

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

**Facultad de Ciencias**

Escuela Profesional de Biología – Microbiología

**Calidad microbiológica de la carne molida de res, expendidos  
en el Mercado Ciudad Nueva, Tacna - 2021**

**TESIS**

Presentada por:

Bach. PASCUALA SOFÍA CALISAYA CHIPANA

Para optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

TACNA PERÚ

2023

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°390

En la ciudad de Tacna, a través de la plataforma Google Meet, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; siendo las 19:00 horas del día 24 de abril del 2023. Estando presente el jurado calificador nominado por Resolución de Facultad N° 10510-2023-FACI-UN/JBG, conformado por los siguientes docentes:

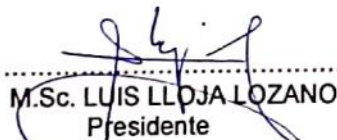
M.Sc. LUIS LLOJA LOZANO	Presidente
M.Sc. ANGELA CHOQUE MIRANDA	Secretario
Dr. CARLOS TITO VARGAS	Miembro

Acto seguido, se dio lectura a la resolución correspondiente, y del mismo modo se dio lectura al Artículo 22 del reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

A continuación, el Presidente del Jurado instó a la Bachiller: **PASCUALA SOFÍA CALISAYA CHIPANA**, a exponer la tesis: Calidad microbiológica de la carne molida de res, expendidos en el Mercado Ciudad Nueva, Tacna - 2021.

Siendo las 19:40 horas, el tesista concluye su exposición, luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador. Terminado el proceso, se invitó a que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo a reglamento. El promedio de calificación dio el siguiente resultado: Aprobado (por unanimidad), con el calificativo de BUENO nota 15 de acuerdo al reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

Siendo las 20:20 horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis firmando los señores miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

  
.....  
M.Sc. LUIS LLOJA LOZANO  
Presidente

  
.....  
Dr. CARLOS TITO VARGAS  
Miembro

  
.....  
M.Sc. ANGELA CHOQUE MIRANDA  
Secretario

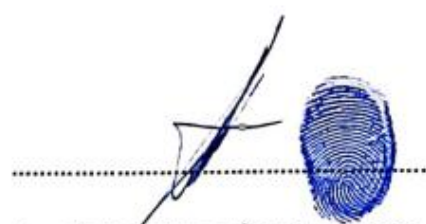
## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **CÉSAR JULIO CÁCEDA QUIROZ** en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N° 10086-2021-FACI-UN/JBG de la tesis titulado: "Calidad microbiológica de la carne molida de res, expendidos en el Mercado de Ciudad Nueva, Tacna – 2021".

Presentado por la Bachiller **PASCUALA SOFIA CALISAYA CHIPANA**, para optar el título de **BIOLOGO – MICROBIOLOGO**, habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través de software de similitud textual **TURNITIN**, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 5%.

Por lo que, **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la tesis, está de acuerdo al nivel **PERMITIDO**, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el Repositorio Institucional.

Se emite el presente certificado con fines de continuar con los trámites respectivos para su obtención del título.



**Dr. CÉSAR JULIO CÁCEDA QUIROZ**

**DNI: 09791214**

## DEDICATORIA

*Esta tesis está dedicada a mis padres Demetrio y Marta, especialmente a la memoria de mi madre, quién me animó en este campo de estudio, y muchas noches fue testigo de mi esfuerzo por culminar esta carrera, muy a pesar de todos los momentos malos que tuvimos que pasar, su fe y su fuerza los últimos años de su vida, me enseñaron a continuar y luchar por mis objetivos a pesar de las adversidades.*

*A mi tesoro y mi debilidad más grande, a ti mi hija preciosa Amélie, por motivarme constantemente, por ser tan paciente y entender el esfuerzo que hago por nosotras.*

*A mis hermanos, Verónica, Diego y Manuel, por su apoyo, palabras de aliento y todo el cariño que me brindan. Este logro también es de ustedes.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Al Dr. César Julio Cáceda Quiroz, por su tiempo y dedicación en el asesoramiento de mi tesis, quien estuvo guiándome hasta la finalización del presente trabajo de investigación.*

*Al profesor Edwin Obando que, con su paciencia en la parte práctica, contribuyó con su experiencia, aportes y sugerencias para lograr el éxito de este trabajo.*

*A mis amigos, ahora colegas, que me brindaron todo su apoyo en el proceso del presente trabajo.*

## CONTENIDO

<b>CONTENIDO.....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>IX</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Planteamiento del problema.....	4
1.1.1. Problemática de la investigación.....	4
1.1.2. Justificación del problema.....	4
1.2 Hipótesis.....	6
1.3 Objetivos.....	6
1.3.1. Objetivo general.....	6
1.3.2. Objetivos específicos.....	7
1.4 Antecedentes.....	7
1.4.1. Antecedentes internacionales.....	7
1.4.2. Antecedentes nacionales.....	10
1.4.3. Antecedentes locales.....	12
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
2.1 Definición de la carne.....	14
2.2 Definición de la carne molida de res.....	15
2.3 Características organolépticas de la carne.....	15
2.4 Composición de la carne.....	17
2.5 Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA).....	17
2.6 Bacterias de interés para la salud pública.....	18
2.7 Calidad microbiológica de la carne molida de res.....	27

