., 2011).

2.1.9.2. Agar Standard Methods Standard Methods o Placa de agar recuento PCA

Es un medio no selectivo recomendado para enumerar las bacterias de interés sanitario, que son indicadores de la contaminación o la carga microbiana en los alimentos, ajustada a la American Public Health Association APHA y la Association of Official Analytical Chemists AOAC (NEOGEN., 2011).

2.1.9.3. Agar Manitol

El agar manitol salado, es un medio para aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva donde la concentración de cloruro de sodio (NaCl), inhibe el crecimiento de bacterias que no pertenecen al género *Staphylococcus* (NEOGEN., 2011).

2.1.9.4. Agua de peptona

Se utiliza como diluyente en muestra alimentarias, como leches y derivados y productos de origen animal además se emplea como caldo de enriquecimiento no selectivo en particular de enterobacterias patógenas. Compuesta por una mezcla de fosfatos es una solución tampón para mantener las variaciones de pH al momento de agregar la muestra como en el crecimiento microbiano en sí, el cloruro de sodio mantiene el nivel salino adecuado para el desarrollo y mantenimiento de los microorganismos; por su parte la peptona provee los nutrientes necesarios para los organismos que no presentes exigencias particulares. Medio de enriquecimiento no selectivo, recomendado para ser utilizado en lugar de solución fisiológica para recuperar células de enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos, a los que ha sido sometido el alimento. El proceso de pre-enriquecimiento con este caldo de crecimiento especialmente de enterobacterias patógenas, pues activa a microorganismos inactivos en los procesos industriales; es notable el pre-enriquecimiento en muestras de alimentos que se debe detectar Salmonella. Su composición corresponde a las recomendaciones propuestas por la ISO en productos cárnicos (Laboratorios Britania, 2013)

2.1.10. Clasificación de los alimentos por el riesgo

Según el reglamento técnico Centroamericano de “Alimentos, criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos” RTCA67.04.50:08 para registro y vigilancia sanitaria; clasifica a los alimentos en función de la probabilidad de causar daño a la salud clasificándolas en tres categorías:

- Alimento Riesgo tipo A: que comprenden a los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, poseen una ALTA probabilidad de ocasionar daño a la salud.

- Alimento Riesgo tipo B: que comprenden a los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, poseen una MEDIA probabilidad de ocasionar daño a la salud.
- Alimento Riesgo tipo C: que comprenden a los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, poseen una BAJA probabilidad de ocasionar daño a la salud (Sagnay, 2014).

2.1.11. Clasificación de los alimentos peligrosos

Cuando hay un crecimiento microbiano en el alimento está constituido por microorganismos patógenos que se transforma en un producto peligroso que atenta a la salud del consumidor, que en algunas especies elaboran ciertas toxinas que son los precursores de infecciones o intoxicaciones alimentarias. Las enfermedades de origen alimentaria además de causas microbiológicas constan otro tipo de consecuencias de la ingestión de alimentos (Guaman, 2014)

En la industria alimentaria, los alimentos se clasifican como: de "alta acidez" ($\text{pH} < 4.5$) y de "baja acidez" ($\text{pH} 4.5$). Como la mayoría de las bacterias se desarrollan mejor cuando el pH es bastante cercano al valor neutro (7), más que marcadamente ácido, los alimentos con un pH relativamente alto (cercano a 7), tienden a representar un mayor riesgo para la salud cuando son inadecuadas las condiciones de almacenamiento (Arambulo e. cuellar J, 1991).

2.1.12. Normas Alimentarias.

2.1.12.1. Codex Alimentarius

Traducido literalmente del latín, el Codex Alimentarius es un "código alimentario". Comprende una serie de normas generales y específicas relativas a la seguridad alimentaria, que han sido formuladas con el objetivo de proteger la salud

de los consumidores y de garantizar unas prácticas equitativas en el comercio de los productos alimentarios. Los productos destinados al consumo local o la exportación deben ser seguros y de buena calidad. Además, es imprescindible que los productos no sean portadores de organismos patógenos susceptibles de dañar a los animales o plantas de los países importadores (Organización para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organisation, 2006).

El Codex Alimentarius fue creado de forma conjunta en los años 60 por dos organizaciones de las Naciones Unidas: la Organización para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organization, FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Su propósito era servir como pauta y fomentar la elaboración y el establecimiento de definiciones y requisitos para los alimentos, a fin de contribuir a su armonización y, de este modo, facilitar el comercio internacional. La mayor parte de la población mundial vive en los 166 países que son miembros del Codex Alimentarius. Estos países participan en la elaboración de las normas y a menudo en su aplicación a nivel nacional y regional (Organización para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organisation, 2006).

El Codex, un punto de referencia de uso internacional. Aunque las normas adoptadas por el Codex Alimentarius no son vinculantes desde el punto de vista jurídico, tienen un gran peso y una base científica sólida.¹² Cuando procede, la Organización Mundial del Comercio recurre a las normas del Codex para resolver conflictos comerciales relativos a productos alimentarios. Las normas del Codex suelen servir como punto de partida para las legislaciones y las normativas nacionales y regionales. Básicamente, la influencia del Codex Alimentarius se extiende a todos los continentes, y su contribución a la protección de la salud pública y las prácticas equitativas en la industria alimentaria es extremadamente

valiosa (Organización para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organisation, 2006).

2.1.13. Importancia Del Control Higiénico En Las Superficies Alimentarias.

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agricultural Organisation, 2009), establece que la contaminación de alimentos de dos formas:

- Por microorganismos los cuales se encuentran en el agua, suelo, y diferentes alimentos los cuales no se pueden observar a simple vista como levaduras, bacterias, virus, mohos.
- Por factores físicos (agua, polvo), y químicos (gases, vapores, polvos, humos) (Food and Agricultural Organisation, 2009).

La Organización mundial de la salud establece que los alimentos insalubres que contienen bacterias, virus, parásitos, o sustancias químicas nocivas causan más de 200 enfermedades, que van desde la diarrea hasta el cáncer (Food and Agricultural Organisation, 2009).

2.1.13.1. Higiene en los expendios de carnes.

La venta de carne por minoristas sólo está permitida en locales autorizados por las autoridades de salud, tales como: carnicerías, supermercados, puestos de mercados. Se mantiene vigente la prohibición de la venta de carne en la vía pública. (Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 01 026-99. Norma Sanitaria de Manipulación de Alimentos. Requisitos Sanitarios para Manipuladores, s.f.)

Requisitos que deben cumplir las carnicerías:

1. Pisos impermeables de fácil lavado y con declive a orificios de desagüe.
2. Paredes cubiertas de cemento pulido hasta 1.80 metros, el resto cubierto de pintura lavable en color claro.
3. Mesa de corte de superficie resistente y lavable.
4. Cuchillo, sierra y otros utensilios de material inoxidable.
5. Exhibidores refrigerados para exhibir la carne.
6. Sistema de refrigeración adecuado para el volumen de carne que comercializa.
7. Ganchos y barras de acero inoxidable.
8. Sección de caja de pago, independiente y separada del mostrador de expendio.
9. Ubicada lejos de cualquier foco de contaminación y su acceso será directo a la calle.
(Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 01 026-99. Norma Sanitaria de Manipulación de Alimentos. Requisitos Sanitarios para Manipuladores, s.f.)

Supermercados.

1. Ambiente exclusivo para las carnes.
2. Cumplir con los requisitos anteriores: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.
3. Poseerá un conservador en frío para las bandejas de expendio.

Puestos de carnes en mercados.

1. Dimensiones mínimas de 2 m. de frente por 2 m. de profundidad.
2. Pisos y paredes de material sólido, impermeable, fácilmente higienizable.
3. Mostrador para expendio, sin estanterías, de material resistente, impermeable y de fácil higienización.

4. Barras y ganchos de material inoxidable.
5. Sierra, cuchillos y balanzas de material anticorrosivo.
6. Ubicación alejada de cualquier foco de contaminación (servicios higiénicos, depósitos de basura, etc.).
7. Sistema de refrigeración. (Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 01 026-99. Norma Sanitaria de Manipulación de Alimentos. Requisitos Sanitarios para Manipuladores, s.f.)

La ubicación de los locales y el estado sanitario de las áreas adyacentes puede ejercer un efecto importante sobre la higiene del interior del establecimiento. La carne puede entrar en contacto con elementos del exterior introducidos en los locales. (Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 03 021-99. Norma de Etiquetado de Alimentos Preenvasados para Consumo Humano. , s.f.)

2.1.13.2. Condiciones de los materiales

Todo material que esté en contacto con la carne mantendrá las siguientes condiciones:

1. Los mostradores para el expendio de carne, deberán ser de material inoxidable, en caso de que este no se encuentre adosado al piso, se dispondrá de un espacio libre suficiente desde el nivel del suelo, para permitir su limpieza, no presentarán en su superficie irregularidades que puedan ser fuente de contaminación.
2. Las barras y ganchos deberán ser de acero inoxidable, de tal forma que se evite la contaminación de la carne que se expende, con sarro u otros contaminantes.
3. Los utensilios como cuchillos, balanzas de platillos, deberán ser de material anticorrosivo, además deberán poseer tablas plásticas para picar y así evitar el contacto de las carnes con la superficie de las mesas.

4. Los utensilios no alterarán las características de composición, ni los caracteres organolépticos de las carnes.
5. Todos los materiales y utensilios que se usan en los expendios de carnes en los mercados, deben estar limpios y ser lavados e higienizados diariamente y las veces que se considere necesario.
6. Todo expendio de carne deberá contar con un sistema de refrigeración para la misma, preferiblemente freezer.

2.1.13.3. Condiciones de los manipuladores

Todas aquellas personas que por su actividad laboral entran en contacto directo con la carne, deberán cumplir con lo establecido en la Norma Sanitaria de Manipulación de Alimentos y el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura y los siguientes requisitos:

1. Los manipuladores deberán lavarse las manos con agua potable y jabón o detergente adecuado, tantas veces lo requieran y siempre antes de incorporarse a su puesto, inmediatamente después de haber hecho uso de los servicios higiénicos, después de manipular material contaminado.
2. No podrán realizar actividades simultáneas dentro del establecimiento, con ninguna otra que suponga una fuente de contaminación de las carnes expandidas, sin tomar las medidas de higiene oportunas.
3. Se prohíbe la presencia de personas extrañas a la actividad en los locales donde ésta se desarrolle, salvo los compradores.
4. Los manipuladores de la carne no deben estar en contacto con el dinero, para lo cual debe haber otra persona que reciba éste o en su defecto que se implemente una adecuada técnica de despacho (Gómez, Urrutia, & Silva, Diagnóstico Higiénico-Sanitario de los establecimientos expendedores de carnes crudas (res y

cerdo) ubicados en los mercados de las ciudades de Chinandega, León y Managua, en el periodo comprendido de Febrero a Junio de 2006, 2006).

2.1.14. Límites Microbiológicos

Tabla 1. Límites microbiológicos en superficies inertes.

SUPERFICIES INERTES					
METODO	Superficie Regular		Superficie Irregular		
HISOPO					
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible	Límite de Detección del Método	de	Límite Permisible
Coliformes	< O, 1 ufc /cm2	< 1 ufc/cm2	< 10 ufc superficie muestreada	<	10 ufc superficie muestreada
Totales					
Patogenos	Ausencia/superficie muestreada en cm2 (**)	Ausencia/superficie muestreada en cm2 (**)	Ausencia/superficie muestreada		Ausencia/superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia. (**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

Fuente: "Guía técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con alimentos y bebidas" R.M. 461-2007/ MINSA

2.1.15. Higiene y manipulación de la carne

Formas en que las bacterias llegan a la carne fresca de res.

Hay muchas formas de que las bacterias lleguen a los alimentos:

- 1) Por las personas: Ya que estas las tienen en la piel, manos, nariz, boca y los intestinos. Pudiendo contaminar las carnes al tocarlas con las manos sucias y al toser o estornudar sobre ellos.
- 2) La carne cruda debe ser conservada en refrigeración, debido a que puede ser contaminada fácilmente por bacterias y otros organismos.

- 3) Los roedores: las ratas y ratones pueden contaminar a través de excrementos, pelos y orina.
- 4) Los insectos: como las moscas, mosquitos y cucarachas.
- 5) Los animales domésticos: como perros, gatos y aves.
- 6) El polvo que está flotando en el aire y se deposita en la carne que no está bien protegida.
- 7) Desperdicios y desechos: la basura y las comidas que no estén en buen estado se estropea con facilidad y se llenan de bacterias lo que sería una fuente de contaminación para la carne y productos cárnicos.
- 8) La maquinaria y utensilios que se utilizan en la manipulación de la carne: como los cuchillos, picadoras, embudidoras, mesas, etc. Se deben mantener limpios y desinfectados siempre que vayan a utilizarse (MINSA., 2007).

2.1.15.1. Recomendaciones de consumo

La ración recomendada de consumo para carne de res es: 150 - 200 gramos, 3 veces por semana en adultos y en niños las raciones serían de unos 15 gramos por cada año de edad que se ingerirán igualmente unas 3 veces por semana. Aunque existen varias clasificaciones, podemos hablar de dos grandes sistemas de conservación: por frío y por calor. A su vez los diferentes tipos de conservación se agrupan en dos grandes bloques:

- Sistemas de conservación que destruye los gérmenes (bactericidas)
- Sistemas de conservación que impiden el desarrollo de gérmenes (bacteriostático) (MINSA., 2007).

2.1.16. Manejo higiénico de los alimentos y utilización del agua

Según algunos estudios realizados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) el manejo higiénico que se le da a las instalaciones de los expendios y ventas en la vía pública es deplorable, al igual que la manipulación de dichos alimentos. En estos estudios se han identificado algunos factores importantes de contaminación tales como:

- Las malas condiciones de almacenamiento de las materias primas y de los productos finales (exposición al polvo, insectos, roedores, etc.)
- Una limpieza insuficiente de los productos crudos y los ingredientes usados antes de la cocción, así como los mostradores utilizados para exhibir el producto.
- El uso de utensilios como (cuchillos, hachas, tablas de picar, recipientes) lavados inadecuadamente.
- La conservación de los alimentos preparados a temperaturas inadecuadas durante períodos prolongados, así como el lugar de almacenamiento.
- Contaminación cruzada, (mezclar alimentos crudos con cocinados).

La calidad del agua está ligada a la determinación de su calidad microbiológica, basándose en la presencia de bacterias coliformes, ya que estas habitan en gran número en el tracto intestinal de humanos y animales, por lo que se asume que la presencia de este tipo de bacterias en una muestra de agua indica contaminación fecal, por lo tanto, no se considera un agua apta para el consumo y mucho menos para utilizarla en el lavado de alimentos.

La situación puede agravarse cuando los productos no se lavan correctamente con agua limpia, así como el consumo de agua y hielo proveniente de agua no potable vendida en mercados, calles, etc., ya que pueden estar contaminados por

diferentes tipos de gérmenes patógenos, dando origen de numerosas enfermedades como enteritis y diarreas entre otras; estos microorganismos se encuentran igualmente en las materias fecales que pueden contaminar el agua y el suelo. Por lo que la higiene en los alimentos busca preservarlos, en especial, impedir o reducir su contaminación por microorganismos o parásitos provenientes del agua, el aire, moscas, insectos y roedores. La higiene de los alimentos debe garantizar la seguridad y la inocuidad de los mismos (Food and Agricultural Organisation, 2009).

2.17. Procedimiento para el análisis e interpretación de datos

2.17.1. Calculo superficies regulares

El número de colonias obtenidas (UFC) se multiplico por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (10mL) y se dividió entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100cm^2) (MINS.A., 2007).

2.17.2. Calculo Superficies Irregulares

El volumen de colonias obtenido (UFC) se multiplico por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usado (MINS.A., 2007).

