

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Académico Profesional de Biología - Microbiología**

**“Calidad Microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el programa de complementación alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna”**

**TESIS**

**Presentada por:**

**Bach. PAMELA CANDY AROSQUIPA MAMANI**

**Para optar el Título Profesional de:**

**BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO**

**TACNA – PERÚ**

**2014**

UNIVERSIDAD NACIONAL "JORGE BASADRE GROHMANN"

FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Académico Profesional de Biología – Microbiología

Acta de sustentación de Tesis N° 215

En la ciudad de Tacna, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, siendo las 10:00 horas del día viernes 30 de mayo del 2014, estando presente el jurado calificador designado mediante Resolución de Facultad N° 7749-2014-FACI-UN/JBG, y está constituido por:

**Presidente** : MSc. César Efraín Rivasplata Cabanillas

**Secretario** : Blgo. Mblgo. Luis Lloja Lozano

**Vocal** : MSc. Ángela Verónica Choque Miranda

Acto seguido se dio lectura a la Resolución de Facultad antes mencionada y también se dio lectura al artículo 22 del capítulo VI del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

A continuación el Presidente del Jurado Calificador invitó a la **Bachiller Pamela Candy Arosquipa Mamani**, a sustentar la tesis titulada: "Calidad Microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el programa de complementación alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna".

Siendo las 10:40 la tesista concluyó su exposición de su tesis. A continuación el Presidente del Jurado Calificador invitó a los miembros a realizar las preguntas y observación a que diese lugar; absueltas las preguntas se dio por concluida la sustentación de la tesis. Seguidamente el jurado calificador en forma individual y secreta, emitieron sus calificaciones, con el siguiente resultado: APROBADO POR UNANIMIDAD con el calificativo de 15 (QUINCE) BUENO, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias de la UNJBG.

Siendo las 11:15 horas se dio por concluida el acto de sustentación de la tesis, firmando los miembros del jurado en señal de conformidad.

MSc. César Rivasplata Cabanillas  
Presidente

Blgo. Mblgo. Luis Lloja Lozano  
Secretario

MSc. Ángela Choque Miranda  
Vocal

## **DEDICATORIA**

A Dios con todo lo que soy y he logrado ser, tú que estás presente en cualquier lugar, en cualquier momento, circunstancia y hasta donde permitas que sea yo.

A mis Padres Mauro y Eustaquia, por estar ahí cuando más los necesité; por su sacrificio, comprensión, preocupación y ejemplo constante de superación, que serán por siempre la razón de todos mis esfuerzos y por darme su apoyo en todo momento.

A mis hermanos, José, Ever, Elmer, Dany, Denis y Aldito. Por haberme apoyado incondicionalmente en mi formación profesional; por su apoyo que siempre me han brindado con su impulso, fuerza y tenacidad que son parte de mi formación durante mis estudios universitarios; como muestra de mi gratitud les dedico el presente trabajo con todo el cariño de siempre.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar agradezco a toda mi familia, especialmente a mis padres, que a través de sus esfuerzos y sus consejos han hecho posible que logre mi objetivo.

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, y a la Facultad de Ciencias, alma Mater de mi formación profesional, por formarme como Bióloga – Microbióloga.

A mi asesor, Dr. César Julio Cáceda Quiróz, por haber confiado en mi persona, por su paciencia y constante apoyo en la revisión, ejecución y realización del trabajo de investigación, a través de comentarios, discusiones, y correcciones del trabajo.

Al profesor Edwin Obando, por su apoyo, consejos y adiestramiento durante la parte práctica de este trabajo, gracias por su paciencia y constante colaboración.

A mis amigas Emma, Sonia y Magy, que de alguna manera forman parte de lo que ahora soy y que durante todos estos años me han acompañado y ofrecido consejos en los momentos oportunos, que con su aliento y buenos deseos me ayudaban a no dejarme vencer.

A mis sobrinos Thiago y Sophya, quien con cada ocurrencia me otorgan momentos de alegría y felicidad haciendo que me olvide de los problemas cotidianos.

Esta investigación es fruto de amor y trabajo, no solo mío, sino de mucha gente que siempre estuvo y estará a mi lado. Es por eso que siento la necesidad en este momento de agradecer a todos aquellos que desde siempre han caminado junto a mí, no solo en esta tesis, sino en la vida entera.

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
1.1. Problema	7
1.2. Justificación del problema	7
1.3. Objetivos	9
1.4. Hipótesis	11
1.5. Antecedentes	11
1.6. Marco teórico	14
1.6.1. Organización de los comedores	14
1.6.2. Alimentos preparados sin tratamiento térmico	15
1.6.3. Contaminación de los alimentos	17
1.6.4. Riesgos biológicos en alimentos frescos	24
1.6.5. Enfermedades asociadas al consumo de alimentos	26
1.6.6. Buenas prácticas de manipulación de alimentos	36
1.6.7. Principios del análisis microbiológico de los alimentos	41

1.6.8. Normas Internacionales y Nacionales relacionadas a los alimentos preparados sin tratamiento térmico	42
1.6.9. Marco legal base para la investigación	44
1.6.10. Microorganismos indicadores	45
A. <i>Salmonella sp</i>	45
B. <i>Escherichia coli</i>	48
C. <i>Staphylococcus aureus</i>	50
D. Bacterias coliformes totales	53
E. Bacterias aerobias mesófilas viables	54
1.6.11. Criterios microbiológicos	56
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>57</b>
2.1. Materiales de vidrio y otros	57
2.2. Equipos	58
2.3. Medios de cultivo y reactivos	58
2.4. Diseño de la investigación	59
2.5. Variables de estudio	60
2.6. Material de estudio	61
2.7. Tamaño de muestra y muestreo	61
2.8. Metodología de la investigación	64
2.8.1. Obtención y recolección de la muestra	64
2.8.2. Análisis microbiológico de la muestra	66

A. Método: ISO 6887-1: 1999. Instructivo de preparación y dilución de muestras de alimentos para análisis microbiológicos	66
B. Método: ICMSF, 2000. Enumeración de bacterias aerobias mesófilas viables por el método del recuento estándar en placa	67
C. Método: AOAC 991.14. Método rápido de análisis – placas Petrifilm para el recuento de <i>Escherichia coli</i> y coliformes totales	68
D. Método: AOAC 2003.07. Método rápido de análisis – placas Petrifilm para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	70
E. Método: ICMSF, 2000. Investigación de <i>Salmonella sp</i>	71
<b>III. RESULTADOS</b>	<b>73</b>
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	<b>92</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>104</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	<b>106</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>108</b>
<b>VIII. ANEXOS</b>	<b>115</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>CUADRO 01:</b> Alimentos vegetales: composición química en porcentaje aproximado.	16
<b>CUADRO 02:</b> Límites fisiológicos del crecimiento de <i>Salmonella spp</i> , en los alimentos y en los medios bacteriológicos.	47
<b>CUADRO 03:</b> Factores que permiten que <i>Staphylococcus aureus</i> crezca y produzca enterotoxina.	51
<b>CUADRO 04:</b> Especies y subespecies de <i>Staphylococcus</i> que producen coagulasa, nucleasa, enterotoxina, hemólisis, manitol y G + C de ADN.	52
<b>CUADRO 05:</b> Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaína, aderezos, postres, jugos, yogurt de fabricación casera u otros).	56
<b>CUADRO 06:</b> Códigos designados a los comedores analizados.	62
<b>CUADRO 07:</b> Fecha de los muestreos realizados en los comedores.	63

<b>CUADRO 08:</b> Porcentaje de muestras aptas y no aptas para los análisis microbiológicos obtenidos de las muestras analizadas de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.	74
<b>CUADRO 09:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.	77
<b>CUADRO 10:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de los coliformes totales de las muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.	80
<b>CUADRO 11:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.	83
<b>CUADRO 12:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de <i>Staphylococcus aureus</i> de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.	86
<b>CUADRO 13:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de <i>Salmonella sp</i> de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.	89

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>GRÁFICO 01:</b> Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de las bacterias aerobias mesófilas viables para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.	78
<b>GRÁFICO 02:</b> Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de los coliformes totales para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.	81
<b>GRÁFICO 03:</b> Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de <i>Escherichia coli</i> para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.	84
<b>GRÁFICO 04:</b> Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de <i>Staphylococcus aureus</i> para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.	87
<b>GRÁFICO 05:</b> Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de <i>Salmonella sp.</i> , para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.	91

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>ANEXO 01:</b> NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, para los parámetros microbiológicos.	115
<b>ANEXO 02:</b> Resolución Ministerial N° 363-2005-MINSA, del 19 de mayo del 2005. “Norma Sanitaria para el funcionamiento de restaurantes y servicios afines”.	116
<b>ANEXO 03:</b> Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de <i>Escherichia coli</i> y coliformes totales.	117
<b>ANEXO 04:</b> Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos procesados preparados.	118
<b>ANEXO 05:</b> Resultados de los Análisis Microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas viables de cada Comedor (con 2 repeticiones).	119
<b>ANEXO 06:</b> Resultados de los Análisis Microbiológicos de coliformes totales de cada comedor (con 2	

repeticiones).	120
<b>ANEXO 07:</b> Resultados de los Análisis Microbiológicos para <i>Escherichia coli</i> de cada comedor (con 2 repeticiones).	121
<b>ANEXO 08:</b> Resultados de los Análisis Microbiológicos para <i>Staphylococcus aureus</i> de cada comedor (con 2 repeticiones).	122
<b>ANEXO 09:</b> Resultados de los Análisis Microbiológicos para <i>Salmonella sp.</i> , de cada comedor (con 2 repeticiones).	123
<b>ANEXO 10:</b> Plano de la División Política del Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.	124
<b>ANEXO 11:</b> Ubicación de los 17 comedores distribuidos en el Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.	125
<b>ANEXO 12:</b> Tipo de muestras por comedor.	126
<b>ANEXO 13:</b> Cuadro de la Población en los Distritos de Tacna.	127
<b>ANEXO 14:</b> Método: ICMSF, 2000. Enumeración de bacterias aerobias mesófilas viables por el Método del Recuento Estándar en Placa.	128

<b>ANEXO 15:</b> Método: AOAC 991.14. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de <i>Escherichia coli</i> y coliformes totales.	129
<b>ANEXO 16:</b> Método: AOAC 2003.07. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos procesados preparados.	130
<b>ANEXO 17:</b> Método: ICMSF, 2000. Investigación de <i>Salmonella</i> .	131
<b>ANEXO 18:</b> Interiores del comedor José Carlos Mariátegui (MJ-06).	132
<b>ANEXO 19:</b> Interiores del comedor ML-07: Las Dorcas (arriba) y MC-02: Corazón de Vicky (abajo).	133
<b>ANEXO 20:</b> Muestras tomadas de los comedores, MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia, MA-01: Arriba Perú, MJ-05: Jesús Divina Misericordia (arriba) y ME-04: El Morro, ML-07: Las Dorcas, MC-02: Corazón de Vicky (abajo).	134
<b>ANEXO 21:</b> Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de <i>Salmonella</i> , en caldo de pre-enriquecimiento de APT, en los comedores de MA-01: Arriba Perú, MN-09: Nazareno de los Milagros, MD-03: Décimo Mandamiento (arriba) y ME-04: El Morro, ML-07: Las Dorcas, MC-02: Corazón de Vicky	

- (abajo). 135
- ANEXO 22:** Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de *Salmonella*, en caldo de enriquecimiento Tetracionato, en los comedores de MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia, MA-01: Arriba Perú, MJ-05: Jesús Divina Misericordia (arriba) y MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia con su respectivo matraz de caldo de pre-enriquecimiento APT (abajo). 136
- ANEXO 23:** Resultados de la presencia de *Salmonella paratyphi* B, en la muestra de rocoto en crema del comedor MN-09: Nazareno de los Milagros. Aislamiento en agar SS y prueba de diferenciación en caldo urea. 137
- ANEXO 24:** Resultados de la presencia de *Salmonella paratyphi* B, en la muestra de rocoto en crema del comedor MN-09: Nazareno de los Milagros. Pruebas Bioquímicas: agar Citrato de Simmons, agar Hierro Lisina, agar SIM y agar Hierro Tres Azúcares. De izquierda a derecha. 138
- ANEXO 25:** Resultados de la numeración de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras del comedor ML-08: Los claveles (muestras por duplicado de placas de Petri). 139

<b>ANEXO 26:</b> Resultados del recuento de coliformes totales de la muestra del comedor MD-03: Décimo Mandamiento con muestra de ají amarillo en crema.	140
<b>ANEXO 27:</b> Resultados del recuento de coliformes totales de la muestra del comedor MD-03: Décimo Mandamiento con muestra de ensalada de cebolla y tomate.	141
<b>ANEXO 28:</b> Resultados del recuento de <i>E. coli</i> de las muestras de los comedores ML-07: Las Dorcas con muestra de rocoto en crema.	142
<b>ANEXO 29:</b> Resultados del recuento de <i>E. coli</i> de las muestras de los comedores MN-09: Nazareno de los Milagros con muestra de ensalada de lechuga.	143
<b>ANEXO 30:</b> Resultados del recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> de la muestra de los comedores MP-12: Patrona de las Américas con la muestra de ensalada de lechuga (arriba) y MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia con la muestra de papa a la huancaína (abajo).	144
<b>ANEXO 31:</b> Resultados del recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> de la muestra del comedor MS-13: San Francisco de Asis con la muestra de ensalada de lechuga y tomate.	145

## RESUMEN

La investigación se realizó en la ciudad de Tacna durante los meses de noviembre 2013 a enero del 2014, el objetivo fue evaluar la calidad microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el Programa de Complementación Alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la ciudad de Tacna; que se encuentran a cargo de la Municipalidad Provincial de Tacna, Oficina de Gestión de Desarrollo Económico Social, Sub Gerencia de Desarrollo Social y Participación Vecinal.

Se realizaron los siguientes análisis microbiológicos: Enumeración de bacterias aerobias mesófilas viables, Recuento de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* e Investigación de *Salmonella* sp. Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.

La recolección de las muestras se llevó a cabo en el Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna, en el total de comedores que existen en este Distrito (17 comedores). La toma de muestra se realizó con

2 muestreos por comedor, obteniéndose un total de 34 muestras, analizadas en diferentes fechas a través de un muestreo al azar.

En el análisis microbiológico de los alimentos preparados sin tratamiento térmico se determinó que el 88,23% de las muestras analizadas presentaron *Staphylococcus aureus*, sobrepasando los límites microbiológicos permisibles para estos alimentos y en el 2,94% de las muestras analizadas hubo presencia de *Salmonella sp*; en cuanto a los microorganismos indicadores de higiene, del 29,41% de las muestras se aisló *Escherichia coli* y en el 76,47% de las muestras, los valores para coliformes totales sobrepasaron los límites permisibles para estos alimentos. Para los microorganismos indicadores de alteración, como son las bacterias aerobias mesófilas viables, ninguna muestra sobrepasó los límites permisibles.

Los resultados se compararon con los límites establecidos en la NTS N° 071 – MINS/DIGESA-V.01 del 2008 (Norma Sanitaria Peruana que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano).

## I. INTRODUCCIÓN

Se entiende por alimentos preparados sin tratamiento térmico a las ensaladas crudas que tiene como representación a las hortalizas (tomate, cebolla, lechuga, zanahoria, etc.), mayonesas, salsa de papa a la huancaína y otros (ají amarillo en crema, rocoto en crema y rocoto picado), como también los alimentos preparados que llevan ingredientes sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sandwich, cebiche, postres, refrescos u otros). (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01).

Estos alimentos son preparados por el Programa de Complementación Alimentaria de los Comedores del Club de Madres, dirigida a niños y madres de familias que tiene una especial importancia desde el punto de vista de la salud pública, puesto que se trata de comedores cuya actividad es de facilitar comidas que se consumen en el mismo lugar donde preparan esos alimentos.

Uno de los factores que en mayor medida afectan a la salud pública es la higiene de los alimentos, especialmente en los comedores colectivos, ya que cada vez es mayor el porcentaje de personas que acceden a estos lugares. A nivel de estos comedores pueden ocurrir pésimas condiciones de higiene cuando se almacenan, elaboran y se sirven los alimentos

preparados, a lo que se agrega la falta de instalaciones sanitarias y el desconocimiento de las adecuadas prácticas de manipulación. Estas condiciones antes señaladas pueden provocar la contaminación de los alimentos que en estos centros se elaboran, trayendo como consecuencias enfermedades a los consumidores.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son producidas por la ingestión de alimentos o agua contaminados con agentes químicos o microbiológicos en cantidades tales que afectan la salud del consumidor a nivel individual o en grupos de población. La contaminación puede deberse a la deficiencia en el proceso de elaboración, manipulación, conservación, transporte, distribución o comercialización de alimentos y agua, las cuales pueden clasificarse en infecciones o intoxicaciones alimentarias sin incluir las reacciones de hipersensibilidad a los alimentos.

Las ETA's constituyen un problema mundial ya que son una importante causa de morbilidad y mortalidad, producen un gran impacto económico tanto por los gastos en salud, como en las actividades económicas relacionadas con la producción de alimentos. En las últimas décadas las acciones de prevención y control se han complicado debido a factores asociados con cambios globales, tales como el crecimiento de la población, la pobreza, la urbanización y la globalización del comercio de

alimentos, lo cual permite que los alimentos producidos en un país se vendan y consuman en todo el mundo, esto significa que un producto alimentario contaminado puede causar brotes de enfermedad en muchos países al mismo tiempo. Por ejemplo, entre los años 2010 al 2012 se han reportado un promedio de 35 brotes de ETA por año, 47 % de los cuales se relacionaron clínicamente con casos agudos de salmonelosis. Los alimentos mayormente implicados fueron los preparados con mayonesa 43% (crema de mayonesa, ensaladas). El total de personas afectadas fueron 2800 y, el 51% de los brotes reportados tuvieron entre 10 a 50 afectados en promedio. Mediante los programas de vigilancia sanitaria de alimentos, se reportaron a *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*, como los patógenos más frecuentes en alimentos examinados. (MINSa, 2012).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005), la incidencia anual de diarrea estimada en el mundo es de 1 500 millones de casos y, se ha descrito que el 70% de las diarreas se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos y/o sus toxinas. Alrededor de 250 son los agentes causantes de ETA, entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales. En el Perú, donde solo el 38% de hogares tienen acceso a agua, las ETA's son un importante problema de salud pública, las cuales a menudo, ocurren como brotes, por lo que la vigilancia epidemiológica es

de vital importancia. La notificación obligatoria e inmediata de las ETA's al sistema de vigilancia, también desarrolla una vigilancia de los agentes patógenos causantes de ETA más frecuentes en el país mediante una variedad de métodos de tipificación.

La inocuidad alimentaria es actualmente una preocupación mundial y una de las metas prioritarias de organismos internacionales y nacionales; pese a esto, las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) se encuentran entre los principales problemas de salud pública.

Entre los microorganismos indicadores que generalmente se cuantifican para determinar la calidad sanitaria de alimentos se encuentran las bacterias aerobias mesófilas viables, los mohos y levaduras, los coliformes totales y termotolerantes, *E. coli*, *Salmonella sp.*, y *S. aureus*.

En la Ley General de Salud, Ley N° 26842, el artículo 92° establece que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada entre otros, del control sanitario de los alimentos y bebidas. La Ley del Ministerio de Salud, Ley N° 27657, el artículo 25° señala que la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) es el órgano técnico normativo en los aspectos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente.

La Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 del 2008 presenta los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, establece el derecho que tiene todo ciudadano a la protección de la salud. También indica que los órganos sanitarios encargados de controlar los productos alimenticios, tienen como finalidad proteger los intereses de los consumidores y prevenir los riesgos de la salud pública.

### **1.1. Problema**

¿Cuál es la calidad microbiológica presente en los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el Programa de Complementación Alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna, Perú?

### **1.2. Justificación del problema**

Los alimentos preparados sin tratamiento térmico son alimentos nutritivos para el hombre, en la cual pueden desarrollarse ciertos microorganismos tales como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, entre otros, pudiendo originar cuadros gastroentéricos y otras afecciones para la salud. La contaminación

puede acentuarse con el inadecuado manejo durante la preparación de los alimentos, mala higiene, entre otros.

La presente investigación es parcialmente original ya que existen otras realizadas al respecto pero en otros departamentos del Perú y con distintas poblaciones, como también en los diferentes países del mundo. Tiene importancia científica pues busca dar aportes para conocer la calidad microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico que tienen más referencia a las ensaladas de toda clase, a los ajíes amarillos en crema o rocoto en crema, estas son comidas que siempre van a estar presentes acompañando al plato de fondo y a las sopas que van acorde con el menú del día.

Tiene relevancia social ya que permitirá conocer las condiciones sanitarias, las buenas prácticas de manufactura y las condiciones higiénicas en las cuales son preparados los alimentos en el interior de las instalaciones de los comedores, las cuales son preparadas en el Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la ciudad de Tacna; y que servirá a las autoridades competentes a tomar las medidas correctivas necesarias para mejorar las condiciones en las que se encontraron los comedores, lo que influirá en una mejor aceptación

de las comidas preparadas por los comedores que van dirigidas a niños y madres de familias que tiene una especial importancia desde el punto de vista de la salud pública.

Este trabajo se ha realizado porque se trata de una realidad de nuestro propio entorno social y económico, hubo acceso para tomar muestra de la población de estudio y se contó con el tiempo necesario, los recursos y el presupuesto que fue asumido por mi persona.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

- Evaluar la calidad microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el Programa de Complementación Alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.

### 1.3.2. Objetivos específicos

- Realizar la enumeración de bacterias aerobias mesófilas viables, indicadoras de alteración en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.
- Determinar el recuento microbiológico de coliformes totales y *Escherichia coli*, bacterias indicadoras de calidad higiénica en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.
- Determinar el recuento microbiológico de las bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* y la presencia de *Salmonella sp* en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.
- Determinar si la carga microbiana existente en los alimentos preparados sin tratamiento térmico sobrepasa o no los límites microbiológicos permisibles dadas por las Normas Técnicas Peruanas.

#### **1.4. Hipótesis**

La Calidad Microbiológica de los Alimentos preparados sin tratamiento térmico excede los valores límites permisibles microbiológicos, según las Normas Técnicas Peruanas.

#### **1.5. Antecedentes**

SÁNCHEZ, V. y QUISPE, J. (2001) realizaron el trabajo titulado, "Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulancia de alimentos del distrito de comas Lima - Perú" en el 2001. Encontraron coliformes fecales en muestras de salsas en un 66,7%, en cremas fue del 47,9%, en ensaladas del 64% y en ceviche el 58,8%. No se encontró *Salmonella sp* en ninguna de las muestras de alimentos evaluados. Sobre la evaluación sanitaria el 90,2% de los puestos de venta ambulancia de alimentos puestos de venta ambulancia de alimentos tuvieron "Riesgo Sanitario Alto", observándose deficiencias estructurales y culturales de manipulación e higiene de alimentos.

TORRES, G. y HERRERA, J. (2008) realizaron el trabajo titulado, "Determinación de la inocuidad microbiológica de dos

marcas de ensaladas empacadas listas para consumo, comercializadas en los supermercados del área Metropolitana de San Salvador”, en el 2008. Encontrando la presencia de *E. coli* y *Salmonella*; las cuales deberían estar ausentes en el alimento. También encontraron una elevada cantidad de  $1,1 \times 10^3$  NMP g/mL de coliformes totales y  $1,1 \times 10^3$  NMP g/mL de coliformes fecales. Para el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables se encontraron el  $7 \times 10^5$  UFC/g en ensaladas, no cumpliendo con las normas establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-093- SSA1-1994, por lo tanto no fueron aptas para el consumo humano. Ellos recomendaron realizar un monitoreo más estricto en el proceso de elaboración de estas ensaladas y realizar una vigilancia microbiológica al producto por las autoridades competentes.

SANTACRUZ, F. y ÁVALOS, C. (2009) realizaron el trabajo titulado, “Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del distrito dos de la zona Metropolitana de San Salvador”, en el 2009. Encontraron la presencia de *E. coli*, *Proteus spp.*, coliformes totales y fecales, los cuales deberían estar ausentes en las ensaladas frescas. Para el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, obtuvieron valores altos de UFC/g. Con respecto a

los resultados obtenidos, el 100% de las muestras no cumplieron con las normas establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Ellos recomendaron a las instituciones de salud correspondientes que realicen monitoreos periódicos en los establecimientos de comida rápida que comercializan ensaladas frescas, para verificar que las condiciones en que éstas se preparan sean las idóneas y se ofrezca al consumidor un producto de calidad.