2.7.1.	Calidad microbiológica.....	27
2.7.2.	Norma microbiológica.....	28
2.7.3.	Criterios microbiológicos.....	29
2.8	Métodos de ensayo microbiológico en la vigilancia sanitaria.....	32
<b>III.</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>33</b>
3.1	Materiales.....	33
3.1.1.	Material biológico.....	33
3.1.2.	Material de vidrio y otros.....	33
3.1.3.	Medio de cultivo y reactivos.....	34
3.1.4.	Equipos.....	35
3.2	Población y muestra.....	35
3.2.1.	Población.....	35
3.2.2.	Muestra.....	35
3.3	Tipo y diseño de la investigación.....	36
3.3.1.	Tipo de investigación.....	36
3.3.2.	Diseño de la investigación.....	37
3.3.3.	Variables y operacionalización.....	37
3.4	Área de estudio.....	39
3.5	Metodología.....	39
3.5.1.	Obtención y recolección de la muestra (ICMSF, 2000).....	39
3.5.2.	Recuento de coliformes: Técnica del número más probable (NMP) (ICMSF, 2000) .....	40
3.5.3.	Recuento estándar en placa de aerobios mesófilos (ICMSF, 2000) .....	42
3.5.4.	Método horizontal: ISO 6579:2002 (Detección de <i>Salmonella</i> spp.).....	43
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>
4.1	Recuento de coliformes totales.....	48
4.2	Recuento de coliformes termotolerantes.....	49

4.3 Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables.....	50
4.4 Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	51
4.5 Investigación de <i>Salmonella</i> spp.....	52
4.6 Análisis microbiológico de la carne molida de res según los recuentos realizados.....	53
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>54</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>69</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Composición nutricional de la carne de res.....	17
Tabla 02. Criterios microbiológicos para carnes crudas picadas y molidas.....	28
Tabla 03. Plan de muestreo para combinaciones de diferente grado de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación.....	31
Tabla 04. Operacionalización de las variables.....	38
Tabla 05. Colonias típicas de <i>Salmonella</i> spp. en medios sólidos selectivos.....	45
Tabla 06. Reacciones bioquímicas de <i>Salmonella</i> .....	46
Tabla 07. Porcentaje promedio del recuento de coliformes totales por establecimiento que expenden carne molida de res en el mercado de Ciudad Nueva .....	48
Tabla 08. Promedio del recuento de coliformes termotolerantes por establecimiento que expenden carne molida de res en el mercado de Ciudad Nueva .....	49
Tabla 09. Porcentaje promedio del recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables en carne molida de res de los puestos del mercado de Ciudad Nueva que expenden este producto .....	50
Tabla 10. Promedio del recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en carne molida de res, de los puestos del mercado de Ciudad Nueva que expenden este producto.....	51
Tabla 11. Promedio de la investigación de <i>Salmonella</i> spp. ( <i>ausencia o presencia</i> ) por establecimiento que expende carne de res molida en el mercado de Ciudad Nueva.....	52
Tabla 12. Promedio del análisis microbiológico de la carne molida de res según los recuentos realizados obtenidos de los puestos del mercado de Ciudad Nueva.....	53

**ANEXOS**

Anexo 1. Ubicación satelital del mercado Ciudad Nueva de Tacna. ....	69
Anexo 2. Zonas de expendio de carnes en el mercado Ciudad Nueva de Tacna. ....	70
Anexo 3. Comercialización de la carne molida de res en el mercado Ciudad Nueva de Tacna .....	71
Anexo 4. Modelo del etiquetado de muestras de carne molida de res expandido en el mercado Ciudad Nueva, Tacna. ....	72
Anexo 5. Determinación del NMP de coliformes en alimentos.....	73
Anexo 6. Recuento de coliformes totales (ufc/ml). ....	74
Anexo 7. Esquema del método de recuento estándar en placa de aerobios mesófilos...75	
Anexo 8. Método de recuento estándar en placa de aerobios mesófilos a partir de las muestras de carne molida de res.....	76
Anexo 9. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables.....	77
Anexo10. Determinación de <i>Salmonella</i> spp.....	78
Anexo 11. Investigación (presencia/ausencia) de <i>Salmonella</i> spp.....	79

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la calidad microbiológica de la “carne molida de res” expendida en el mercado Ciudad Nueva de la provincia de Tacna. La investigación se realizó durante los meses de septiembre hasta diciembre del año 2021, se recolectaron 45 muestras y se realizaron los siguientes análisis microbiológicos: recuento de coliformes totales y recuento de coliformes termotolerantes, recuento de aerobios mesófilos totales, recuento de *Staphylococcus aureus*, e investigación de *Salmonella* spp. De acuerdo con los resultados microbiológicos, se encontró que el 86,67 % de las muestras presentaron coliformes totales por encima de los valores permisibles, mientras que en ninguna muestra de carne molida hubo desarrollo para coliformes termotolerantes. Con respecto a los aerobios mesófilos totales, el 40 % de las muestras no cumplieron con los límites máximos permisibles, y en el recuento de *Staphylococcus aureus*, el 100 % de las muestras resultaron negativas para esta especie bacteriana; asimismo, en la investigación de *Salmonella* spp. se logró evidenciar en el 20 % del total de las muestras analizadas. Comparando con los límites establecidos en la Norma Sanitaria Peruana que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para alimentos y bebidas de Consumo Humano (Norma Técnica de Salud N°071 – MINSA/DIGESA-V.01, ítem X.6 Carnes crudas picadas y molidas) del 2008, se concluyó que no fueron aptas para consumo humano

por no cumplir con los parámetros de calidad microbiológica establecidos en Perú.