2.18. Expresión de resultados

Los resultados se expresan en:

- Para superficies vivas: ufc/ manos
- Para superficies internas: ufc/ superficie muestreada (ej. Envases, bolsas de plástico, etc) (MINS.A., 2007).

2.19. Interpretación de resultados de acuerdo a los criterios microbiológicos

- a) El límite de detección del método para superficies vivas es < 100 .
 - b) El límite de detección del método para superficies internas < 100 .
- (www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm, s.f.)

2.2. REPORTE.

2.2.1. *Escherichia coli*

En el año 2017 en Cordova, el estudio "Relación existente entre las actividades de control de los inspectores del Departamento de Higiene del Ilustre Municipio de Ambato y las deficientes condiciones de venta de la carne fresca de res", Reporta que los riesgos que generan las condiciones sanitarias actuales en la que se expende la carne fresca de res, son múltiples; puede existir contaminación microbiana, procesos de putrefacción, deterioro por pérdida de humedad, procesos enzimáticos, estas condiciones pueden llevar a ocasionar enfermedades que se contraen por el consumo de alimentos en este estado, la mayor parte de los dueños de los locales de expendio de carne fresca de res, no han recibido ningún tipo de curso para la manipulación y venta de la carne, mientras que un 9.1% tiene cursos recibidos. Los datos señalan que existe descuido por parte de los expendedores, y de las autoridades encargadas de la vigilancia, por no contar con un plan de capacitación para todas las personas que están inmersas en el expendio de la carne (Cordova, 2017).

En la investigación realizada en Guaranda, "Identificación de la calidad higiénica de carne y piel de cerdo". Se evidencio que existen deficiencias en el diseño físico del mercado 10 de noviembre donde se realiza los expendios de la carne y piel, ya que el área no cuenta con una ubicación geográfica adecuada para favorecer la inocuidad de la carne de cerdo. Los hábitos higiénicos por parte de los manipuladores son inadecuados, ya que poseen utensilios inadecuados para los cortes y

acondicionamiento de la carne a comercializar. Según (INEN, 2013) para productos cárnicos crudos el límite mínimo de unidades formadoras de colonias de *Escherichia coli* es de 1.0×10^1 , siendo 1.0×10^2 el límite máximo aceptable, por lo cual podemos decir que la contaminación en la carne de cerdo es alta por lo que se demostró que 71% de las muestras determinan una contaminación grave excediendo el límite aceptable para el consumo humano, y en la piel de cerdo encontramos un 72% de las muestras con contaminación grave, demostrando deficiencia higiénica en los productos cárnicos que se expenden en dicho mercado” (Barragan, 2017).

La investigación realizada por (García, 2010) en su tesis con el tema de “Determinación de *Escherichia coli* en presas de pollo seleccionadas (pechugas) que se comercializan en la Ciudad de Guayaquil se realizó un muestreo de pechugas de pollo en los expendios con el fin de determinar la presencia de *Escherichia coli*. Las pruebas fueron realizadas en su totalidad en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Agraria del Ecuador; se utilizó el método de Petrifilm™”. Cuyos resultados fueron “De un total de 150 muestras analizadas se detectó que 21 muestras estaban contaminadas con *Escherichia coli*, es decir, del 100 % de las muestras recolectadas solo el 14% de estas fueron positivas a la presencia de *Escherichia coli*”, del cual desprende una concentración de incidencias en. “...los mercados municipales con el 26%, avícolas con 10%, supermercados 6%. De mayor contaminación la presentación al granel con 22,22%, seguido por la presentación de fundas plásticas con 13,15% y de 4,08% en los empaques termo sellados”, los resultados dirigen la mayor incidencia de “Coliformes” en las Carnes de pollo en Mercados Municipales.

Según la investigación de Guamán los resultados de las muestras de recortes de embutidos son positivos para coliformes totales, encontrándose presente en un 70%

de los embutidos analizados y el porcentaje restante correspondió a la presencia de *Escherichia coli*. El mismo que tuvo una duración de ciento veinte días desde la toma de muestras en los centros de abastos del mercado; posteriormente los respectivos análisis microbiológicos, y los resultados. Se realizó análisis por triplicado de cada muestra bajo condiciones controladas y los resultados fueron analizados mediante la técnica del NMP (Número más probable) (Sagnay, 2014).

El estudio realizado por Yedra consistió en analizar la carne molida de siete puntos de expendio al interior del mercado; el muestreo se realizó aleatoriamente y por triplicado de cada muestra durante tres sábados consecutivos, tomando como referencia la Norma NTE INEN 1346:2010. Para la cuantificación de la carga microbiana se analizó Coliformes, *Escherichia coli* mediante las técnicas de detección cualitativas por Petrifilm TM y las Normas Técnicas correspondientes; se manejó mediante el procedimiento de diluciones sucesivas para facilitar la cuantificación (10^{-1} hasta 10^{-4}), posterior a la incubación y presencias de unidades formadoras de colonias UFC/g se hicieron pruebas confirmatorias de los microorganismos en agar Manitol, Eosina azul de metileno y Standard Methods, para el análisis estadístico se aplicó análisis de varianzas ANOVA de un factor ($p > 0.05$). Los resultados obtenidos incumplen con los requerimientos establecidos por la norma para carne molida NTE INEN 1346:2010; hallándose en valores superiores a los límites microbiológicos, para *Escherichia coli* presenta 3.2×10^5 UFC/g; Coliformes totales 2.4×10^6 UFC/g; estableciendo que puede ser una fuente de infección de ETA's (enfermedades transmitidas por alimentos), por lo que es necesaria la implementación de control periódico por parte del Ministerio de Salud con profesionales capacitados y técnicos, para disminuir los riesgos de la salud pública (Yedra, 2016).

En el año 2009, en Venezuela el estudio “Detección de *Escherichia coli* productora de Shiga toxina STEC en muestras de carnes de res y porcina comercializadas en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná” presentado por Lourdes Cardozo; que estableció en el recuento de coliformes obtuvo un valor promedio de $1,18 \times 10^6$ UFC/g en carne de res y $7,24 \times 10^5$ UFC/g en carne de cerdo, siendo valores que exceden con lo que establece la International Commission on Microbiological Specifications for Foods, ($5,0 \times 10^3$) para carnes crudas, revelando las precarias condiciones higiénicas-sanitarias en estos lugares de expendios (Cardozo , Martinez, & Villalobos, 2012).

El estudio de Cuenca determino la incidencia de microorganismos patógenos existentes en superficies de contacto vivas e inertes en los equipos y utensilios usados en el manejo de carnes cruzadas del mercado 3 de noviembre del cantón Cuenca. Para ello se identificaron los métodos tradicionales de limpieza utilizados; mediante recolección de muestras tanto de utensilios, equipos y manos del personal; se determinó una alta incidencia de microorganismos tales como los coliformes totales y *Escherichia coli*. Con estos resultados se capacito a los propietarios de los puestos de venta con el objetivo de reducir la presencia de estos patógenos. Ocho de los nueve establecimientos que presentan sus servicios en el mercado mejoraron sus técnicas de limpieza y desinfección. Por lo tanto, una capacitación adecuada trae importantes beneficios tanto al intermediario como al consumidor final (Aguilera Palacios, 2017).

El estudio realizado en la ciudad de Tingo María, región Huánuco – Perú, con el objetivo de evaluar las condiciones microbiológicas de la carne destinada al consumo público mediante el recuento bacterias mesó filos aerobios viables totales y coliformes totales, la determinación de coliformes fecales, además de, comparar la contaminación entre las dos carcasas. Se tomaron 10 muestras al azar de porcinos y

vacunos, se utilizó el método no destructivo del hisopado, se hisopó; cabeza, lomo, pecho y pierna para porcinos; cadera, falda, pecho y cuello para vacunos, se utilizó medios de cultivo para cada bacteria a evaluar. Utilizaron estadística descriptiva y una prueba t Student. Los resultados de coliformes totales en promedio fue: 2,91 y 2,34 log ufc/cm² para porcinos y vacunos, respectivamente, los resultados fueron contrastados con límites microbiológicos establecidos por la NTP ISO 3100-2. 1999, la prueba t Student salió significativa ($P \leq 0,05$) para la comparación de contaminación entre carcasas. En conclusión, se encontró un alto grado de contaminación de mesófilos aerobios viables totales y coliformes totales, siendo más elevada en carcasas porcinas que en vacunos, por ende, la carcasa porcina es más susceptible a la contaminación que la carcasa vacuna. Se concluyó que los canales se encuentran con un alto grado de contaminación por bacterias mesófilas aerobias viables totales y por coliformes totales, eso indica que existen muchas bacterias más que pueden causar trastornos digestivos al consumidor. Se cuantifico el número de microorganismos mesófilos aerobios viables totales y coliformes totales para cada canal, identificándose enterobacters aerógeno atípico (35%) seguidas fr *E. Coli* típico intermedio (30%) Enterobacter aerógeno típico (20%) y *E.Coli* atípico intermedio (15%) (Jara Benavides, 2010).

La investigación realizada por Moreira y Ana Paula titulado “Determinación de Coliformes Totales Fecales y *Escherichia coli* en recortes de embutidos cárnicos que se expenden en el Mercado Central de Guayaquil”, realizaron los análisis microbiológicos de los recortes de embutidos en el Laboratorio de Microbiología II de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, Después de realizar los 30 análisis de recortes de embutidos, se obtuvo que 3 muestras eran no contaminadas que equivale a un 10%, 10 muestras estaban contaminadas por

coliformes fecales es decir dieron positivo para *Escherichia coli*(30%)y las 17 muestras restantes (60%) dieron positivo para coliformes totales en este caso para *Pantoea agglomerans* que es una especie del género de las enterobacterias. Del total de 30 muestras de recortes de embutidos analizadas, 10 fueron sin ensalada de los cuales 6 estaban contaminadas con coliformes totales; 20 eran con ensalada de los cuales 12 estaban contaminadas con coliformes totales. En los lugares de expendio de recortes de embutidos del Mercado Central se pudo evidenciar la falta de higiene y deficiencias en las buenas prácticas de manipulación y preparación, lo que representa un gran peligro para la salud de los consumidores. La mayoría de las muestras analizadas fueron positivas para coliformes totales y fecales, debido a que en estos establecimientos la mayoría de los vendedores no terminan de vender sus productos, por lo tanto, al siguiente día vuelven a exhibir los alimentos para su posterior venta, además no cuentan con buenas condiciones de almacenamiento, sino que se encuentran expuestos al ambiente. Muchos de los vendedores no usan delantales, ni guantes al momento de manipular los alimentos; los respectivos análisis de las muestras de recortes de embutidos, se observó que un 60 % de las muestras son positivas para coliformes totales, en este caso la bacteria *Pantoea agglomerans* y el 30% es positivo para coliformes fecales, *Escherichia coli* (Moreira & Ana María, 2014).

En el mercado central se encontró un porcentaje de muestras contaminadas de 93.33% y en el mercado terminal de 100% que exceden los límites superiores permitidos. En base al análisis estadístico las medias de ambos mercados son de 59118.67 UFC/g y 302686.67 UFC/g respectivamente; de acuerdo al análisis de la prueba de χ^2 con un nivel de confianza del 95% no existe diferencia significativa (0.41) entre los mercados.

El reporte redactado por Lucas en 2016 quien reporto los puestos de venta de carne de pollo son una fuente de contaminación con *Escherichia coli* shigatoxigénica (STEC) en mercados de abastos. Se tomaron hisopados de la superficie de manos, tablas de picar y mesas de 50 puestos de expendio de carne de pollo en el distrito de San Juan de Miraflores, Lima, Perú (n=150 muestras). Se realizó aislamiento microbiológico estándar e identificación molecular de los genes stx1, stx2 y eaeA mediante PCR. El 42% (63/150) y 25.3% (38/150) de las muestras fueron positivas a *E. coli* y STEC, respectivamente. El 84% (42/50) y 66% (33/50) de los puestos de venta poseían al menos una de las superficies contaminadas con *E. coli* y STEC, respectivamente. El 68.3% (43/63) de las cepas de *E. coli* aisladas fueron patógenas por presentar al menos un gen evaluado. De estas, 38 cepas fueron STEC y presentaron los genes stx1 (19.0%, 12/63), stx2 (14.3%, 9/63) y las asociaciones: stx1 y stx2 (12.7%, 8/63), stx1, stx2 y eaeA (6.3%, 4/63), stx2 y eaeA (4.8%, 3/63), y stx1 y eaeA (3.2%, 2/63). Se observaron prácticas de higiene deficientes en el puesto de venta y durante el expendio. Se confirma que los puestos de venta de carne de pollo del mercado limeño son fuente potencial de contaminación de STEC. Se determinó la presencia de STEC si las cepas de *E. coli* poseían al menos una de las Stxs. Se evidenció la diferencia estadística entre el tipo de superficie evaluada y la frecuencia de *E. coli* y STEC mediante la prueba de Chi cuadrado, usando el paquete estadístico SPSS. El 42% (63/150) y 25.3% (38/150) de las muestras fueron positivas a *E. coli* y STEC, respectivamente. El 84% (42/50) y 66% (33/50) de los puestos de venta poseían al menos una de las superficies contaminadas con *E. coli* y STEC, respectivamente; sin encontrarse diferencia estadística entre la presentación de *E. coli* o STEC y el tipo de superficie muestreada; Se identificaron 63 cepas de *E. coli*, donde 21 fueron aisladas de manos de los trabajadores, 20 de tablas de picar y 22 de

mesas de expendio. El 60.3% (38/63) de las cepas presentaron al menos un gen que codifica alguna de las dos Stxs. El 68.3% (43/63) de las cepas de *E. coli* presentaron al menos un gen de virulencia evaluado (cepas patógenas) y el 6.3% (4/63) de las cepas poseían los tres factores de virulencia. Se observaron diversas deficiencias de buenas prácticas de manufactura durante el expendio en el puesto de venta. La mayoría de los vendedores no contaban con guantes, cobertores de cabello ni tapabocas. Tampoco disponían de un lavatorio apropiado donde lavarse las manos ni otro donde lavar y desinfectar los cuchillos y tablas con las debidas frecuencias. En todos los puestos se observó canales de pollo sin eviscerar, la carne se vendía sin conservación en refrigeración y los manipuladores de la carne también realizaban el cobro. Además, los puestos de venta limitaban con otros puestos de venta de alimentos, como verduras, carne de pescado, especias y abarrotos. La presencia de STEC en al menos una de las superficies contaminadas del 66% de los puestos de venta confirma al puesto de expendio de carne de pollo como fuente de contaminación con este agente. Stxs son considerados factores de virulencia críticos en las enfermedades producidas por STEC. Stxs se unen a las células que poseen receptores afines bloqueando la síntesis proteica por su daño irreversible al ARN ribosomal. Se determinó que 12.7% (8/63) de las cepas presentaron el gen stx1 y stx2, el 19.0% (12/63) presentaron el gen stx1 y el 14.3% (9/63) el gen stx2. Diversos reportes señalan que el stx2 es el gen predominante de los STEC presente en varios niveles de la cadena de comercialización de la carne (Blanco et al., 2004). Stx2 es más tóxico para las células endoteliales microvasculares renales de los humanos que la Stx1. Los puestos de venta de carne de pollo en el Mercado Cooperativo de Ciudad de Dios, del distrito de San Juan de Miraflores, Lima, es fuente potencial de

contaminación con *Escherichia coli* y STEC (Lucas, Cauti, Jiménez, Campos, & Alvarado, 2016).