MURILLO VARGAS, CARLOS. (2011) realizó el trabajo titulado, “Los Comedores Populares en el Distrito de Santiago de Surco - Lima” en el 2011. Los resultados que obtuvo fueron aspectos organizativos, el 54% de los comedores populares no son aceptables, en aspectos de infraestructura el 53,97% no guardaron las condiciones mínimas requeridas para brindar una atención sin riesgos de salubridad y en la mayor higiene posible, en los aspectos de equipamiento más de la mitad de las socias que se unieron para conformación de un comedor popular, utilizan fondos propios para la compra del mobiliario a utilizarse en la organización. En cuanto a la implementación de artefactos el PRONAA, jugó un papel importante en la donación de éstos artículos a los comedores populares.

ORTEGA, J. y VELÉZ, A. (2013) realizaron el trabajo titulado, “Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la Ciudad de Cuenca, Ecuador” en el 2013. Encontraron que sólo el 1% de las muestras estuvieron contaminadas con niveles no aceptables de coliformes totales y el 6,25% con niveles no aceptables de *E. coli*, según la Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos, asimilados de Pablo Moragas.

## **1.6. Marco teórico**

### **1.6.1. Organización de los comedores**

Las Organizaciones Sociales de Base que están comprendidas en la Ley N° 25307 son las organizaciones que realizan apoyo alimentario, entre ellas se encuentran:

- Comedores Populares Autogestionarios
- Comités de Vaso de Leche
- Clubes de Madres
- Cocinas Familiares

## **1.6.2. Alimentos preparados sin tratamiento térmico**

Entre los alimentos preparados sin tratamiento térmico se encuentran las ensaladas crudas que tiene como representación a las hortalizas (tomate, cebolla, lechuga, zanahoria, etc.), mayonesas, salsa de papa a la huancaína y otros (ají amarillo en crema, rocoto en crema y rocoto picado), como también los alimentos preparados que llevan ingredientes sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sandwich, cebiche, etc.). Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

### **A. Hortalizas crudas**

Una hortaliza cruda es el componente comestible de una planta y pueden no recibir tratamiento alguno o ser lavadas, seleccionadas y clasificadas antes de ser seleccionadas en bolsas, en cajas o en canastos.

(ICMSF, 1998).

**CUADRO 01: Alimentos vegetales y su composición química en porcentaje aproximado.**

<b>Vegetal</b>	<b>Agua</b>	<b>Carbohidratos</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Grasa</b>	<b>Cenizas</b>
Cebollas	87,5	10,3	1,4	0,2	0,6
Espinaca	92,7	3,2	2,3	0,3	1,5
Lechuga	94,8	2,9	1,2	0,2	0,9
Pepinos	96,1	2,7	0,7	0,1	0,4
Tomate	94,1	4,0	1,0	0,3	0,6

**Fuente:** James M. Jay, 2000.

## **B. Inocuidad de las hortalizas**

Utilizar solamente hortalizas que se hayan protegido contra la contaminación cruzada y conservarlo de manera adecuada. Seleccionarlas eliminando las partes en mal estado, examinando que estén íntegras y sean aptas para el consumo humano. El consumo de vegetales crudos, ha sido asociado a numerosos casos de brotes de enfermedades por microorganismos patógenos como *E. coli*, que ha sido relacionada a brotes de infecciones por el consumo de ensaladas. La mayoría de las veces las ensaladas crudas son consumidas sin un tratamiento de desinfección adecuado adicional que elimine a las

bacterias patógenas. Por ello es importante que las verduras sean lavadas y desinfectadas minuciosamente para minimizar los peligros microbianos que pudieran estar presentes. La mayor parte de los problemas asociados a ensaladas se relacionan con la presencia de Enterobacterias, como *Salmonella* o *E. coli*.

([www.panaftosa.org.br](http://www.panaftosa.org.br)).

### **1.6.3. Contaminación de los alimentos**

ADAMS y MOSS (2011) la contaminación se puede definir como la inclusión de algo no deseado y que causa efectos negativos en el medio.

Las verduras en su estado natural son susceptibles al deterioro por acción de microorganismos, a una velocidad que depende de diversos factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Por esta causa, la refrigeración, es utilizada para la preservación de los vegetales, alterando la flora del entorno, de tal forma que se incrementa la estabilidad del alimento. (ICMFS, 1980).

LAURA (2001) indica que la contaminación es todo aquel producto que tiene sustancias o elementos ajenos a la composición natural en concentración o cantidad, tal que puede causar daño a la salud del consumidor. La cantidad de microorganismos en los alimentos indican la calidad, determinando al mismo tiempo si el producto es consumible, inocuo o rechazable para hacer consumido y llevado al mercado.

#### **1.6.3.1. Microflora de las hortalizas**

La diversidad de la microflora presente en las hortalizas depende de muchos factores, pero generalmente la mayoría de las bacterias presentes dependen del entorno en que se encuentran. Entre las bacterias más comunes en las verduras predominan los bacilos Gram negativos como *E. coli*. Los coliformes totales y fecales pocas veces tienen un significado sanitario consistente. Mejores evidencias se obtienen recurriendo a la determinación de la presencia y abundancia de *E. coli* como indicador de contaminación fecal. A partir de

verduras crudas es posible recuperar una diversidad de bacterias patógenas; siendo las enteropatógenas las más frecuentes en contaminación fecal. (FERNÁNDEZ, 2000).

### **1.6.3.2. Tipos de contaminación**

#### **A. Contaminación biológica**

Cuando es causado por bacterias que producen toxinas, parásitos en su forma adulta o larvaria, virus, hongos y biotoxinas marinas que presentan algunas especies. (DIGESA, 2000).

#### **B. Contaminación química**

Cuando es causado por sustancias químicas que llegan a los alimentos de forma accidental, pueden ser producidas por: metales pesados, aplicación de plaguicidas, etc. También se considera a la aplicación de aditivos alimentarios

no autorizados y el uso en exceso de los autorizados. (DIGESA, 2000).

### **C. Contaminación física**

Cuando es ocasionado por cuerpos extraños: astilla de madera, excremento de roedores, insectos, trozos de metal o vidrio, tierra y piedras pequeñas dentro del alimento. Lo que origina cambios en el alimento, donde la limpieza y la práctica de higiene juegan un rol importante para evitar la contaminación. (DIGESA, 2000).

### **D. Contaminación cruzada**

Ocurre cuando se cruzan zonas sucias con zonas limpias u operaciones sucias con operaciones limpias y especialmente por el contacto directo o indirecto con alimentos crudos y cocidos, superficies o utensilios contaminados por éstos. Para prevenir la contaminación cruzada en la cocina se aplicarían las siguientes medidas:

- Los alimentos crudos que se almacenan en refrigeración, estarán protegidos y se ubicaran por separado de los alimentos cocinados, precocidos y de consumo directo.
- El personal encargado de la manipulación de los alimentos, se lavarán y desinfectarán las manos antes de entrar en contacto con los alimentos cocidos o crudos.
- Las tablas de picar y utensilios que se empleen para los alimentos, deben ser diferentes para los alimentos crudos y cocidos; luego deben de desinfectarse después de haberse utilizado para estos alimentos.

(DIGESA, 2000).

### **1.6.3.3. Fuentes y mecanismos de contaminación**

La naturaleza y abundancia de la flora contaminante (bacterias, virus, hongos, levaduras y parásitos) es muy variable entre los diferentes productos alimenticios. Los tejidos vegetales cuentan

con un pH de 5-7 (dependiendo de la especie) y condiciones de humedad adecuadas para el crecimiento de especies microbianas. Además estos alimentos desde el comienzo de su cultivo se ven expuestos a una amplia gama de factores contaminantes; como lo son la tierra, el agua de riego, la presencia de materia fecal humana o animal, el tipo de abono, el aire y las personas que cuidan de las tierras de cultivo. En su post-cosecha destaca la maquinaria, equipo, los recipientes, animales domésticos y silvestres, los trabajadores, el polvo de la atmósfera y los vehículos. También se encuentran aquellas que pasan desapercibidas como en el caso de una mala manipulación (como el uso utensilios contaminados) y falta de higiene por parte de las personas que las preparan. (FERNÁNDEZ, 2000).

#### **1.6.3.4. Desinfección de hortalizas**

Consiste en tratar los alimentos con sustancias químicas para reducir sustancialmente las cantidades de microorganismos que implican un riesgo para la

salud pública, sin que afecte negativamente a la calidad del alimento y la seguridad del consumidor; aunque las reducciones son significativas, la desinfección no asegura la eliminación total de los microorganismos. (RODRÍGUEZ, 2004).

La eficacia del tratamiento de desinfección, depende de la concentración del principio activo y del tiempo de exposición. El mecanismo de acción de los desinfectantes dependerá del tipo de hortaliza, la temperatura del agua, el pH de la solución, la concentración del desinfectante, el tiempo de contacto, la frecuencia de los recambios de agua, la acumulación de materia orgánica, el volumen del alimento a desinfectar y el tipo de patógeno por eliminar. (RODRÍGUEZ, 2004).

Algunos de los agentes desinfectantes utilizados para tratar hortalizas son el cloro, dióxido de cloro, yodo, ozono, ácidos orgánicos (ácido acético) o el peróxido de hidrógeno. Para la selección deben tenerse en cuenta varios aspectos: que

eliminen un amplio espectro de microorganismos, que no sean tóxicos para el ser humano en las dosis utilizadas, que no afecten la integridad del alimento, que no sean corrosivos, que sean estables y de acción rápida. (RODRÍGUEZ, 2004).

Es muy importante que luego de realizar cualquier proceso de desinfección se realice un cuidadoso manejo sanitario del alimento, con el fin de evitar que este entre en contacto con agentes microbiológicos perjudiciales a la salud de los consumidores. (RODRÍGUEZ, 2004).

#### **1.6.4. Riesgos biológicos en alimentos frescos**

Los microorganismos transmitidos por los alimentos son conocidos como riesgos biológicos. (FAO, 2004).

##### **1.6.4.1. Riesgos bacterianos**

Debido a que los patógenos bacterianos forman parte del medio ambiente, pueden contaminar

fácilmente las hortalizas si no se manipulan adecuadamente antes del consumo. El número de bacterias para provocar enfermedades humanas varía con el tipo de organismo, la edad y el estado del huésped. En algunos casos es necesario que haya más de un millón de bacterias patógenas por gramo o  $\text{cm}^2$  en el alimento, para que se produzca la enfermedad. Sin embargo, algunos patógenos pueden provocar enfermedades en cantidades muchos menores. La prevención de la contaminación bacteriana constituye el factor de control más importante para reforzar la seguridad del alimento. (FDA, 2001).

Cada tipo de bacteria tiene unos requisitos específicos para lograr el desarrollo óptimo, pero también pueden multiplicarse y provocar enfermedades fuera de esas condiciones óptimas. Por ejemplo, *E. coli* requiere una temperatura de  $37^\circ\text{C}$ ., no obstante, puede multiplicarse dentro de una escala de entre  $10^\circ\text{C}$  y  $46^\circ\text{C}$ . (FRAZIER, 2003).

Los tiempos de generación bacteriana varían para distintos tipos de bacterias, también dependen de la disponibilidad de nutrientes y las condiciones medioambientales, como la humedad, disponibilidad de oxígeno, acidez y la temperatura. Por ejemplo *E. coli*, tiene un tiempo de generación que oscila entre 15 - 20 minutos; y en condiciones óptimas, en 10 horas una única célula podría producir más de un millón de células. (FDA, 2001).

#### **1.6.5. Enfermedades asociadas al consumo de alimentos**

FERNÁNDEZ (2000) indica que cualquier fruto o verdura puede ser vehículo de bacterias, virus y parásitos patógenos al hombre. Las ensaladas constituyen un riesgo debido a la contaminación que ellos suelen presentar y el hecho que se consumen generalmente crudas debido a la presencia de diversas bacterias entre las cuales se encuentran las siguientes bacterias patógenas implicadas en brotes por verduras:

- Exclusivamente humanos: *Salmonella typhi* y *Shigella*.
- Zoonótico típico: *Salmonella*.

#### **1.6.5.1. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's)**

Las ETA's son muy frecuentes en la mayoría de los países. Estas son llamadas así porque el alimento actúa como vehículo en la transmisión de organismos patógenos y sustancias tóxicas. Este tipo de padecimientos se presentan debido al consumo de alimentos que han estado expuestos a una pequeña o gran contaminación, debido a una amplia variedad de microorganismos, que pueden ser o no patógenos. (ALUFFI y RUMBADO, 2006).

#### **1.6.5.2. Infección alimentaria bacteriana**

Se refiere a las enfermedades alimentarias originadas por la entrada de bacterias en el organismo por ingestión de alimentos contaminados y a la reacción del organismo provocada por su presencia o por sus metabolitos. Se pueden dividir en dos tipos: aquellas en las que los microorganismos patógenos no necesariamente se multiplican en el alimento, si no que el alimento sólo actúa como

vehiculador, siendo éste el caso de microorganismos patógenos como los que produce la difteria, tuberculosis, disenterías, fiebre tifoidea, cólera, hepatitis infecciosa, etc.; y aquellas en las que el alimento puede servir de medio de cultivo para que los microorganismos patógenos se multipliquen en él y alcance cifras que aumentará la posibilidad de que el consumidor del alimento se infecte, en este tipo de enfermedades se incluyen las producidas por las especies de *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* y por *E. coli* ETEC. (FRAZIER, 2003).

#### **1.6.5.3. Intoxicación alimentaria bacteriana**

Pueden ser consecuencia de un envenenamiento químico o de la ingestión de una toxina (intoxicación). La toxina se puede encontrar en forma natural en determinadas planta o animales, o ser un producto metabólico de naturaleza tóxica excretado por un microorganismo. En una intoxicación alimentaria bacteriana se alude a las enfermedades alimentarias causadas por la

presencia de una toxina bacteriana que se ha originado en el alimento. Existen dos tipos de intoxicaciones alimentarias producidas por bacterias: el botulismo, originado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por *Clostridium botulinum* y la intoxicación estafilocócica, originada por una toxina existente en los alimentos producida por *Staphylococcus aureus*. (FRAZIER, 2003).

#### **1.6.5.4. Epidemiología**

La mayoría de los casos de ETA's se describen como esporádicos; se trata de casos aislados que aparentemente no están relacionados con ningún otro. Sin embargo, se pueden encontrar dos o más casos relacionados con una circunstancia común; cuando dos o más personas contraen la misma enfermedad, después de haber consumido el mismo alimento contaminado, dicho caso constituye ya un brote. Los brotes pueden ser confirmados en una sola familia o pueden cubrir a más de una familia o comunidad. (ADAMS y MOSS, 2011).

En la conferencia Internacional sobre nutrición de la FAO/OMS, se reconoció que cientos de millones de personas de todo el mundo padecen de enfermedades asociadas a la ingestión de alimentos. Es importante notar que la notificación de estos casos es obligatoria, se sabe que son muchos los casos que no se denuncian. ([www.fao.org](http://www.fao.org)).

Entre los microorganismos bacterianos de mayor prevalencia mundial se encuentran los siguientes: *Salmonella sp*, *Clostridium perfringens*, *V. cholerae*, *Bacillus cereus*, *E. coli* O157:H7, *Shigella dysenteriae* y *Clostridium difficile*. (FRAZIER, 2003).

Los casos reportados sobre las ETA's se muestran semanalmente en el Boletín Epidemiológico, de la Dirección General de Epidemiología, Red Nacional de Epidemiología, Ministerio de Salud, Lima – Perú.

#### **1.6.5.5. Prevención de las ETA's**

##### **A. Manipulación higiénica de alimentos**

La manipulación higiénica de los alimentos se refiere a todos los cuidados y precauciones que se deben tener en cuenta para evitar que un alimento elaborado pueda afectar la salud del consumidor. (LÓPEZ, 2002).

Los alimentos no deberán manipularse con manos descubiertas; los platos con comida no deberán apilarse unos sobre otros cuando se expongan, almacenen o sirvan; quienes manipulen alimentos no deberán manipular dinero, de ser inevitable este manejo, el manipulador deberá lavarse las manos después de hacerlo antes de volver a tocar los alimentos. Todos los alimentos cocinados y bebidas preparadas que no puedan conservarse adecuadamente, deberán eliminarse al final del día de forma higiénica. (LÓPEZ, 2002).

Los alimentos deberán almacenarse en recipientes limpios colocados dentro del refrigerador a una temperatura que no exceda de 10 °C. Todos los ingredientes secos deberán almacenarse y mantenerse en su recipiente comercial original etiquetado, o en otro recipiente que deberá llevar una etiqueta indicando el contenido del mismo diseñado. (LÓPEZ, 2002).

## **B. Higiene personal del manipulador de alimentos**

El manipulador de alimentos desempeña un papel importante en la prevención de ETA's, la preocupación estriba en el traspaso de microorganismos patógenos de personas a los alimentos, los cuales son procedentes de nariz, cavidad oral, piel de las manos o de otras regiones y del intestino. (LÓPEZ, 2002).

Conocer y cumplir las instrucciones de trabajo establecidas por los comedores, garantiza

la seguridad y salubridad de los alimentos, esto se asocia generalmente con la limpieza personal; por lo que la higiene personal del manipulador debe ser impecable. (LÓPEZ, 2002).

El manipulador debe mantener un grado elevado de aseo personal, llevar una vestimenta limpia y de uso exclusivo, ropa protectora, cubre cabeza y calzado adecuado; cubrirse los cortes y las heridas con vendajes impermeables apropiados; de ser posible lavarse las manos con agua caliente y jabón, emplear desinfectante para las manos, tantas veces como lo requieran las condiciones de trabajo, tanto antes de incorporarse a su puesto como después de una ausencia o de haber realizado actividades ajenas a su actividad específica. (LÓPEZ, 2002).

Durante la actividad de trabajo, los manipuladores de alimentos no podrán: fumar, masticar chicle, comer en el puesto de trabajo, estornudar o toser sobre los alimentos, ni realizar

cualquier otra actividad que pueda ser causa de contaminación de los alimentos, tal como llevar objetos personales que puedan entrar en contacto directo con los alimentos, tales como: anillos, pulseras, relojes, etc. (LÓPEZ, 2002).

Por último, cualquier persona que padezca una ETA, que puedan causar la contaminación directa o indirecta de los alimentos con microorganismos patógenos, deberá informar sobre la enfermedad o sus síntomas al responsable del establecimiento, con la finalidad de someterse a un examen médico y, en caso necesario, su exclusión temporal de la manipulación de productos alimenticios mientras dure la enfermedad. (LÓPEZ, 2002).

### **C. Ubicación, diseño y construcción de los comedores**

Todos los comedores deberán cumplir con todas las disposiciones estipuladas en las

reglamentaciones oficiales que cada país indica, las cuales son reconocidas para poder funcionar. La ubicación y el diseño deberá haber sido previamente examinada para luego ser aprobada por la autoridad competente. Ofrecer un espacio suficientemente amplio y una disposición ordenada de los comedores, permitiendo un movimiento ordenado de materiales y mercancías, dentro y fuera del centro para evitar posibles vías de contaminación; ubicar adecuadamente a los clientes; ofrecer espacios aptos y suficientes para el almacenamiento de residuos sólidos, limpieza, lavado y desinfección de utensilios de cocina; permitir una ventilación suficiente, abastecimiento de energía eléctrica agua potable, etc. Los comedores tienen que estar bien contruidos, tener suelos de cementos lisos, azulejos o asfalto con un sistema de desagüe para eliminar el agua de superficie y facilitar la limpieza y desinfección; cuando corresponda tener paredes de superficie lisa no permeable para facilitar su limpieza; iluminación

artificial suficiente para facilitar la preparación, manipulación, almacenamiento y servicio de alimentos; cumplir con cualquier otro requisito estipulado por la autoridad competente en relación con la estructura de los comedores. (MURILLO, 2011).

#### **1.6.6. Buenas prácticas de manipulación de alimentos**

Existen procedimientos generales de seguridad de los alimentos que se deben seguir para ayudar a reducir el riesgo de contaminación y mal manejo en todos los niveles de un establecimiento de alimentos. Desde el momento de la entrega del alimento hasta el momento en que se sirve al cliente, la seguridad alimentaria debe estar en la parte superior de la lista. (FAO, 2009).

##### **A. Compra y recepción de alimentos**

Todos los alimentos deben provenir de una fuente aprobada. Se debe de trabajar con su proveedor(s) para asegurar los alimentos que está utilizando y cumpliendo

las normas de seguridad alimentaria. Cuando se recibe una entrega, el tiempo y la temperatura son dos factores con mayores preocupaciones. Los alimentos deben almacenarse a la brevedad posible. Los miembros del personal deben hacer la comprobación de temperaturas y condiciones de los alimentos de entrada. Todos los alimentos refrigerados se deben guardar con rapidez para evitar el abuso de tiempo y temperatura. Los alimentos congelados no deben tener grandes cristales de hielo. (FAO, 2009).

## **B. Preparación de los alimentos**

Las hortalizas, según corresponda se lavaran hoja por hoja, para lograr una acción de arrastre de tierra, huevos de parásitos, insectos u otros contaminantes. El manipulador encargado del deshojado de las hortalizas se lavará y desinfectará las manos antes de esta operación, el deshojado se realizará antes de la desinfección y bajo el chorro de agua potable. La desinfección de estas hortalizas posterior al lavado se efectuará con desinfectantes comerciales de uso para los alimentos,

aprobados por el MINSA y se seguirán las instrucciones del fabricante, luego se enjuagará con agua potable corriente. Los utensilios de cocina deben ser exclusivos para cada tipo de alimento y mantenerse en buen estado de conservación e higiene. (FAO, 2009).

### **C. Recalentamiento de alimentos**

La temperatura de recalentamiento adecuado es de 73 °C. Cuando un alimento se enfría y se recalienta, hay un mayor riesgo de la contaminación causada por el personal y aumenta el riesgo del crecimiento de bacterias que causan ETA's. El recalentamiento adecuado puede eliminar los agentes patógenos. (FAO, 2009).

### **D. Control de temperatura**

La temperatura es el factor clave que controla el crecimiento de bacterias en los alimentos. Todos los alimentos deben ser almacenados en frío entre 0 - 5 °C y por debajo o en caliente de 57,2 °C o más. La refrigeración evita que los alimentos se conviertan en un peligro al

desacelerar el crecimiento de la mayoría de las bacterias. Mantener fríos los alimentos no se detiene el crecimiento de bacterias, pero va a bajar la velocidad. Si se nota que la comida parece tener crecimiento de moho u olores: un buen lema para adoptar en este caso es: "En caso de duda, tirarlo a la basura." Una vez que la comida se calienta o cocina, debe mantenerse a una temperatura para limitar el crecimiento de bacterias. La temperatura correcta de mantenimiento de calor es de 57 °C. (FAO, 2009).

## **E. Vestimenta**

Los manipuladores de alimentos (del área de cocina), deben usar ropa protectora de color blanco que les cubra el cuerpo, llevar completamente cubierto el cabello y usar calzado cerrado. Toda la vestimenta debe ser lavable, mantenerla limpia y en buen estado de conservación, a menos que sea de uso desechable (solo un uso). El resto del personal debe usar ropa protectora mantenida en buen estado de conservación e higiene. Las personas encargadas de la limpieza y desinfección de los

establecimientos deben usar delantales y calzados impermeables. (DIGESA, 2000).

#### **F. El uso de guantes adecuados**

El uso de guantes no reemplaza la necesidad de lavarse las manos. Debe de lavarse las manos correctamente antes y después de usar guantes y cambiarse de guantes cuando se realice diferentes tareas o usarlos para una sola tarea. No reutilizar guantes. Desechar los guantes cuando estén sucios o dañados. (FAO, 2009).

#### **G. Lavado de manos**

Deben lavarse las manos antes de empezar a preparar los alimentos y ponerse los guantes. También deben lavarse las manos después de: usar el baño, estornudar o toser, de manipular alimentos crudos, tomar descansos (comer), tocarse la cara o el pelo, sacar la basura y tocar cualquier cosa que pudiera contaminar sus manos. (FAO, 2009).

### **1.6.7. Principios del análisis microbiológico de los alimentos**

#### **A. Importancia y fundamento del análisis microbiológico de los alimentos**

Uno de los requisitos fundamentales que se exige a los alimentos que se destinan al consumo humano, es la ausencia de microorganismos patógenos que pueden originar trastornos al organismo. Para evidenciar la presencia de bacterias patógenas, es necesario efectuar los análisis microbiológicos del alimento. Un alimento es considerado potencialmente peligroso, cuando la contaminación microbiana sobrepasa los límites permisibles para los alimentos. La mayor cantidad de microorganismos que se encuentran en los alimentos se debe a la manipulación inadecuada, es por ello que es indispensable realizar inspecciones sanitarias minuciosas a los establecimientos de expendio de los alimentos para prevenir su contaminación. (DIGESA, 2000).