*Palabras claves:* Calidad microbiológica, carne molida de res, criterios microbiológicos, límites máximos permisibles.

## ABSTRACT

The objective of this research work was to evaluate the microbiological quality of the "ground beef" sold in the Ciudad Nueva market in the province of Tacna. The investigation was carried out during the months of September to December of the year 2021, 45 samples were collected and the following microbiological analyzes were carried out: total coliform count and thermotolerant coliform count, total mesophilic aerobic count, *Staphylococcus aureus* count, and investigation. from *Salmonella* spp. According to the microbiological results, it was found that 86.67 % of the samples presented total coliforms above the permissible values, while in no ground meat sample there was development for thermotolerant coliforms. Regarding the total mesophilic aerobes, 40% of the samples did not meet the maximum permissible limits, and in the *Staphylococcus aureus* count, 100% of the samples were negative for this bacterial species; also, in the investigation of *Salmonella* spp.; it was possible to demonstrate in 20% of the total samples analyzed. Comparing with the limits established in the Peruvian Sanitary Standard that establishes the Microbiological Quality Criteria for Sanitary Quality and Safety for food and beverages for Human Consumption (Technical Health Standard No. 071 – MINSA/DIGESA-V.01, item X. 6 Raw minced and ground meats) of 2008, it was concluded that they were not suitable for human consumption because they did not comply with the microbiological quality parameters established in Peru.

*Keywords:* Microbiological quality, ground beef, microbiological criteria, maximum permissible limits.

## I. INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) son uno de los principales problemas de Salud Pública en el mundo. La incidencia de éstas se relaciona con deficiencias higiénico-sanitarias de los alimentos durante el procesamiento, o por el uso de materias primas contaminadas (González y Rojas, 2005).

Hasta la fecha se han descrito más de 250 ETA. En su mayoría son infecciones causadas por diferentes bacterias, virus y parásitos. Las bacterias comúnmente reconocidas como causantes de ETA son los géneros *Campylobacter* y *Salmonella*, así como la cepa O157:H7 de *Escherichia coli*. En un largo plazo, algunas de estas enfermedades pueden conducir a otros padecimientos; por ejemplo, es probable que una infección con la cepa O157:H7 de *E. coli* ocasione el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) con secuelas de insuficiencia renal crónica (González y Rojas, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017), define a las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) como “*el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos o no biológicos en cantidades tales que afecten a la*

*salud del consumidor en forma aguda crónica, a nivel individual o de grupos de personas”.*

Según la OMS (2017), los principales patógenos bacterianos que pueden encontrarse en los alimentos son siete, los cuales incluyen: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *C. perfringens*, *E. coli* O157:H7, *Shigella* sp., *L. monocytogenes* y *Campylobacter* sp. (Tijerina, 2014).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2015), con relación a la carne, indicó que es el producto pecuario de mayor valor, posee proteínas, aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como carbohidratos en pequeñas cantidades. Nutricionalmente la importancia de la carne se debe a sus proteínas de alta calidad que a su vez contienen los aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas de alto valor biológico.

En nuestro país, en su mayoría los mataderos, todavía usan técnicas muy precarias para la actividad del faenamiento de animales de abasto, esto debido a la falta de inversión en infraestructura, maquinarias y equipos, lo que directamente afecta en la operatividad y el deficiente manejo sanitario de las carnes y las menudencias, que perjudican también la salud de los operarios y de los consumidores (SENASA, 2021).

Los productos cárnicos deben estar adecuadamente cocinados antes de su consumo, sin embargo, la presencia de *E. coli* (O157:H7) en la

carne, pone a los consumidores en situación de riesgo, porque este patógeno puede persistir por deficiencias o preferencias de cocción. También, puede producirse una contaminación cruzada de manos, utensilios o superficies a productos que no recibirán tratamientos térmicos antes de su consumo (Jiménez, 2012).

La carne molida de res es un producto que se obtiene a partir de carne de res fresca deshuesada, sometida a la operación de molido; siendo éste un producto muy popular, y utilizado como base en la elaboración de productos como hamburguesas, chorizos, hamburguesas, etc. Es un producto altamente perecible (Canadá, 2015).

La carne molida suele ser susceptible de contaminación, resultado del mal procesamiento y mala manipulación, que tiende a contaminar al producto cárnico, favoreciendo el desarrollo de bacterias y hongos patógenos para el ser humano, poniendo en peligro la salud de los consumidores, originando disenterías y problemas gastrointestinales (Jiménez, 2012).

Mediante el análisis microbiológico, se puede tener un panorama de la carga microbiana que posee este producto y así verificar si es inocuo para el consumo humano, y también descartar de un posible foco de infección de enfermedades transmitidas por alimentos, al mismo tiempo de informar a las autoridades pertinentes sobre la salubridad de este alimento

que se expende a diario en los mercados de nuestra ciudad (DIGESA, 2001).