Esto indica que la mayoría de las muestras fueron contaminadas con Coliformes totales durante el proceso de manipulación desde la etapa en la que los animales ingresan a la sala de matanza, hasta la comercialización en los expendios de los mercados municipales de la cabecera, observándose en esta investigación que los requisitos mínimos de higiene no se cumplen a nivel de expendio. Existe una falta de conocimiento sobre buenas prácticas de manipulación (BPM) por parte de los productores, distribuidores y comercializadores; tomando en cuenta que la sala de matanza no cumple con los requisitos mínimos sanitarios. Los parámetros permitidos para el recuento de Coliformes totales según la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT, 2014) deben encontrarse entre 100 (m) y 500 (M) UFC/g. La denominación genérica Coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tiene ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Las cepas de Coliformes totales y Coliformes fecales se encuentran en el suelo, alimentos, agua, polvo y principalmente en el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente. Los alimentos de los que se sospecha que transmiten la enfermedad son los que han sido preparados y manipulados sin normas adecuadas de higiene sin precautelar condiciones de inocuidad alimentaria. Los Coliformes totales se usan para evaluar la calidad de los alimentos para comprender las infecciones debemos conocer primero cómo actúan recíprocamente los microorganismos y el huésped humano (Guaman, 2014).

2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Entre mayo de 2002 y enero de 2003 se investigó la presencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) en 236 alimentos listos para consumir y en 184 hisopados de manos manipuladores. Se aislaron 40 cepas (ICMSF, 2000), 24 de alimentos y 16 de hisopados de manos. Todas resultaron termonucleasa (+). En 17 de estas cepas, aisladas de 15 muestras elegidas al azar (7 alimentos y 8 hisopados de manos) se estudió la capacidad de producción de enterotoxinas (ET) y la sensibilidad frente a 14 antibióticos. El 59 % (10 cepas) resultó ET (+). Respecto a las pruebas de sensibilidad a antibióticos, 16 de las 17 cepas investigadas fueron resistentes a penicilina (94%), siendo la cepa sensible, β -lactamasa negativa. La resistencia que se observó frente a este antibiótico fue semejante a la informada por el programa de vigilancia de la resistencia antimicrobiana WHONET - Argentina en muestras clínicas (2002). Se comprobó una baja resistencia frente al resto de los antibióticos ensayados, con sólo 1 cepa resistente a la gentamicina. (L. Gubbay, 2003). La alta proporción de cepas enterotoxigénicas resalta la importancia de la capacitación de los manipuladores de alimentos en higiene personal, principalmente en el correcto lavado de las manos, como así también en Buenas Prácticas de Elaboración, como estrategia fundamental para prevenir brotes de enfermedades transmitidas por alimentos por este microorganismo (L. Gubbay, 2003).

El estudio de Yedra en 2016 consistió en analizar la carne molida de siete puntos de expendio al interior del mercado; el muestreo se realizó aleatoriamente y por triplicado de cada muestra durante tres sábados consecutivos, tomando como referencia la Norma NTE INEN 1346:2010. Para la cuantificación de *Staphylococcus aureus*, mediante la técnicas de detección cualitativas por Petrifilm

TM y las Normas Técnicas correspondientes; se manejó mediante el procedimiento de diluciones sucesivas para facilitar la cuantificación (10⁻¹ hasta 10⁻⁴), posterior a la incubación y presencias de unidades formadoras de colonias UFC/g se hicieron pruebas confirmatorias de los microorganismos en agar Manitol, Eosina azul de metileno y Standard Methods, para el análisis estadístico se aplicó análisis de varianzas ANOVA de un factor ($p > 0.05$). Los resultados obtenidos incumplen con los requerimientos establecidos por la norma para carne molida NTE INEN 1346:2010; hallándose en valores superiores a los límites microbiológicos, para *Staphylococcus aureus* 4.7×10^5 UFC/g y para Salmonella Presencia/25g respectivamente, estableciendo que puede ser una fuente de infección de ETA's (enfermedades transmitidas por alimentos), por lo que es necesaria la implementación de control periódico por parte del Ministerio de Salud con profesionales capacitados y técnicos, para disminuir los riesgos de la salud pública (Yedra, 2016).

El estudio "Evaluación física y microbiológica de la carne de pollo que se expenden en los mercados de la ciudad de Loja en el año 2013, propuesto por Darwin Palma donde se evaluó *Staphylococcus aureus*; analizando 208 muestras que el 65.38% no cumple con la norma INEN 2346 para carne, mientras el 34.61% cumplen con lo establecido con la carne de pollo. Por lo que se evidencia que la mitad de expendedores del alimento percedero tienen problemas de insalubridad y carecen de medidas higiénico-sanitarias en el expendio de productos cárnicos en los mercados populares (Palma, 2013).

En la Provincia de Salta, República Argentina, en los que se realizaron encuestas por entrevista estructurada a través de un formulario impreso con preguntas abiertas y cerradas acerca del emplazamiento, estructura edilicia e

higiene de la planta física, higiene y hábitos del personal en diferentes etapas de procesamiento (elaboración, almacenamiento y venta). También se observaron otras variables relacionadas a las BPM como la contaminación cruzada, el uniforme o indumentaria de trabajo y conductas laborales de los operarios. Se trabajó con 25 muestras de emparedados compuestas por: pan tipo viena, tomate en rodajas finas, lechuga, aderezos (mayonesa y Ketchup), carne picada y moldeada (hamburguesa) y huevo (frito). Las mismas fueron tomadas en el lugar de expendio de las manos del vendedor (bajo las mismas condiciones de venta al público) en bolsas de polietileno estériles, rotuladas y refrigeradas (4 ± 2 °C) hasta su procesamiento. (Cravero, Ramón, Bocanera, & Carolina, 2007) Se pesaron y tomaron 30 g para su homogeneización en Multiprocesador Moulinex AV4, y se suspendieron en 120 ml de solución fisiológica estéril durante 1 hora \pm 30 minutos, para luego realizar las diluciones correspondientes a fin de realizar los análisis microbiológicos. Éstos últimos se llevaron a cabo en cuarto de siembra, con luz ultravioleta y fueron los siguientes:

- *Staphylococcus aureus* (Manitol Salado, 10-3, 10-4 a 37 °C/48 Hs)

En laboratorio de alimentos se realizó la extracción de grasa por Método Directo con Solventes (Éter de Petróleo) según AOAC y posterior valoración del contenido porcentual de grasa por diferencia; Índice de Peróxidos, para lo cual se pesaron $1 \pm 0,005$ g de grasa y diluyeron con solvente (Ácido Acético Glacial / Cloroformo 2 / 1) e Ioduro de Potasio Saturado para su posterior titulación con Tiosulfato de Sodio 0,01N según AOAC ; y Malonilaldehído (MDA) mediante la prueba del Ácido Tiobarbitúrico (ATB) , para valorar el deterioro oxidativo de las grasas (rancidez) y formación de compuestos tóxicos secundarios respectivamente. Se determinó que El 80% de los locales disponían de energía eléctrica, agua potable,

gas natural, cloacas. Todos los puestos de venta estaban situados sobre calles transitadas con una alta tasa de polución y smog dada por el tránsito vehicular y, por ende, expuestos a contaminantes físicos como humo, gases y olores desagradables. El 60% contaban con instalaciones y equipamiento (sectores de elaboración, venta, almacenamiento y baños) en buenas condiciones de construcción y mantenimiento según normas vigentes en lo que respecta a planta física. Sin embargo, entre el 56 al 68 % cumplimentaban con las mínimas condiciones de higiene en todos los sectores de la fábrica: el 52 % no contaba con un programa de saneamiento adecuado ni organizado y el 20 % no desinfectaba según lo exigido por organismos competentes. Así también se observó que el 32% utilizaba insumos de limpieza de marcas no reconocidas, o que no poseían etiquetado correspondiente o se encontraban almacenados junto a víveres secos (despensa), lo cual no está permitido por las BPM debido a la gran posibilidad de contaminación cruzada entre sustancias químicas volátiles o por derrames (detergente, hipoclorito de sodio, etc) hacia los alimentos de manera accidental o intencional. Con respecto al personal, el 40 % de los operarios no vestía uniforme completo ni limpio (delantal o mandil, gorro o cofia, ni zapatos de uso exclusivo para el trabajo). Se observaron hábitos indeseables como toser, mascar gomas, fumar, rascarse la cabeza, tocarse la nariz, pelos u ojos en el 88 % de los casos. El 56% no contaba con libreta sanitaria ni certificado de buena salud expedido por el médico. Tampoco credencial habilitante o controles de salud al menos una vez al año como lo exige la ley.

El 80% sin cursos de capacitación en el área de BPM, pero con estudios de nivel secundario, lo que indica que la escolaridad es adecuada para entender muy bien los contenidos referentes a las mismas. Las conductas de trabajo fueron

regulares en el 40 % de los operarios observados. Se pudieron constatar visitas inoportunas de familiares o amigos en horas de trabajo en el 65 % de las fábricas, lo que constituye un factor de distracción para el manipulador de alimentos. La contaminación cruzada fue observada en el 90 % de los locales comerciales por el uso recipientes únicos para procesar diversos ingredientes como vegetales y pan o éste y otros productos. El 80% de los emparedados de hamburguesa estaba contaminado, y de éstos, el 95% presentó Recuento Total positivo con valores que oscilaron en 35% con *Staphylococcus aureus* (3×10^2 a 10^4 UFC/g) excediendo los límites permitidos para su consumo, según las normas vigentes para estos productos y tipo de patógenos encontrados (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982).

La investigación se realizó en los dos mercados municipales de la cabecera departamental de Chiquimula; en el cual se seleccionaron 15 expendios, de los cuales 10 pertenecen al mercado central y 5 de la terminal. Se tomó una muestra de 4 onzas de carne bovina por expendio, en 3 repeticiones con intervalos de 15 días, evaluando un total de 45 muestras, transportadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, determinando las unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) del recuento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Coliformes totales y la presencia de *Escherichia coli* 0157:H7 y *Salmonella sp.* De acuerdo al análisis, se determinó que los microorganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y Coliformes totales presentan resultados mayores a los rangos establecidos como parámetros de referencia; estableciendo que de acuerdo a la prueba de Xi² se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre ambos mercados, obteniendo mayores porcentajes de contaminación de *S. aureus* en el mercado de la terminal;

también se determinó la ausencia total de *E.coli* 0157:H7 y presencia de *Salmonella* *sp.* similar en ambos mercados; esto puede repercutir en enfermedades transmitidas por alimentos que no solo dañan físicamente, también provocan un impacto socioeconómico negativo.

En el reporte Aplicación De Buenas Prácticas De Manufactura Y Determinación De Agentes Contaminantes En Hamburguesas Expendidas En Salta determino agentes contaminantes (microorganismos patógenos y oxidación lipídica) en hamburguesas expendidas en la ciudad de Salta, República Argentina. Se observó planta física, condiciones higiénicas de instalaciones, equipos y personal en 25 establecimientos habilitados (al azar). Se tomaron 25 muestras de emparedados de hamburguesas (pan, carne picada y moldeada, huevo, tomate, lechuga y aderezos) en bolsas estériles. Se realizó: Recuento Total de Aerobios *Mesófilos*, *Coliformes*, *Enterobacterias*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (O157: H7) e Índice de Peróxidos (IP) y Malonilaldehído (MDA). Estadísticamente se realizaron pruebas no paramétricas (Rho de Spearman); Programa SPSS 7.0. El 60% de los locales presentaban instalaciones, equipos y baños en buenas condiciones según normas vigentes (80/96 Reglamento MERCOSUR). Entre el 56 al 68% tenían mínimas condiciones de higiene en todos los sectores de la fábrica: 52% no contaba con programa de saneamiento o desinfección según lo exigido por organismos competentes. El 40% del personal no vestían uniforme completo ni limpio; el 56% sin libreta sanitaria y el 80% sin cursos de capacitación en BPM. Los hábitos indeseables fueron observados en el 88% de los casos, con conductas de trabajo Volumen 8 No.4 Enero-Marzo 2007 *Salus* con propósito vital regulares (40%) y contaminación cruzada (90 %). Recuento Total Positivo 95% de las muestras (103 a 107 UFC/g); 60% con Coliformes (102 a 8 x 10⁵ UFC/g), 10% con

Enterobacterias (10^3 a 6×10^3 UFC/g) y 35% con *Staphylococcus aureus* (3×10^2 a 10^4 UFC/g) excediendo límites permitidos para consumo. *E. coli* negativa (100%). El 20% con IP mayor a $10 \text{mEqO}_2 / \text{Kg}$ (10,44 a 14,53); el 92% con contenido de MDA inferior a 0,5 (0,154 a 0,451). Correlación altamente significativa entre análisis microbiológicos y libreta sanitaria, cursos de capacitación, conductas y contaminación cruzada. La aplicación de BPM fue insuficiente, lo cual se refleja en la calidad higiénico sanitaria de los productos analizados ya que recuentos elevados indican materias primas contaminadas, tratamientos no satisfactorios y condiciones inadecuadas de almacenamiento. Peróxidos y MDA excedieron los límites permitidos constituyendo peligros potenciales para la salud de los consumidores (Cravero, Ramón, Bocanera, & Carolina, 2007).

Siendo su principal objetivo Realizar un diagnóstico higiénico- sanitario de los expendios de carnes crudas (res y cerdo) en los mercados de la ciudad de Chinandega, León y Managua, para la elaboración de un anteproyecto de Norma, que establezca los requisitos que deben cumplir dichos establecimiento, los manipuladores en los establecimientos, en la ciudad de Chinandega, el mercado central, cumple con un 44% de los requisitos especificados en la ficha, cuyo valor máximo son 20 puntos, en el mercado Santa Ana cumplen con el 42%. En la ciudad de León los manipuladores de los establecimientos de carne de res y cerdo del mercado la estación cumple en un 53% y la terminal con 32%. En Managua, los manipuladores de carne del mercado Iván Montenegro cumplen en un 30% y en el mercado Roberto Huembes en un 58%. Esto se debe que en todos los establecimientos de los mercados hay deficiencia en el uso de vestimenta, puesto que en sólo dos de los expendios del mercado central de Chinandega se encontró a

los manipuladores con gorros, el resto se encontraron únicamente con delantales. Además, en algunos de los expendios, los expendedores manipulan la carne con uñas largas y con esmalte, con prendas, lo que puede provocar que algunos de estos accesorios contaminen la carne (Salinas Gomez, 2006).

La relación existente entre la inadecuada manipulación y almacenamiento de la carne con las ETA's, se puede observar la terrible realidad con la que día a día estamos viviendo, concretamente constatamos que, al realizar la encuesta a los expendedores de carne o tercenistas del Mercado Modelo de la ciudad de Ambato, la principal causa de la mala manipulación y almacenamiento es debido a que aún tienen problemas en la manipulación de la carne. Durante la investigación, algunos tercenistas supieron manifestar que la principal causa es que no cuentan con equipos apropiados durante el transporte de la carne desde los mataderos hasta los mercados, y en algunos locales se pudo observar que no poseen equipos de frío para almacenar la carne que se distribuye para su venta, todo esto no solo influye en la salud de los consumidores sino también en pérdidas económicas a los tercenistas debido a que el tiempo de vida útil de la carne se ve afectado y presenta riesgos a la salud. Al observar los valores se determina que el 61 % de los encuestados manifiesta que alguna vez ha tenido problemas de salud al consumir carne, esto representa un total de 94135 del total de la población, mientras que 60184 personas manifiestan que no han tenido problemas de salud al consumir carne (Agualongo., 2007).

Un estudio realizado en República Dominicana mostró la presencia de bacterias tales como *Bacillus cereus*, *Clostridium peifringes*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en alimentos vendidos en las calles, así como una tendencia al aumento progresivo de las cantidades de bacterias en esos alimentos durante el almacenamiento y el proceso de venta. Asimismo, un estudio microbiológico de los

alimentos vendidos en las calles de Bolivia, efectuados en 1988, reveló que eran inadecuadas la calidad y las características higiénicas de 73% de los productos examinados. En las muestras estudiadas se aislaron microorganismos patógenos, como *S. aureus* y espécimen del género *Salmonella*. Las personas que manipulan los alimentos pueden ser portadores de enfermedades, lo que aumenta los riesgos vinculados con los alimentos vendidos en la calle; por ejemplo, en un estudio efectuado en Bogotá, se encontró que más de 30% de un grupo de manipuladores de alimentos examinados eran portadores de microorganismos patógenos, como *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella* (Flores, 2009).