## **B. Función del análisis microbiológico de los alimentos**

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo, es simplemente una inspección que permite valorar y verificar la carga microbiana. Es un proceso analítico para seguir una serie de criterios sobre la toma de muestra para obtener resultados representativos y los análisis microbiológicos aplicados han de ser específicos de cada alimento porque son diferentes los microorganismos patógenos y alterantes de cada tipo de alimento. ([www.fao.org](http://www.fao.org)).

### **1.6.8. Normas internacionales y nacionales relacionadas a los alimentos preparados sin tratamiento térmico**

#### **Normas Técnicas Internacionales**

Son aquellas que son aprobadas por los organismos internacionales de normalización, ejemplos de ellos tenemos:

- Normas Técnicas ISO aprobadas por la Organización Internacional para la Normalización ISO.
- Normas Técnicas del CODEX ALIMENTARIUS, aprobadas por la Comisión del CODEX ALIMENTARIUS (FAO-OMS).

## **Normas Técnicas Nacionales**

Son aquellas que son aprobadas por el Organismo Peruano de Normalización. En Perú las normas que establecen los requisitos que deben cumplir los alimentos preparados sin tratamiento térmico para el consumo humano, se consultó a la Dirección General de Salud Ambiental, DIGESA, que es el Órgano Técnico-Normativo en los aspectos relacionados al Saneamiento Básico, Salud Ocupacional, higiene Alimentaria, Zoonosis y Protección del Ambiente; la normatividad usada actualmente relacionada a los alimentos preparados sin tratamiento térmico, sienta la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, esta fue la consultada en el caso de los parámetro microbiológicos, ya que establece las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas, para ser considerados aptos para el consumo humano.

### **1.6.9. Marco legal base para la investigación**

De acuerdo a lo explicado en el punto 1.6.8, se siguió la siguiente normativa para la realización de esta investigación:

- NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, para los parámetros microbiológicos.
- Resolución Ministerial N° 363-2005-MINSA, del 19 de mayo del 2005. “Norma Sanitaria para el funcionamiento de restaurantes y servicios afines”.
- Resolución Ministerial N° 451-2006/MINSA, del 17 de mayo del 2006, “Norma Sanitaria para la fabricación de alimentos a base de granos y otros, destinados a programas sociales de alimentación.
- Decreto Supremo N° 007-98-SA17, del 24 de setiembre de 1998. Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, para la evaluación de la información al consumidor y registro sanitario.

- Decreto Legislativo N° 1062, del 28 de junio del 2008. Ley de la Inocuidad de los Alimentos.

(Ver Anexo 01 y 02).

### **1.6.10. Microorganismos indicadores**

#### **A. *Salmonella sp***

##### **Etiología**

Sus principales reservorios son los animales y las personas. La intoxicación alimentaria por *Salmonella* es consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen cepas de estos géneros en grandes cantidades.

(JAMES M. JAY, 2000).

##### **Patogenia y signos clínicos**

Los síntomas son de fiebre ligera, náusea, vómito, dolor abdominal y diarrea duran pocos días pero pueden persistir de una semana a más. La enfermedad suele ser autolimitante pero puede ser más grave en grupos especialmente sensibles, como los niños, ancianos y en las personas enfermas. La dosis infecciosa por lo general

es de  $10^6$  células, aunque esto varía con los factores de virulencia del serotipo, sensibilidad del individuo y el alimento vehiculador. Las especies *S. typhi* y *S. paratyphi* A, B, y C son causantes de la enfermedad septicémica conocida como fiebre entérica en las personas, tiene un periodo de incubación entre 3 y 56 días, aunque habitualmente está comprendida entre 10 y 20 días. La fiebre persiste pero va acompañada del comienzo de una diarrea en las que son excretadas grandes cantidades de bacterias con la orina. (ADAMS y MOSS, 2011).

### **Asociación con los alimentos**

La salmonelosis se define como una infección zoonótica, puesto que la fuente principal de la enfermedad humana la constituyen los animales infectados. La transmisión tiene lugar por la vía fecal-oral por medio de la cual el contenido intestinal de un animal infectado es ingerido con un alimento o con el agua. Un tiempo de uso incorrecto de la temperatura que permita crecer a las salmonelas en el alimento y un tratamiento térmico final insuficiente o ausente, son factores comunes que cooperan en la aparición de brotes. Puede

haber contaminación cruzada por contacto directo o indirecto por medio del material y utensilios de cocina. Si el manipulador de alimentos tiene las manos contaminadas y tocan el alimento que posteriormente es consumido sin la cocción adecuada, durante el cual tiene lugar al crecimiento microbiano. La diseminación se da en los hospitales, guarderías y residencias para personas ancianas. (ADAMS y MOSS, 2011).

**CUADRO 02: Límites fisiológicos del crecimiento de *Salmonella spp*, en los alimentos y en los medios bacteriológicos.**

Parámetro	Límites		Producto	Serovariedad
	Mínimo	Máximo		
Temperatura	2°C (24 horas)		Carne de vaca picada <sup>a</sup>	<i>S. typhimurium</i>
	2°C (2 días)		Carne de pollo picado <sup>b</sup>	<i>S. typhimurium</i>
	4°C (≤ 10 días)		Huevos con cáscara <sup>b</sup>	<i>S. enteritidis</i>
		50	Medio de agar	<i>S. typhimurium</i>
pH	3.99 <sup>c</sup>		Tomates	<i>S. infantis</i>
	4.05 <sup>d</sup>		Medio líquido	<i>S. anatum</i>
		9.5	Agua de lavado de huevos <sup>b</sup>	<i>S. typhimurium</i>
a <sub>w</sub>	0.93 <sup>e</sup>		Sopa desecada rehidratada <sup>b</sup>	<i>S. oranienburg</i>

<sup>a</sup> Contaminada de modo natural. <sup>b</sup> Contaminada artificialmente. <sup>c</sup> Crecimiento en 24 horas a 22°C.

<sup>d</sup> Acidificado con HCl o con ácido cítrico, crecimiento de 24 horas a 30°C. <sup>e</sup> Crecimiento en 3 días a 30°C.

**Fuente:** D' Aoust, J. Y, y H. Pivnick, 1976.

## **B. *Escherichia coli***

### **Etiología**

La *E. coli* fue definido como patógeno producido por alimentos en 1971. Como patógeno humano se ha indicado que en 1700, fue identificado como una causa de diarrea en niños. (JAMES M. JAY, 2000).

### **Patogenia y signos clínicos**

Hay 4 clases importantes de *E. coli*, productor de diarreas (la diarrea acuosa aguda que se presenta con frecuencia en las personas recién llegadas en algunos países extranjeros) basadas en diferentes propiedades de virulencia codificadas por plásmidos. ETEC: se presenta la enfermedad entre 12 a 36 horas después de la ingestión del organismo. Los síntomas pueden variar desde una ligera diarrea febril hasta un síndrome grave parecido al cólera, con heces acuosas sin sangre ni moco, dolor abdominal y vómito, persistiendo de 2 a 3 días, la diarrea en niños pueden causar deshidrataciones graves. EIEC: origina disentería bacilar invasora normalmente asociada con *Shigella*, invade las células

epiteliales del colon y se multiplica en su interior causando ulceración e inflamación. Los signos clínicos son fiebre, dolor abdominal, malestar y con frecuencia una diarrea acuosa que contiene sangre, moco y leucocitos fecales. EPEC: los síntomas son malestar, vómitos y diarrea, con deposiciones que contienen moco pero rara vez sangre, aparecen 12 a 36 horas después de la ingestión del organismo. En niños es más grave, que algunas otras infecciones diarreicas y puede persistir de un tiempo de más de dos semanas. EHEC: conocido también como *E. coli* productor de Verotoxina (VTEC). El serotipo O157:H7, es el serotipo que con mayor frecuencia se aísla en las personas, son capaces de causar enfermedades que amenazan la vida, como con la colitis hemorrágica (diarrea aguda, sanguinolenta, con periodo de incubación de 3 a 8 días, se puede diferenciar de la colitis inflamatoria por la falta habitual de fiebre y por la ausencia de leucocitos en las heces), el síndrome urémico hemolítico (se caracteriza por la insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica) y la púrpura trombótica trombocitopénica (descenso del número de plaquetas sanguíneas). (ADAMS y MOSS, 2011).

## **Asociación con los alimentos**

La contaminación fecal de las redes de abastecimiento de agua y los manipuladores de alimentos contaminados han sido implicados muy frecuentemente en brotes de enfermedad causados por EPEC, EIEC y ETEC. (ADAMS y MOSS, 2011).

### **C. *Staphylococcus aureus***

#### **Etiología**

Actualmente se conocen 27 especies género *Staphylococcus*; la producción de enterotoxina está relacionada con *S. aureus*, aunque también ha sido referida en especies de *S. intermedius* y *S. hyicus*. La enfermedad que produce es benigna y de corta duración. (ADAMS y MOSS, 2011).

#### **Patogenia y signos clínicos**

La intoxicación alimentaria por *S. aureus* es el resultado de la ingestión de una toxina preformada en el alimento. *S. aureus* produce 7 exotoxinas: A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>,

C<sub>3</sub>, D y E. El periodo de incubación es de 2 a 4 horas; los síntomas son náuseas, vómitos, diarrea y postración, siendo la curación completa de 1 a 2 días. En casos graves es posible que la deshidratación, la palidez y el colapso requieran un tratamiento por infusión intravenosa. Se desconoce de qué modo la toxina induce a la diarrea pero se ha demostrado que no estimula a la actividad de adenilactociclasa. (ADAMS y MOSS, 2011).

**CUADRO 03: Factores que permiten que *Staphylococcus aureus* crezca y produzca enterotoxina.**

Factor	Crecimiento		Producción de enterotoxina	
	Óptimo	Intervalo	Óptimo	Intervalo
Temperatura °C	35-37	7-48	35-40	10-45
pH	6-7	4-9,8	Ent. A. 5,3-6,8 otras de 6-7	4,8-9
NaCl	0,5-4%	0-20%	0,5%	0-20%
Actividad de agua	0,98->0,99	0,83->0,99	>0,99	0,86-0,99
Atmósfera	Aeróbica	Aeróbica - Anaeróbica	5-20% DO <sub>2</sub>	Aeróbica - Anaeróbica
E <sub>h</sub>	> +200 mV	< de -200 a > +200 mV	> +200 mV	-

**Fuente:** Adams y Moss, 2011.

**CUADRO 04: Especies y subespecies de *Staphylococcus* producen coagulasa, nucleasa, enterotoxina, hemólisis, manitol y G + C de ADN.**

Organismos	Coagulasa	Nucleasa	Enterotoxina	Hemólisis	Manitol	G + C de ADN
<i>S. aureus</i> subesp. <i>anaerobius</i>	+	TS	-	+		31.7
<i>aureus</i>	+	TS	+	+	+	32 – 36
<i>S. intermedius</i>	+	TS	+	+	(+)	32 - 36
<i>S. hyicus</i>	(+)	TS	+	-	-	33 – 34
<i>S. delphini</i>	+	-		+	+	39
<i>S. caprae</i>	-	TL	+	(+)	-	36.1
<i>S. chromogenius</i>	-	-w	+	-	v	33 – 34
<i>S. schleiferi</i> subesp. <i>coagulans</i>	+	TS		+	(+)	35 – 37
<i>schleiferi</i>	-	TS		+	-	37
<i>S. cohnii</i>	-	-	+	-	v	36 – 38
<i>S. epidermis</i>	-	-	+	v	-	30 – 37
<i>S. haemolyticus</i>	-	TL	+	+	v	34 – 36
<i>S. lentus</i>	-		+	-	+	30 – 36
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	+	-	+	31 – 36
<i>S. sciuri</i>	-		+	-	+	30 – 36
<i>S. simulans</i>	-	v		v	+	34 – 38
<i>S. warneri</i>	-	TL	+	-w	+	34 – 35
<i>S. xylosus</i>	-	-	+	+	v	30 – 36

Nota: + = positivo; - = negativo; -w = de negativo a débilmente positivo; (+) = reacción débil; v = variable; TS = termoestable; TL = termolábil.

**Fuente:** James M. Jay, 2000.

### **Asociación con los alimentos**

Existe un elevado porcentaje de personas portadoras, la contaminación por los manipuladores de alimentos probablemente es un hecho corriente. La colonización en las fosas nasales y la garganta por el organismo implicará automáticamente su presencia en la piel, por lo que el alimento también se puede contaminar a partir de lesiones cutáneas infectadas, al toser y al estornudar. (ADAMS y MOSS, 2011).

### **D. Bacterias coliformes totales**

En la higiene de alimentos, los coliformes totales no se consideran indicadores de contaminación fecal sino solamente indicadores de calidad higiénica. Los coliformes totales incluyen una amplia variedad de bacilos aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos y bacterias no esporulados capaces de proliferar en presencia de concentraciones relativamente altas de sales biliares, fermentando la lactosa y produciendo ácido o aldehído en 24 horas a 35 – 37 °C. *E. coli* y los coliformes termotolerantes son un subgrupo

del grupo de los coliformes totales que pueden fermentar la lactosa a temperaturas más altas. El grupo de los coliformes totales incluye especies fecales y ambientales. (OMS, 2006).

#### **E. Bacterias aerobias mesófilas viables**

Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. (ICMFS, 2000).

Algunas cepas de bacterias aerobias mesófilas comunes, no generalmente consideradas como agentes de enfermedades transmitidas por los alimentos han sido señaladas como causa de enfermedad cuando existía un número elevado de células viables en los alimentos. Sin embargo, los datos con que se cuenta acerca de la patogenicidad de estas cepas son conflictivos. No obstante, parece prudente evitar que los alimentos

industrializados no fermentados den recuentos en placa elevados. (ICMFS, 2000).

La causa más frecuente de alteración, debe esperarse en los mismos recuentos elevados. Los niveles de población precisos para producir modificaciones organolépticas, varía ampliamente según el tipo de alimento y de modo particular, la clase de microorganismo. La alteración de los alimentos refrigerados es producida frecuentemente por bacterias que no pueden crecer a temperaturas de 30 °C y superiores. Así, los recuentos en placa de gérmenes aerobios realizados en alimentos alterados mientras se mantengan refrigerados pueden alcanzar cifras uno o más ciclos logarítmicos superiores cuando la incubación se hace a 5-28 °C que cuando se lleva a cabo a 35-37 °C. Los recuentos elevados de bacterias aerobias mesófilas, en productos crudos o no tratados, a menudo están constituidos por la microflora normal o quizás indican una alteración incipiente del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor. (ICMFS, 2000).

### 1.6.11. Criterios microbiológicos

Los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad se sujetarán a lo expresado en la presente NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008. (Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano).

**CUADRO 05: Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaína, aderezos, postres, jugos, yogurt de fabricación casera u otros).**

Agente Microbiano	Límite por gramos o mililitros	
	Mínimo permisible (m)	Máximo permisible (M)
Aerobios mesófilos	$10^5$	$10^6$
Coliformes	$10^2$	$10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^1$	$10^2$
<i>Escherichia coli</i>	$10^1$	$10^2$
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia /25 gramos	-----

**Fuente:** NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Materiales de vidrio y otros

- Asa de siembra de níquel de 3 a 3,5 mm de diámetro.
- Matraz de 50 mL, 250 mL, 500 mL.
- Mechero de alcohol.
- Pipetas de 1 mL, 10 mL.
- Placas Petri 100 x 20 mm, 100 x 15 mm.
- Probeta de 50 mL y 100 mL
- Puntas desechables azules para Micropipeta de rango variable de 100 uL – 1000 uL.
- Tubos de Ensayo de 15 x 125 mm.
- Vaso de Precipitación de 250, 500 mL.
- Algodón.
- Asa de Kolle.
- Bolsas de polipropileno de primer uso.
- Bombilla de succión.
- Cooler.
- Espátula.
- Gradilla para tubos.

- Guantes quirúrgicos.
- Mascarilla.
- Pabilo.
- Papel kraft.
- Pinza punta plana.
- Plumones y marcadores.

## **2.2. Equipos**

- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Cocina eléctrica.
- Estufa de incubación.
- Micropipeta de rango variable 100 uL – 1000 uL.
- Refrigeradora.

## **2.3. Medios de cultivo y reactivos**

- Agar Citrato de SIMMONS.
- Agar Hierro Lisina (LIA).
- Agar Hierro Triple Azúcares (TSI).

- Agar Nutritivo.
- Agar para recuento (PCA).
- Agar SIM.
- Agua peptonada Tamponada.
- Caldo urea.
- Caldo Tetrionato de Kauffmann.
- Placas Petrifilm™ para el recuento de *E. coli* / Coliformes.
- Placas Petrifilm™ para el recuento de *Staphylococcus aureus*.
- Reactivo para la detección del Indol (Reactivo de kova's).
- Agua destilada.
- Alcohol etílico de 70°.

#### **2.4. Diseño de la investigación**

El presente trabajo se define como un estudio de diseño descriptivo, tipo longitudinal. Es descriptivo porque se buscó valorar la calidad microbiológica de alimentos preparados sin tratamiento térmico, tal como se encontraron en los comedores, al momento de la toma de muestra. Longitudinal, porque el muestreo se realizó en dos tiempos diferentes, a partir de los cuales se realizó el análisis microbiológico.

## 2.5. Variables de estudio

### 2.5.1. Variable dependiente

Calidad microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

**Indicador:**

- Número de microorganismos mayores a los límites microbiológicos permisibles.

### 2.5.2. Variable independiente

Microorganismos presentes en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

**Indicador:**

- Presencia y recuento de gérmenes (bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp*).

## **2.6. Material de estudio**

Los alimentos preparados sin tratamiento térmico provenientes de los comedores del Club de Madres, ubicados en el distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.

## **2.7. Tamaño de muestra y muestreo**

El tipo de muestreo fue no probabilístico o dirigido, utilizando un procedimiento de selección al azar. (HERNÁNDEZ, 2010).

La toma de muestra se realizó durante los meses de Noviembre del 2013 a Enero del 2014. Las muestras analizadas fueron alimentos preparados sin tratamiento térmico de los 17 comedores del Club de Madres que fueron codificados para evitar susceptibilidades posteriores al análisis (Cuadro 06), ubicadas (Anexo 11) en el distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna. En cada uno de los comedores se tomó dos muestras de alimentos obteniéndose 34 muestras en total, cada una tomada en fechas diferentes (Cuadro 07), muestras que fueron seleccionadas al azar y fueron transportadas al Laboratorio de Microbiología, Facultad

de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, para su análisis microbiológico respectivo.

**CUADRO 06: Códigos designados a los comedores analizados.**

<b>N°</b>	<b>Lugar de Muestreo - Comedor</b>	<b>Código</b>
1	Arriba Perú	MA-01
2	Corazón de Vicky	MC-02
3	Décimo Mandamiento	MD-03
4	El Morro	ME-04
5	Jesús Divina Misericordia	MJ-05
6	José Carlos Mariátegui	MJ-06
7	Las Dorcas	ML-07
8	Los Claveles	ML-08
9	Nazareno de los Milagros	MN-09
10	Nuestra Señora de Alta Gracia	MN-10
11	Pan de vida	MP-11
12	Patrona de las Américas	MP-12
13	San Francisco de Asis	MS-13
14	Santa Fe	MS-14
15	Unidos por la paz	MU-15
16	Virgen de Pallagua	MV-16
17	Virgen del Pilar	MV-17

**Fuente:** Elaboración propia.

**CUADRO 07: Fecha de los muestreos realizados en los comedores.**

<b>N°</b>	<b>Fecha de Toma de Muestra</b>	<b>Código del Lugar de Muestreo (Comedor)</b>
01	19/11/2013	MP-12
02	20/11/2013	ML-08
		MP-12
03	25/11/2013	MJ-06
		MV-17
04	26/11/2013	MN-10
		MJ-06
		MV-17
05	03/12/2013	MN-10
		MA-01
		MJ-05
06	04/12/2013	MA-01
		MN-09
		MD-03
07	09/12/2013	MS-13
		MD-03
		ML-08
08	10/12/2013	MC-02
		ML-07
		ME-04
09	11/12/2013	ME-04
		ML-07
		MC-02

**Continuación... CUADRO 07: Fecha de los muestreos realizados en los comedores.**

<b>N°</b>	<b>Fecha de Toma de Muestra</b>	<b>Código del Lugar de Muestreo (Comedor)</b>
10	23/12/2013	MN-09
		MS-13
		MU-15
		MP-11
		MV-16
		MS-14
11	02/01/2014	MU-15
		MV-16
		MP-11
		MJ-05
		MS-14

**Fuente:** Elaboración propia.

## **2.8. Metodología de la investigación**

### **2.8.1. Obtención y recolección de la muestra**

Para obtener los datos representativos se tomó en cuenta la cantidad de comedores y el número de muestreos

realizados; de esta manera se estableció el siguiente método de muestreo:

- Se realizó muestreos (dos en cada comedor elegido del distrito) con un espacio de tiempo (Cuadro 07), con lo que se obtuvieron 34 muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico de los 17 comedores analizados.
- Las muestras se colocaron en vasos precipitados estériles tapados con papel kraff y sujetado con pabilo, luego fue colocada en la caja isotérmica (cooler) a temperatura ambiente (18 – 24 °C) para no alterar las características originales del producto, cada muestra fue etiquetada con la siguiente información: fecha y hora de la toma de muestra, punto de recolección, luego fueron trasladadas al laboratorio, para su inmediato análisis microbiológico.
- Se realizaron, por duplicado los análisis microbiológicos de todos los alimentos sin tratamiento térmico de cada uno de los 17 comedores, sacando un promedio entre los dos valores, obteniendo al final un solo resultado por cada muestreo.

## **2.8.2 Análisis microbiológico de la muestra**

### **A. Método: ISO 6887-1: 1999. Instructivo de preparación y dilución de muestras de alimentos para análisis microbiológicos.**

#### **Preparación de la suspensión inicial (Primera dilución)**

- Se pesaron 25 g o 25 mL de la muestra en un recipiente estéril, luego se procedió a colocar la muestra en 225 mL de diluyente, se homogenizó y se dejó que las partículas grandes sedimenten, durante 15 minutos.

#### **Preparación de las diluciones decimales adicionales**

- Se transfirió, por medio de una micropipeta, 1 mL de la suspensión inicial (primera dilución) a un tubo conteniendo 9 mL de diluyente estéril a una temperatura apropiada.
- Se mezcló cuidadosamente durante 5 a 10 segundos, para obtener la dilución  $10^{-2}$ . Utilizándose una punta o tip estéril diferente para cada una de las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , etc.

**B. Método: ICMSF, 2000. Enumeración de bacterias aerobias mesófilas viables por el método del recuento estándar en placa**

- Se preparó la muestra por el método anterior.
- Se pipeteó por duplicado en placas de Petri alícuotas de 1 mL de las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ . Se aconseja esta serie de diluciones en aquellos casos en que se desconoce el número aproximado de gérmenes presentes en el alimento.
- Se mezcló el inóculo con el medio fundido y girando las placas de esta manera: (a) se realizó a las placas movimientos de vaivén 5 veces en una dirección, (b) luego se giró 5 veces en el sentido de las agujas del reloj, (c) se realizó movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y (d) se giró 5 veces en sentido contrario a las agujas del reloj.
- Una vez solidificado el agar, se invirtió las placas y se incubó a 35 °C durante 24 horas  $\pm$  2 horas.
- Se calculó el recuento estándar en placa eligiéndose dos placas correspondientes a una dilución, que presenten entre 30 a 300 colonias. Se obtuvo la media

aritmética de los valores y se multiplicó por el factor de dilución.

- Los resultados que fueron obtenidos se expresaron como recuento estándar en placa por gramo del alimento.

**C. Método: AOAC 991.14. Método rápido de análisis – placas petrifilm para el recuento de *Escherichia coli* y coliformes totales.**

**Inoculación**

- Se colocaron las placas Petrifilm para el recuento de Coliformes / *E. coli* sobre una superficie plana y lisa.
- Se levantó la lámina superior y transfirió por medio de una pipeta estéril 1 mL de las diluciones decimales a cada una de las dos placas Petrifilm, colocándose en el centro de la lámina. Dejar caer la lámina hacia abajo sobre la muestra, evitar la formación de aire.
- Se colocó el esparcidor plástico sobre el centro de la placa Petrifilm, presionándose cuidadosamente y distribuyéndose la muestra sobre el área de crecimiento antes de que se forme el gel.

- Se removió el aplicador de la placa Petrifilm y se esperó que se gelatinice la placa. No se deslizó el aplicador a través de la lámina.