## **1.1. Planteamiento del problema**

### **1.1.1. Problemática de la investigación**

El presente trabajo de investigación pretende determinar la calidad microbiológica de la carne molida de res expendida en el mercado Ciudad Nueva, por lo que se planteó el siguiente problema:

¿Cuál es la calidad microbiológica de la carne molida de res que se expende en el mercado Ciudad Nueva, Tacna - 2021?

### **1.1.2. Justificación del problema**

Se estima que, anualmente, una de cada cuatro personas presenta algún episodio de ETA, debido a factores como la contaminación cruzada, manipuladores con carentes prácticas de higiene personal, contaminaciones por contacto con superficies mal higienizadas o vectores, fallas en el proceso de cocción, deficiencias en la cadena de frío, entre otros, que

facilitan el crecimiento de los microorganismos que pueden transmitir enfermedades a los consumidores (FAO, 2015).

Por otra parte, se considera que entre 70 y 80 % de las enfermedades diarreicas agudas (EDA) son provocadas por los alimentos o agua contaminados, o bien de una persona a otra como resultado de una higiene deficiente (MINSA, 2020).

La enfermedad diarreica aguda (EDA) es un problema de salud frecuente en la población, sobre todo en los países en vías de desarrollo. La diarrea es un síntoma de una infección del tracto digestivo, que podría estar ocasionada por múltiples etiologías (OMS, 2017).

La EDA sigue siendo una causa notable de morbilidad en la niñez en nuestro país, por la persistencia de los factores relacionados al escaso acceso de servicios básicos, agua y desagüe, así como a la práctica de hábitos inadecuados de higiene (MINSA, 2020).

La EDA es una de las enfermedades con más presencia en niños, especialmente en niños menores de 5 años. Cada año ocurre más de 1 700 millones de casos asociados a patologías diarreicas y que ocasionan la muerte de 525 000 menores de 5

años, cifras estimadas por la Organización Mundial de las Salud (2022).

Según el boletín epidemiológico del Perú (2022), las EDA son una causa principal de mortalidad y morbilidad de la niñez en el mundo; asimismo, constituye la segunda mayor causa de muerte en el grupo de niños menores de 5 años.

Por esta razón, es importante el control de calidad de los alimentos para asegurar la salud pública, es así, que la presente investigación permitió determinar la calidad microbiológica de la carne molida de res, expendida en el mercado Ciudad Nueva, que se consume en todo este distrito.

## **1.2. Hipótesis**

La calidad microbiológica de la carne molida de res, presenta una carga microbiana elevada.

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar la calidad microbiológica de la carne molida de res, expendida en el mercado Ciudad Nueva, Tacna – 2021.

### 1.3.2. Objetivos específicos

- ) Establecer el recuento de coliformes totales y coliformes termotolerantes que estén presentes en la carne molida de res, expendida en el mercado Ciudad Nueva, Tacna – 2021.
- ) Realizar el recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables presentes en la carne molida de res, expendida en el mercado de Ciudad Nueva, Tacna – 2021.
- ) Realizar el recuento de *Staphylococcus aureus* en la carne molida de res, expendida en el mercado Ciudad Nueva, Tacna – 2021.
- ) Realizar la investigación de *Salmonella* spp. presente en la carne molida de res, expendida en el mercado de Ciudad Nueva, Tacna – 2021.

## 1.4. Antecedentes

### 1.4.1. Antecedentes internacionales

Rojas, en el año 2000, en México, en su tesis de Posgrado “Calidad sanitaria de carne molida de res que se expende en cuatro municipios del área metropolitana de Nuevo León”, reportó que la

presencia de microorganismos mesófilos, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y termotolerantes superaron los límites de la norma mexicana, además que la presencia de *Salmonella* en este alimento fue un riesgo potencial para el consumidor.

Galué y Cáceres (2018); en el estudio “Análisis Microbiológico de carne molida de diferentes puntos de venta ubicados en Santa Bárbara de Zulia – Estado Zulia – Venezuela”; Encontró como resultado un conteo elevado de mesófilos aerobios y *Staphylococcus aureus*, presencia de coliformes totales, sin la confirmación de *Salmonella* spp. y *E. coli*.

Millar (2011); en su estudio “Calidad microbiológica de carne molida comercializada en carnicerías y supermercados de la ciudad de Valdivia”. Del total de muestras analizadas un 52,6 % resultó con recuentos inferiores a  $6 \log_{10}$  ufc/g, límite de aceptabilidad según el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA); de éstas el 70,0 % correspondieron a carnicerías, existiendo diferencia significativa respecto a supermercados ( $p < 0,05$ ). En cuanto a la presentación comercial, de las muestras con recuentos inferiores a  $6 \log_{10}$  ufc/g, el 65,0 % correspondió a la presentación “a pedido” y el 10,0 % a “en bandeja”, existiendo relación significativa entre la presentación comercial y su calidad microbiológica ( $P < 0,05$ ).