En los parques “Roberto Luis Cervantes” y “Luis Tello” de la Ciudad de Esmeraldas, durante el periodo comprendido entre el mes de Noviembre del 2015 hasta el mes de Marzo del año 2016, con el objetivo principal de determinar las condiciones higiénicas y sanitarias en el manejo y expendio de alimentos ambulantes al realizar la encuesta a los expendedores acerca de su conocimiento en normas higiénicas de manufactura en alimentos un 93% mencionó si tener conocimientos acerca de estas, lo cual no se reflejó en la ficha de observación, y en el parque “Luis Tello” un 100% mencionó tener conocimientos lo que no se reflejó en su totalidad en la ficha de observación aplicada, cabe recalcar que en cuanto al uso de un uniforme adecuado fue más evidente cuando se aplicó la ficha de observación y en las encuestas a los consumidores con un mayor porcentaje con un 45% en comparación al uso de un uniforme adecuado en el parque “Roberto Luis Cervantes”, respecto a la aplicación de otras normas higiénicas no se observaron muchas diferencias entre ambos parques; A pesar que se evidenció, que las prácticas higiénicas sanitarias se aplicaban con mayor frecuencia en el parque “Luis Tello”

en comparación a el parque “Roberto Luis Cervantes”, cabe recalcar que no quiere decir que no existan problemas sanitarios, debido a que era un mínimo número que se visualizó en comparación a los resultados que dieron las encuestas realizadas a los expendedores en donde los resultaron demostraron que la mayoría aplica medidas de higiene cuando en realidad es lo contrario (Murillo, 2016)

Una investigación realizada en la ciudad de Esmeraldas, con título de investigación condiciones higiénicas sanitarias en la manipulación y expendio de alimentos en la vía pública en el parque infantil “Roberto Luis Cervantes y el parque de las palmas “Luis Tello” 2016 tuvo como conclusión en cuanto a la conclusión de medidas higiénicas por parte del personal se determinó que en ambos parques los expendedores usan joyas al momento de manipular alimentos, en un 100% ninguno de los dos parques antes mencionados cuenta con agua potable por lo que se da insalubridad en los alimentos, un correcto lavados de manos a pesar de que estos reportan según la encuesta lavarse las manos cada que sea necesario, en cuanto a utensilios se confirmó un mayor porcentaje siendo el 65 % no estar de acuerdo con las practicas y/o la forma de higiénicas de manipulación de los alimentos que se utilizan en este lugar ya que no usan mandil, siendo el consumidor quien afirma que la limpieza es deficiente en mesas, utensilios, y el ambiente de sus alrededores que también influye en la contaminación de los alimentos y en su consumo, y casi la mitad lo califica como antihigiénico. (Montesdeoca, 2016)

De los datos que se obtuvieron el 100% de los expendedores un 33% de los expendedores utilizan detergente, otros 33% desinfectante y por último un 33% cloro para la realización de la limpieza de piso, mesa; esto significa que cada expendedor mantiene su área de trabajo limpia (Mendoza, 2018)

Las 100 muestras analizadas, fueron obtenidas de diferentes mercados de Trujillo, 25 mercado Central, 25 Mercado Unión 25 mercado Palermo, 25 mercado Indoamericano, se logró aislar *S. aureus* de 33 muestras de mesas de expendio de carne de pollo (33%); resultando que el mayor porcentaje de muestras positivas encontradas pertenece a las obtenidas del mercado Palermo. Esto era de esperarse debido a las condiciones inadecuadas de las mesas ya que la mayoría presentaba ranuras que proporcionaba la acumulación de restos y líquidos orgánicos. Esto se debe *S. aureus* se puede encontrar en el medio ambiente como puede ser: aire, polvo, superficies en donde se manejan alimentos, agua, agua residual, y finalmente se pueden localizar en personas y animales. Estos últimos, son los principales reservorios de estos microorganismos (Melendez, 2006).

2.3. Evaluación microbiológica

a) Análisis microbiológico: Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.

b) Alimentos procesados: son todos aquellos alimentos que son sometidos a un procedimiento mecánico, físico o químico la finalidad de mejorar sus características organolépticas (Sagnay, 2014).

c) Bacterias: Las bacterias son seres generalmente unicelulares de tamaño variable y su estructura es menos compleja que la de organismos superiores. Las bacterias son ubicuas y juegan un papel fundamental en la naturaleza y en el hombre, ya que la presencia de una flora bacteriana normal es indispensable, aunque asimismo hay bacterias (gérmenes) que resultan patógenas. Las bacterias patógenas son una de las principales causas de enfermedades humanas, destacando las intoxicaciones

alimentarias, intoxicaciones provocadas por consumo de alimentos que pueden estar contaminados por una mala manipulación.

d) Calidad sanitaria: Es el conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe cumplir un alimento para ser considerado inocuo Y apto para el consumo humano, (www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm, s.f.).

e) Contaminación de Origen: Es aquella contaminación que ya viene implícita en el alimento. Esta fue evidente pues la carne trae consigo organismos fecales y al estar cerca del fuego posiblemente aumentará el número de organismos.

f) Contaminación cruzada: Contaminación del pescado o productos pesqueros por contacto con material que se encuentra en las fases iniciales del proceso o con personas que manipulen materias primas susceptibles de contaminar el producto final o terminado.

g) La Contaminación Cruzada Directa: Ocurre cuando un alimento contaminado entra en "Contacto Directo" con uno que no lo está. Cuando se mezclan alimentos cocidos con crudos en platos que no requieren posterior cocción como ser ensaladas, platos fríos, tortas con cremas, postres, etc. Cuando hay una mala ubicación de los alimentos en la heladera. Los alimentos listos para comer toman contacto con los alimentos crudos y se contaminan. Por lo general se produce, cuando se mezclan alimentos cocidos con crudos en platos que no requieren posterior cocción como ser en ensaladas, platos fríos, tortas con cremas, postres, etc. Cuando hay una mala ubicación de los alimentos en la heladera. Los alimentos listos para comer toman contacto con los alimentos crudos y se contaminan (Flores, 2009).

h) La Contaminación Cruzada Indirecta: Es la producida por la transferencia de contaminantes de un alimento a otro a través de las manos, utensilios, equipos, mesadas~ tablas de cortar, etc. Por ejemplo, si con un cuchillo se corta un pollo crudo y con ese mismo cuchillo mal higienizado, se troza un pollo cocido, los microorganismos que estaban en el pollo crudo, pasarán al pollo cocido y lo contaminarán. Generalmente ocurre por el uso de utensilios sucios como también por una mala higiene personal de quien manipula o vende los alimentos (Flores, 2009).

i) ETAs: enfermedades transmitidas por alimentos, según la OMS son todas aquellas enfermedades que se originan por la ingestión de alimentos infectados con agentes contaminantes, y constituyen un riesgo muy importante para la salud de la población (Brenda., 2009).

h) Expendio de carnes: En esta área la venta de carnes no todos cumplen con las normas de manipulación y conservación de alimentos a pesar de contar con cuartos fríos y frigoríficos se exhibe el producto fuera del rango de temperaturas a las q hay q mantenerlas, trasgrediendo así la conservación de alimentos.

i)HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point o lo que en español se traduce como (APPCC) Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control.

j) Higiene: La higiene se refiere al conjunto de prácticas y comportamientos orientados a mantener unas condiciones de limpieza y aseo que favorezcan la salud de las personas.

k) Higiene alimenticia: La OMS (2009) son un conjunto de condiciones y medidas que deben estar presentes en todas las etapas de producción, almacenamiento,

transformación, transporte, y conservación con la finalidad de garantizar la salubridad de los alimentos (Sagnay, 2014).

l) Hisopo: Instrumento que tiene un extremo recubierto de algodón o de rayón estéril que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.

m) Límites microbiológicos: Son los valores permisibles de microorganismos presentes en una muestra, que indican la aceptabilidad higiénica sanitaria de una superficie.

n) Manipulador de alimentos: Toda persona que a través de sus manos toma contacto directo con alimentos envasados o no envasados, equipos y utensilios utilizados para su elaboración y preparación o con superficies que están en contacto con los alimentos.

o) Mercado de abasto: Entiéndase a un local cerrado en cuyo interior se encuentran contruidos o distribuidos puestos individuales, en secciones definidas, dedicados a la comercialización de alimentos y bebidas, productos alimenticios y otros tradicionales no alimenticios.

p) Muestra: son proporciones extraídas de un lote que nos sirve para obtener información importante de sus características (Sagnay, 2014)

q) Peligro: Agente biológico, químico o físico presente en un alimento o superficie que está en contacto con los alimentos y que pueden ocasionar un efecto nocivo para la salud.

r) Riesgo: Probabilidad de que ocurra un efecto nocivo para la salud y la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos,

ocasionado por el contacto con superficies vivas (manipulación) o inertes contaminadas.

s) Sección: Son zonificaciones o áreas donde se localizan los puestos individuales de venta con características comunes para la comercialización de alimentos pertenecientes al mismo rubro.

t) Superficies inertes: Son todas las partes externas y/o internas de los utensilios que están en contacto con los alimentos, por ejemplo, equipos, mobiliario, vajilla, cubiertos, tabla de picar, etc.

u) Superficies vivas: Las partes externas del cuerpo humano que entran en contacto con el equipo, utensilios y alimentos durante su preparación y consumo. Se considera a las manos con o sin guantes del manipulador de alimentos.

v) Vigilancia sanitaria: Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad Sanitaria sobre las condiciones sanitarias de las superficies que están en contacto con los alimentos y bebidas, en protección de la salud de los consumidores,

(www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm, s.f.)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El estudio realizado en los mercados Central y Unión - Dignidad de la ciudad de Puno, ubicado en las coordenadas geográficas de 13° 00' 00" y 17° 17' 30" en latitud sur y 71° 06' 57" y 68° 48' 46" de longitud oeste de meridiano de Greenwich; cuenta con una extensión territorial de 71 999,0 Km² (6 por ciento del territorio nacional) siendo el quinto departamento más grande en el ámbito nacional. Y las muestras obtenidas de los puestos de venta de carne de res serán procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, que se encuentra a una altura de 3820 m.s.n.m.

3.2. MATERIAL DE ESTUDIO

El tamaño muestral estuvo conformado por 50 muestras, se tomaron 5 muestras de cada puesto Tabla de cortar, Mesa de Expendio, Cuchillo, Balanza y Lavado de manos. Para la evaluación bacteriológica de *Escherichia Coli* y *Stafilococos aureus*.

Tabla 2: Distribución de muestras según los utensilios y mercados

Muestra	Mercado Central	M. Unión y Dignidad
Superficie de mesa	5	5
Cuchillos.	5	5
Balanza.	5	5
Tabla de corte	5	5
Manos de expendedores	5	5
TOTAL	25	25

3.3. MATERIALES

3.3.1. Para la fase de campo se utilizaron los siguientes materiales:

-Bolsas de cierre hermético (25x15 cm)

- Rotuladores

- Caja refrigerante

- Jeringas (10mL, 20mL)

- Gel refrigerante

- Tubos de ensayo

- Solución peptonada

- Matraz (50 mL, 100mL)

- Pipetas y micro pipetas (1mL, 100 - 1000 μ m)

- Guantes descartables

- Cubre bocas

- Gorro

3.3.2. Fase en laboratorio: Medios de cultivo

- EMB: Eosina Azul de Metileno

- MS: Manitol Salado

- Contador de colonias. Equipo que se utilizó para la contabilización y morfología de las colonias tanto de *Staphilococcus aureus* y *Escherichia Coli*.

- Centrifuga (modelo K-550-G) (Serie N°36635)

- Electric Pressure Steam Sterilizer (All American) (Modelo: N°25x)

- Balanza digital
- Pipeta automática de 1000uL
- Puntas para pipetas automáticas
- Pipetas graduadas de 10ml
- Tubos de ensayo
- Espátula
- Cajas Petri
- Mechero de bunsen
- Computador para la elaboración de diseños y procesamiento de datos de la investigación.
- Manual de inspección.

3.4. METODOLOGÍA

Este esfuerzo sustenta las técnicas y métodos usados para la determinación de contaminación bacteriana, así como cuantificar los coliformes totales y evaluar la contaminación de *Staphylococcus aureus*.

3.4.1. Procedimiento de la toma de muestras

Los datos fueron clasificados en dos grupos para la optimización de la información recolectada. Se realizó 5 tomas de muestras; las primeras cuatro de materiales de expendio y la quinta de lavado de manos. Para la toma de muestras se utilizó la Norma Peruana Resolución ministerial N°461-2007/MINSA para

superficies en contacto con Alimentos y Bebidas.

(www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm, s.f.).

3.4.2. Diseño de investigación

La investigación es correlacional y ha sido orientada y realizada, mediante la ejecución secuencial de las actividades para el estricto cumplimiento de los objetivos, teniendo como base metodológica teórica de la investigación.

Se aplicó la investigación de laboratorio; cuantificación y exploración que consiste en la obtención de la evaluación bacteriana por medio de métodos de inspección, lo cual se utilizó para conocer la realidad en que se encuentran los mercados de la ciudad de Puno.

3.4.3. Descripción de métodos por objetivos específicos

- a) **Cuantificar coliformes totales en superficies de Mesa de expendio, cuchillos, balanza, Tabla de corte y las manos de los expendedores en puesto de carne de res en mercados de la ciudad de Puno**

i. Método del hisopo

Se consideró la cuantificación y evaluación de las superficies inertes regulares e irregulares (tabla, mesa de expendio, cuchillo, balanza), se trabajó con la Norma Peruana resolución ministerial N°461-2007 para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.

Mediante el método del hisopo cuyo procedimiento es:

Colocar una plantilla esterilizada (10 cm x 10cm) sobre la superficie a muestrear, para lo cual se humedeció el hisopo con la solución diluyente (Agua de Peptona) y se presionó ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de

rotación para quitar el exceso de solución, con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se frotó 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior, asegurándose que se cubra toda la superficie, luego se colocó el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual es eliminada. Se agita la muestra tomada y se transporta en un contenedor isotérmico con gel refrigerante para conservar las muestras a temperaturas bajas. (www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm, s.f.)

Para la toma de muestras de hisopo, se seleccionaron los puestos de mercado de manera aleatoria por cada punto de venta, cuatro (04) muestras entre ellas una de la tabla para cortar, la segunda de la mesa de expendio, la tercera del cuchillo, la cuarta de la balanza. El número de UFC/cm² se determinó mediante la cuantificación de coliformes totales en las superficies inertes con el equipo. Cuantificador de colonias en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

ii. Método del lavado o enjuague de manos

El método consiste en realizar un enjuague de manos en una solución diluyente. Bajó con la Norma Peruana resolución ministerial N°461-2007.

Mediante el método de lavado de manos cuyo procedimiento es:

Vaciar el diluyente del frasco (100mL) en una bolsa de cierre hermético de primer uso, se introduce las manos de los vendedores de carne de res, hasta la altura de las muñecas, luego se solicitó al manipulador que realice un frotado de los dedos

y particularmente alrededor de las uñas; al mismo tiempo se realizó la misma operación a través de las paredes de la bolsa por un minuto aproximadamente.

Para la toma de muestras de lavado de manos, se seleccionaron los puestos de mercado de manera aleatoria por cada punto de venta, una (01) muestra. El número de UFC/cm² se determinó mediante la cuantificación de coliformes totales en las manos.

b) Evaluar la contaminación de *Staphylococcus aureus* en superficies de mesa, cuchillos, balanza, tabla de corte y las manos de los expendedores de carne de res en los mercados de Puno.

Se empleó el método del hisopo, así como el método de lavado de manos los cuales fueron exactamente los mismos que se utilizaron para la evaluación de coliformes totales cumpliendo con el objetivo de evaluación.