### **Incubación**

- Se incubó las placas en una posición horizontal, con el área limpia hacia arriba y no más de 20 placas una sobre otra, por 24 horas  $\pm$  2 horas a  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para el recuento de coliformes totales.
- Para recuento de *E. coli* se incubó adicionalmente 24 horas  $\pm$  2 horas (48 horas  $\pm$  4 horas) a  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### **Selección de placas e interpretación**

- Como confirmación de *E. coli* se tomaron las colonias de color azul a rojo-azulado asociados con formación de burbujas de gas. Las colonias azules sin gas no serán enumeradas como *E. coli*.
- El recuento total de coliformes consistió en enumerar las colonias rojas y azules asociadas con gas en 24 h. Las colonias no asociadas con gas no fueron enumeradas como coliformes totales.

### **Reporte**

- Los resultados obtenidos, se expresaron en unidades formadoras de colonias (UFC) de coliformes o *E. coli* / gramo o mL.

### **D. Método: AOAC 2003.07. Método rápido de análisis – placas petrifilm para el recuento de *Staphylococcus aureus***

#### **Inoculación**

- Es el mismo procedimiento del método anterior.

#### **Incubación**

- Se incubaron las placas en una posición horizontal, con el área limpia hacia arriba y no más de 20 placas una sobre otra, por 24 horas  $\pm$  2 horas a 35 °C  $\pm$  1 °C.

#### **Selección de placas e interpretación**

- Como confirmación de *S. aureus* se tomaron las colonias de color rojo-violeta.

### **Reporte**

- Los resultados obtenidos, se expresaron en unidades formadoras de colonias (UFC) de coliformes o *Staphylococcus. aureus* / gramo o mL.
- Los resultados para cada muestra se transcriben al Registro interno de resultados que luego se archiva.

### **E. Método: ICMSF, 2000. Investigación de *Salmonella*.**

#### **Pre – enriquecimiento no - selectivo**

- Se preparó la suspensión inicial añadiéndose 25 gramos de la muestra a 225 mL de Agua Peptona Tamponada.
- Se incubó la suspensión inicial a  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  por 18 a 24 horas a  $35\text{ °C} - 37\text{ °C}$ .

#### **Enriquecimiento selectivo**

- De la suspensión inicial obtenida, se transfirió 10 mL a un matraz que contenía 90 mL de Caldo Tetrionato.
- Se incubó el Caldo Tetrionato a  $43\text{ °C} \pm 0.05\text{ °C}$  por 24 horas.

### **Siembra en Placa en Medio de Agar Selectivo para *Salmonella***

- Del Caldo Tetracionato se tomó un asa de 5 mm para el sembrado en la superficie de una placa de medio agar selectivo de Agar SS y extender de tal manera que se obtengan colonias aisladas. Se incubaron las placas de Agar SS durante 24 horas a 35 °C – 37 °C.
- Las colonias típicas de *Salmonella* son de color grises a negro, con un halo transparente, a veces con un brillo metálico.

### **Confirmación bioquímica**

- Se hizo el uso de medios de cultivo como: agar citrato de SIMMONS, agar hierro lisina (LIA), agar hierro triple azúcares (TSI), agar SIM, caldo Urea e Indol.

### **Reporte**

- Se indica la presencia o ausencia de *Salmonella sp.* En una muestra de x 25 g/mL de producto.

### III. RESULTADOS

En el presente trabajo se realizó la evaluación microbiológica de los alimentos preparados sin tratamientos térmicos de un total de 17 comedores de Club de Madres localizados en el Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.

Del total de los comedores que se evaluó sus alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas, salsa de papa a la huancaína, ají amarillo en crema, roco en crema), el 88,23% presentaban alimentos con *Staphylococcus aureus*, el 29,41% presentaban alimentos con *E. coli* y el 76,47% excedió los límites permitidos para coliformes totales. Con respecto a la investigación de *Salmonella sp*, solo en 1 muestra de rocoto en crema se encontró que el 2,94% de esta muestra reporta la presencia de *Salmonella sp*. Por otro lado en todas las muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico no se reportó bacterias aerobias mesófilas viables. (Ver Cuadro 08).

**CUADRO 08: Porcentaje de muestras aptas y no aptas para los análisis microbiológicos obtenidos de las muestras analizadas de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.**

<b>Análisis Microbiológico</b>	<b>Total de comedores analizados</b>	<b>N° de muestras no aptas</b>	<b>% de muestras no aptas</b>	<b>N° de muestras aptas</b>	<b>% de muestras aptas</b>
<b>Bacterias aerobias mesófilas viables</b>	17	0	0	17	100
<b><i>Escherichia coli</i></b>	17	5	29,41	12	70,59
<b>Coliformes totales</b>	17	13	76,47	4	23,53
<b><i>S. aureus</i></b>	17	15	88,23	2	11,77
<b><i>Salmonella sp.</i></b>	17	1	2,94	16	97,06

**Fuente:** Elaboración propia.

Los resultados presentados a continuación se refieren exclusivamente a las muestras indicadas, obtenidos de los 17 comedores, el cual se tomó dos muestras de alimentos por comedor, obteniéndose 34 muestras en total, cada una tomada en fechas diferentes seleccionadas al azar y colocándose un código a cada comedor, realizados en el Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.

La información obtenida de la investigación comprende los datos generales de las muestras, los análisis microbiológicos se realizaron por duplicado y los valores mostrados son el promedio de ambas muestras, que se presentan en los siguientes cuadros y gráficos.

Comparados con la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) según Resolución Ministerial N° 591-2008/MMINSA del 27 de agosto del 2008.

## **Bacterias aerobias mesófilas viables**

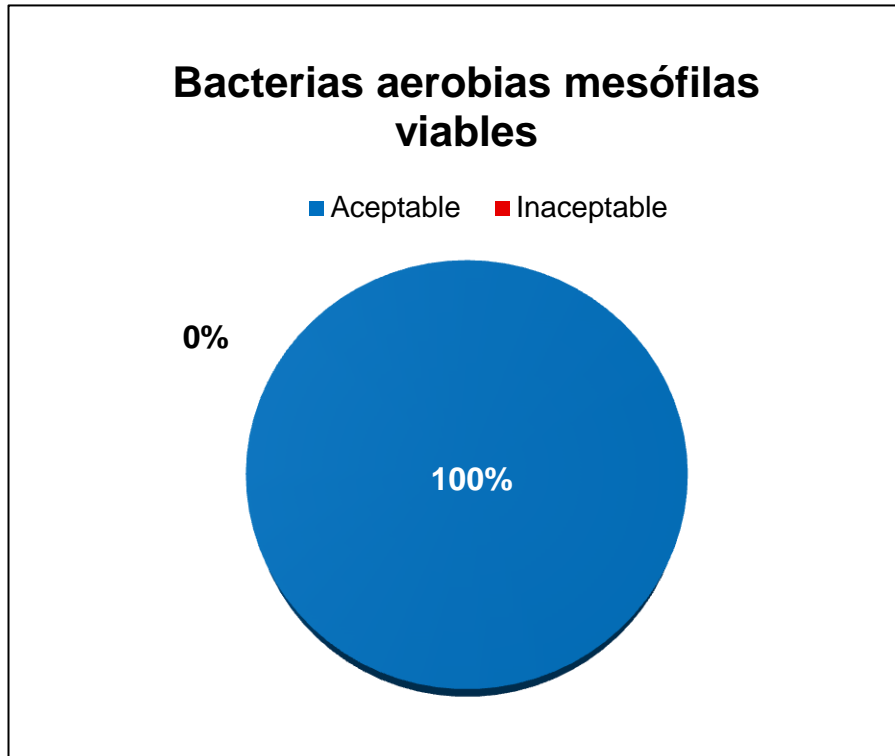
En el Cuadro 09 nos indica que de los valores obtenidos ningún alimento preparado sin tratamiento térmico de los 17 comedores, no sobrepasa los límites microbiológicos permisibles según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica ausencia/gramo de bacterias aerobias mesófilas viables en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de  $10^6$  gérmenes por gramo.

**CUADRO 09: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.**

Lugar de muestreo (comedores)	Análisis Microbiológicos		
	Tamaño de la muestra (g)	Bacterias aerobias mesófilas viables (UFC/g)	Observaciones
MA-01	25	$1,5 \times 10^5$	Aceptable
MC-02	25	$3,4 \times 10^4$	Aceptable
MD-03	25	$5,5 \times 10^4$	Aceptable
ME-04	25	$5,4 \times 10^4$	Aceptable
MJ-05	25	$3,2 \times 10^3$	Aceptable
MJ-06	25	$2,5 \times 10^2$	Aceptable
ML-07	25	$7,7 \times 10^4$	Aceptable
ML-08	25	$3,0 \times 10^4$	Aceptable
MN-09	25	$7,7 \times 10^4$	Aceptable
MN-10	25	$6,3 \times 10^4$	Aceptable
MP-11	25	$1,1 \times 10^3$	Aceptable
MP-12	25	$5,3 \times 10^4$	Aceptable
MS-13	25	$2,0 \times 10^5$	Aceptable
MS-14	25	$7,3 \times 10^3$	Aceptable
MU-15	25	$2,7 \times 10^3$	Aceptable
MV-16	25	$2,2 \times 10^3$	Aceptable
MV-17	25	$6,9 \times 10^4$	Aceptable

**Fuente:** Elaboración propia.



**Fuente:** Elaboración propia.

**GRÁFICO 01:** Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de las bacterias aerobias mesófilas viables para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.

## **Coliformes totales**

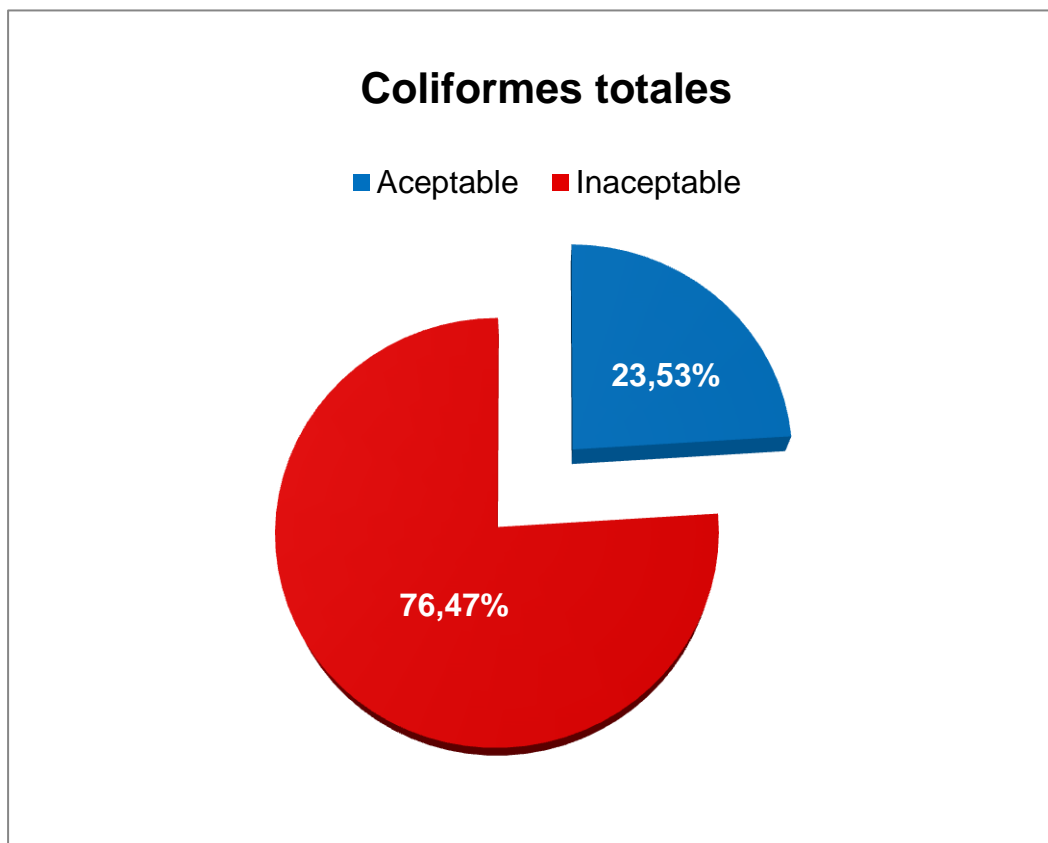
En el Cuadro 10 nos indica que de los 17 comedores analizados, 13 comedores (MA-01, MC-02, MD-03, ME-04, MJ-06, ML-07, ML-08, MN-09, MN10, MP-12, MS-13, MS-14 y MV-17) sobrepasan los límites microbiológicos permisibles según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/gramo de coliformes totales en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de  $10^3$  gérmenes por gramo.

**CUADRO 10: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de coliformes totales de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.**

Lugar de muestreo (comedores)	Análisis Microbiológicos		
	Tamaño de la muestra (g)	Coliformes totales (UFC/g)	Observaciones
MA-01	25	$2,1 \times 10^4$	Inaceptable
MC-02	25	$8,7 \times 10^3$	Inaceptable
MD-03	25	$4,7 \times 10^4$	Inaceptable
ME-04	25	$9,8 \times 10^3$	Inaceptable
MJ-05	25	$6,9 \times 10^2$	Aceptable
MJ-06	25	$1,2 \times 10^3$	Inaceptable
ML-07	25	$7,4 \times 10^3$	Inaceptable
ML-08	25	$8,9 \times 10^3$	Inaceptable
MN-09	25	$1,9 \times 10^4$	Inaceptable
MN-10	25	$8,2 \times 10^3$	Inaceptable
MP-11	25	$7,3 \times 10^2$	Aceptable
MP-12	25	$2,0 \times 10^3$	Inaceptable
MS-13	25	$4,2 \times 10^4$	Inaceptable
MS-14	25	$3,6 \times 10^3$	Inaceptable
MU-15	25	$5,0 \times 10^1$	Aceptable
MV-16	25	$1,4 \times 10^2$	Aceptable
MV-17	25	$1,7 \times 10^3$	Inaceptable

**Fuente:** Elaboración propia.



**Fuente:** Elaboración propia.

**GRÁFICO 02:** Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de los coliformes totales para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.

### ***Escherichia coli***

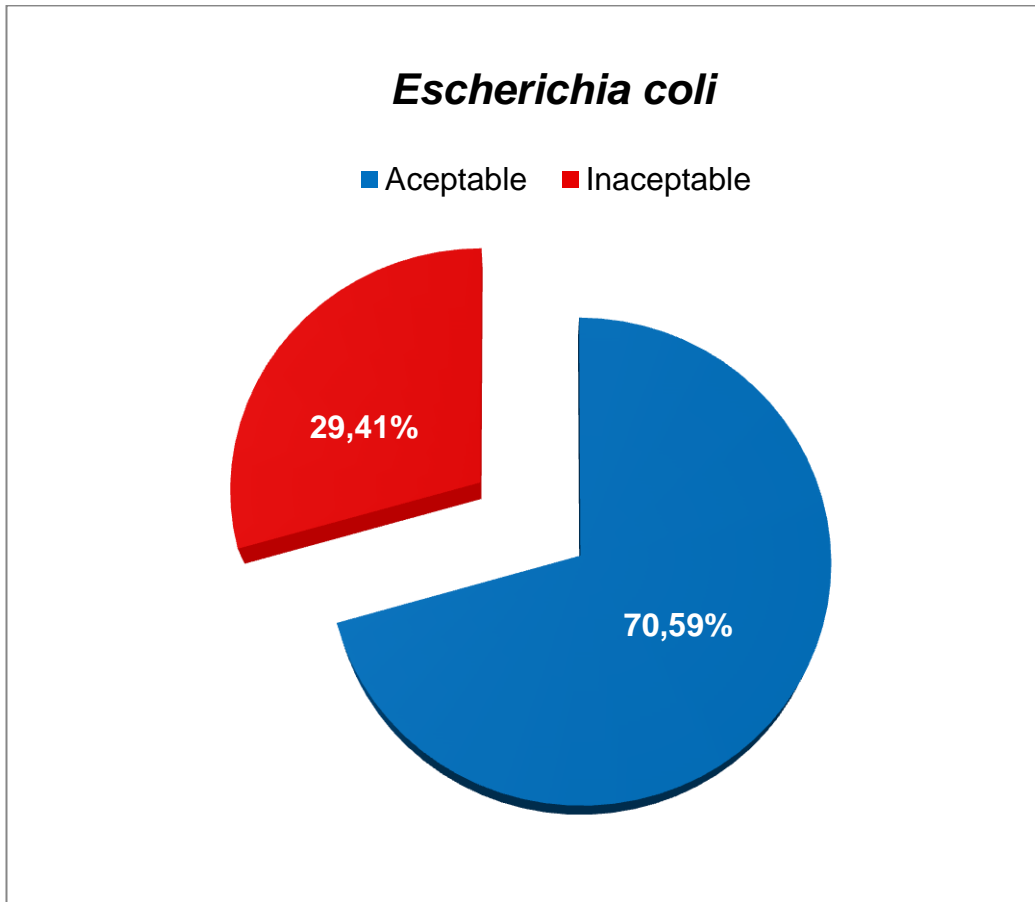
En el Cuadro 11 nos indica que de los 17 comedores analizados, 5 comedores (MA-01, MD-03, ML-07, MN-09 y MP-12) sobrepasan los límites microbiológicos permisibles según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/gramo de *Escherichia coli* en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de  $10^2$  gérmenes por gramo.

**CUADRO 11: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de *Escherichia coli* de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.**

Lugar de muestreo (comedores)	Análisis Microbiológicos		
	Tamaño de la muestra (g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	Observaciones
MA-01	25	$1,8 \times 10^2$	Inaceptable
MC-02	25	0	Aceptable
MD-03	25	$2,0 \times 10^2$	Inaceptable
ME-04	25	0	Aceptable
MJ-05	25	0	Aceptable
MJ-06	25	0	Aceptable
ML-07	25	$8,0 \times 10^2$	Inaceptable
ML-08	25	0	Aceptable
MN-09	25	$1,4 \times 10^3$	Inaceptable
MN-10	25	$2,5 \times 10^1$	Aceptable
MP-11	25	0	Aceptable
MP-12	25	$1,4 \times 10^3$	Inaceptable
MS-13	25	0	Aceptable
MS-14	25	0	Aceptable
MU-15	25	0	Aceptable
MV-16	25	$2,5 \times 10^1$	Aceptable
MV-17	25	0	Aceptable

**Fuente:** Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

**GRÁFICO 03: Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de *Escherichia coli* para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.**

### ***Staphylococcus aureus***

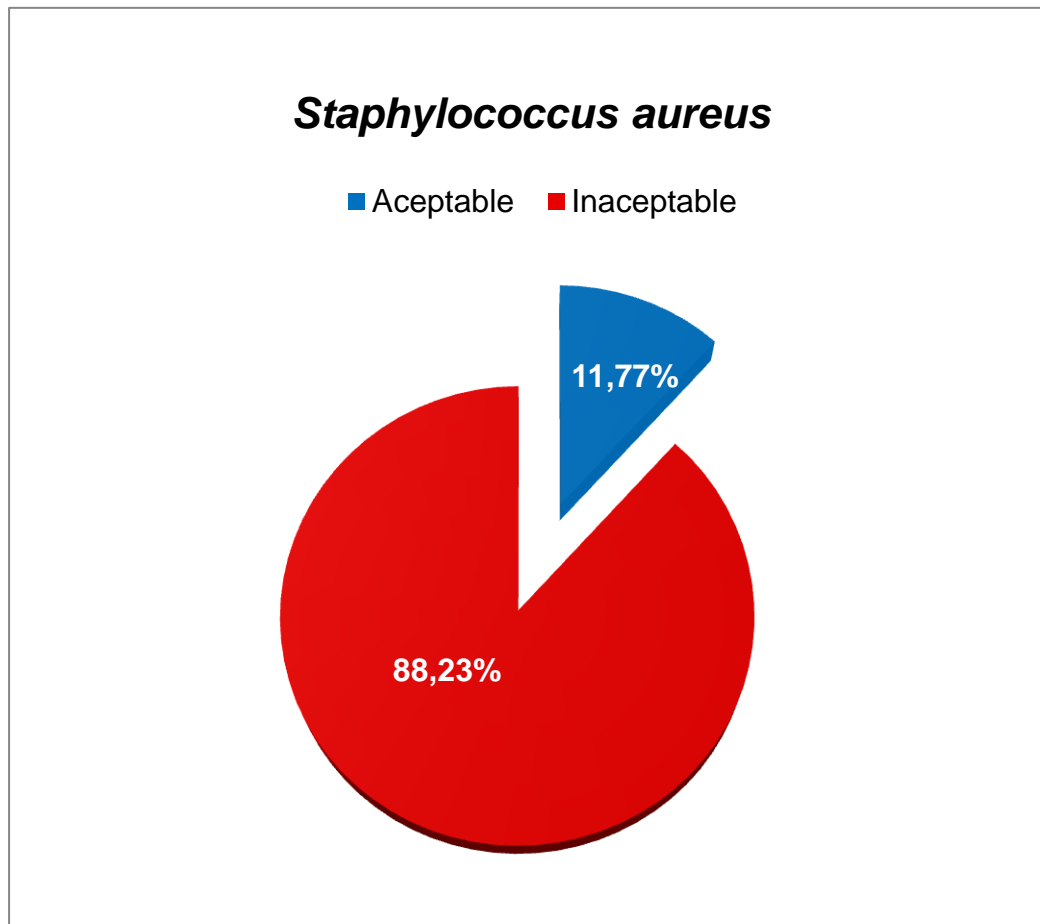
En el Cuadro 12 nos indica que de los 17 comedores analizados, 15 comedores (MA-01, MC-02, MD-03, MJ-05, MJ-06, ML-07, ML-08, MN-09, MN10, MP-11, MP-12, MS-14, MV-15, MV-16 y MV-17) sobrepasan los límites microbiológicos permisibles según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/gramo de *Staphylococcus aureus* en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de  $10^2$  gérmenes por gramo.

**CUADRO 12: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de *Staphylococcus aureus* de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.**

Lugar de muestreo (comedores)	Análisis Microbiológicos		
	Tamaño de la muestra (g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Observaciones
MA-01	25	$3,3 \times 10^4$	Inaceptable
MC-02	25	$3,2 \times 10^3$	Inaceptable
MD-03	25	$3,0 \times 10^3$	Inaceptable
ME-04	25	$8,8 \times 10^1$	Aceptable
MJ-05	25	$8,9 \times 10^2$	Inaceptable
MJ-06	25	$3,1 \times 10^2$	Inaceptable
ML-07	25	$5,0 \times 10^4$	Inaceptable
ML-08	25	$7,7 \times 10^4$	Inaceptable
MN-09	25	$3,9 \times 10^4$	Inaceptable
MN-10	25	$4,2 \times 10^4$	Inaceptable
MP-11	25	$1,1 \times 10^3$	Inaceptable
MP-12	25	$5,1 \times 10^3$	Inaceptable
MS-13	25	$5,0 \times 10^1$	Aceptable
MS-14	25	$4,4 \times 10^2$	Inaceptable
MU-15	25	$2,0 \times 10^2$	Inaceptable
MV-16	25	$5,4 \times 10^2$	Inaceptable
MV-17	25	$2,4 \times 10^3$	Inaceptable

Fuente: Elaboración propia.



**Fuente:** Elaboración propia.

**GRÁFICO 04:** Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus* para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.

### ***Salmonella sp***

En el Cuadro 13 nos indica que de los 17 comedores analizados (con 2 repeticiones), siendo un total de 34 muestras analizadas, solo en 1 muestra de rocoto en crema se encontró que el 2,94% de esta muestra reporta la presencia de *Salmonella sp* del comedor de Nazarenos de los Milagros (MN-09), sobrepasan los límites microbiológicos permisibles según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/25gramos de *Salmonella sp.*, en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de cero gérmenes por gramo.