Jara en el año 2016, en Ecuador; en su tesis de Posgrado “Análisis microbiológico de las carnes molidas expendidas en el mercado la Condamine de la ciudad de Riobamba”; en sus resultados obtenidos incumplen con los requerimientos establecidos por la norma Técnica Ecuatoriana 1346:2010 para carne molida, hallándose valores superiores a los límites microbiológicos, para *Escherichia coli* que presentó  $3,2 \times 10^5$  UFC/g; Coliformes totales  $2,4 \times 10^5$  UFC/g; *Staphylococcus aureus*  $4,7 \times 10^5$  UFC/g y para *Salmonella* presencia/25 g respectivamente.

Saltos et al. (2019), en su investigación “Calidad microbiológica de la carne de res comercializada en la ciudad de Calceta”; siendo los parámetros analizados *Salmonella*, coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y aerobios mesófilos, acorde a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1338; en donde evidenciaron la presencia de todos los microorganismos anteriormente citados, mostrándose una superación en la mayoría de los límites máximos permitidos. De forma general, apenas el 16 % de las muestras se encontraba dentro de los rangos aceptables de carga microbiana.

Ruiz et al. (2020), en su investigación denominada “Calidad microbiológica de la carne picada y detección de patógenos en

muestras ambientales de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina”, se evaluó la presencia de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) en carne bovina picada y en muestras ambientales como mesada, cuchilla, picadora y manos del carnicero. Se obtuvo como resultado que, el 75 % de las muestras de carne picada no cumplió con al menos uno de los criterios microbiológicos establecidos en el Artículo 255 del Código Alimentario Argentino.

#### **1.4.2 Antecedentes nacionales**

Santivañez (2015), en Huancayo, realizaron la “Determinación de la calidad microbiológica de carne molida de vacuno comercializada en el mercado modelo de Huancayo setiembre – noviembre 2015”. Los resultados obtenidos sobre la calidad microbiológica de la carne molida de vacuno indicaron que los recuentos sobrepasaron los límites permisibles encontrándose  $6,5 \times 10^2$  UFC/g de *E. coli*. El análisis de la calidad higiénica y sanitaria arrojó recuentos que sobrepasaban los límites permisibles, y al comparar los resultados con los criterios de calidad microbiológica para carnes crudas, picadas, molidas

(MINSA/DIGESA, 2008), se determinó que la calidad microbiológica era inaceptable, siendo, por tanto, no apta para el consumo humano.

Alvarado (2015); en su estudio “Calidad bacteriológica de carne molida que se expende en los mercados del distrito de Trujillo”; tuvo como resultado que, las mayores cantidades encontradas fueron para coliformes totales ( $6,36 \times 10^5$  NMP/g) “mercado Central”, para coliformes ( $3,05 \times 10^5$  NMP/g) “mercado Hermelinda”, *E. coli* ( $9,68 \times 10^2$  NMP/g) “mercado Central”, BAMV ( $4,45 \times 10^5$ ) mercado Francisco Morales; *Salmonella* sp. estuvo presente en cuatro de los cinco mercados. Según la Norma Técnica Sanitaria NTP N°071 – MINSA/DIGESA-V01, las muestras de carne molida analizadas excedieron los rangos establecidos para este alimento. Concluyó que la calidad bacteriológica de carne molida analizada no era apta para el consumo humano.

Moncayo (2019), en su estudio “Calidad bacteriológica de carne molida que se comercializan en los mercados del distrito de Iquitos”; donde se evidenció que, los valores de los límites máximos permisibles de coliformes totales y coliformes termotolerantes en el mercado Modelo, fue de 7NMP/100 ml para coliformes totales y 3NMP/100 ml para coliformes termotolerantes. *Escherichia coli* estuvo presente en 4 muestras del mercado Modelo y 2 muestras

en el mercado Central. La presencia de bacterias aerobias mesófilas, en el mercado Modelo fue de  $92 \times 10$  UFC/g y en el mercado Central estuvo en  $85 \times 10$  UFC/g y *Salmonella* spp. fue positivo en dos muestras del mercado Central, mientras que *Staphylococcus aureus* estuvo ausente en las muestras estudiadas. En conclusión, la calidad bacteriológica de algunas muestras analizadas no era apta para el consumo humano.

#### 1.4.3 Antecedentes locales

Pacombia (2017); en el trabajo "Identificación de *E. coli* en carnes molidas de res comercializados en los principales mercados del distrito de Tacna, julio a setiembre 2016"; tuvo como resultado que *E. coli* estuvo presente en 11 muestras (34,38 %) de los principales mercados del distrito de Tacna; las cuales fueron: mercado Grau, mercado Primero de Mayo, mercado 2 de Mayo, mercado Bolognesi, mercado Leoncio Prado, mercado La Natividad y mercado Pesquero. Teniendo un total de seis muestras (18,75 %) que superaron el límite microbiológico permisible, según Norma Técnica Sanitaria N°071-MINSA/DIGESA-V.01, considerándose dichas muestras como no aptas para el consumo humano. Concluyó que existe la presencia de *E. coli* en carnes

molidas de res, comercializados en los principales mercados del distrito de Tacna, en un 34,38 %.

## II. MARCO TEÓRICO

La contaminación, directa o indirecta, provocada por el hombre, disminuye si se tienen en cuenta medidas de higiene personal y del lugar donde se manipulan estos alimentos.