Análisis microbiológicos

Para la determinación de *coliformes* y *Stafilococcus aureus* se usaron:

Por el método de hisopado

- EMB (Eosina Azul de Metileno) para *E. coli*
- a) Del hisopado de las superficies inertes regulares 1mL.
- b) Realizamos diluciones seriadas.
- c) Se siembro en la placa con EMB
- d) Se incuba a 37°C por 24 horas.
- e) Realizamos el contaje de colonias formadas.

- Manitol Salado para *Stafilococcus aureus*
- a) Del hisopado de las superficies inertes regulares 1mL.
- b) Realizamos diluciones seriadas.
- c) Se siembro en la placa con Manitol Salado
- d) Se incuba a 37°C por 24 horas.
- e) Realizamos el contaje de colonias formadas

Por el método de lavado de manos

Los medios de cultivo fueron los mismos.

- a) Se colocó la muestra guardada en tubos de ensayo.
- b) Con micro pipetas de 100 y 1000 μm
- c) Se sembró en las placas
- d) Se cultivó y conto las colonias formadas.

3.4.4. Procedimiento para la siembra de muestras.

- a) Se prepararon Matraces con 50 mL de Eosina Azul de Metileno (EMB); Manitol Salado ambos esterilizados.
- b) Se realizó la dilución para cada muestra.
- c) Se efectuó la toma de muestras.
- d) Se aplicó 1mL de EMB; de Manitol salado en la placa Petri.
- e) Se incubo por un periodo de 24 Horas a 37°C.
- f) Pasado este tiempo se hizo el conteo respectivo de las UFC unidades formadoras de colonias para su respectivo análisis estadístico.

3.4.5. Método microbiológico para coliformes totales

El medio de cultivo que se utilizó fue Eosina Azul de Metileno (EMB), es un medio ligeramente selectivo y de diferenciación para el aislamiento de Gram negativos. Contienen colorantes de azul de metileno. Una vez recibida la muestra

en el laboratorio, se procedió a extender tan pronto como sea posible, la extensión se realizó en la placa Petri que contenía el medio de cultivo.

Se incubó las placas en condiciones aerobias a una temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante un periodo de 18 a 24 horas.

Lectura e interpretación, Se consideraron Coliformes todas las unidades formadoras de colonias redondas de coloración que va del rosado al marrón oscuro.

3.4.6. Método microbiológico para *Staphylococcus aureus*

El medio de cultivo que se utilizó fue Manitol Salado (MS), utilizado para la diferenciación de *Staphylococcus* positivos a la coagulasa.

Se extendió las muestras tan pronto como fueron recibidas, luego se realizó la extensión, el medio de cultivo incubo las placas a 24 – 48 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en una atmósfera aerobia.

Lectura e interpretación, se consideraron colonias de *Staphylococcus aureus*, aquellas con fermentación del manitol.

3.5. Método estadístico

Los datos de carga microbiana en los utensilios fueron analizados mediante el diseño completamente al azar con 5 tratamientos y 5 repeticiones para cada tratamiento, y los promedios se contrasto a través de la prueba estadística de “t” student, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + A_i$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta (Carga bacteriana)

μ = Media poblacional

A_i = Efecto del iésimo tratamiento (1,2, 3, 4 y 5)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

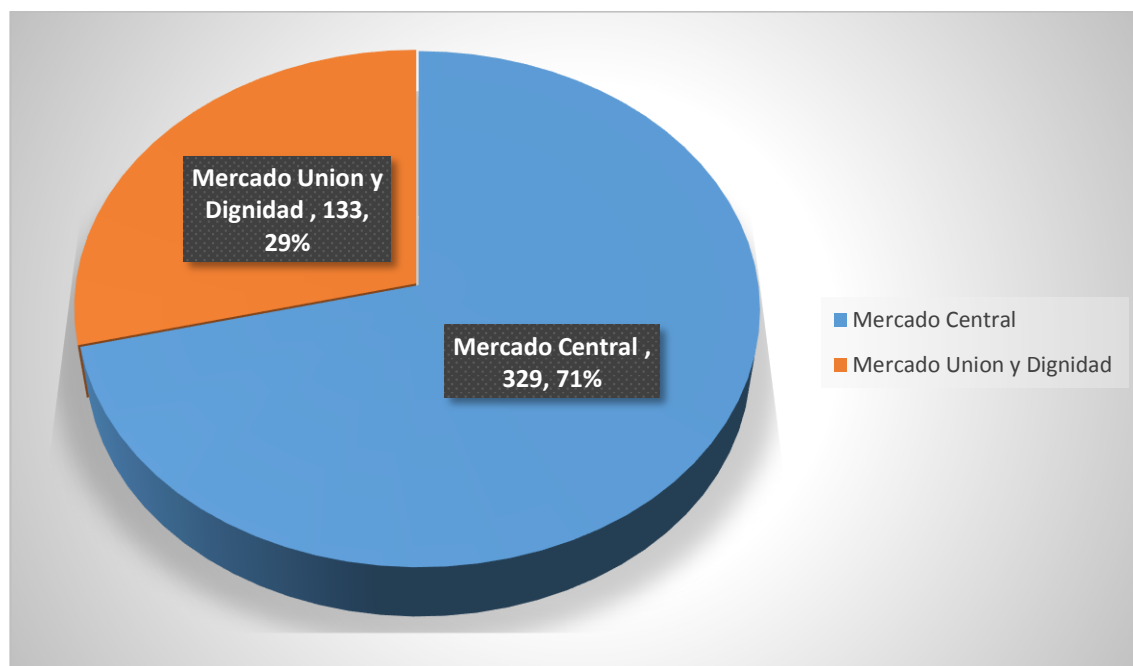
4.1. Cuantificación de coliformes totales en superficies inertes *E. Coli* UFC/cm²

Tabla 3: Carga bacteriana de *E. Coli* UFC/cm² en puestos de expendio de carnes rojas según mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.

MERCADOS	n	PROMEDIO	E.E.	%
CENTRAL	25	329 UFC/cm ²	71.72	71%
UNION y DIGNIDAD	25	133 UFC/cm ²	19.99	29%
	100	462 UFC/cm ²		100%

Fuente: Elaboración propia P<0.05

Figura 1. Resultados obtenidos de carga bacteriana de *E. Coli* en utensilios y manos de los expendedores de los mercados de la ciudad de Puno.



Fuente: Elaboración propia

La tabla 3 y la figura 1, muestra la carga bacteriana de *E. Coli* en puestos de venta de carnes rojas en mercados de Puno; donde los puestos del mercado central mostraron mayor contaminación con 329 unidades formadoras de colonias (UFC/cm²) comparado a los puestos de venta ubicados en el mercado Unión y Dignidad con 133 unidades formadoras de colonias UFC /cm² (P≤0.05). Esta diferencia se debería a que, las

expendedoras del mercado central practican limitada higiene, ya que poseen utensilios y manos contaminadas para los cortes y acondicionamiento de la carne a comercializar. Según (INEN, 2013), la ausencia de agua en algunas horas del día revela las precarias condiciones higiénicas-sanitarias en estos lugares de expendios.

Estos valores encontrados son inferiores al reporte de (Moreira & Ana María, 2014) quien en el mercado central de Guayaquil encontró 93.33% de muestras contaminadas y en el mercado terminal el 100% que exceden los límites permitidos. En base al análisis estadístico las medias de ambos mercados son de 59118.67 UFC/g y 302686.67 UFC/g respectivamente. Asimismo (Jara Benavides, 2010), quien, en un estudio realizado en la ciudad de Tingo María, región Huánuco – Perú, se reporta coliformes totales de 2,91 y 2,34 log ufc/cm² para porcinos y vacunos, respectivamente ($P \leq 0,05$) para la comparación de contaminación entre carcasas. Esto debido a que los canales se encontraban con un alto grado de contaminación por bacterias, eso indica que existen muchas bacterias más que pueden causar trastornos digestivos al consumidor.

Otro estudio microbiológico de rastros de ganado bovino y porcino refleja una incidencia para *E. coli* de 100% en canales, 81% en utensilios y 95% para trabajadores, indicando en el caso de *E. coli*, pobres condiciones higiénicas y malos hábitos de trabajo de los operarios (Púa Ramiro & Amparo Lina., 2014). Según la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con alimentos y bebidas" R.M. 461-2007/ MINSA. (MINSA., 2007) el límite permisible es < 1 ufc/cm² para coliformes totales.

Los límites permisibles para superficies regulares en cuanto a coliformes totales es de < 1 ufc/cm² el trabajo de investigación incumple con los rangos establecidos por

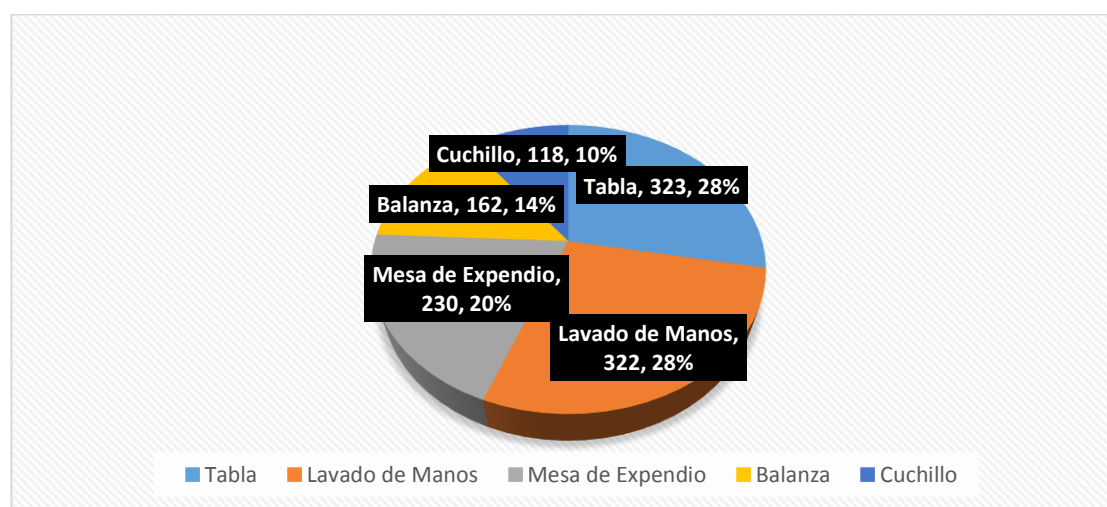
el MINSA, de la misma forma supera los límites permisibles; en cuanto a superficies irregulares siendo este < 10 ufc superficie muestreada.

Tabla 4: Carga bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.

UTENSILIOS	N	PROMEDIO	ERROR ESTÁNDAR	%
Tabla de cortar	10	323 UFC/cm ²	121.7601	28%
Lavado de manos	10	322 UFC/cm ²	118.2512	28%
Mesa de expendio	10	230 UFC/cm ²	99.8829	20%
Balanza	10	162 UFC/cm ²	25.3207	14%
Cuchillo	10	118 UFC/cm ²	23.8454	10%

Fuente: Elaboración propia

Figura 2. Carga Bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los puestos de carne rojas en mercados de Puno periodo octubre- Diciembre 2018



Fuente: Elaboración propia

En la tabla 4 y figura 2 se muestra carga bacteriana de *E. Coli* en los utensilios que manejan para atender la venta de carnes rojas en los puestos de expendedoras de los mercados central y Unión y Dignidad; en el cual, en la tabla de cortar y las manos mostraron la mayor carga como 323 UFC/cm² y 322 UFC/cm², respectivamente; seguido de la mesa de expendio con valores de 230 UFC/cm², balanza 161.6 UFC/cm² y por

ultimo cuchillo con 118.4 UFC/cm². Durante los análisis se pudo observar la contaminación existente en cada uno de los puestos tanto en las tablas como en las manos de las vendedoras, en la mesa de expendio y los cuchillos. En el uso de los utensilios para el expendio de carne solo cuatro de los 10 expendios usaba uniformes adecuados, cabello recogido y mantenían las uñas cortadas y sin esmalte aspecto que se incumplió en los demás expendios más en aquéllos que nunca recibieron una capacitación; situación similar al uso de guantes para agarrar la carne o los utensilios y equipos.

Los criterios de calidad microbiológica para superficies inertes detallan un máximo permitido de 1 UFC/cm² de coliformes fecales como indicadores de higiene (ANEXO A) por lo que, comparando con la tabla 4 y con el gráfico 2, se observa que los recuentos de coliformes fecales están fuera de la referencia citada, además que el análisis estadístico revela que si existe diferencias significativas en los resultados microbiológicos establecidos. Hallazgos como la presencia de roedores o insectos, y las fallas en la infraestructura, la ubicación y la ventilación de los establecimientos, constituyen factores determinantes que generan un escenario propicio para la contaminación y la propagación de microorganismos en los alimentos (FAO/OMS, 1997).

Según el estudio de Tadesse & Gebredhin (2015), la presencia de microorganismos en los alimentos provenientes de animales se da como consecuencia de los malos hábitos de higiene al tratar las carnes, encontrándose pruebas en las manos y materia fecal de los trabajadores. Mientras (Pedregal F, 2002) observó situaciones similares en los estudios de los comedores del Bienestar Social en Bucaramanga, en más de 96% de los establecimientos, los equipos y utensilios estaban distribuidos en una secuencia ordenada para evitar la contaminación cruzada. Sin embargo, en 13% de ellos no había neveras o congeladores, o estaban averiados, situación que es crítica para preservar la cadena de frío responsable de la vida útil del producto; este hallazgo fue similar al reportado en un

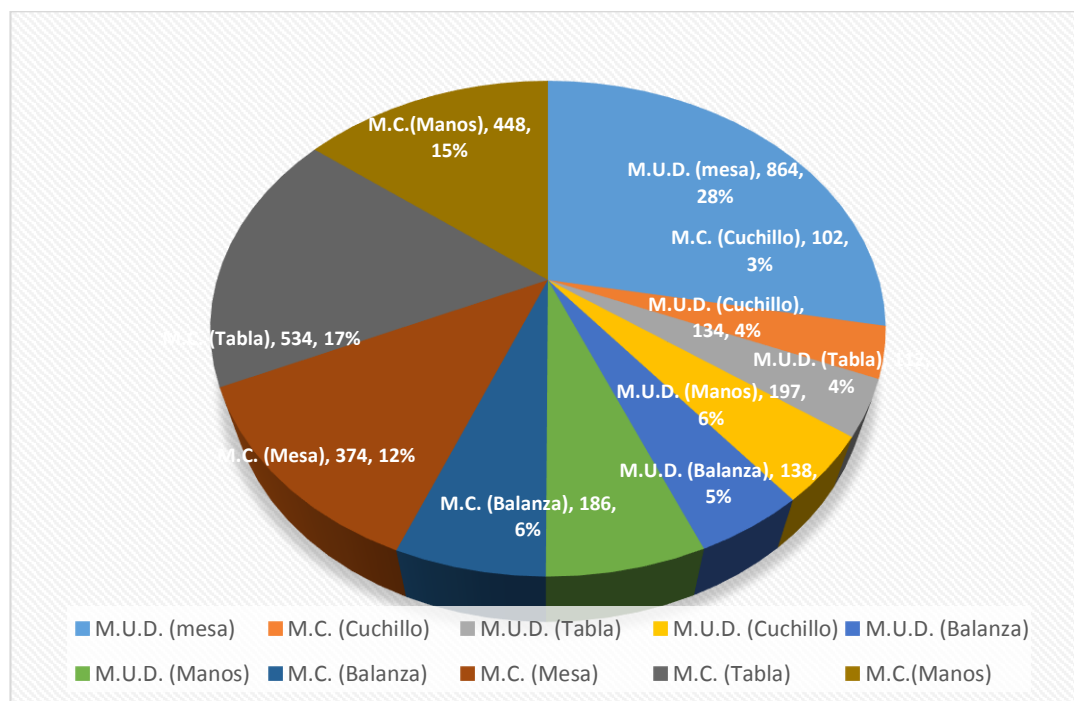
estudio en comedores de España, donde el incumplimiento fue de 26,3% para esta variable. El hallazgo de más de 85% de establecimientos sin clasificación de residuos y en los cuales no existía un sitio para su disposición temporal, favoreciendo el riesgo de contaminación de los alimentos y, por lo tanto, el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos. El uso de mezclas inadecuadas para desinfección, como la de agua, cloro y jabón, en la que se inactiva tanto el poder detergente del jabón como el desinfectante del cloro, evidencia el poco conocimiento de los procesos de limpieza, y la manera empírica y sin verificación en que se realizan, y responde a la poca capacitación de los manipuladores. Este escenario es similar a lo encontrado en los puestos de venta de alimentos en Lima, Perú, donde 98,4% de los puestos de venta de alimentos no tenían depósitos para la eliminación de los residuos sólidos y 72,1% de los manipuladores carecían de capacitación (J & V., 2001). La experiencia y la práctica del manipulador juegan un papel muy importante en la preservación de la cadena de seguridad alimentaria de la “granja a la mesa”. El hallazgo de sólo 60% de manipuladores capacitados en el manejo de alimentos, podría ser responsable de las malas prácticas observadas y requiere fortalecer la participación de las autoridades en la educación y capacitación para su papel en la salud pública.