**CUADRO 13: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de *Salmonella sp* de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.**

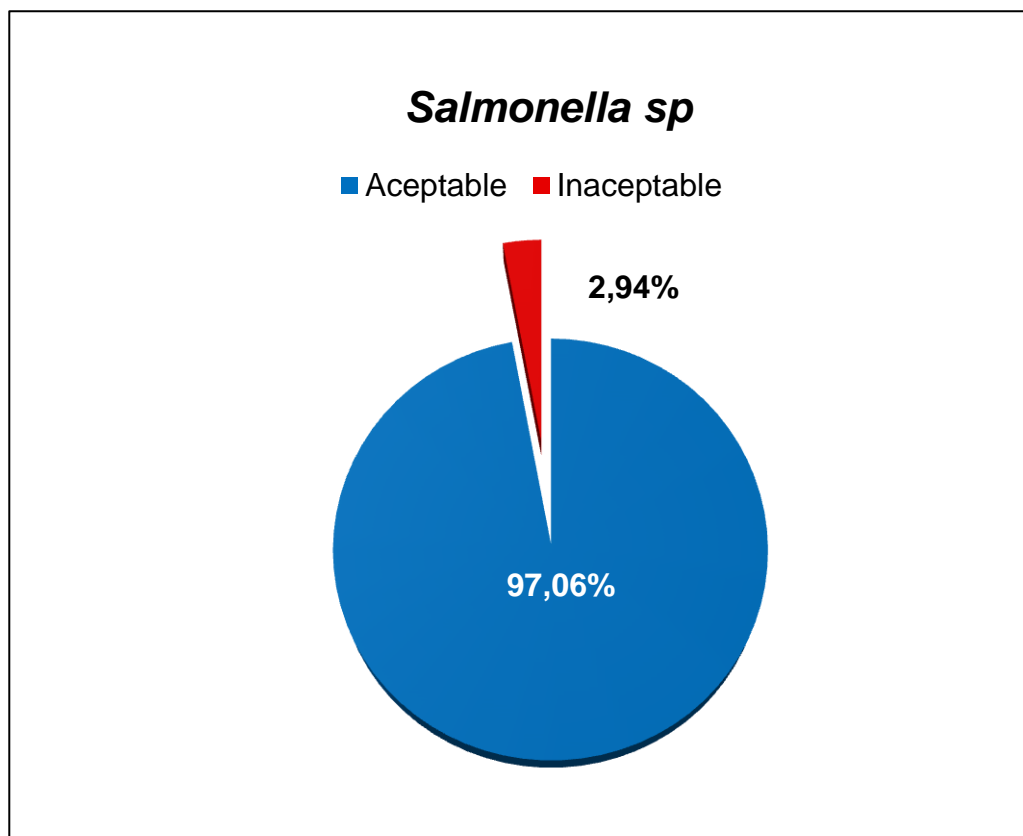
Lugar de muestreo (comedores)	Análisis Microbiológicos		
	Cantidad de muestras analizadas	Tamaño de la muestra (g)	Investigación de <i>Salmonella sp.</i>
MA-01	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MC-02	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MD-03	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
ME-04	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MJ-05	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MJ-06	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
ML-07	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
ML-08	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MN-09	1	25	Presencia
	2	25	Ausencia

**Fuente:** Elaboración propia.

**Continuación... CUADRO 13: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de *Salmonella sp* de muestras de alimentos preparados sin tratamiento térmico.**

Lugar de muestreo (comedores)	Análisis Microbiológicos		
	Cantidad de muestras analizadas	Tamaño de la muestra (g)	Investigación de <i>Salmonella sp.</i>
MN-10	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MP-11	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MP-12	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MS-13	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MS-14	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MU-15	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MV-16	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia
MV-17	1	25	Ausencia
	2	25	Ausencia

**Fuente:** Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

**GRÁFICO 05:** Resultados en porcentajes del análisis microbiológico de *Salmonella sp.*, para los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores.

#### **IV. DISCUSIÓN**

Los alimentos preparados sin tratamiento térmico han sido descritos como fuente de contaminación por causa de diversas bacterias patógenas, por lo tanto, la determinación de estas bacterias es esencial para la evaluación de patologías provocadas por una posible infección y su especial importancia desde el punto de vista de la salud pública hacia los comensales.

Si bien los alimentos son indispensables para mantener la vida, también son responsables de enfermedades. Estas ETA's son originadas por ingestión de alimentos contaminados por microorganismos, provocando síntomas como son las náuseas, vómitos, diarrea y postración. En casos graves es posible que pueda causar la muerte.

La correcta higiene de los alimentos tiene que estar presente en todas las etapas de su preparación, para garantizar la seguridad y salubridad de estos alimentos para los comensales. Existen muchos factores durante su preparación, manipulación y suministro al consumidor que pueden afectar seriamente a la salud, por ello, es preciso conocer las condiciones de estructura, equipos electrodomésticos, utensilios, limpieza, elaboración y conservación de los alimentos en los comedores.

CÁCEDA, C. y CHOQUE, Á. (2002) realizaron la evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos elaborados en 37 comedores populares del mercado de la ciudad de Tacna, donde reportaron que en el 21,6% de los análisis microbiológicos para muestras de ensaladas se aislaron *Salmonella sp* y el 10,8% de las muestras se aislaron a *S. aureus*; en el 13,5% y 40,5% encontraron coliformes totales y coliformes fecales, respectivamente, no cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos para este alimento. En el análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas viables ninguna de las muestras de ensaladas sobrepasaron los límites permisibles para este alimento. Estos resultados son similares a este presente trabajo, teniéndose en cuenta que existen muchos factores que condicionan los resultados, en el caso de *Salmonella*, se sabe que entre los principales factores o prácticas que posibilitan la contaminación con este agente se puede mencionar a una contaminación cruzada por el empleo de superficies o tablas de picar mal lavadas donde antes se trozó un ave, o carne cruda, y que luego serán empleadas para las ensaladas posibilitando lo que se conoce como una contaminación cruzada. Por otro lado cabe la posibilidad de que el ingreso de esta bacteria sea por personas portadoras, ya que la mayoría del personal manipulador de alimentos no contaba con un registro médico que garantice lo contrario. Es importante mencionar que estos alimentos son potencialmente peligrosos para la salud de los consumidores ya que en

una población de coliformes fecales es posible que contenga una alta población de *E. coli* o sus variantes. Al reportarse *S. aureus*, indicador más positivo de la higiene del personal que manipula los alimentos al prepararlos, como consecuencia de infecciones respiratorias, lesiones supuradas, heridas, etc.

DIGESA (2006) realizó la evaluación microbiológica de alimentos en muestras de ensaladas, procedentes del restaurante correspondiente al “Programa Restaurante Saludable”, en el laboratorio de Control Ambiental de la DIGESA en la ciudad de Tacna, entre los meses de mayo a setiembre del 2006, donde reportaron que en las muestras de ensaladas se obtuvo el 2,9% de *S. aureus*, el 51,4% de coliformes totales, el 8,6% de *E. coli* y el 40% de bacterias aerobias mesófilas viables, no cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos para este alimento y en la investigación de *Salmonella sp*, en todas las muestras de ensaladas se declaró ausente. Asimismo obtuvieron valores por encima de lo establecido para las ensaladas cuando realizaron el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables. Este análisis podría permitir conocer la calidad higiénica de estas ensaladas, así como la vida útil que pueda tener la misma y la alteración incipiente de las ensaladas que posiblemente fueron retiradas de la refrigeradora desde tempranas horas, hasta el mediodía, manteniéndolas toda un mañana expuestas a varios factores que

condicionan una mala manipulación e higiene del alimento, ya que lo adecuado es retirarlas de la refrigeradora cuando la preparación es de inmediata.

MINSA (2010) notificó la presencia de un brote de Síndrome Diarreico Agudo en la localidad de San José, departamento La Libertad el pasado 06 de noviembre del 2006, luego de haber ingerido alimentos en una pollada (pollo, ensalada de lechuga, betarraga, zanahoria, mayonesa y ají), se presentaron 17 casos de síndrome diarreico agudo, presentando sintomatología gastrointestinal. Se tomaron muestras de hisopado rectal a los pacientes. El resultado de estas muestras presentaron aislamientos positivos para *Salmonella enteritidis* en 6 pacientes. Esto nos indica que posiblemente este brote de ETA haya sido por los alimentos vinculados como el pollo, ensaladas, y la mayonesa que son los vehículos principales que permite a *Salmonella* sobrevivir o poder contaminar de modo cruzado con otros alimentos por contacto directo o pudiendo producir de manera indirecta por medio del material y utensilios de cocina.

MINSA (2012) notificaron la presencia de un brote de ETA en la localidad de Sullana, departamento de Piura el pasado 11 de setiembre del 2012, luego de haberse consumido pollo a la brasa con papa, mayonesa, ensaladas, vinagreta y ají en el restaurante "Cali Cali".

Transcurrido 6 horas del consumo de estos alimentos se presentaron manifestaciones clínicas de diarrea, cefalea, fiebre, dolor muscular y abdominal, náuseas, mareos, deshidratación. El periodo de incubación tuvo un rango de 1 a 72 horas. Se enviaron 12 muestras para coprocultivo al área de bacteriología. El resultado de estas muestras fueron 9 casos positivos para *Staphylococcus aureus* y 3 negativas. Se inspeccionaron a las instalaciones del restaurante, donde se evidenciaron prácticas inadecuadas en la manipulación, preparación, almacenamiento de los alimentos y falta de higiene en manipuladores de los alimentos, como también en las superficies inertes.

MINSA (2013) notificaron brote de ETA en los distritos de Abancay y Curahuasi, departamento de Apurímac el pasado 16 de setiembre del 2013. El programa “Qali Warma”, que ofrece desayuno escolar de nivel inicial y primario, con alimentos como la leche, trigo, cebada y pan con queso, se registraron 112 casos de intoxicación alimentaria. El grupo de edad más afectado fue de 5 a 9 años con cuadro clínico de deshidratación leve moderada. DIGESA de Apurímac, realizó seguimiento de los casos, como la inspección sanitaria a los ambientes del proveedor. No se encontró el agente causal de esta intoxicación alimentaria. Según la investigación es probable que el brote se haya originado por la inadecuada manipulación de los alimentos por parte de los encargados de la

preparación y distribución de los mismos. Esto se debe a las condiciones de distribución y almacenamiento por parte del proveedor. Luego de este incidente el Programa de Qali Warma nuevamente notificó otro caso de intoxicación alimentaria el 25 de setiembre del 2013, donde se reportó mediante un análisis microbiológico 200 coliformes que tenía cada pan con queso que Qali Warma entregó en el colegio 30012, en Huancayo. El informe demostró que se trata de una contaminación por la inadecuada manipulación de alimentos. Se reveló que la materia prima utilizada por la proveedora de los desayunos, como clavo de olor y hojuela de quinua precocida, no cumple los parámetros adecuados y estaba contaminada con bacterias en volúmenes por encima de lo permitido. Los resultados de los análisis y un informe técnico señalaron que el Ministerio debe interponer las denuncias pertinentes contra la empresa proveedora.

Al realizar el análisis microbiológicos de alimentos preparados sin tratamiento térmico que sirven a los comensales, se aislaron bacterias patógenas para el hombre, solo en 1 muestra de rocoto en crema se encontró que el 2,94% de esta muestra reporta la presencia de *Salmonella sp.*, y en el 88,23% de las muestras procesadas (ensaladas, salsa de papa a la huancaína, ají amarillo en crema, roco en crema) se aisló a *Staphylococcus aureus*, sobrepasando los valores permisibles para estos alimentos.

En cuanto a los microorganismos indicadores de higiene se determinó que en el 29,41% de las muestras analizadas se aisló y cuantificó a *Escherichia coli* y, en el 76,47% de las muestras se determinaron coliformes totales, sobrepasando, para ambos casos, los límites permisibles para estos alimentos.

Para los microorganismos indicadores de alteración: bacterias aerobias mesófilas viables, al realizar el recuento en placa, ninguna muestra sobrepasó los límites permisibles. Todos estos resultados fueron comparados con la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

En el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (Cuadro 09), que se realizaron en todos los comedores, los valores estuvieron dentro del límite permisible según la N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008. Este ensayo microbiológico es importante porque su presencia permite conocer la calidad higiénica de estos alimentos preparados sin tratamiento térmico así como la vida útil que pueda tener la misma, conocer si hay alteración incipiente del alimento o si hay fallos en el mantenimiento de las temperaturas durante los procesos de elaboración de los alimentos.

En el ensayo microbiológico para el recuento de coliformes totales (Cuadro 10), el 76,47% de las muestras analizadas (ensaladas, salsa de

papa a la huancaína, ají amarillo en crema, roco en crema) fueron inaceptables en los 13 comedores siguientes: MA-01, MC-02, MD-03, ME-04, MJ-06, ML-07, ML-08, MN-09, MN10, MP-12, MS-13, MS-14 y MV-17; sobrepasando los valores permisibles para estos alimentos. El grupo de coliformes totales nos indica en qué condiciones apropiadas de recolección, manipulación, almacenaje y transporte se encontraban los alimentos analizados. Uno de los factores por los cuales se pueden encontrar los coliformes es por una incorrecta manipulación de los alimentos o por contaminación cruzada con otros utensilios (cuchillos, tablas de picar, etc.) y/o insectos (como moscas). Cuando los valores de este grupo microbiano es elevado pueden causar posibles efectos sobre la salud y causar ETA's con síntomas de diarrea, náuseas, insuficiencia renal, etc. Los niños y ancianos con un sistema inmunológico debilitado son los más vulnerables a estas bacterias, ya que muchas de estas personas son los que frecuentemente hacen el uso de los comedores.

En el ensayo microbiológico para el recuento de *E. coli* (Cuadro 11), el 29,41% de las muestras analizadas (ensaladas, salsa de papa a la huancaína, ají amarillo en crema, roco en crema) fueron inaceptables en los 5 comedores siguientes: MA-01, MD-03, ML-07, MN-09 y MP-12; sobrepasando los valores permisibles para estos alimentos. Esta bacteria se caracteriza porque puede dar muchos cuadros clínicos en el hombre,

que van desde un simple malestar estomacal hasta provocar diarreas sanguinolentas e incluso la muerte. *E. coli* es considerada uno de los indicadores más adecuados de la contaminación fecal, los cuales se desarrollan en el intestino del hombre y de los animales homeotermos. Esto significa una contaminación con materia fecal en los alimentos analizados. Esta contaminación podría deberse a una mala higiene del personal encargado de la preparación de los alimentos en los comedores y el no cumplimiento de los requisitos sanitarios. La mala desinfección del material utilizado para servir los alimentos en los platos respectivos como la utilización de los utensilios mal lavados, podrían permitir una contaminación de coliformes de origen fecal junto con la manipulación del personal encargado. Tal como se observó en cada uno de los comedores que mostraron valores no permisibles en el recuento de *E. coli*.

En el ensayo microbiológico para el recuento de *Staphylococcus aureus* (Cuadro 12), el 88,23% de las muestras analizadas (ensaladas, salsa de papa a la huancaína, ají amarillo en crema, roco en crema) fueron inaceptables en los 15 comedores siguientes: MA-01, MC-02, MD-03, MJ-05, MJ-06, ML-07, ML-08, MN-09, MN10, MP-11, MP-12, MS-14, MV-15, MV-16 y MV-17; sobrepasando los valores permisibles para estos alimentos. Por ser *Staphylococcus* uno de los microorganismos de amplia distribución, es más fácil llegar a los alimentos, a esto sumado las

condiciones de la limpieza inadecuada y manipulación de los alimentos por las personas que trabajan en los comedores, en mención, que muestran la presencia de esta bacteria, de ahí el elevado porcentaje tal como lo registra el Cuadro 12.

Una de las intoxicaciones alimentarias que se presenta con mayor frecuencia es la originada por la ingestión de la enterotoxina de *S. aureus*, que produce gastroenteritis o inflamación de la mucosa que reviste el tracto intestinal. Las fuentes a partir de las cuales los estafilococos que producen intoxicaciones alimentarias penetran en los alimentos son casi siempre el hombre y los animales. (FRAZIER, 2003).

*S. aureus*, es una especie muy sensible a la acción del calor y a los desinfectantes, es así que su presencia en los alimentos es signo evidente de falta de higiene. (PASCUAL, 2000).

Las fosas nasales y las manos constituyen lugares comunes donde se encuentran los *Staphylococcus*. Los estafilococos son buenos indicadores de la higiene del personal que manipula los alimentos al prepararlos. Los manipuladores de alimentos pueden ser el origen de estafilococos que llegan a estos productos como consecuencia de infecciones respiratorias, lesiones supuradas (forúnculos, cortes

infectados), a partir de los orificios nasales de portadores (generalmente dedos), o por la tos, estornudos y expectoraciones. (ICMFS, 2000).

Para la investigación de *Salmonella sp.*, (Cuadro 13), el resultado positivo fue del comedor, MN-09 (Nazareno de los Milagros), el cual presentó presencia en la primera toma de muestra (rocoto en crema), siendo la especie identificada como *Salmonella paratyphi B* en el alimento; por el cual el 2,94% de esta muestra reporta la presencia de *Salmonella sp.* La presencia de *Salmonella* en el comedor MN-09, se podría haber dado debido a la presencia de moscas (insectos vectores), las cuales estuvieron presentes en el momento de preparación de los alimentos, el servido de los platos, el empleo de superficies o tablas de picar mal lavadas en donde antes se trozó el ave o se cortó carne cruda y que luego se utiliza para rebanar carnes, verduras, que más tarde serán empleadas en ensaladas las mismas que las cuales no pasarán por un proceso de cocción, posibilitando lo que se conoce como una contaminación cruzada.

ROIG (2001) nos indica que las especies de *Salmonella* son los principales agentes infecciosos causantes de brotes de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA's), siendo huéspedes habituales del tracto gastrointestinal. Pueden ser diseminadas por el medio de las heces del suelo, agua, alimentos y piensos.

ADAMS y MOSS (2011) nos indica que ningún producto alimenticio debe de contener *Salmonella* ya que la mayoría de las salmonelas son consideradas patógenas para el hombre, produciendo muchos cuadros clínicos que van desde una enteritis a enfermedades sistémicas. Asimismo la presencia de esta bacteria puede deberse a la presencia de insectos vectores (moscas), los cuales pueden actuar como fómites para esta bacteria.

La vigilancia de estos microorganismos indicadores, en el periodo estudiado, nos ha permitido conocer el estado de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores, y la presencia de estos microorganismos, nos indican que se deben mejorar el cuidado, prevención, manipuleo y calidad del alimento. Los niveles de contaminación por estos patógenos señalan que puede existir riesgo a la salud de los consumidores, por lo mismo se sugiere realizar un control microbiológico e higiénico-sanitario, con más frecuencia en los comedores, conjuntamente con la implementación de programas de capacitaciones constantes en coordinación con el Ministerio de Salud (DIGESA) para hacer conciencia al personal manipulador de la preparación de los alimentos, por parte de las autoridades competentes.

## V. CONCLUSIONES

- Los alimentos preparados sin tratamiento térmico por los comedores del distrito Coronel Gregorio Albarracín de la ciudad de Tacna, presentan contaminación microbiana de riesgo para el consumidor.
- En el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, del total de muestras analizada (34) ninguna sobrepasó los límites permisibles establecidos en la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.
- Del total de muestras analizadas en el recuento de microorganismos indicadores de higiene, se obtuvieron que coliformes totales se encuentra en el 76,47% de las muestras evaluadas, estando estas por encima de  $1 \times 10^3$  ufc/g y en el recuento de *Escherichia coli* se obtuvo que el 29,41% de las muestras evaluadas están por encima de  $1 \times 10^2$  ufc/g, esto nos indica que sobrepasó los límites permisibles establecidos por la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.
- En el recuento de microorganismos patógenos, se encontró a *Staphylococcus aureus* en un 88,23% de las muestras evaluadas, las mismas que están por encima de  $1 \times 10^2$  ufc/g analizadas de un total

de 34 muestras y esto nos indica que sobrepasó los límites permisibles establecidos por la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

- En la investigación de *Salmonella sp.*, se obtuvo que solo 1 muestra presentó a esta bacteria patógena, siendo la especie identificada como *Salmonella paratyphi* B, concluyéndose que el 2,94% de esta muestra reporta la presencia de *Salmonella sp.*, según la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

## VI. RECOMENDACIONES

- Por el presente estudio se recomienda la evaluación permanente de la calidad microbiológica e higiénico – sanitaria, con el fin de conocer la carga microbiológica de estos alimentos y concluir si son aptas para su consumo humano.
- La Municipalidad de Tacna en coordinación con el Ministerio de Salud (DIGESA) dé charlas de capacitación para que las personas encargadas de cada comedor con sus respectivos colaboradores usen las medidas necesarias para la preparación de los alimentos como la protección individual (gorro, guantes, mandiles).
- Las personas que frecuentemente consumen alimentos preparados sin tratamiento térmico y otros alimentos relacionados, las laven cuidadosamente con abundante agua, luego las desinfecten utilizando agentes como el cloro u otras sustancias químicas comerciales destinados para este uso, antes de ser ingerirlos, para evitar brotes de enfermedades por su consumo.

- Mejorar los ambientes de los comedores, en su infraestructura, adecuar las instalaciones físicas colocando techos y pisos fáciles de limpiar y desinfectar, haciendo zonas seguras para el almacenamiento de los alimentos y evitar la contaminación cruzada.
- Es necesario realizar estudios similares a la presente tesis tomando en cuenta el análisis de cualquier tipo de alimento que se prepara en estos comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, M.R. y MOSS. (2011).** Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).
- ALUFFI, L. y M, RUMBADO. (2006).** Contaminación cruzada. Fondo Estatal de Compensación de Seguros de California. EE.UU.
- CÁCEDA, C. y CHOQUE, Á. (2002).** Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos elaborados en comedores populares del mercado de Tacna. COIN. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.
- CODEX ALIMENTARIUS. (2005).** Código de prácticas para la elaboración y expendio de alimentos en la vía pública. Norma Regional América Latina y el Caribe CAC/RPC.
- D' AOUST, J. y H, PIVNICK. (1976).** Dosis infecciosas pequeñas de Salmonella. Lancet.
- DIGESA. (2000).** Guía para la Aplicación del Sistema HACCP en Mercados de Abasto. Lima – Perú.
- DIGESA. (2006).** Resultados de análisis microbiológico de alimentos (ensaladas) de la ciudad de Tacna entre los meses de mayo a setiembre del 2006 – Programa Restaurante Saludable.

- DIGESA. (2008).** Protocolo de Análisis Microbiológico de Alimentos, Bebidas y Agua para Consumo Humano, Ministerio de Salud, Laboratorio de Salud Ambiental, 02 de julio del 2008.
- FAO. (2004).** Mejoramiento de la Calidad e Inocuidad de las frutas y hortalizas.
- FAO. (2009).** Buenas Prácticas de Higiene en la preparación y venta de los alimentos en la vía pública en América latina y el Caribe.
- FDA. (2001).** Guía para minimizar los Riesgos de Seguridad Alimentaria Microbiana para frutas frescas y verduras. EE.UU.
- FERNÁNDEZ, ESCARTÍN, E. (2000).** Microbiología e Inocuidad de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro.
- FRAZIER, W, C. y D, C. (2003).** Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).
- HERNANDEZ, R., C, FERNÁNDEZ. Y PILAR, BAPTISTA. (2010).** Metodología de la Investigación. 3ra edición. Editorial McGraw-Hill/Interamericana. Editores, S. A. México.
- I.C.M.S.F. (1980).** Ecología Microbiana de los Alimentos. Vol. 1: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).
- I.C.M.S.F. (1980).** Ecología Microbiana de los Alimentos. Vol. 2: Productos alimenticios. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

**I.C.M.S.F. (1998).** Microorganismos de los Alimentos. Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

**I.C.M.S.F. (2000).** Microorganismos de los Alimentos. Vol. 1: Su significado y métodos de enumeración. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

**JAMES M. JAY. (2000).** Microbiología Moderna de los Alimentos. 4ta edición. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

**LAURA, CH. (2001).** Manual para el control de calidad de los alimentos. Puno – Perú. Editorial Universitaria.

**LÓPEZ, NOMDEDEU, C. (2002).** Manual para Manipuladores de Alimentos Genéricos. Madrid: Cecoma

**MacFADDIN, JEAN. (2004).** Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial Médica Panamericana. 3ra edición.

**MERCK. (1994).** Manual de Medios de Cultivo. Alemania.

**MINISTERIO DE SALUD. (1981).** Normas para el establecimiento y funcionamientos de servicios de Alimentación Colectivos. Resolución Suprema N° 0019-81-SA/DVM.

**MINISTERIO DE SALUD. (1998).** Aprueban el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas. Decreto Supremo N° 007-98-SA. (Publicado el 25 de setiembre de 1998).

**MINISTERIO DE SALUD. (2005).** Aprueban Norma Sanitaria para el funcionamiento de Restaurantes y Servicios Afines. Anexo Resolución Ministerial N° 363-2005/MINSA (Publicado el 19 de mayo del 2005).

**MINISTERIO DE SALUD. (2007).** Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA (Publicado el 14 de julio del 2007).

**MINISTERIO DE SALUD. (2008).** Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano. Resolución Ministerial N° 591-2008-MINSA. (Publicado el 29 de agosto del 2008).

**MINISTERIO DE SALUD. (2010).** Boletín Epidemiológico Semanal XIX- N° 44-2010. Ministerio de Salud. Oficina general de Epidemiología. Lima-Perú.