### 2.1. Definición de la carne

El Codex Alimentarius; define a la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin” (FAO, 2015).

La carne puede contaminarse con agentes físicos, químicos y biológicos (bacterias, mohos y levaduras), en cualquier punto de la cadena alimentaria, por lo cual debe promoverse las buenas prácticas de manipulación de los alimentos, con el fin de prevenir la contaminación cruzada (FAO, 2015).

Las fuentes más comunes de abastecimiento de la carne son las especies de animales domésticos como el ganado vacuno, los cerdos y las aves de corral (FAO, 2015).

## 2.2. Definición de la carne molida de res

La carne molida de res; "es el producto de la molienda mecánica del tejido muscular de fibra estriada del bovino, obtenido en condiciones higiénicas apropiadas a partir de piezas de carne o recortes de estas piezas, acompañada o no de porciones variables de tejido conectivo, adiposo, vasos sanguíneos y ganglios, excluyendo la musculatura de la cabeza y la adherida al cuerpo o vísceras conocida como carnita y sometida a un proceso físico adecuado de conservación" (Covenin, 1985).

## 2.3. Características organolépticas de la carne

La carne molida deberá cumplir con los siguientes requisitos:

### **ORGANOLÉPTICOS**

**Color:** El color de la carne está determinado principalmente por el contenido de mioglobina y hemoglobina y el estado de oxidación de estos pigmentos en las fibras musculares (Fernández, 2012).

El color deberá ser natural, propio de la carne molida. No se permitirá la adición de ningún colorante natural o artificial (Covenin, 1985).

**Olor y sabor:** El sabor de la carne depende de la carnosina, los nucleótidos, ciertos aminoácidos libres, la acción de microorganismos, la presencia de ácidos grasos libres y el grado de lipólisis de esta (Fernández, 2012).

El olor y sabor deberán ser los característicos de la carne molida. No deberá presentar olores ni sabores extraños (Covenin, 1985).

## **FÍSICOS**

La carne molida refrigerada deberá mantenerse a una temperatura de conservación no mayor de 5°C hasta el momento de su entrega al consumidor. La carne molida congelada deberá mantenerse a una temperatura no mayor de – 18°C (Covenin, 1985).

## **VIDA ÚTIL**

El tiempo de vida útil de la carne molida refrigerada, no será mayor de 48 horas. El tiempo de vida útil de la carne molida congelada, no será mayor de 6 meses, al finalizar el tiempo de vida útil, las carnes molidas no deberán ser destinadas para el consumo humano (Covenin, 1985).

## 2.4. Composición de la carne

La carne se compone de agua, proteínas, aminoácidos, minerales y grasas, además de ácidos grasos, vitaminas y pequeñas cantidades de carbohidratos, tal como se visualiza en la Tabla 1.

**Tabla 1**

*Composición nutricional de la carne*

Producto	Agua	Proteínas	Grasas	Cenizas
Carne de res (magra)	75,0 %	22,3 %	1,8 %	1,2 %

*Nota.* FAO (2016)

Desde un punto de vista nutricional, la importancia de la carne radica en sus proteínas de alta calidad, que contienen todos los aminoácidos esenciales, así como de sus minerales y vitaminas de elevada biodisponibilidad. La carne es rica en vitamina B12 y hierro, los cuales no están fácilmente disponibles en las dietas vegetarianas (FAO, 2016).

## 2.5. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA)

Las ETA son causadas por el consumo de agua o comida contaminada por microorganismos patógenos, parásitos o toxinas. La contaminación de los alimentos puede ser endógena o bien ocurrir en algún punto de su transformación. Por tanto, el agente

etiológico debe existir en los animales, vegetales o medio ambiente donde se almacena y maneja (Frazier y Westhoff, 1993).

Los microorganismos responsables de los ETA se hallan en los alimentos crudos, sin embargo, en los alimentos cocidos, están presentes por el inadecuado almacenamiento, preparación, cocción y manipulación; de esta forma es que los agentes se replican y provocan que el alimento sea un peligro para la salud de los clientes, de tal manera que el alimento actúa como un vehículo de transmisión de organismos dañinos y sustancias tóxicas (Moreno y Alarcón, 2015).

## **2.6. Bacterias de interés para la salud pública**

Son aquellas que causan las enfermedades transmitidas por alimentos, conocidas como bacterias patógenas. Cabe señalar que los microorganismos están presentes en todas partes y pueden ser parte de la flora normal de piel, manos, cavidad oral, tracto gastrointestinal, vías respiratorias, oído externo, conjuntivas, vías genitourinarias, de tal manera que es posible fácilmente contaminar un alimento. Una vez dentro del organismo, los microbios tienen que reproducirse, y para conseguirlo, tienen que superar los mecanismos de defensa del hospedero, de ser así, pueden desarrollar la

enfermedad. El tiempo que transcurre desde que penetran el organismo del hospedero hasta la manifestación de los síntomas patogénicos, se denomina período de incubación. Según Espinales (2012) entre las bacterias asociadas a enfermedades transmitidas por alimentos cárnicos, cabe mencionar:

#### **2.6.1. Familia *Enterobacteriaceae*:**

“Las *Enterobacteriaceae* son la mayor familia y la más heterogénea de bacterias Gram negativas. Son anaerobias facultativas, sin capacidad de esporulación, en forma de bastón, cuyas formas móviles están provistas de flagelos. Son fermentadoras de glucosa y capaces de reducir nitrato a nitritos, generalmente catalasa positiva y oxidasa negativa, que existen normalmente en el tracto intestinal del hombre y de animales, como macroorganismos comensales o patogénicos” (Almeida, 2008).