Tabla 5: Carga bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018.

MERCADO/UTENSILIO	N	PROMEDIO	ERROR ESTANDAR	%
M.DIGNIDAD/MESA	5	864 UFC/cm ²	23.88	28%
M.DIGNIDAD/TABLA	5	534.4 UFC/cm ²	185.67	17%
M. CENTRAL/MANOS	5	448 UFC/cm ²	59.21	15%
M.CENTRAL/MESA	5	374.4 UFC/cm ²	164.47	12%
M.DIGNIDAD/MANOS	5	196.8 UFC/cm ²	33.9	6%
M.CENTRAL/BALANZA	5	185.6 UFC/cm ²	35.3	6%
M.DIGNIDAD/BALANZA	5	137.6 UFC/cm ²	28.84	5%
M.DIGNIDAD/UCHILLO	5	134.4 UFC/cm ²	34.64	4%
M.DIGNIDAD/TABLA	5	112 UFC/cm ²	32.48	4%
M.CENTRAL/UCHILLO	5	102.4 UFC/cm ²	27.28	3%
TOTAL	50	3089.6 UFC/cm²		100%

Fuente: elaboración propia

Figura 3. Interacción de la Carga bacteriana de E. Coli en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018



Fuente: elaboración propia

En la tabla 5 y figura 3 se muestra la interacción de la carga bacteriana de *E. Coli*; siendo el promedio mayor 864 UFC/cm² correspondiente a la Mesa de expendio del Mercado Unión y Dignidad; en donde sobrepasa los límites permisibles, seguido de la Tabla de cortar con 534 UFC/cm², el lavado de manos cuenta con 448 UFC/cm² ambos del Mercado Central; mientras que la Mesa de expendio posee 374 UFC/cm²; 197 UFC/cm² lavado de manos en Mercado Unión y Dignidad, la balanza del mercado central mostró 186 UFC/cm²; 138 UFC/cm² en la balanza , 134 UFC/cm² en el cuchillo, 112 UFC/cm² de la tabla de cortar del mercado Unión y Dignidad, 102 UFC/cm² del cuchillo del Mercado Central.

Al comparar los recuentos de carga bacteriana de *E. Coli* entre las diferentes Mercados se observa que el área que presenta mayor incidencia de estos microorganismos es el Mercado central presenta un problema de contaminación debido a que en las prácticas de trabajo se evidenció manejo simultáneo de dinero y alimentos, uso de joyas, uñas largas y con esmalte y muchos de ellos prefirieron no lavarse las manos cuando manipulaban dinero; sin embargo el promedio más alto de contaminación lo tiene la mesa de expendio del Mercado Unión y Dignidad.

El análisis evidencia la elevada contaminación de los utensilios en la venta de carne, poniendo en manifiesto la deficiencia o escasa condición higiénica poniendo en grave riesgo a la población, constando de contaminación fecal por el elevado índice de *Escherichia coli* transmitida por la contaminación fecal de agua y alimentos; así como de contaminación cruzada por contacto o mala cocción de los alimentos. A pesar de la ausencia de síntomas de patologías entéricas el ser humano libera 106 -109 UFC/g de heces (Food and Agricultural Organization, 2009).

Es por ello que varias industrias alimentarias guardan extrema precaución al momento de elaborar sus productos, debido a la alta probabilidad de contagio de *E.coli* por prácticas incorrectas de limpieza y desinfección de equipos y utensilios, así como mala higiene del personal o simplemente por materia prima contaminada (Patiño, 2014). Por esta razón las empresas alimentarias realizan operaciones de limpieza, desinfección y prácticas correctas de higiene del personal para el control de patógenos de manera continua (Insunza, 2014).

En los establecimientos de carnes crudas de res de la ciudad de Puno no tiene agua disponible las 24 horas del día, pero en ambos mercados cuentan con sistema de refrigeración, con buenas estructuras físicas, con servicios higiénicos en buen estado.

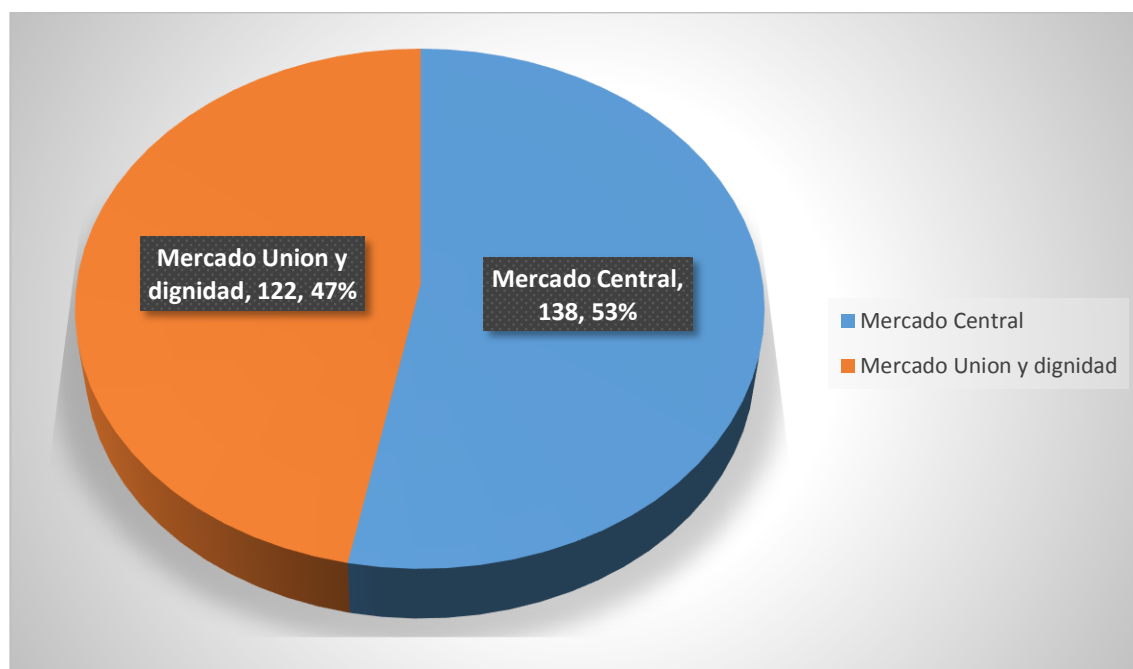
4.2. Evaluación de contaminación de Staphylococcus aureus en superficies inerte en UFC/cm²

Tabla 6: Números y proporción de Staphylococcus aureus en puestos de carnes rojas en mercados de Puno.

MERCADOS	N	PROMEDIO	E.E	%
CENTRAL	25	138 UFC/cm ²	26.7485	53%
UNION Y DIGNIDAD	25	122 UFC/cm ²	12.0761	47%

Fuente: Elaboración Propia (P<0.05)

Figura 4. Números y proporción de *Staphylococcus aureus* en puestos de carnes rojas en mercados de Puno.



Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 6 y figura 4, se observa la carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* en puestos de venta de carnes rojas en mercados de Puno; donde en los puestos de venta del mercado central se encontró mayor contaminación con 138.04 Unidades Formadoras de Colonias UFC/cm² comparado a los puestos de venta ubicados en el mercado Unión y Dignidad con 122.2 Unidades Formadoras de Colonias UFC/cm² ($P \leq 0.05$). Esta diferencia se debería a que, las expendedoras del mercado central practican limitada higiene, no poseen conocimientos básicos sobre los microorganismos patógenos que se pueden transmitir por los alimentos y las enfermedades asociadas a ellos y en determinadas horas del día no cuentan con agua potable.

(L. Gubbay, 2003) indica que 16 de 184 hisopados de manos dieron positivo a la presencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) se comprobó una baja resistencia frente al resto de los antibióticos ensayados, con sólo 1 cepa resistente a la gentamicina. La alta proporción de cepas enterotoxigénicas resalta la importancia de la capacitación de

los manipuladores de alimentos en higiene personal, principalmente en el correcto lavado de las manos, como así también en Buenas Prácticas de Elaboración (L. Gubbay, 2003).

Estos valores encontrados son similares al reporte (Cravero & Ramon, Aplicación de buenas practicas de manufactura y determinacion de agentes contaminantes en hamburguesas expedidas en Salta Argentina, 2007) de la Provincia de Salta, República Argentina, en los que se realizaron encuestas el 80% de los emparedados de hamburguesa estaba contaminado, *Staphylococcus aureus* (3×10^2 a 10^4 UFC/g) excediendo los límites permitidos para su consumo, según las normas vigentes para estos productos y tipo de patógenos encontrados (International Commission On Microbiological Specifications For Food, 1982).

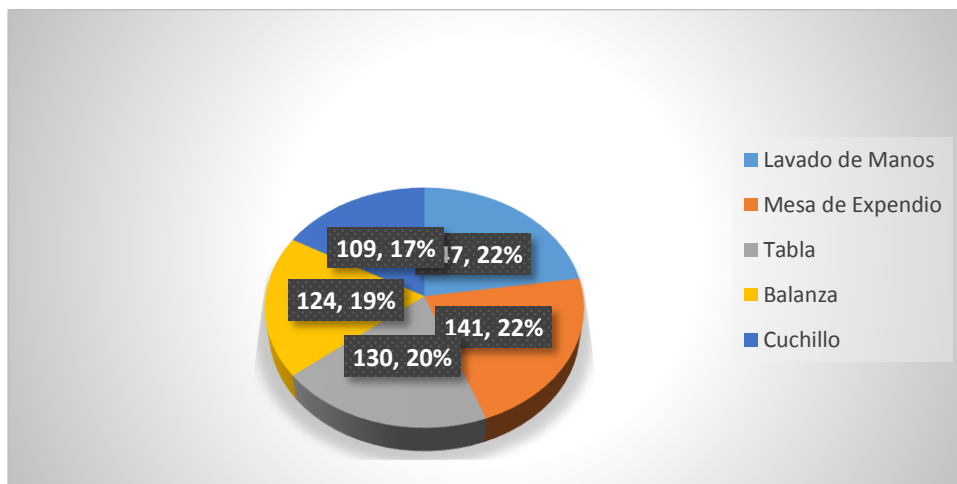
(Galván, A. *et al.*, 2011) muestra similares resultados que se obtuvieron en el estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida proveniente de una cadena de supermercados y mercados; donde las colonias cuantificadas en los mercados populares la presencia *Staphylococcus aureus* sobrepasan con la normativa excediendo con valores superiores de 1×10^3 UFC/g donde ,185000 casos de ETA's se atribuyen a esta bacteria, y su contaminación surge en la nariz, heridas, lesiones y garganta de las personas que manipulan la carne molida, efectuando una contaminación cruzada (Galván Bautista, 2011).

Tabla 7: Carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018

Utensilio	N	Promedio	Error Estándar	%
Lavado de Manos	10	147 UFC/cm ²	35.9608	22%
Mesa de Expendio	10	141 UFC/cm ²	38.0244	22%
Tabla	10	130 UFC/cm ²	32.5273	20%
Balanza	10	124 UFC/cm ²	40.2555	19%
Cuchillo	10	109 UFC/cm ²	22.3527	17%

Fuente: Elaboración Propia

Figura 5. Carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* en utensilios y manos de los puestos de carnes de los mercados de Puno periodo Octubre-Diciembre



Fuente: Elaboración Propia

La tabla 7 y figura 5, muestran la carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* en los utensilios que manejan para atender la venta de carnes rojas en los puestos de expendedoras de los mercados central y Unión y Dignidad; en el cual, las manos y las Mesas de expendio mostraron la mayor carga UCF de 146.6 Y 141.1, seguido en la tabla de cortar con valores de 141.1 UFC/cm², balanza 123.8 UFC/cm² y por ultimo cuchillo 108.7 UFC/cm². Estos valores son debido a la manipulación incorrecta de los utensilios.

En la cuantificación de *Staphylococcus aureus*, mediante las técnicas de detección cualitativas por Petrifilm TM., los resultados obtenidos incumplen con los requerimientos establecidos por la norma para carne molida NTE INEN 1346:2010; hallándose en valores superiores a los límites microbiológicos, para *Staphylococcus aureus* 4.7x10⁵ UFC/g por lo que es necesaria la implementación de control periódico por parte del Ministerio de Salud con profesionales capacitados y técnicos, para disminuir los riesgos de la salud pública (Yedra, 2016).

Estos valores encontrados son superiores a los del reporte de (Gómez, Urrutia, & Silva., Diagnóstico Higiénico-Sanitario de los establecimientos expendedores de carnes

crudas (res y cerdo) ubicados en los mercados de las ciudades de Chinandega, León y Managua, 2006) Los mercados de León reflejaron un 53% La Estación, que se debe a que los materiales utilizados se encuentran oxidados, con presencia de sarro en las barras, ganchos y el platillo de algunas balanzas y a las mesas de concreto le ponen plástico y maderas para colocar la carne sobre ellas y un 32% La Terminal, debido a que las mesas de concreto se encuentran con perforaciones y los expendios en los que se tenían mesas de madera, no contaban con tablas para picar, sino que lo hacen en la misma mesa, lo que provoca mayor contaminación de la carne, ya que en la misma, también cortan las vísceras y las carnes saladas. Los mercados de Managua, obtuvieron un porcentaje del 30% del valor máximo para el Iván Montenegro y un 58% para el Roberto Huembes, debido a que en su mayoría no cuentan con material inoxidable al igual que los mercados antes mencionados y tan sólo en 3 expendios se encontraron mesas, barras y ganchos de acero.