**MINISTERIO DE SALUD. (2012).** Boletín Epidemiológico Semanal XXI- N° 36-2012. Ministerio de Salud. Oficina general de Epidemiología. Lima-Perú.

**MINISTERIO DE SALUD. (2013).** Boletín Epidemiológico Semanal XXII- N° 40-2013. Ministerio de Salud. Oficina general de Epidemiología. Lima-Perú.

**MOSSEL, D. (2006).** Microbiología de los Alimentos. 2da edición. Editorial ACRIBIA S. A.

**MURILLO VARGAS, CARLOS. (2011).** Los comedores populares en el Distrito Santiago de Surco. Tesis para optar el Título de Licenciado en Sociología, Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.

**NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008.** Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano. Perú.

**OMS/OPS, IICA, COIRSA, FAO. (2005).** Cooperación Internacional y Regional en la inocuidad de los alimentos. Conferencia, San José, 6-9 de diciembre 2005.

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2006).** Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1. 3ra edición. Ediciones de la OMS. Ginebra – Suiza.

**ORTEGA, J. y VELÉZ, A. (2013).** Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca. Tesis para optar el Título de Licenciado Bioquímica Farmacéutica, Ciudad de Ecuador.

- PASCUAL, A. M. y CALDERÓN. (2000).** Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Editorial Díaz de Santos, S. A. Madrid – España.
- RODRÍGUEZ, JEREZ. (2004).** La desinfección de frutas y hortalizas frescas.
- ROIG, S. (2001).** La carne y la seguridad alimentaria. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona – España.
- SÁNCHEZ, V. y QUISPE, J. (2001).** Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de comas Lima - Perú. Revista Scielo, v.18 n.1-2 Lima ene/jun 2001.
- SANTACRUZ, F. y ÁVALOS, C. (2009).** Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador. Tesis para optar el Título de Licenciado en Química y Farmacia, Ciudad de San Salvador. Centro América.
- TORRES, G. y HERRERA, J. (2008).** Determinación de la inocuidad microbiológica de dos marcas de ensaladas empacadas listas para consumo, comercializadas en los supermercados del área Metropolitana de San Salvador. Tesis para optar el Título de

Licenciado en Química y Farmacia, Ciudad de San Salvador. Centro América.

**3M PETRIFILM M. R.** Placas rehidratable para el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*. Método AOAC 991.14.

**3M PETRIFILM M. R.** Placas rehidratable para el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*. Método AOAC 2003.07.

#### **PÁGINAS WEB**

1. [http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits\\_es/launch.html](http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/launch.html).
2. [http://www.elcomercio.pe/peru/lima/alimentos-qali-warma-huancayo-tenian-coliformes\\_1-noticia-1643592](http://www.elcomercio.pe/peru/lima/alimentos-qali-warma-huancayo-tenian-coliformes_1-noticia-1643592)
3. [www.panaftosa.org.br/Comp/Eventos/rimsa\\_15\\_novo/doc/ESPANOL/RIMSA15\(66\)%20esp.pdf](http://www.panaftosa.org.br/Comp/Eventos/rimsa_15_novo/doc/ESPANOL/RIMSA15(66)%20esp.pdf).

## VIII. ANEXOS

**ANEXO 01: NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, para los parámetros microbiológicos.**

<b>15. COMIDAS PREPARADAS</b>						
<b>15.1 Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaina, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwiches, cebiche, postres, refrescos, otros).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus.</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----
<b>15.2 Comidas preparadas con tratamiento térmico (ensaladas cocidas, guisos, arroces, postres cocidos, arroz con leche, mazamorra, otros)</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus.</i>	6	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	< 3	-----
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----

**Fuente:** NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01

**ANEXO 02: Resolución Ministerial N° 363-2005-MINSA, del 19 de mayo del 2005. “Norma Sanitaria para el funcionamiento de restaurantes y servicios afines”.**

**Anexo 2  
Criterios Microbiológicos para  
Alimentos Preparados**

Los resultados se expresarán de acuerdo al método de análisis empleado (ufc/g, ufc/ml, NMP/g, NMP/ml) y a la cantidad de muestra analizada.

Comidas preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaína, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ej.: ensaladas mixtas, palta rellena, sandwichs, ceviche, postres, refrescos, otros)						
Agente Microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g/ml	
					M	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp</i> en 25 g	10	2	5	0	0	—

Comidas preparadas con tratamiento térmico (ensaladas cocidas, guisos, arroces, asados, postres cocidos -arroz con leche, mazamorra-, otros).						
Agente Microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g/ml	
					M	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	< 3	—
<i>Salmonella sp</i> en 25 g	10	2	5	0	0	—

**Fuente:** Norma Sanitaria para el funcionamiento de restaurantes y servicios afines.

**ANEXO 03: Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de *Escherichia coli* y Coliformes totales.**

**3M**  
**Petrifilm™**  
*E. coli* / Coliform Count Plate

6404/6414/6444

**Quality Assurance Certification**

At the time of manufacture, this lot of 3M™ Petrifilm™ Plates met the specifications set forth expressly on 3M's then-current "Product Information" sheet, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133.

3M Food Safety is certified to ISO-9001.

*Marta Henrickson*  
Marta Henrickson  
Quality Assurance

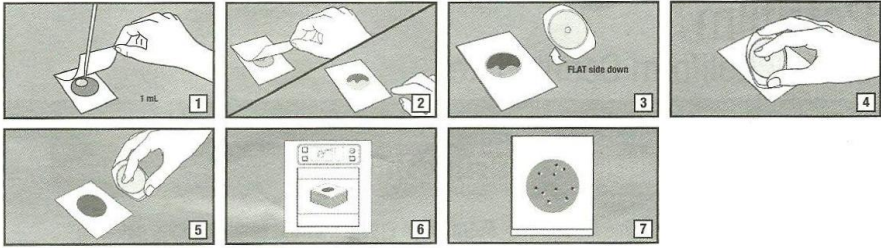
**2015-02 KD**


LOT 

**3M Health Care**  
2510 Conway Ave  
St. Paul, MN 55144 USA  
www.3M.com/foodsafety

© 2012, 3M. All rights reserved.  
3M and Petrifilm are trademarks of 3M.  
Used under license in Canada.  
34-8710-3155-4

**3M™ Petrifilm™ *E. coli* / Coliform Count Plate**  
**Quick Reference Guide**



 Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at [www.3M.com/foodsafety](http://www.3M.com/foodsafety), or contact your local 3M representative or distributor for more information.

**Disclaimer:** 3M disclaims all express and implied warranties including warranties of merchantability or fitness for a particular use. If product is defective, the exclusive remedy is, at 3M's option, replacement, repair or refund. Except where prohibited by law, 3M will not be liable for any further loss or damage arising from use of this product.

**Fuente:** 3M placas de Petrifilm™.

**ANEXO 04: Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de *Staphylococcus aureus* en alimentos procesados preparados.**

**3M**  
**Petrifilm™**  
**Staph Express Count Plate**

6446/6490/6491

**Quality Assurance Certification**

At the time of manufacture, this lot of 3M™ Petrifilm™ Plates met the specifications set forth expressly on 3M's then-current "Product Information" sheet, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133.

3M Food Safety is certified to ISO-9001.

*Marta Henrickson*  
 Marta Henrickson  
 Quality Assurance

**2014-12 KD**

LOT 3M Health Care  
 2510 Conway Ave  
 St. Paul, MN 55144 USA  
 www.3M.com/foodsafety

© 2013, 3M. All rights reserved.  
 3M and Petrifilm are trademarks of 3M.  
 Used under license in Canada.  
 34-8710-3290-9

**3M™ Petrifilm™ Staph Express Count System (Disk sold separately)**  
**Quick Reference Guide**

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at [www.3M.com/foodsafety](http://www.3M.com/foodsafety), or contact your local 3M representative or distributor for more information.

**Disclaimer:** 3M disclaims all express and implied warranties including warranties of merchantability or fitness for a particular use. If product is defective, the exclusive remedy is, at 3M's option, replacement, repair or refund. Except where prohibited by law, 3M will not be liable for any further loss or damage arising from use of this product.

**Fuente:** 3M placas de Petrifilm™.

**ANEXO 05: Resultados de los Análisis Microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas viables de cada Comedor (con 2 repeticiones).**

Código	Muestras	Numeración de Bacterias aerobias mesófilas viables	
		Método:	Límite de cuantificación:
		Recuento Estándar en Placa. ICMSF, 2000.	< 10 UFC sólido, < 1 UFC líquidos
		Medio:	Incubación: 48 horas por 35 °C
		Agar Plate Count.	Recuento: (X)(1/d)
		Volumen del inóculo: 1 mL	(X): Promedio de los recuentos
N° de colonias / dilución (d)	(d): Dilución en la que se realizó el recuento		
ufc / mL o gr	Promedio Final: ufc / mL o gr		
MA-01	1	2,3755x10 <sup>5</sup> ufc/g	1,504x10 <sup>5</sup> ufc/g
	2	6,325x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MC-02	1	2,625x10 <sup>4</sup> ufc/g	3,3625x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	4,1x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MD-03	1	5,6375x10 <sup>4</sup> ufc/g	5,5488x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	5,46x10 <sup>4</sup> ufc/g	
ME-04	1	5,93x10 <sup>4</sup> ufc/g	5,415x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	4,9x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MJ-05	1	6,75 x10 <sup>2</sup> ufc/g	3,225x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	5,775 x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MJ-06	1	5 x10 <sup>2</sup> ufc/gr	2,5x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	0	
ML-07	1	1,1305x10 <sup>5</sup> ufc/g	7,7025x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	4,1x10 <sup>4</sup> ufc/g	
ML-08	1	5,8925x10 <sup>4</sup> ufc/g	3,0075x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,225x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MN-09	1	1,1x10 <sup>5</sup> ufc/g	7,65x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	4,3x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MN-10	1	0	6,335x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,267x10 <sup>5</sup> ufc/g	
MP-11	1	1,75 x10 <sup>3</sup> ufc/g	1,125x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	5 x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MP-12	1	1,0505x10 <sup>5</sup> ufc/g	5,31x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,15x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MS-13	1	2,3825x10 <sup>5</sup> ufc/g	2,0375x10 <sup>5</sup> ufc/g
	2	1,6925x10 <sup>5</sup> ufc/g	
MS-14	1	9,825x10 <sup>3</sup> ufc/g	7,263x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	4,7x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MU-15	1	2,425x10 <sup>3</sup> ufc/g	2,688x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	2,95x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MV-16	1	2,15x10 <sup>3</sup> ufc/g	2,15x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	2,15x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MV-17	1	1,372x10 <sup>5</sup> ufc/g	6,905x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	9x10 <sup>2</sup> ufc/g	

Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 06: Resultados de los Análisis Microbiológicos de coliformes  
totales de cada comedor (con 2 repeticiones).**

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Coliformes / E. coli</i>	
		Método: AOAC 991.14.	
		Incubación para coliformes: 24 horas por 35 °C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		N° de colonias / dilución (d)	Promedio Final: ufc / mL o gr
MA-01	1	3,61x10 <sup>4</sup> ufc/g	2,1088x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	6,075x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MC-02	1	6,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	8,725x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	1,68x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MD-03	1	7,65x10 <sup>4</sup> ufc/g	4,7263x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,8025x10 <sup>4</sup> ufc/g	
ME-04	1	1,945x10 <sup>4</sup> ufc/g	9,775x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	1x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MJ-05	1	1,1x10 <sup>3</sup> ufc/g	6,88x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	2,75x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MJ-06	1	2,425x10 <sup>3</sup> ufc/g	1,213x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	0	
ML-07	1	7,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	7,375x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	1,4x10 <sup>4</sup> ufc/g	
ML-08	1	1,73x10 <sup>4</sup> ufc/g	8,875x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	4,5 x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MN-09	1	3,605x10 <sup>4</sup> ufc/g	1,9463x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	2,875x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MN-10	1	1,625x10 <sup>4</sup> ufc/g	8,15x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	5x10 ufc/g	
MP-11	1	1,45x10 <sup>3</sup> ufc/g	7,25x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	0	
MP-12	1	3,225 x10 <sup>3</sup> ufc/g	2,025x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	8,25 x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MS-13	1	8,35x10 <sup>4</sup> ufc/g	4,1825x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MS-14	1	6,825x10 <sup>3</sup> ufc/g	3,588x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	3,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MU-15	1	0	5x10 <sup>1</sup> ufc/g
	2	1,0x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MV-16	1	5,0x10 <sup>1</sup> ufc/g	1,38x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	2,25x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MV-17	1	2,325x10 <sup>3</sup> ufc/g	1,713x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	1,1x10 <sup>3</sup> ufc/g	

Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 07: Resultados de los Análisis Microbiológicos para  
*Escherichia coli* de cada comedor (con 2 repeticiones).**

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Coliformes / E. coli</i>	
		Método: AOAC 991.14.	
		Incubación para <i>E. coli</i> : 48 horas por 35 °C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		N° de colonias / dilución (d)	Promedio Final: ufc / mL o gr
		ufc / mL o gr	
MA-01	1	0	1,75x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	3,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MC-02	1	0	0
	2	0	
MD-03	1	0	2,0x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	4,0x10 <sup>2</sup> ufc/g	
ME-04	1	0	0
	2	0	
MJ-05	1	0	0
	2	0	
MJ-06	1	0	0
	2	0	
ML-07	1	0	8,0x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	1,6x10 <sup>3</sup> ufc/g	
ML-08	1	0	0
	2	0	
MN-09	1	0	1,35x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	2,7 x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MN-10	1	5,0x10 <sup>1</sup> ufc/g	2,5x10 <sup>1</sup> ufc/g
	2	0	
MP-11	1	0	0
	2	0	
MP-12	1	2,875 x10 <sup>3</sup> ufc/g	1,438x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	0	
MS-13	1	0	0
	2	0	
MS-14	1	0	0
	2	0	
MU-15	1	0	0
	2	0	
MV-16	1	5,0x10 <sup>1</sup> ufc/g	2,5x10 <sup>1</sup> ufc/g
	2	0	
MV-17	1	0	0
	2	0	

Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 08: Resultados de los Análisis Microbiológicos para *Staphylococcus aureus* de cada comedor (con 2 repeticiones).**

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> .	
		Método: AOAC 2003.07.	
		Incubación: 24 horas por 35 °C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		N° de colonias / dilución (d)	Promedio Final ufc / mL o gr
MA-01	1	6,3725x10 <sup>4</sup> ufc/g	3,2638x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,55x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MC-02	1	1,4x10 <sup>3</sup> ufc/g	3,175x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	4,95x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MD-03	1	5,55x10 <sup>3</sup> ufc/g	2,988x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	4,25x10 <sup>2</sup> ufc/g	
ME-04	1	5 x10 ufc/g	8,8x10 <sup>1</sup> ufc/g
	2	1,25x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MJ-05	1	5 x10 ufc/g	8,88x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	1,725x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MJ-06	1	3,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	3,13x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	2,75x10 <sup>2</sup> ufc/g	
ML-07	1	9,775x10 <sup>4</sup> ufc/g	4,9513x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,275x10 <sup>3</sup> ufc/g	
ML-08	1	5,775x10 <sup>4</sup> ufc/g	7,7375x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	9,7x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MN-09	1	5,8325x10 <sup>4</sup> ufc/g	3,8538x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	1,875x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MN-10	1	5,7x10 <sup>3</sup> ufc/g	4,1888x10 <sup>4</sup> ufc/g
	2	7,8075x10 <sup>4</sup> ufc/g	
MP-11	1	2x10 <sup>2</sup> ufc/g	1,1x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	2x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MP-12	1	9,2x10 <sup>3</sup> ufc/g	5,113x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	1,025x10 <sup>3</sup> ufc/g	
MS-13	1	5 x10 <sup>1</sup> ufc/g	5x10 <sup>1</sup> ufc/g
	2	5 x10 <sup>1</sup> ufc/g	
MS-14	1	1,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	4,38x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	7,25x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MU-15	1	5 x10 <sup>1</sup> ufc/g	2x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	3,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MV-16	1	5,25x10 <sup>2</sup> ufc/g	5,38x10 <sup>2</sup> ufc/g
	2	5,5x10 <sup>2</sup> ufc/g	
MV-17	1	4,525x10 <sup>3</sup> ufc/g	2,375x10 <sup>3</sup> ufc/g
	2	2,25x10 <sup>2</sup> ufc/g	

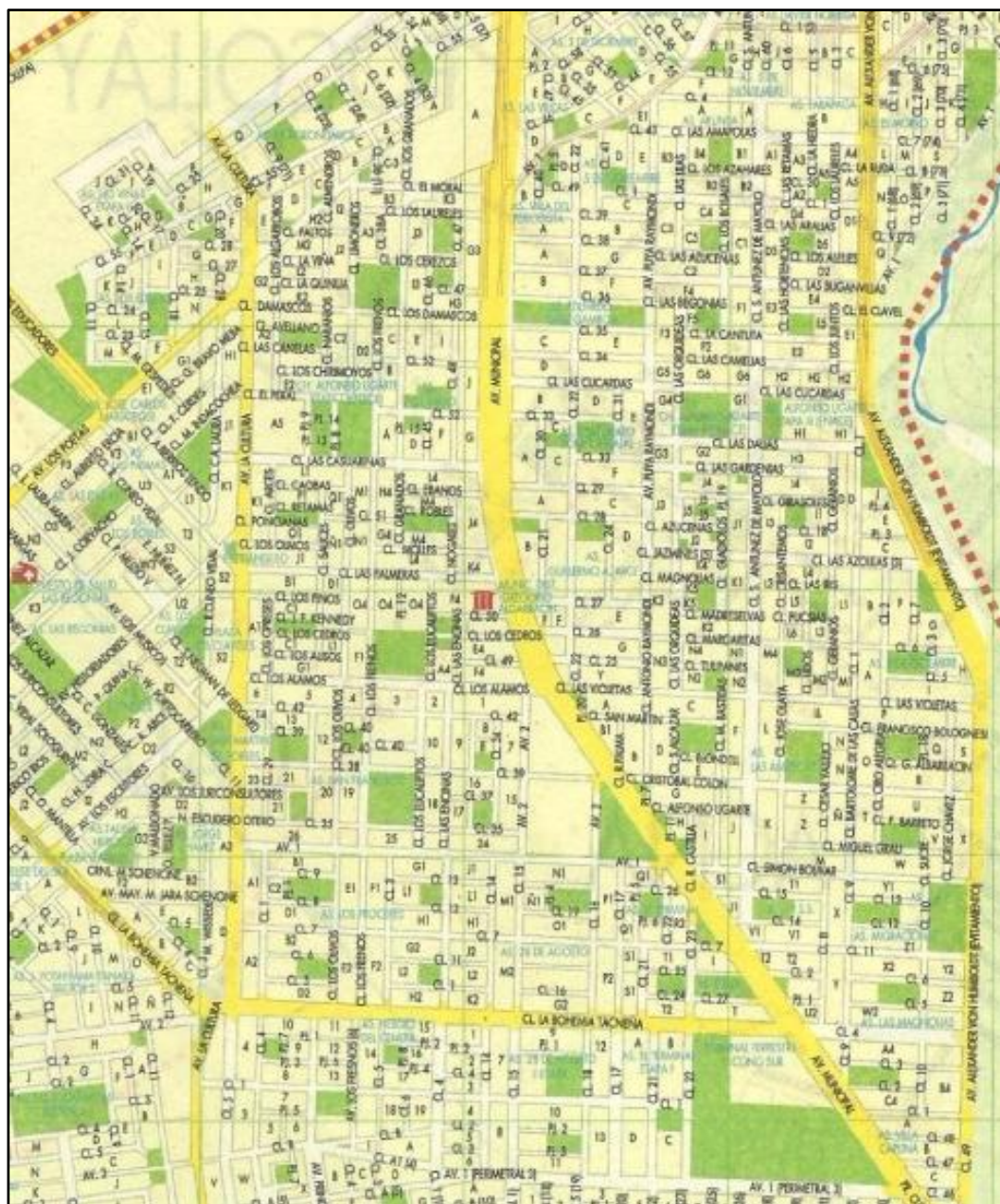
Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 09: Resultados de los Análisis Microbiológicos para *Salmonella sp.*, de cada comedor (con 2 repeticiones).**

Código	Muestras	Análisis de <i>Salmonella sp</i>								
		Método: Detección, Presencia (P) / Ausencia (A), ISO 6579:2002								
		Pre – Enriquecimiento (APT)	Enriquecimiento (Tetracionato)	Aislamiento (Agar SS)	Medio de cultivo para la diferenciación (Caldo urea)	Pruebas Bioquímicas <i>Salmonella sp</i> / 25 gr o mL				Microorganismo
TSI	LIA					CITRATO	SIM (Prueba del Indol)			
MA-01	1	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MC-02	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MD-03	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
ME-04	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MJ-05	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MJ-06	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	X	-	-	-	-	-	Ausencia
ML-07	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
ML-08	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
MN-09	1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	Presencia
	2	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
MN-10	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
MP-11	1	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MP-12	1	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MS-13	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
MS-14	1	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
	2	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
MU-15	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MV-16	1	✓	✓	✓	X	-	-	-	-	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
MV-17	1	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia
	2	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	Ausencia

Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 10: Plano de la División Política del Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.**



Fuente: Páginas Amarillas 2013-2014.