##### **a) *Salmonella***

Es un agente que no pertenece a la población microbiana normal, su hallazgo en el hombre es siempre patológico. El género *Salmonella* puede causar diferentes síntomas clínicos que van desde ligeras gastroenteritis a enfermedades sistémicas complicadas como la fiebre tifoidea, en individuos susceptibles,

algunas especies pueden tornarse invasivas desencadenando procesos más complicados de fiebre entérica, septicemia e infecciones localizadas (Espinales, 2012).

Las gastroenteritis son las enfermedades más frecuentes transmitidas al ser humano. La salmonelosis es una infección zoonótica con diseminación global, siendo los roedores, animales domésticos y el propio hombre, los principales reservorios de *Salmonella* sp. La transmisión ocurre por la vía fecal-oral, casi siempre a través del agua o alimentos contaminados. Además de los reservorios animales, *Salmonella* sp. puede establecerse y multiplicarse en el ambiente siempre que haya condiciones que les favorezca (Almeida, 2008).

Varios son los alimentos relacionados con la salmonelosis, la mayoría de las veces resulta del consumo de productos cárnicos, aunque hay registros de casos relacionados con consumo de frutas y vegetales, muchas veces contaminados por el ambiente y el agua de regar (Almeida, 2008).

La *Salmonella* spp. cuando está a temperaturas inferiores a 15°C crece lentamente, cesando la mayoría de los serotipos abajo de los 7°C (ICMSF, 2000).

La congelación favorece la muerte de *Salmonella* spp., en tanto, algunos alimentos, pueden viabilizar su permanencia a lo largo de varios años. Son relativamente sensibles al calor (a 63°C son completamente destruidas y crecen en medios con valores de aw superiores a 0,940 (ICMSF, 2000).

Las salmonelas tienen la capacidad de reproducirse en superficies de cerámicas, vidrio, acero inoxidable y en la piel humana, originando focos de contaminación en el personal que prepara los alimentos y en el local de preparación de los mismos. Son rápidamente eliminadas por la mayoría de los desinfectantes disponibles comercialmente, siendo conveniente establecer y aplicar con eficiencia un plan adecuado de limpieza e higienización de las instalaciones, superficies de equipos y personal en contacto con los alimentos (Vieira-Pinto, 2008).

*Salmonella* puede causar enfermedad con un número reducido de células, por lo tanto, es importante garantizar su ausencia en alimentos listos para comer, estableciendo reglas de higiene, sobre todo los manipuladores de alimentos (Loayza, 2011).

**b) Bacterias coliformes**

Son miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Por definición, los coliformes son bastones, Gram negativos, no esporulados, anaerobios facultativos, oxidasa negativos, que crecen en condiciones aerobias en medios de cultivo selectivos conteniendo sales biliares, y son capaces de fermentar la lactosa, en 48 horas a 37°C, con producción de ácido y gas. El grupo de los coliformes incluye: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Klebsiella pneumoniae*. Los coliformes que presentan la capacidad de fermentar lactosa con la consecuente producción de gas, cuando son incubados a una temperatura de 44 a 45.5°C, se denominan coliformes fecales (Espinales, 2012).

El término coliforme fue sugerido por Breed y Norton (1937) en el área de bacteriología de agua, para determinar si esta era responsable de contaminación fecal. Actualmente este tipo de indicadores son aplicados en la industria de alimentos. Sin embargo, el origen de las bacterias de este grupo es tanto fecal como no fecal (Espinales, 2012).

Por la amplia distribución de los coliformes, éstos pueden ser detectados en muchos tipos de productos alimenticios, especialmente los de origen animal (Palacios, 2018).

### **Caracteres bioquímicos**

El grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas (Palacios, 2018):

- Ser aerobias o anaerobias facultativas
- Ser bacilos Gram negativos
- Ser oxidasa negativa
- No ser esporógenas
- Fermentar la lactosa a 35 °C en 48 horas
- Produciendo ácido láctico y gas

### **Bacterias que forman el grupo:**

- *Escherichia*
- *Klebsiella*
- *Enterobacter*
- *Citrobacter* (no todos los autores la incluyen)

Los coliformes totales son los que comprenden la totalidad del grupo y los coliformes termotolerantes, son aquellos de origen intestinal (Franco, 2013).

En 1904, Eijkman descubrió que los coliformes termotolerantes producen gas en medio con glucosa incubado a 46°C, mientras que los no fecales no lo hacen; comprenden principalmente al género *Escherichia*; sin embargo, algunas cepas de *Enterobacter* y *Klebsiella* pueden producir gas en un medio de lactosa a 44,5°C (Rojas, 2000).