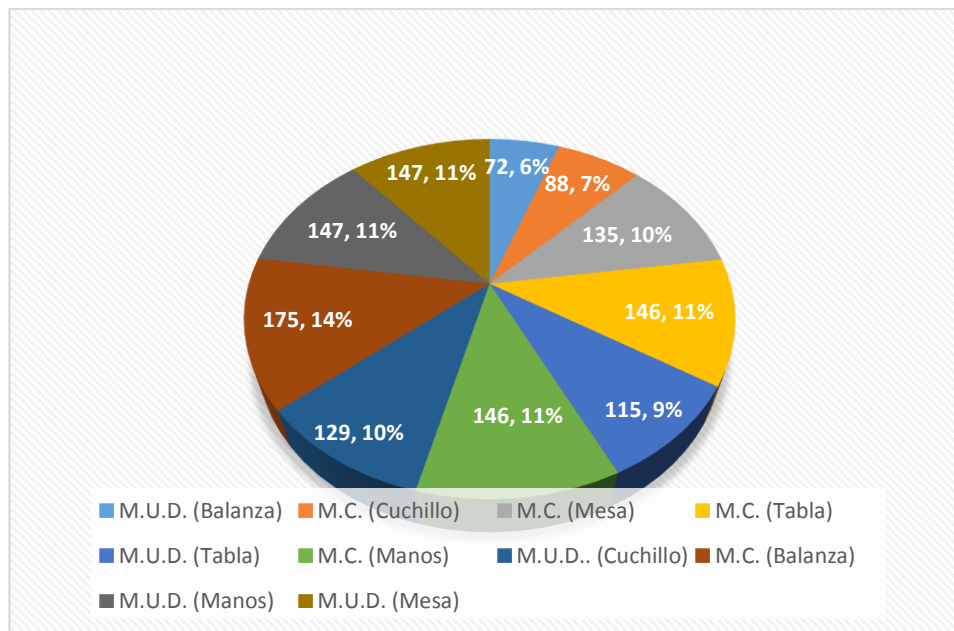
Los puestos de venta presentaron un deficiente manejo de basuras, expuestas al medio ambiente, frecuentadas por moscas. Solo algunos puestos de venta cumplían con un buen manejo de basuras.

Tabla 8: Carga bacteriana de Staphylococcus sp en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018

MERCADO/	UTENSILIO	N	PROMEDIO	ERROR ESTANDAR	%
M.CENTRAL/	BALANZA	5	175.2 UFC/cm ²	66.11	14%
M.DIGNIDAD/	MANOS	5	147.2 UFC/cm ²	33.9	11%
M.DIGNIDAD/	MESA	5	147.2 UFC/cm ²	32.06	11%
M.CENTRAL/	MANOS	5	146 UFC/cm ²	59.21	11%
M.CENTRAL/	TABLA	5	145.6 UFC/cm ²	59.39	11%
M.CENTRAL/	MESA	5	135 UFC/cm ²	64.52	10%
M.DIGNIDAD/	CUCHILLO	5	129 UFC/cm ²	10.4	10%
M.DIGNIDAD/	TABLA	5	115.2 UFC/cm ²	13.75	9%
M.CENTRAL/	CUCHILLO	5	88.4 UFC/cm ²	39.06	7%
M.DIGNIDAD/	BALANZA	5	72.4 UFC/cm ²	20.16	6%
TOTAL		50	1301.2 UFC/cm ²		100%

Fuente: Elaboración Propia

Figura 6. Carga bacteriana de Staphylococcus sp en utensilios y manos de los puestos de carnes rojas en mercados de Puno- Periodo Octubre – Diciembre 2018



Fuente: Elaboración Propia

La tabla 8 y figura 6, se aprecia la interacción de la carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* en los mercados de la Ciudad de Puno; siendo la mayor contaminación bacteriana del Mercado Central en el utensilio Balanza, teniendo un promedio de 175.2 UFC/cm², seguido del lavado de manos y mesa de expendio del Mercado Unión y Dignidad cuyo promedio fue 147.4 UFC/cm²: y 146 UFC/cm² para lavado de manos y tabla de cortar del Mercado Central, mientras que la mesa de expendio tiene 135 UFC/cm², el cuchillo y la tabla de cortar del Mercado Union y Dignidad presentan promedios de 129 UFC/cm² y 115 UFC/cm²; mientras que, el cuchillo del Mercado Central posee 88 UFC/cm² siendo el promedio más bajo el de la balanza del mercado Union y Dignidad de 72 UFC/cm²; se observa un gran problema de contaminación en el Mercado Central, debido a que en el mismo se utilizaban balanzas de metal sin limpiar y se incumple con las normas del CÓDEX ALIMENTARIUS, es decir no se manipula en condiciones adecuadas (Cañizares, 2014).

En el reporte de (Villavicencio, 2007), en los cultivos de manos, 8 (0,52%) fueron positivos a la *Staphylococcus aureus*. En los manipuladores de alimentos de expendios de Villavicencio, Bucaramanga, Barranquilla, Pasto y Bogotá, Colombia; se evidenció incumplimiento de las buenas prácticas de manufactura, prácticas inadecuadas y malos hábitos higiénicos en manipuladores de alimentos, factores influyentes en la aparición de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Los manipuladores que laboran en los expendios en estudio carecen de hábitos higiénicos adecuados, ocasionalmente han sido capacitados en temas relacionados con el manejo de este tipo de alimentos, manifiestan poco interés en conocer las normas de Manipulación de Alimentos y lo relacionado a su implementación; lo que incide significativamente en el bajo grado de cumplimiento de los manipuladores del mercado Central de la ciudad de Puno, en comparación al resto de mercados.

V. CONCLUSIONES

Sobre la validez de los resultados de la Evaluación bacteriana en utensilios y manos de expendedores de carne de res en mercados de la ciudad de Puno 2018.

1. El grado de contaminación con la bacteria *E. Coli* fue 329 UFC/cm² en el Mercado Central, y en el Mercado Unión y dignidad fue 133 UFC/cm² superando los límites microbiológicos permisibles de calidad; dado que existen muchos focos de contaminación en sus alrededores.
2. La contaminación con *Staphylococcus aureus* en el Mercado Central fue de 138 UFC/cm² y el mercado Unión y dignidad 122 UFC/cm², así como las malas prácticas de manipulación y expendio en los mercados, evidenciando las escasas condiciones higiénicas sanitarias por el personal que se encuentra en contacto directo con el alimento, atribuidos a la falta de aseo de las manos y utensilios, derivando en una contaminación cruzada.

VI. RECOMENDACIONES

- A la municipalidad: contratar servicio profesional con especialidad en Salud Pública para la educación sanitaria para que los vendedores puedan implementar alternativas de soluciones prácticas, que permitan utilizar métodos de fácil interpretación y aplicación, ya sea para prevenir o para corregir las principales causas que dan origen a la presencia de enfermedades transmitidas por los alimentos.
- Evaluar planes periódicos de análisis microbiológicos en los mercados de Puno, para de esta manera promover la disminución del riesgo de contaminación cruzada y la probabilidad de un agente productor de ETA's (Enfermedades transmitidas por alimentos).
- A los comerciantes: la disponibilidad de recibir alternativas de solución para que se les otorgue para la mejora del servicio

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams , M., & Moss, M. (1997). *Microbiología de los alimentos, Principales enfermedades*. Zaragoza, España: Acribia.
- Agualongo., H. Q. (2007). *Relación de la manipulación y almacenamiento en las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA `s) de los consumidores de carne del mercado modelo de la ciudad de Ambato*. Ambato.
- Aguilera Palacios, A. C. (2017). *Estudio de la microbiota presente en superficies vivas e inerentes en locales de venta de carnes crudas en el Mercado 3 de N oviembre del canton Cuenca*. Cuenca, Ecuador: Universidad del Azuay departamento de posgrados Maestria en Gestion de calidad y seguridad alimentaria 2.
- Alvarez, V. (1995). *Manual de técnicas en microbiología clínica*. Madrid España: et al. Sapiens,Garsi S.A.
- ANMAT, A. N. (2014). *Administracion Nacional de Medicamentos y Tecnologia*. Ecuador.
- Arambulo e. cuellar J, E. J. (1991). *Foots: a Latin American Perspective Toronto: 8th World Congress of Food Science and Technology*. Toronto, Canadá: Documento Inédito presentado al 8º Congreso Mundial de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
- Baeza, R., Rossler, C., Mielnicki, D., & Zamora, M. y. (2010). *Predicción del crecimiento de Staphylococcus aureus en un alimento cárnico dejado a temperatura ambiente por varias horas: aplicación a varias ciudades argentinas de climas cálidos (en línea)*. Argentina.: Universidad Católica Argentina , Facultad de Ciencias Agrarias.
- Barragan, D. (2017). *determinacion de Escherichia coli en carne y piel de cerso en expendios del mercado 10 de noviembre de Guaranda*. Ecuador.
- Brizzio, A. A. (2009). *Aplicación de una reacción de PCR–Multiplex para la identificación de cepas de Staphylococcus aureus toxigénicas*. Lima: Universidad Nacional de San Martin.
- Cañizares, M. C. (2014). *“Determinación de la presencia de Coliformes en la carne bovina comercializada en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil”*. Guayaquil-Ecuador: Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo, Carrera de Ingeniería Agropecuaria.
- Cardozo , L., Martinez, R., & Villalobos, L. (2012). Primer aislamiento de Escherichia coli no O157 productor de toxina Shiga en carnes bovina y porcina en Venezuela. *Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología.*, 32:107-11.
- Cordova, J. B. (2017). *incidencia de las actividades ejercidas por los inspectores del departamento de higiene ilustre municipio de Ambato para controlar las condiciones sanitarias deficientes de venta de carne fresca de res en los mercados de la ciudad*. Ambato-Ecuador.

- Corteguera, R. (2009). Etiología de las EDA. Agentes Bacterianos. *Rev Cubana Pediatría*, 62/4:613-8.
- Cravero, A. P., & Ramon, A. N. (2007). *Aplicación de buenas practicas de manufactura y determinacion de agentes contaminantes en hamburguesas expedidas en Salta Argentina*. Obtenido de andicravero@hotmail.com: <http://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/viewFile/198/181>
- Cravero, A. P., Ramón, A. N., Bocanera, B., & Carolina, M. B. (2007). *Aplicación de buenas prácticas de manufactura y determinación de agentescontaminantes en hamburguesas expendidas en Salta Argentina*. Argentina: Consejo de Investigación, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta, República.
- De Vinatea, J. &. (1990). Nutrición enteral Escherichia coli. *Revista de Gastroenterología*, 115-120.
- Doldán, M. G. (2010). *Enfermedades transmitidas por los alimentos*. Recuperado el 10 de Diciembre de 2018, de http://www.robertexto.com/archivo7/contam_alim.htm
- Eroski Consumer, E. .. (2012). *Seguridad alimentaria (en linea)*. España. Obtenido de <http://www.consumer.es/seguridadalimentaria/sociedad-y-consumo/2003/11/22/9514.php>
- Escribá, S. (2005). *Determinación de la resistencia a los antibioticos delas cepas (Escherichia coli) aisladas de carne molida de res, procedentes de mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala, mediante la prueba de difusion en disco*. Tesis MV, Guatemala.
- Faleiro Naves, P. (2010). *Formación de biopelículas por " Escherichia coli" y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos plactónicos y asociados a biopelículas*. Madrid. España: Universidad Complutense de Madrid. España.
- FAO/OMS. (1997). *Gestion de riesgos e inocuidad de los alimentos* . Roma- Italia.
- Favila Humara, L. (2011). *Principales contaminantes de la carne del rastro a su consumo (en linea)*. México.
- Flores, E. Q. (2009). *Analisis del expendio de alimentos en la via publica en Iquitos*. Iquitos- Peru: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.
- Food and Agricultural Organitation, (. I. (2009). *Buenas practicas de higiene en la preparacion y venta de los alimentos en la via publica en america Latina y el caribe*. Obtenido de <http://www.fao.org/alc/file/media/pubs/2009>
- Galván Bautista, A. R. (2011). *Estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida proveniente de una cadena de supermercados y mercados en el Municipio de Ecatepec (Vol. 5)*. Nacameh.
- Garcia. (2010). *Determinación de Escherichia Coli en Presas de Pollo Seleccionadas (Pechugas) que se comercializan en la Ciudad deGuayaquil"*. Ecuador: Universidad Agraria del Ecuador.

- Garcia, E. C., Gonzales Garcia, R., & Salazar Scherttino, P. M. (2014). Característica generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista latinoamericana de Patología Clínica*.
- Gómez, M. A., Urrutia, V. L., & Silva, Y. d. (30 de Julio de 2006). *Diagnóstico Higiénico-Sanitario de los establecimientos expendedores de carnes crudas (res y cerdo) ubicados en los mercados de las ciudades de Chinandega, León y Managua, en el periodo comprendido de Febrero a Junio de 2006*. (León, Editor) Obtenido de Diagnóstico Higiénico-Sanitario de los establecimientos expendedores de carnes crudas (res y cerdo) ubicados en los mercados de las ciudades de Chinandega, León y Managua, en el periodo comprendido de Febrero a Junio de 2006: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/666/1/200051.pdf>
- Gómez, M. A., Urrutia, V. L., & Silva., Y. d. (2006). *Diagnóstico Higiénico-Sanitario de los establecimientos expendedores de carnes crudas (res y cerdo) ubicados en los mercados de las ciudades de Chinandega, León y Managua*. Chinandega, León y Managua: Universidad Nacional Autonoma de Nicaragua-León.
- Guaman, A. M. (2014). *Determinacion de Coliformes Totales, Fecales y Escherichiacoli em reportes de embutidos expedidos en el mercado Central de la ciudad de Guayaquil*. Guayaquil, Ecuador: Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Quimicas.
- INEN. (2013). *normalizacion.gob.ec*. Obtenido de http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/rte_056_m_1.pdf
- Insunza, s. (2014). *Salmonelosis: una enfermedad que se transmite por alimentos*.
- International Commission On Microbiological Specifications For Food, I. (1982). *Microorganismos de los Alimentos*. Acribia.
- J, Q., & V., S. (2001). Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de. *Rev Med Exp*, 18:1-2.
- Jablonski & Bohach. (1997). *Staphylococcus y sus consecuencias*.
- Jara Benavides, A. A. (2010). *Evaluacion microbiologica de canales de porcinos y vacunos expedida en el mercado modelo de Tingo Maria*. Tingo- Maria.
- Jerez, J. J. (2012.). *Los riesgos de las intoxicaciones por Staphylococcus aureus La presencia de estafilococos en superficies domésticas tiende a aumentar*. Holanda: Universidad de Wageningen.
- L. Gubbay, L. G. (2003). *sensibilidad antibiotica y deteccion de enterotoxinas de cepas aisladas de alimentos y manos de manipuladores*. Argentina: Universidad de Belgrano.
- Laboratorios Britania, A. (2013). *Agua peptonada (en linea)*. Argentina. Argentina: Redalyc. Obtenido de Disponible en <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/>

- Larrea Murrell, J. A., Rojas Badía, M. M., Romeu Álvarez, B., Rojas Hernández, N., & Heydrich Pérez, M. M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de calidad de las aguas. Habana, cuba.
- Lopreide, G. (2009). Biofilms en endodoncia. *OdontoMedic*.
- Lucas, J. R., Cauti, S. M., Jiménez, E. P., Campos, C. E., & Alvarado, D. E. (2016). Contaminación por *Escherichia coli* Shigatoxigénica en Puestos de Expendio de Carne de Pollo en un Distrito de Lima. *Rev Inv Vet Perú*, 1.
- Melendez, P. (2006). Determinacion y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigenicos a partir de alimentos. *Rev.col.cienc.quim.farm*, 33.
- Mendoza, K. M. (2018). *condiciones higienicas Sanitarias del Expendio de Alimentos Preparados en el Mercado Municipal de Esmeraldas*. Esmeraldas: Pontificia Universidad Catolica del Ecuador Tesis de Grado.
- MINSA. (2007). *Guía técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con alimentos y bebidas" R.M. 461*. Lima-Peru.
- Montesdeoca, N. (2016). *Condiciones Higienicas sanitarias en la manipulacion y expendio de alimentos en la via publica en el parque infantil "Roberto Luis Cervantes" y el parque de las palmas "Luis Tello" en la ciudad de Esmeraldas*. Esmeraldas - Ecuador: Repositorio Diguita Pucese.
- Moreira, J. A., & Ana María, S. G. (2014). *Determinacion de ColiformesTotales, Fecales, Y Escherichiacoli enrecortes de embutidos que se expenden en el MercadoCentral de la Cuida de Guayaquil*. Obtenido de Determinacion de ColiformesTotales, Fecales, Y Escherichiacoli enrecortes de embutidos que se expenden en el MercadoCentral de la Cuida de Guayaquil.: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8055/1/BCIEQ-T-0043%20Sag%C3%B1ay%20Guam%C3%A1n%20Ana%20Mar%C3%ADa.pdf>
- Murillo, K. N. (2016). *Condiciones higiénicas sanitarias en la manipulación y expendio de alimentos en la vía pública en el parque infantil "Roberto Luis Cervantes" y el parque de las Palmas "Luis Tello" en la ciudad de Esmeraldas*. Esmeraldas: Pontificia Universidad Catolica del Ecuador.
- Nataro JP, K. J. (2007). *Introducción a la Microbiología*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- NEOGEN. (12 de Enero de 2011). *Sthandard Methods agar (7157)* .
- Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 01 026-99. Norma Sanitaria de Manipulación de Alimentos. Requisitos Sanitarios para Manipuladores*. (s.f.). Obtenido de Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 01 026-99. Norma Sanitaria de Manipulación de Alimentos. Requisitos Sanitarios para Manipuladores: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/666/1/200051.pdf>
- Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 03 021-99. Norma de Etiquetado de Alimentos Preenvasados para Consumo Humano*. . (s.f.). Obtenido de Norma