**ANEXO 11: Ubicación de los 17 comedores distribuidos en el Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.**

<b>Comedores – Distrito Coronel Gregorio Albarracín</b>		
<b>Código</b>	<b>Lugar de Muestreo - Comedor</b>	<b>Dirección del Comedor</b>
MA-01	Arriba Perú	ASOC. Primero de mayo Mza. A 1 Lote 03
MC-02	Corazón de Vicky	JV. 8 De Diciembre Mza. G Lote 13
MD-03	Décimo Mandamiento	ASOC. Villa los Próceres Mza. 60 Lote 15
ME-04	El Morro	ASOC. El Morro Mza. M S/N
MJ-05	Jesús Divina Misericordia	C. H. Alfonso Ugarte I Etapa Mza. M 3 Lote 02
MJ-06	José Carlos Mariátegui	ASOC. José Carlos Mariátegui Mza. 33 Lote 23
ML-07	Las Dorcas	C. H. Alfonso Ugarte III Etapa Mza. H 2 Lote 23
ML-08	Los Claveles	JV. Las Américas Mza. N Lote 09
MN-09	Nazareno de los Milagros	C. H. Alfonso Ugarte I Etapa Mza. B 1 Lote 42
MN-10	Nuestra Señora de Alta Gracia	C. H. Alfonso Ugarte I Etapa Mza. G 2 Lote 32
MP-11	Pan de vida	ASOC. Héroes del Cenepa Mza. C Lote 20 - B
MP-12	Patrona de las Américas	JV. Las Américas Mza. B Lote 21
MS-13	San Francisco de Asis	ASOC. San Francisco de Asis Mza. 17 Lote 09
MS-14	Santa Fe	Guillermo Auza Arce Mza. B Lote 13
MU-15	Unidos por la paz	ASOC. 28 de agosto I Etapa Mza. 12 Lote 07 – A
MV-16	Virgen de Pallagua	ASOC. 28 de agosto II Etapa Mza. G Lote 30
MV-17	Virgen del Pilar	ASOC. Las Palmas Mza. L Salón Comunal

**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 12:** Tipo de muestras por comedor.

<b>Código del Lugar de Muestreo (Comedor)</b>	<b>N° de muestreos</b>	<b>Tipo de Muestras</b>
MA-01	1	Rocoto en crema
	2	Ensalada de lechuga y cebolla
MC-02	1	Ensalada de pepinillo y tomate
	2	Papa a la huancaína
MD-03	1	Ají amarillo en crema
	2	Ensalada de cebolla y tomate
ME-04	1	Ensalada de lechuga y tomate
	2	Ensalada de lechuga y tomate
MJ-05	1	Ensalada de lechuga
	2	Ensalada de lechuga y tomate
MJ-06	1	Ensalada de cebolla y tomate
	2	Ensalada de pepinillo y tomate
ML-07	1	Rocoto en crema
	2	Rocoto en crema
ML-08	1	Ají amarillo en crema
	2	Ensalada de cebolla, tomate y atún
MN-09	1	Rocoto en crema
	2	Ensalada de lechuga
MN-10	1	Ensalada de lechuga, tomate y zanahoria
	2	Papa a la huancaína
MP-11	1	Ensalada de cebolla y tomate
	2	Rocoto picado
MP-12	1	Ensalada de lechuga y tomate
	2	Ensalada de lechuga
MS-13	1	Ensalada de lechuga y tomate
	2	Ensalada de lechuga y tomate
MS-14	1	Ensalada de lechuga, tomate y cebolla
	2	Ensalada de cebolla y tomate
MU-15	1	Ensalada de lechuga y tomate
	2	Ensalada de cebolla y tomate
MV-16	1	Ensalada de lechuga y tomate
	2	Ensalada de pepinillo y tomate
MV-17	1	Ensalada de lechuga y tomate
	2	Ensalada de lechuga y tomate

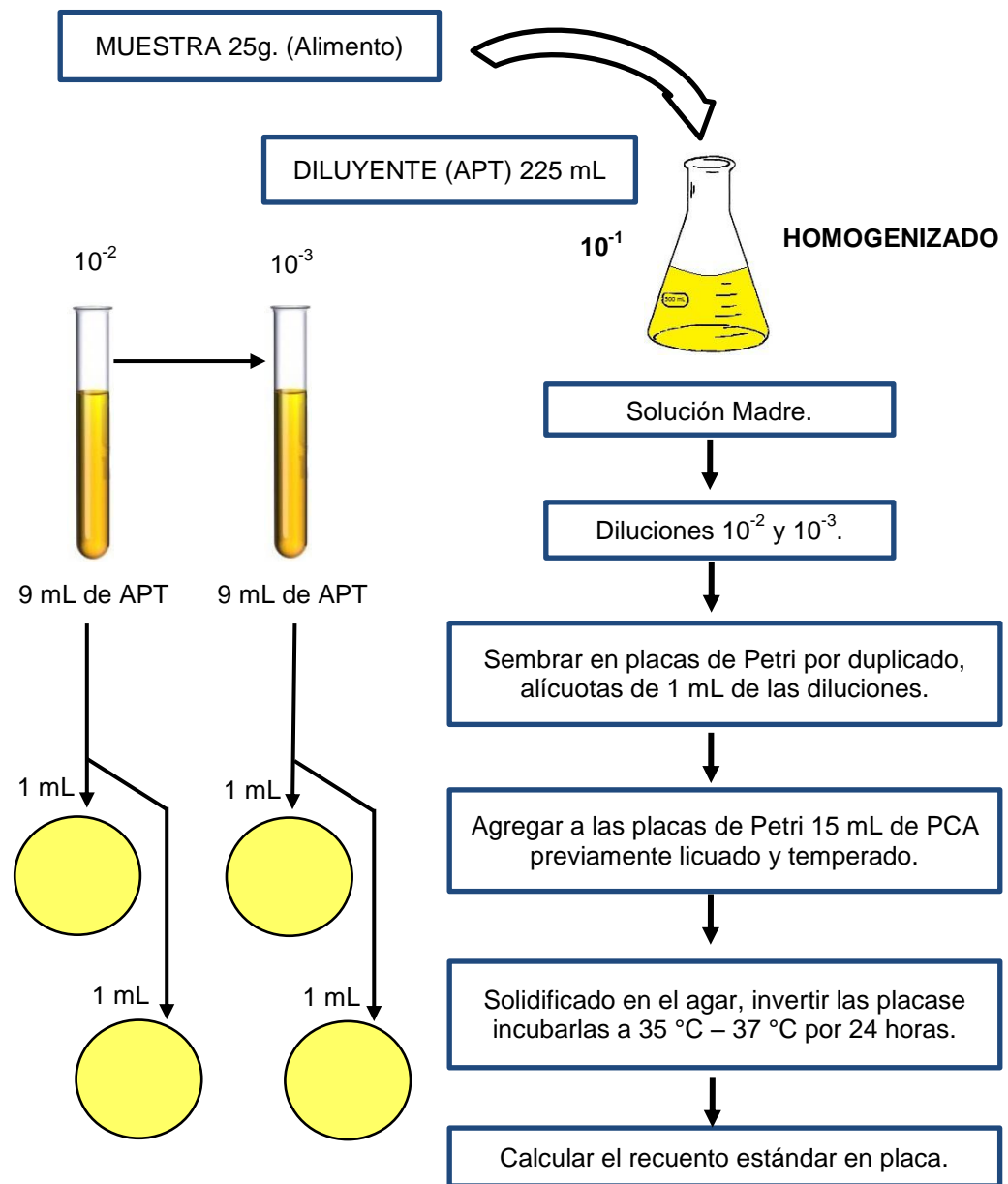
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 13: Cuadro de la Población en los Distritos de Tacna.**

Distritos	Hombres		Mujeres		Total población	% sobre población total
	Cifras absolutas	%	Cifras absolutas	%		
Población Provincial Total	130 212	49,56	132 519	50,44	262 731	100,00
Distrito Tacna	46 138	48,86	48 290	50,64	94 428	35,94
Alto de la Alianza	17 492	49,36	17 947	50,64	35 439	13,49
Calana	1 400	53,33	1 225	46,67	2 625	1,00
Ciudad Nueva	16 965	49,56	17 266	50,44	34 231	13,03
Coronel Gregorio Albarracín	33 973	49,24	35.016	50,76	69 989	26,26
Inclán	2 314	56,94	1 750	43,06	4 064	1,55
Pachia	1 066	54,81	879	45,19	1 945	0,74
Palca	817	54,11	693	45,89	1 510	0,57
Pocollay	8 693	50,82	8 416	49,18	17 113	6,51
Sama	1 350	56,56	1 037	43,44	2 387	0,91

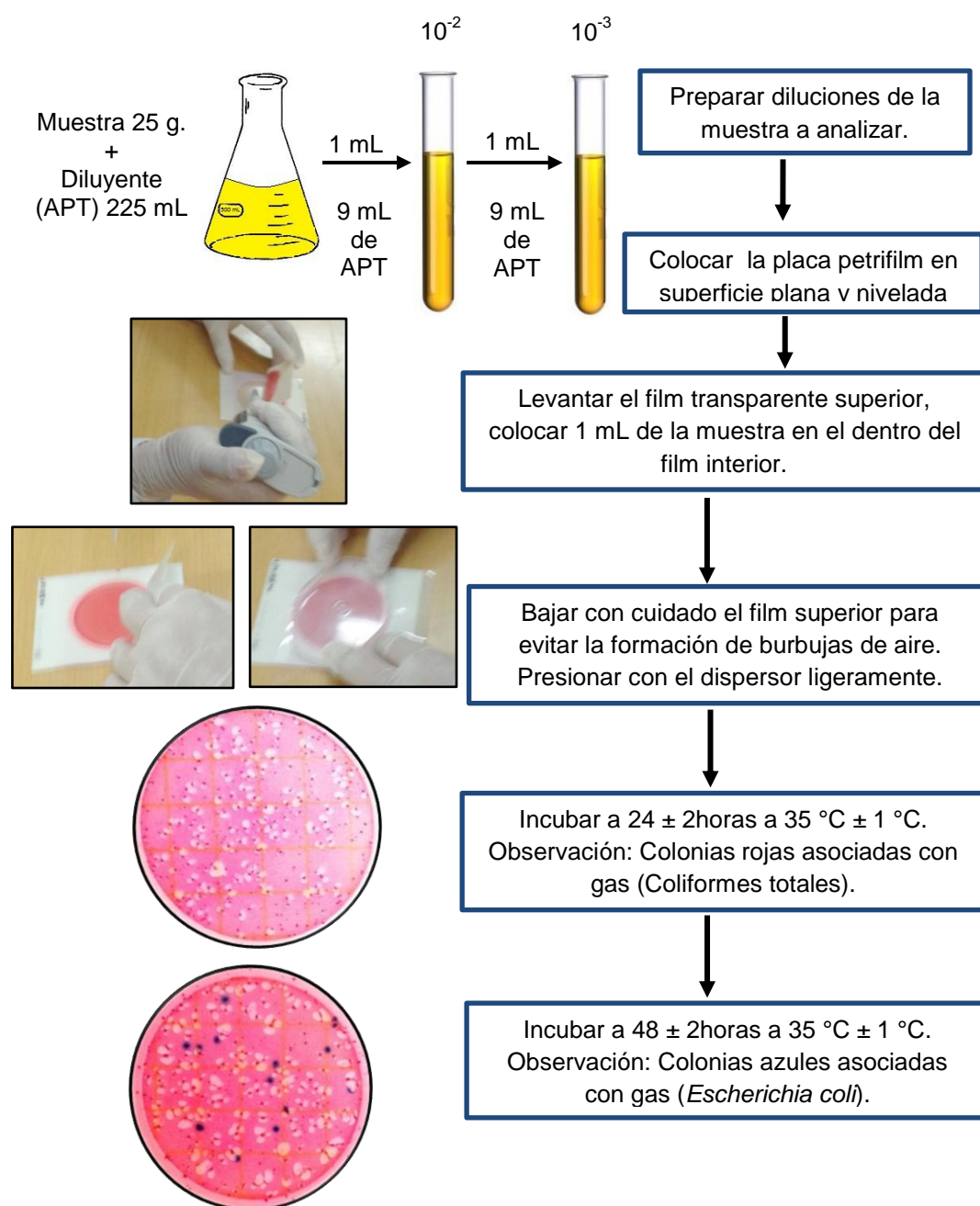
**Fuente:** INEI Censos Nacionales 2007. XI de Población y VI de Vivienda.

**ANEXO 14: Método: ICMSF, 2000. Enumeración de bacterias aerobias mesófilas viables por el Método del Recuento Estándar en Placa.**

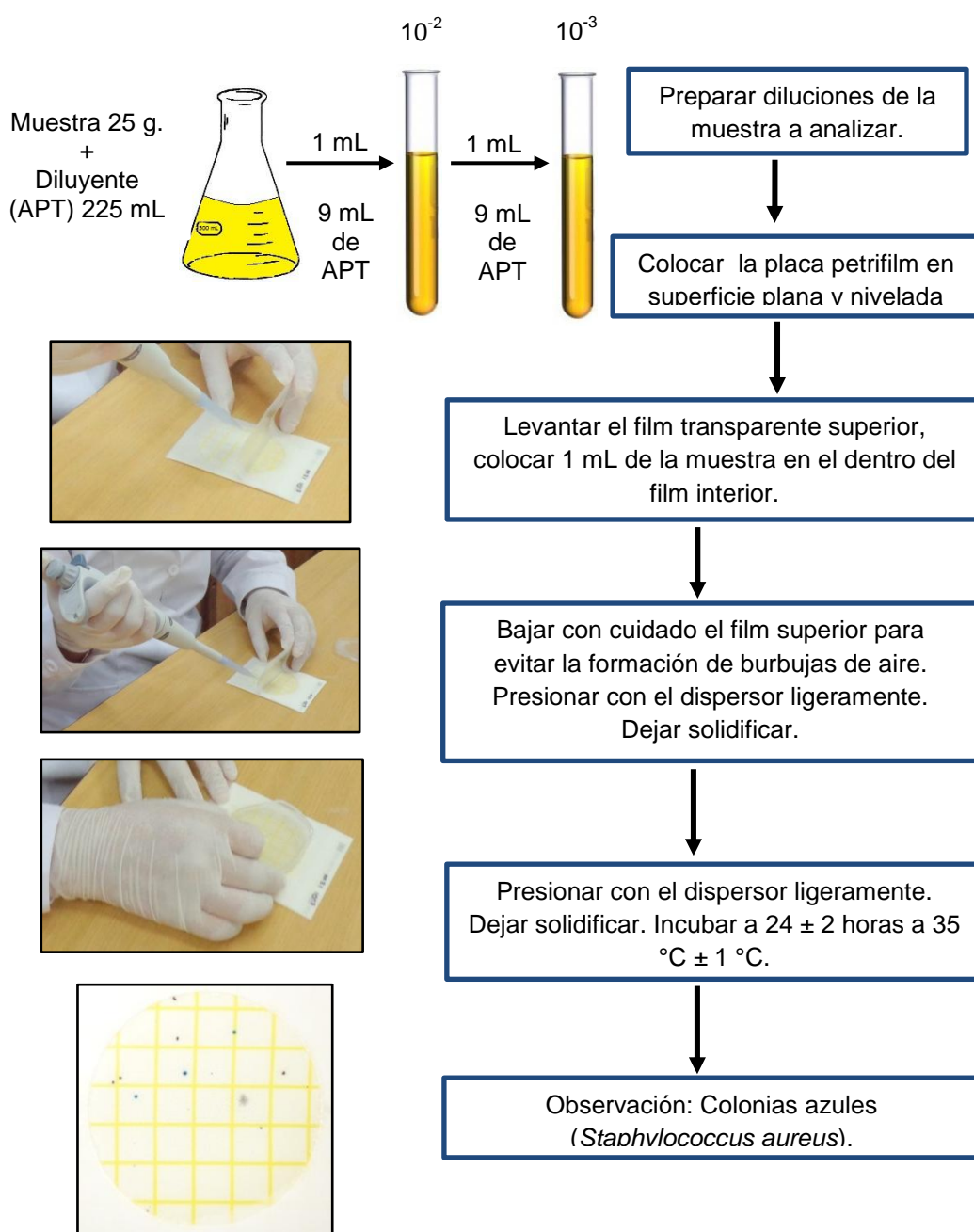


**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 15: Método: AOAC 991.14. Método Rápido de Análisis –  
placas Petrifilm para la numeración de *Escherichia coli* y  
coliformes totales.**

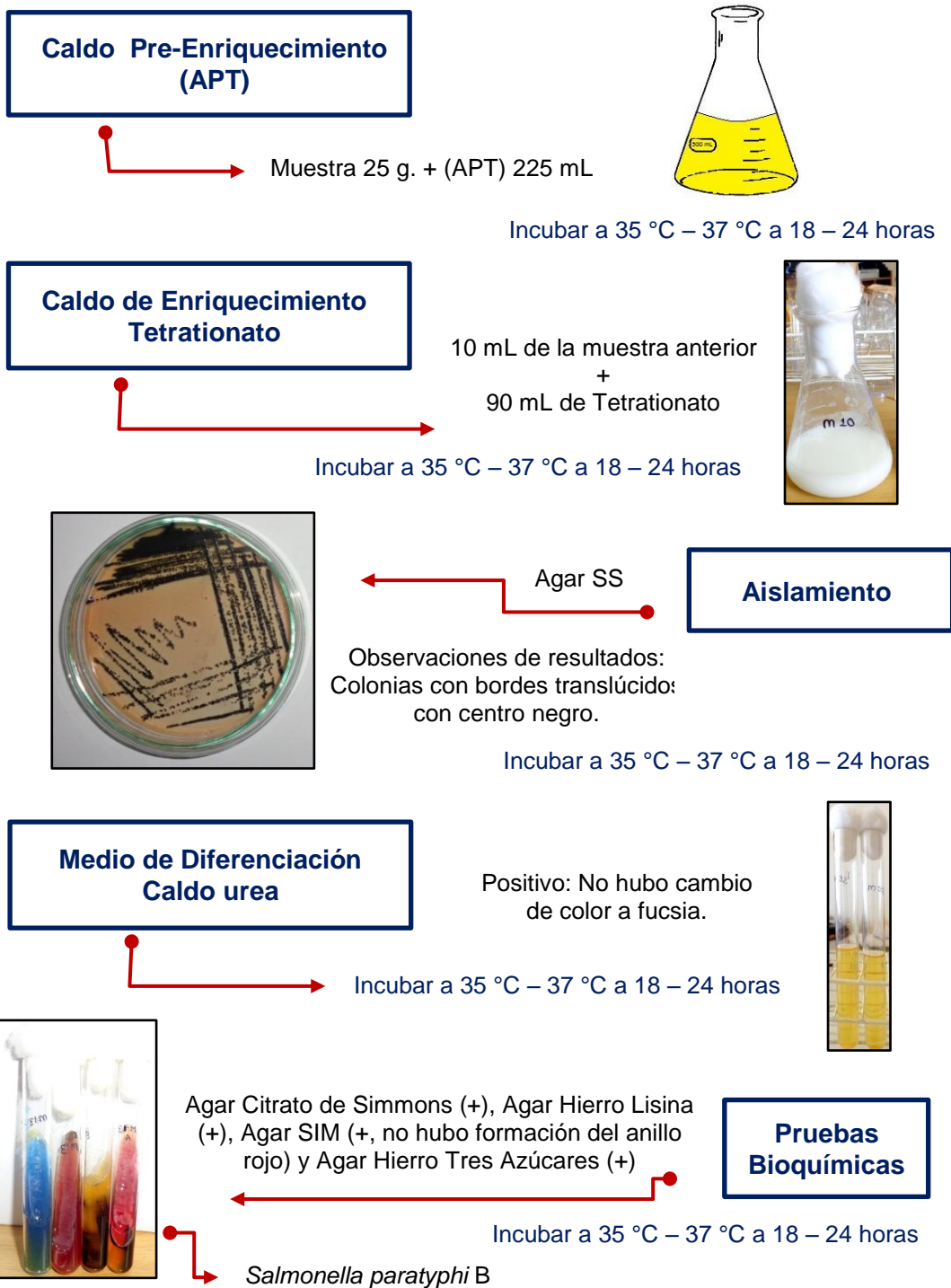


**ANEXO 16: Método: AOAC 2003.07. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de *Staphylococcus aureus* en alimentos procesados preparados.**



Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 17: Método: ICMSF, 2000. Investigación de *Salmonella*.**



Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 18: Interiores del comedor José Carlos Mariátegui (MJ-06).**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 19: Interiores del comedor ML-07: Las Dorcas (arriba) y MC-02: Corazón de Vicky (abajo).**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 20: Muestras tomadas de los comedores, MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia, MA-01: Arriba Perú, MJ-05: Jesús Divina Misericordia (arriba) y ME-04: El Morro, ML-07: Las Dorcas, MC-02: Corazón de Vicky (abajo).**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 21: Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de *Salmonella*, en caldo de pre-enriquecimiento de APT, en los comedores de MA-01: Arriba Perú, MN-09: Nazareno de los Milagros, MD-03: Décimo Mandamiento (arriba) y ME-04: El Morro, ML-07: Las Dorcas, MC-02: Corazón de Vicky (abajo).**



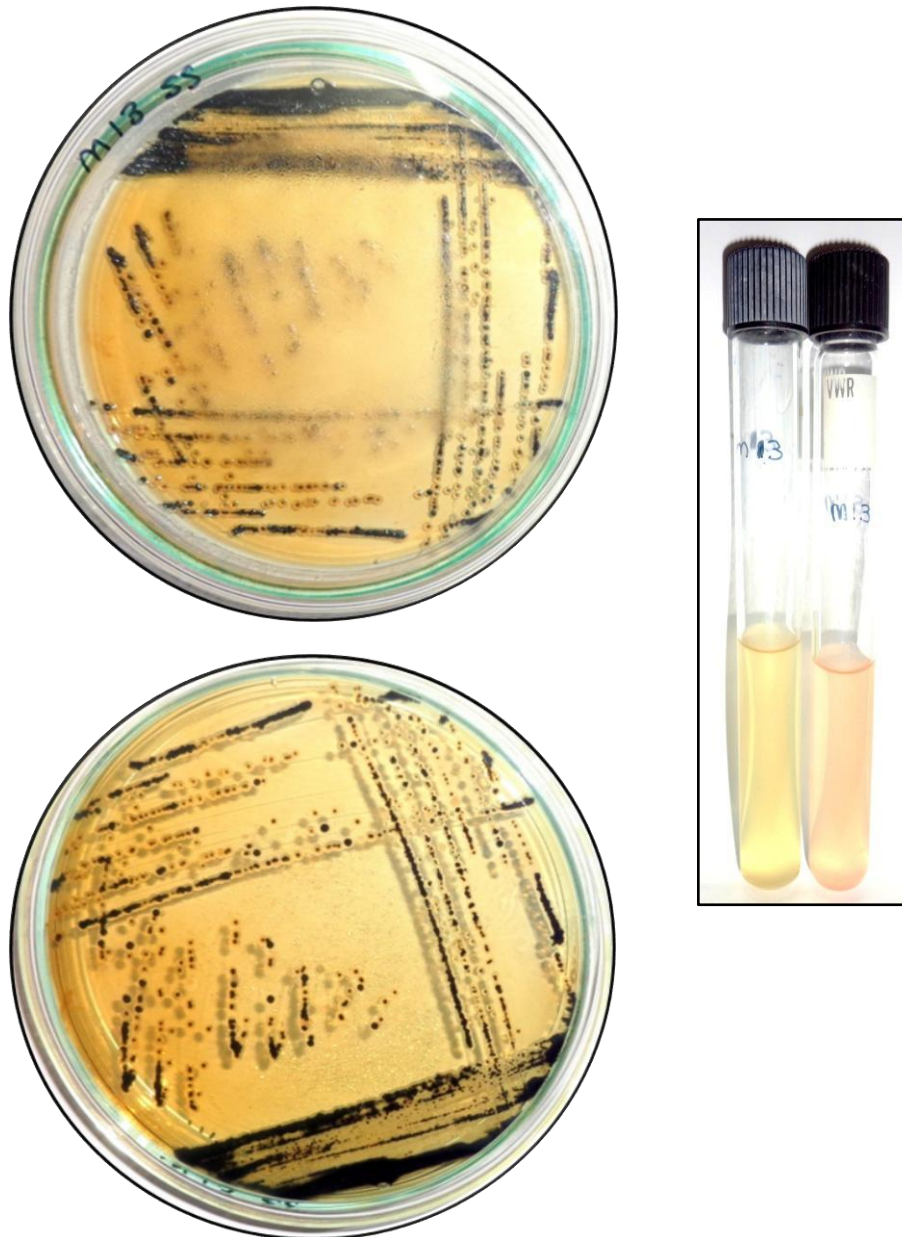
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 22: Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de *Salmonella*, en caldo de enriquecimiento Tetrionato, en los comedores de MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia, MA-01: Arriba Perú, MJ-05: Jesús Divina Misericordia (arriba) y MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia con su respectivo matraz de caldo de pre-enriquecimiento APT (abajo).**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 23: Resultados de la presencia de *Salmonella paratyphi* B, en la muestra de rocoto en crema del comedor MN-09: Nazareno de los Milagros. Aislamiento en agar SS y prueba de diferenciación en caldo urea.**



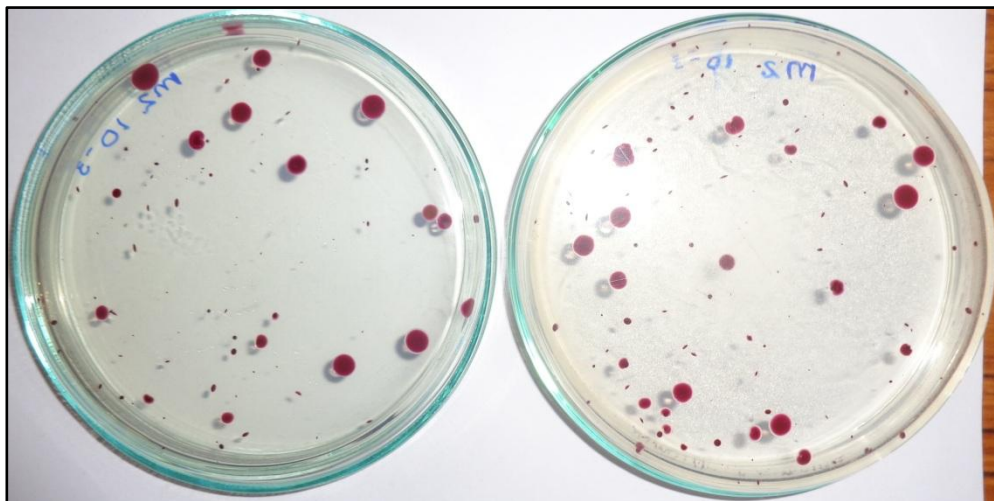
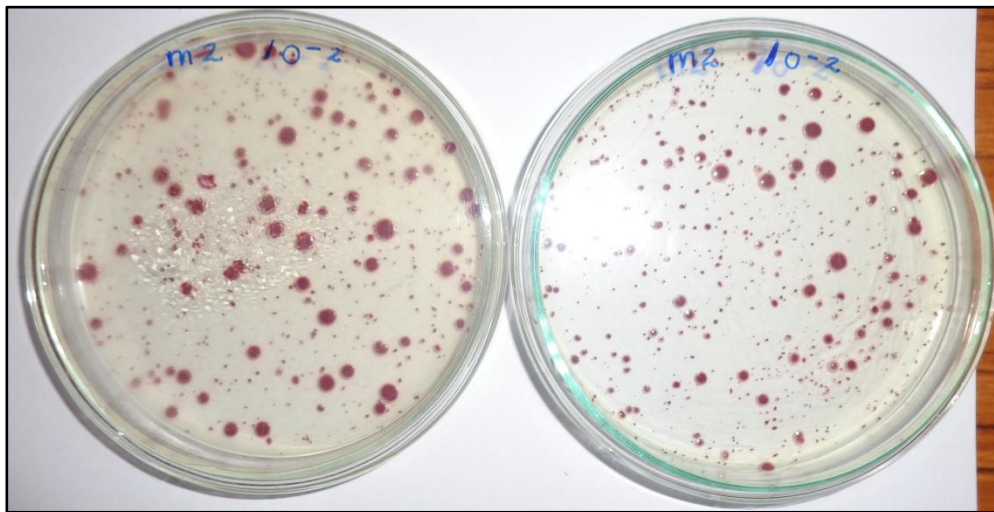
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 24: Resultados de la presencia de *Salmonella paratyphi* B, en la muestra de rocoto en crema del comedor MN-09: Nazareno de los Milagros. Pruebas Bioquímicas: agar Citrato de Simmons, agar Hierro Lisina, agar SIM y agar Hierro Tres Azúcares. De izquierda a derecha.**