- Técnica Obligatoria Nicaragüense. NTON 03 021-99. Norma de Etiquetado de Alimentos Preenvasados para Consumo Humano. : <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/666/1/200051.pdf>
- Olave, N. G. (2001). Biopelículas bacterianas y su importancia para la industria de los alimentos. Recuperado el 15 de Diciembre de 2018, de <http://ingalimentos.galeon.com/biofilms.htm>
- Ordaz, F. (1994). *Aplicación del análisis de riesgos identificación control de puntos críticos en el proceso de obtencion, distribución venta de carne de res y cerdo*. Mexico: Secretaria de Salud.
- Organización Mundial de Salud Animal, O. (2004). *Manual de la OIE sobre animales terrestres*. Francia. Obtenido de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.10.13_Escherichichia_coli_
- Organización para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organisation, F. y. (2006). Código Alimentario. ¿Qué es el Codex Alimentarius? www.eufic.org/sp/food/pag/food44/food444.htm.
- Palma, D. (2013). *Evaluación Física y Microbiológica de la Carne de Pollo expendidos en los mercados de la ciudad de Loja*. Loja Ecuador: Universidad Nacional de Loja, Facultad de agropecuaria y recursos naturales renovables, Carrera de Medicina veterinaria y zootecnia.
- Paredes, C. (1993). *Fundamentos Bioquímicos Fisiológicos y Clínicos*. Lima: Grafimag.
- Patiño, G. (2014). *Caracterización fenotípica y genotípica de salmonella typhimurimun variante 5- asociada aun brote de enfermedad transmitida por alimentos en el municipio de Paz de Rio Boyacá*. Paz de Rio Boyacá.
- Pedregal F, G. M. (2002). *Estudio microbiológico y condiciones sanitarias de los comedores no permanentes en Albacete, España*. Albacete, España: Centro de Salud.
- Púa Ramiro & Amparo Lina., N. G. (2014). Calidad higiénica y determinación de Escherichia coli y Salmonella spp. en carne de cerdo en expendios de Barranquilla. @Limentech ciencia y tecnología alimentaria, Volumen 12(1), 7-8.
- Ratto Flores, E., & Vega Morales, L. M. (2003). Detección de microorganismo patógenos y/o sus toxinas; consecuencia del Staphylococcus aureus. Redalyc, 25-26.
- Romero Cabello, R. (2007 2009). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*. México: 3era y 4ta ed.
- Sagnay, M. A. (2014). *Determinación de coliformes totales, fecales Y Escherichia coli en recortes de embutidos que se expende en el Mercado Central de la ciudad de Guayaquil*. Guayaquil- Ecuador: Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Químicas.
- Salinas Gomez, V. C. (2006). *Diagnostico higienico sanitario de los establecimientos expendedores de carne crudas (res y cerda) ubicados en los mercados de la*

cuidad de Chinandega, Leon y Managua, en el periodo comprendido de Febrero a Junio de 2006. Nicaragua - Leon.

- Serrano-Granger & Herrera, D. (2005). La placa dental como biofilm. *Scielo Hygiene in the food industry JournalApplied*, 60. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=s1138-123x2005000400005&script=sci_arttext
- Tadesse, G. (2015). *Prevalencia de Salmonella en productos animales crudos en Etiopia: un metanálisis*. BMC.
- Villavicencio, B. B. (2007). Factores relacionados con enfermedades transmitidas. *infectio revista de la asociacion colombiana de infectologia*, 11-12. Recuperado el 30 de Abril de 2019, de <http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/129/200>
- Walker, S. T. (2010). *Microbiología especializada en enfermedades transmitidas por alimentos (1era ed.)*. Montevideo Uruguay : McGraw-Hill.
- Willey, J. M. (2009). *Microbiología de Prescott, Harley y Klein*. Madrid, España: McGraw-Hill.
- www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm. (s.f.). Recuperado el 25 de julio de 2018, de www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm
- Yedra, H. D. (2016). *Análisis microbiológico de las carnes molidas expendidas en el mercado la Condamine de la Ciudad de Ribamba*. Ecuador.

ANEXOS

Anexo A

Limites Microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
METODO	Superficie Regular		Superficie Irregular	
HISOPO				
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible	Límite de Detección del Método	Límite Permisible
Coliformes Totales	< O, 1 ufc /cm2	< 1 ufc/cm2	< 10 ufc superficie muestreada	< 10 ufc superficie muestreada
Patogenos	Ausencia/superficie muestreada en cm2 (**)	Ausencia/superficie muestreada en cm2 (**)	Ausencia/superficie muestreada	Ausencia/superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia. (**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

Fuente: "Guía técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con alimentos y bebidas"

R.M. 461-2007/ MINSa

Tabla A1:

<i>E. Coli</i>										
	Mercado Central					Mercado dignidad				
TABLA	MESA	CUCHILLO	BALANZA	MANOS	TABLA	MESA	CUCHILLO	BALANZA	MANOS	
1	416	16	136	64	32	24	40	240	160	456
2	0	120	0	120	104	232	16	8	208	296
3	1248	288	176	240	328	152	88	184	144	48
4	344	1064	72	264	1264	72	160	120	16	48
5	664	384	128	240	512	80	128	120	160	136
χ	534.4	374.4	102.4	185.6	448	112	86.4	134.4	137.6	196.8
D	415.180	367.77	61.010	78.936	441.75	72.619	53.402	77.46	64.478	158.11
S	7317	0363	1631	9369	6494	5566	6217	3798	2134	6919

Tabla A 2:

<i>Streptococcus aureus</i>										
M. central						M. dignidad				
TABLA	MESA	CUCHIL LO	BALAN ZA	MANOS		TABLA	MESA	CUCHIL LO	BALA NZA	MANOS
1	25	25	48	26	55	79	142	140	0	100
2	4	14	15	150	28	154	124	89	119	166
3	370	410	26	401	390	150	63	135	41	90
4	129	94	100	280	180	96	280	122	109	92
5	200	132	253	19	77	97	127	159	93	288
χ	145.6	135	88.4	175.2	146	115.2	147.2	129	72.4	147.2
D	132.804	144.260	87.3397	147.826	132.406	30.7467	71.6921	23.2637	45.084	75.7955
S	518	875	962	114	948	071	195	056	809	144

Tabla A3: Análisis de varianza de *E. coli*

<i>E. coli</i>						
CUADRO DE ANALISIS DE VARIANZA (SC TIPO III)						
F.V.	SC	gL	CM	F	p~valor	
Modelo	727,56	9	80,84	1,43	0,2099	
Mercado	288,48	1	288,48	5,09	0,0296	
Lugar	214,39	4	53,60	0,95	0,4479	
Mercado * Lugar	224,68	4	56,17	0,99	0,4237	
Error	2267,87	40	56,70			
Total	2995,43	49				

Tabla A4: Análisis de varianza de *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>						
CUADRO DE ANALISIS DE VARIANZA (SC TIPO III)						
F.V.	SC	gL	CM	F	p~valor	
Modelo	97,78	9	10,86	0,45	0,8974	
Mercado	1,35	1	1,35	0,06	0,8135	
Lugar	21,75	4	5,44	0,23	0,9220	
Mercado * Lugar	74,67	4	18,67	0,78	0,5467	
Error	960,93	40	24,02			
Total	1058,71	49				

Tabla A5: interacción entre mercados

n	Mercado	Bacteria	Lugar	Cantidad
1	Central	E_coli	TABLA	416
2	Central	E_coli	TABLA	0
3	Central	E_coli	TABLA	1248
4	Central	E_coli	TABLA	344
5	Central	E_coli	TABLA	664
6	Central	E_coli	MESA	16
7	Central	E_coli	MESA	120
8	Central	E_coli	MESA	288
9	Central	E_coli	MESA	1064
10	Central	E_coli	MESA	384
11	Central	E_coli	CUCHILLO	136
12	Central	E_coli	CUCHILLO	0
13	Central	E_coli	CUCHILLO	176
14	Central	E_coli	CUCHILLO	72
15	Central	E_coli	CUCHILLO	128
16	Central	E_coli	BALANZA	64
17	Central	E_coli	BALANZA	120
18	Central	E_coli	BALANZA	240
19	Central	E_coli	BALANZA	264
20	Central	E_coli	BALANZA	240
21	Central	E_coli	MANOS	32
22	Central	E_coli	MANOS	104
23	Central	E_coli	MANOS	328
24	Central	E_coli	MANOS	1264
25	Central	E_coli	MANOS	512
26	Central	Estrepto	TABLA	25
27	Central	Estrepto	TABLA	4
28	Central	Estrepto	TABLA	370
29	Central	Estrepto	TABLA	129
30	Central	Estrepto	TABLA	200
31	Central	Estrepto	MESA	25
32	Central	Estrepto	MESA	14
33	Central	Estrepto	MESA	410
34	Central	Estrepto	MESA	94
35	Central	Estrepto	MESA	132
36	Central	Estrepto	CUCHILLO	48
37	Central	Estrepto	CUCHILLO	15
38	Central	Estrepto	CUCHILLO	26
39	Central	Estrepto	CUCHILLO	100
40	Central	Estrepto	CUCHILLO	253
41	Central	Estrepto	BALANZA	26
42	Central	Estrepto	BALANZA	150

43	Central	Estrepto	BALANZA	401
44	Central	Estrepto	BALANZA	280
45	Central	Estrepto	BALANZA	19
46	Central	Estrepto	MANOS	55
47	Central	Estrepto	MANOS	28
48	Central	Estrepto	MANOS	390
49	Central	Estrepto	MANOS	180
50	Central	Estrepto	MANOS	77
51	Dignidad	E_coli	TABLA	24
52	Dignidad	E_coli	TABLA	232
53	Dignidad	E_coli	TABLA	152
54	Dignidad	E_coli	TABLA	72
55	Dignidad	E_coli	TABLA	80
56	Dignidad	E_coli	MESA	40
57	Dignidad	E_coli	MESA	16
58	Dignidad	E_coli	MESA	88
59	Dignidad	E_coli	MESA	160
60	Dignidad	E_coli	MESA	128
61	Dignidad	E_coli	CUCHILLO	240
62	Dignidad	E_coli	CUCHILLO	8
63	Dignidad	E_coli	CUCHILLO	184
64	Dignidad	E_coli	CUCHILLO	120
65	Dignidad	E_coli	CUCHILLO	120
66	Dignidad	E_coli	BALANZA	160
67	Dignidad	E_coli	BALANZA	208
68	Dignidad	E_coli	BALANZA	144
69	Dignidad	E_coli	BALANZA	16
70	Dignidad	E_coli	BALANZA	160
71	Dignidad	E_coli	MANOS	456
72	Dignidad	E_coli	MANOS	296
73	Dignidad	E_coli	MANOS	48
74	Dignidad	E_coli	MANOS	48
75	Dignidad	E_coli	MANOS	136
76	Dignidad	Estrepto	TABLA	79
77	Dignidad	Estrepto	TABLA	154
78	Dignidad	Estrepto	TABLA	150
79	Dignidad	Estrepto	TABLA	96
80	Dignidad	Estrepto	TABLA	97
81	Dignidad	Estrepto	MESA	142
82	Dignidad	Estrepto	MESA	124
83	Dignidad	Estrepto	MESA	63
84	Dignidad	Estrepto	MESA	280
85	Dignidad	Estrepto	MESA	127
86	Dignidad	Estrepto	CUCHILLO	140
87	Dignidad	Estrepto	CUCHILLO	89

88	Dignidad	Estrepto	CUCHILLO	135
89	Dignidad	Estrepto	CUCHILLO	122
90	Dignidad	Estrepto	CUCHILLO	159
91	Dignidad	Estrepto	BALANZA	0
92	Dignidad	Estrepto	BALANZA	119
93	Dignidad	Estrepto	BALANZA	41
94	Dignidad	Estrepto	BALANZA	109
95	Dignidad	Estrepto	BALANZA	93
96	Dignidad	Estrepto	MANOS	100
97	Dignidad	Estrepto	MANOS	166
98	Dignidad	Estrepto	MANOS	90
99	Dignidad	Estrepto	MANOS	92
100	Dignidad	Estrepto	MANOS	288

Anexo B Figuras.



Figura B 01: toma de muestra del cuchillo con el método del hisopo



Figura 02: Toma de muestra de la Mesa de Expendio con el método del hisopo



Figura 03 y 04: Toma de muestra de la Balanza con el método del hisopo



Figura 05: traslado de muestras

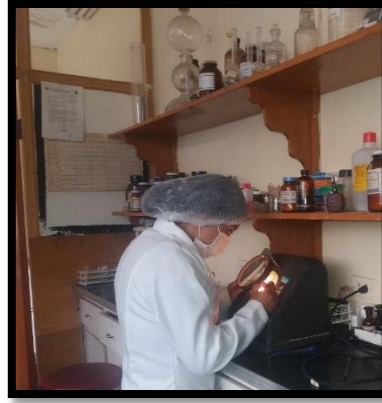


Figura 06: Cuantificación de UFC/cm²

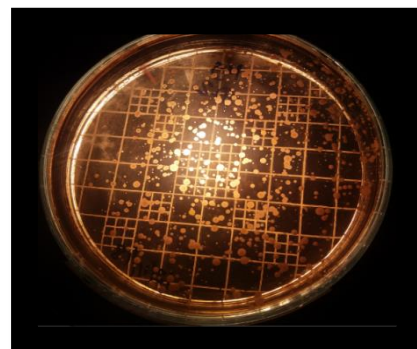
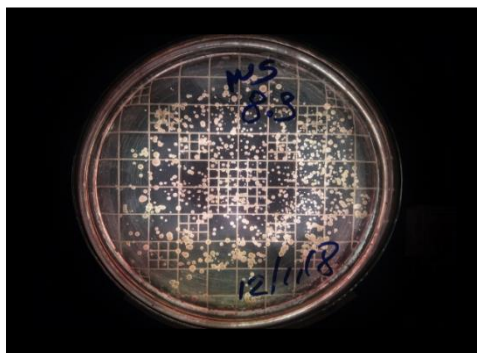


Figura 07 y 08 cuantificación de UFC/cm² en medios de cultivo (Manitol Salado)

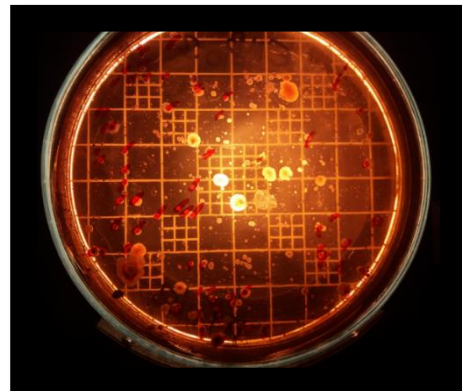


Figura 09 y 10 Cuantificación de UFC/cm² en medios de cultivo (EMB Eosina Azul de Metileno).