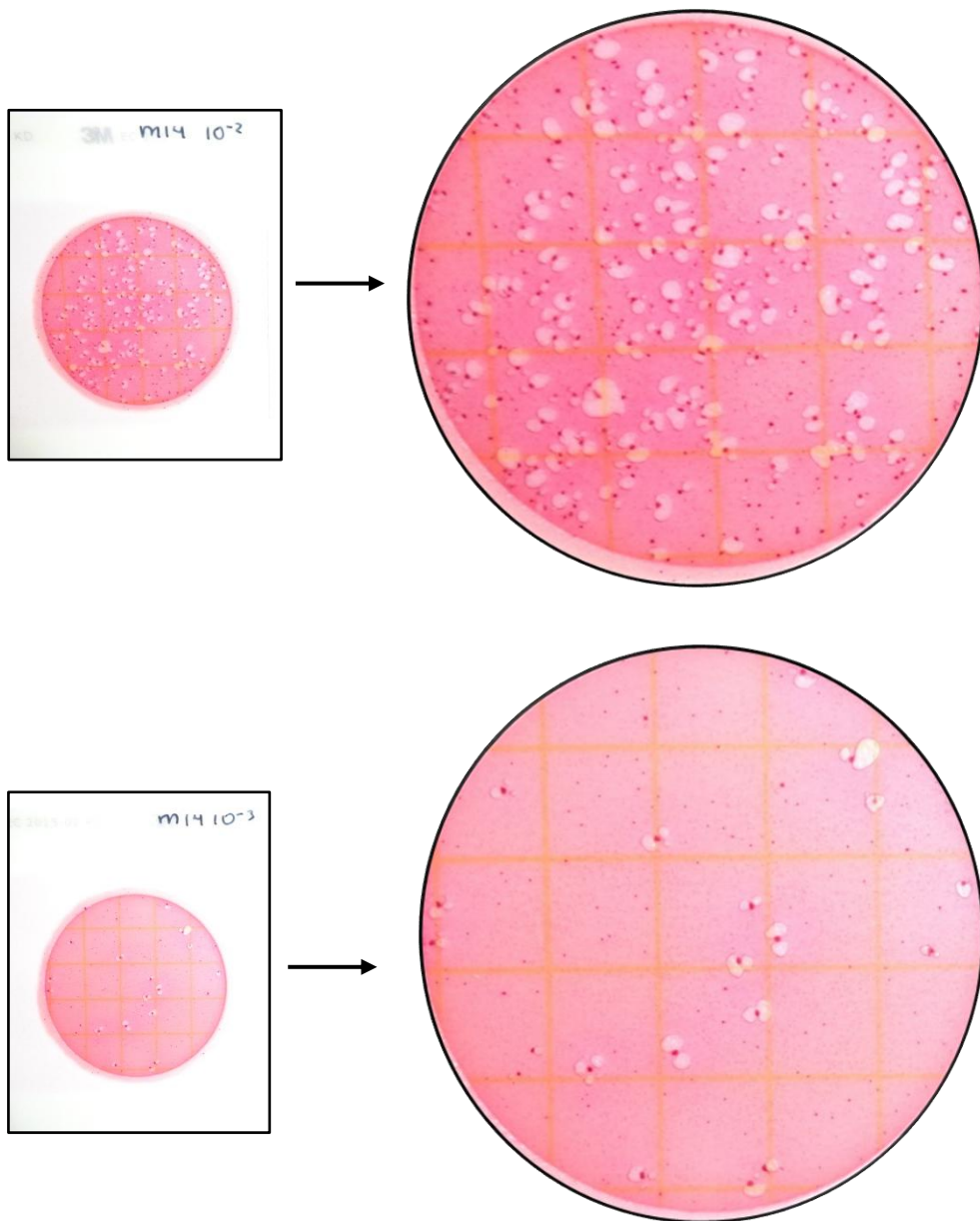
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 25: Resultados de la numeración de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras del comedor ML-08: Los claveles (muestras por duplicado de placas de Petri).**



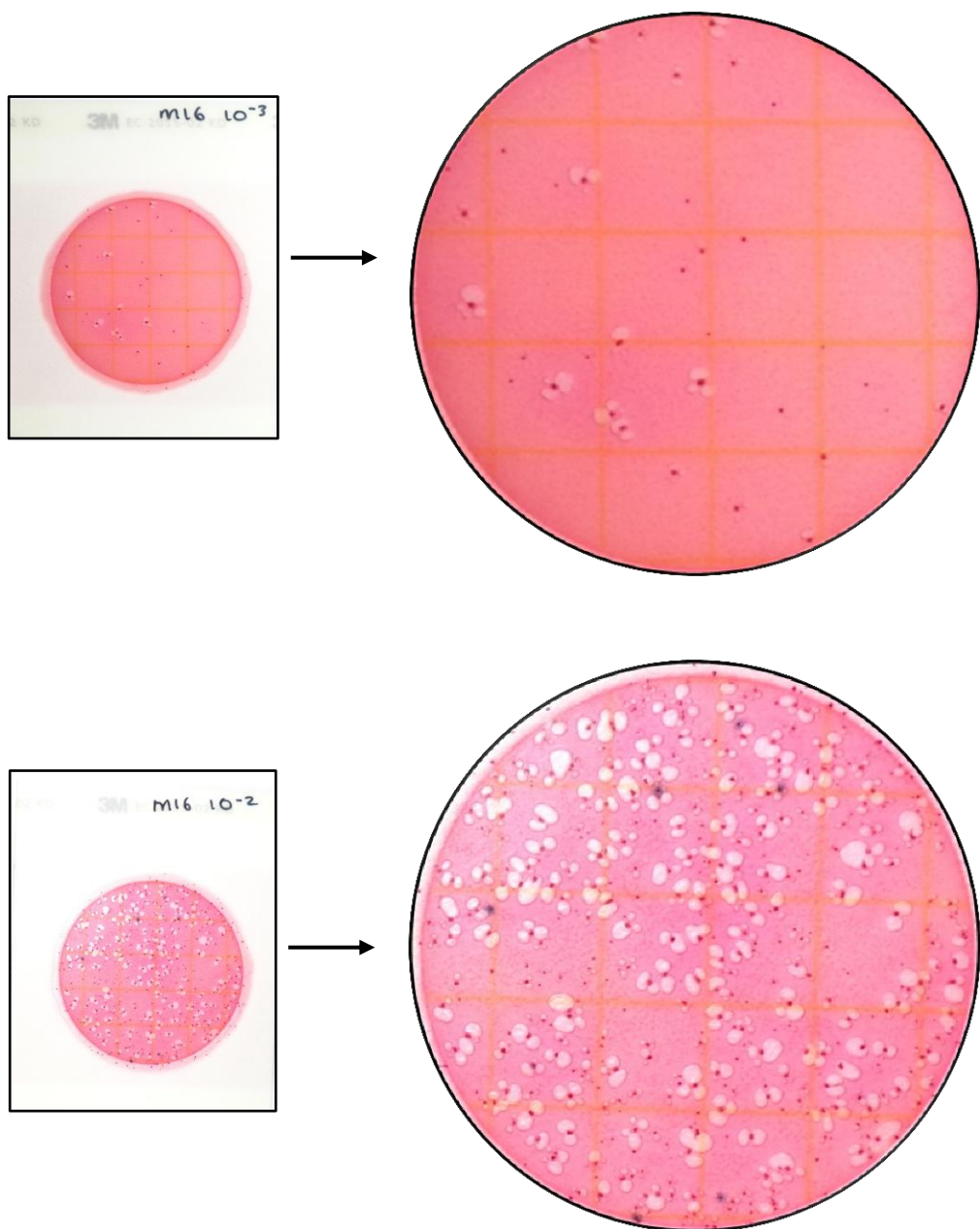
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 26: Resultados del recuento de coliformes totales de la muestra del comedor MD-03: Décimo Mandamiento con muestra de ají amarillo en crema.**



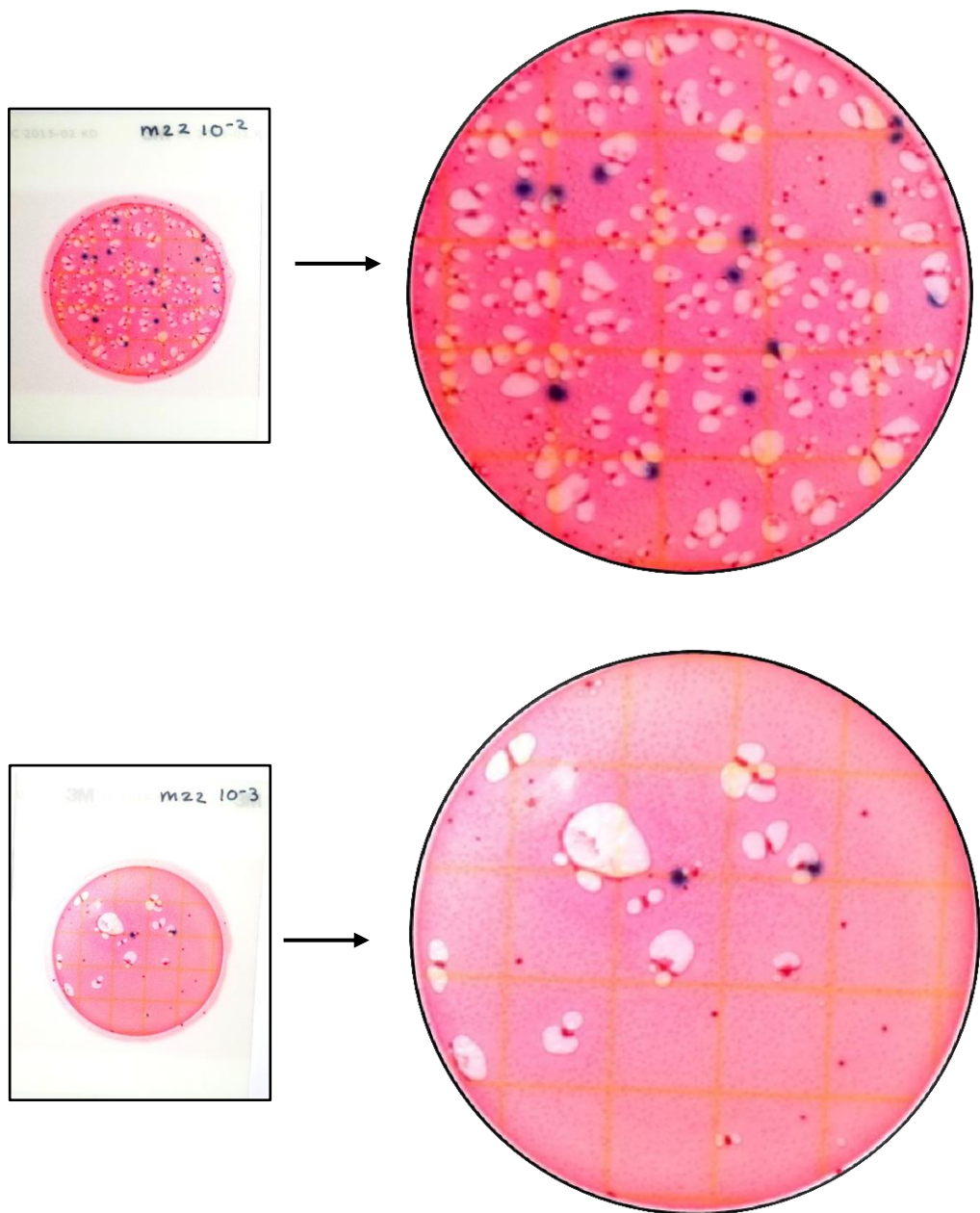
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 27: Resultados del recuento de coliformes totales de la muestra del comedor MD-03: Décimo Mandamiento con muestra de ensalada de cebolla y tomate.**



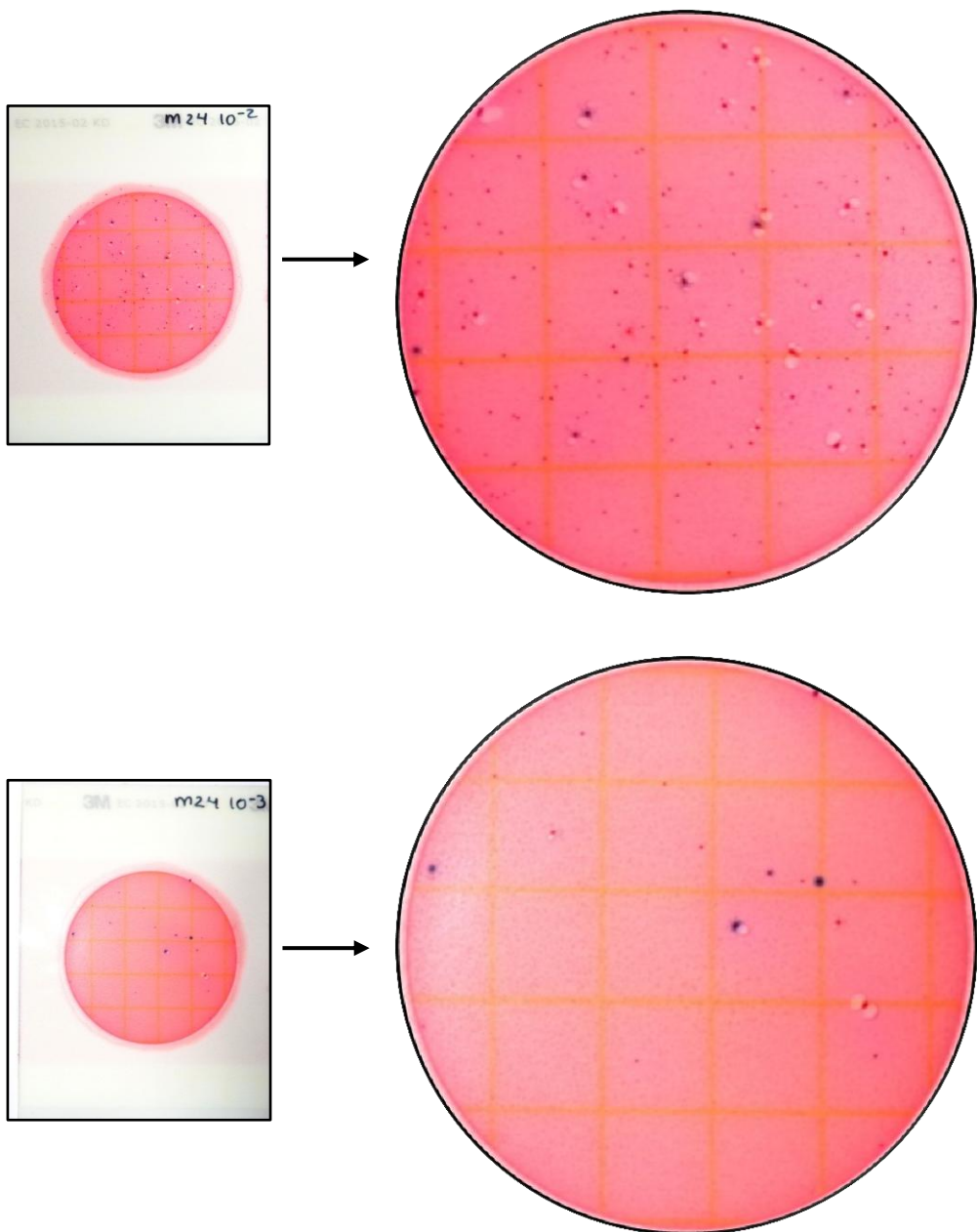
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 28: Resultados del recuento de *E. coli* de las muestras de los comedores ML-07: Las Dorcas con muestra de rocoto en crema.**



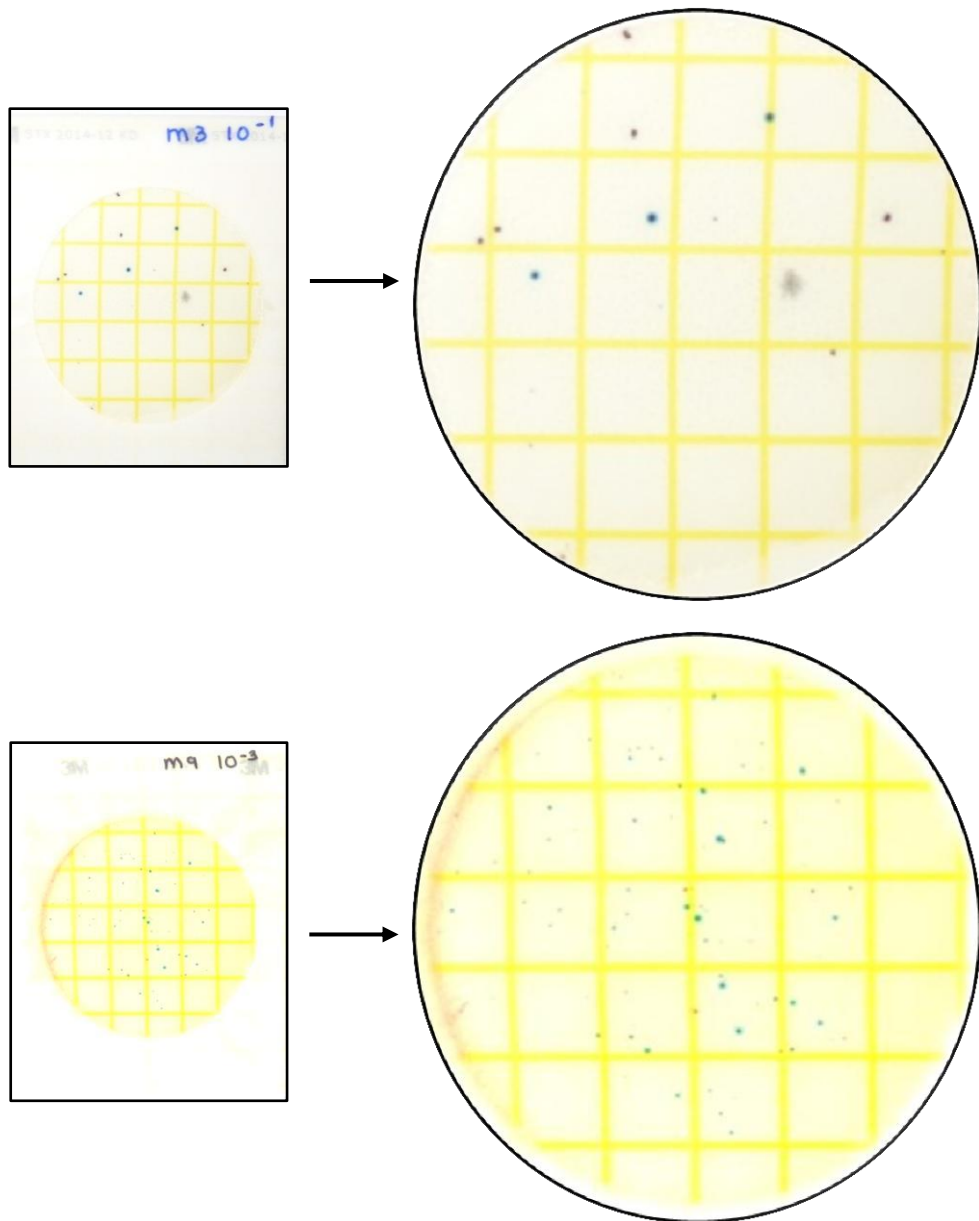
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 29: Resultados del recuento de *E. coli* de las muestras de los comedores MN-09: Nazareno de los Milagros con muestra de ensalada de lechuga.**



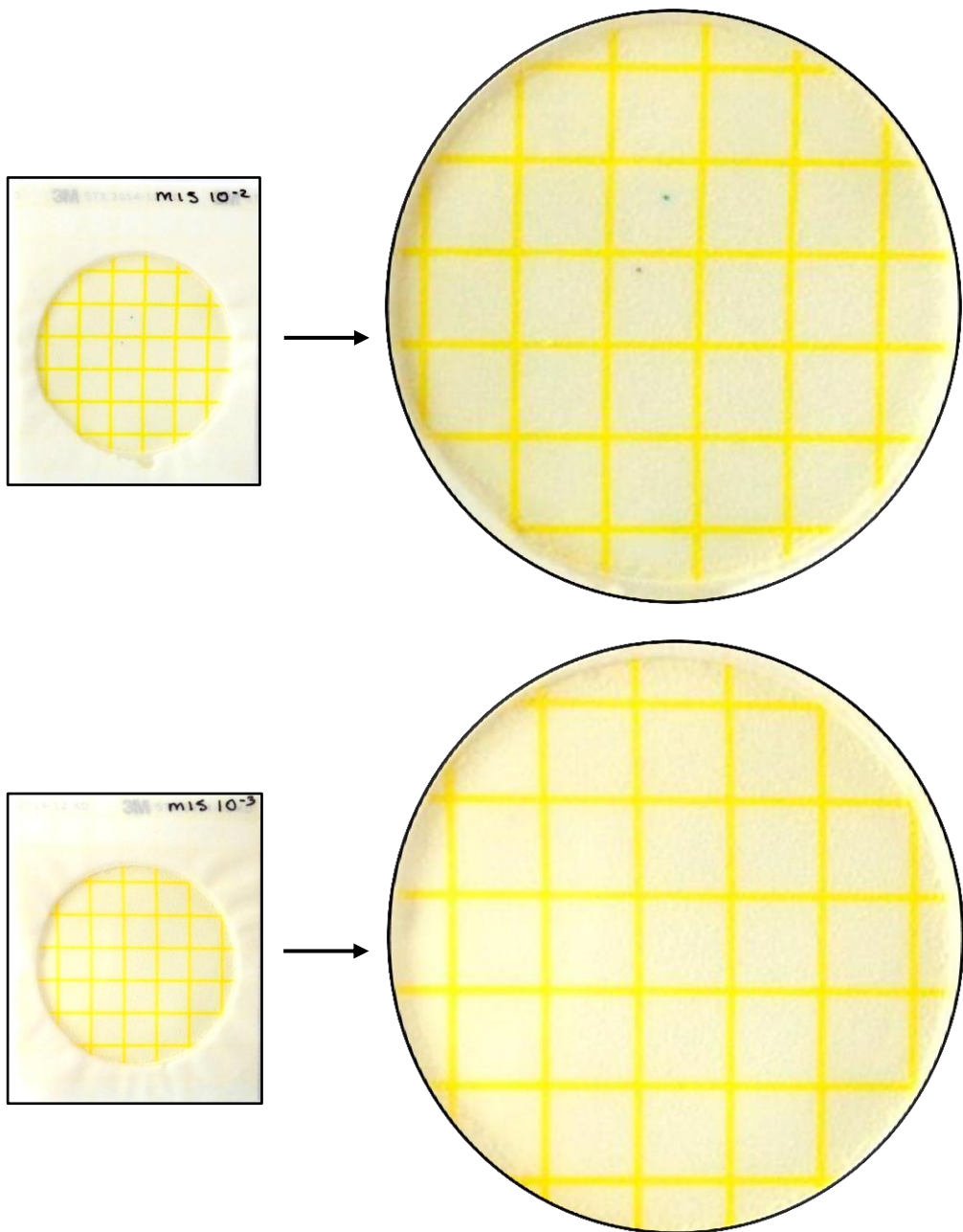
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 30: Resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* de la muestra de los comedores MP-12: Patrona de las Américas con la muestra de ensalada de lechuga (arriba) y MN-10: Nuestra Señora de Alta Gracia con la muestra de papa a la huancaína (abajo).**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 31: Resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* de la muestra del comedor MS-13: San Francisco de Asis con la muestra de ensalada de lechuga y tomate.**



**Fuente:** Elaboración propia.



.....  
Dr. César J. Cáceda Quiróz

ASESOR



.....  
Bach. Pamela C. Arosquipa Mamani

TESISTA