Los coliformes termotolerantes se encuentran en la materia fecal de animales de sangre caliente, aunque también se detectan en productos frescos. Los insectos, plantas, animales, el suelo y el agua de riego contaminada pueden ser fuentes de contaminación por coliformes termotolerantes (Espinales, 2012).

La presencia de este tipo de microorganismos en un alimento indica que no ha sido manipulado adecuadamente, o que las condiciones en las que se encuentran los contenedores e instrumentos de estos alimentos pueden no ser las adecuadas (Galván, 2011).

- ***Escherichia coli*:**

Bacilo corto, Gram negativo. Pertenece a las Enterobacteriáceas lactosa-positivas, se encuentra en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, produce gas a una temperatura de 44 a 44,5 °C ± 0,2 (Andino y Castillo, 2010).

Los criterios microbiológicos que incluyen *Escherichia coli* son de utilidad en casos en que se desea determinar contaminación fecal; ya que la contaminación de un alimento con esta bacteria implica el riesgo de que puedan encontrarse en el mismo, patógenos entéricos que constituyan un riesgo para la salud. Sin embargo, la ausencia de *Escherichia coli* no asegura la ausencia de patógenos entéricos. Se debe tener en cuenta que, en muchos productos crudos de origen animal, se puede esperar altos recuentos de *Escherichia coli*, dada la asociación cercana de estos alimentos con el ambiente animal y por la probabilidad de la contaminación con materia fecal animal durante su faenamiento (Andino y Castillo, 2010).

### **2.6.2. Familia *Staphylococaceae***

Los estafilococos son anaerobios facultativos, que se multiplican con mayor velocidad en presencia de oxígeno. No poseen flagelo ni cilios, por lo cual, son incapaces de moverse por sí mismos. La temperatura ideal para su multiplicación es de 37°C, misma del cuerpo humano (Doyle, 2001).

Puede ser aislado a partir del polvo o la piel de animales de sangre caliente. Es un agente patológico oportunista, que usualmente se comporta como comensal. Algunas especies tóxicas pueden causar infecciones en heridas o en individuos con bajas defensas (Espinales, 2012).

#### **a) *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* se destaca por ser uno de los principales microorganismos responsables de intoxicación alimentaria, donde figuran como principal fuente de contaminación, los manipuladores de alimentos (Espinales, 2012).

Este microorganismo no es competitivo con otros, por este hecho, difícilmente, se desarrolla o produce toxinas en alimentos crudos, sin embargo, es muy resistente al proceso de congelación y

descongelación, sobreviviendo en alimentos con temperaturas inferiores a - 20°C (ICMSF, 2000).

De manera preventiva se debe vigilar el estado de salud y hábitos de trabajo de los manipuladores de alimentos (evitando el contacto con heridas infectadas, etc.) mantener los alimentos conservados en temperaturas de 7°C, y cocinarlos a temperaturas mayores de 48°C. Se debe tener en cuenta que, a elevadas temperaturas, se puede matar a la bacteria, no en tanto, a las toxinas, que son resistentes y permanecen activas causando disfunciones en el sistema digestivo del huésped (Espinales, 2012).

## **2.7. Calidad microbiológica de la carne molida de res**

### **2.7.1. Calidad microbiológica**

La calidad es un término muy relativo, se podría decir que es satisfacer las necesidades de los consumidores e, incluso, superar las expectativas que éstos tienen puestas sobre el producto (DIGESA, 2001).

El criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto (o un lote) de un alimento, basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote (MINSAs, 2003).

### 2.7.2. Norma microbiológica

En Perú las normas que establecen requisitos para el control sanitario de alimentos y bebidas, es 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, es la NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01; del 27 de agosto de 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, como se visualiza en la Tabla 2.

**Tabla 2**

*Criterios microbiológicos para carnes crudas picadas y molidas*

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	C	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°C)	2	3	5	2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5x10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia/25 g	.....
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	10	2	5	0	Ausencia/25 g	.....

*Nota.* Grado de riesgo de los microorganismos (categoría), no se tolera a cierto microorganismo (clase 2), se tolera cierta cantidad (clase 3), muestras al azar (n), número máximo de muestras rechazables (c), límite mínimo permisible (m) y límite máximo permisible (M). MINSA (2008)

### 2.7.3. Criterios microbiológicos

Como referencia para los criterios microbiológicos, los microorganismos se agrupan como:

#### ) **Microorganismos indicadores:**

La difícil detección de patógenos debido a su baja concentración y distribución desigual en las muestras de alimentos han requerido el uso de “microorganismos indicadores”. Estos microorganismos y/o sus productos metabólicos cuya presencia en alimentos, dado en niveles determinados, pueden ser usados para evidenciar la calidad microbiana de los alimentos con respecto a la durabilidad del producto o su inocuidad como consecuencia de patógenos transmitidos por alimentos (Millar, 2011).

#### ) **Microorganismos indicadores de alteración**

“Las categorías 1, 2, 3 definen los microorganismos asociados con la vida útil y alteración del producto tales como microorganismos aerobios mesófilos, aerobios mesófilos esporulados, mohos y levaduras, *Lactobacillus*, microorganismos lipolíticos” (MINSAs, 2008).

### ) **Microorganismos indicadores de higiene**

“En las categorías 4, 5, y 6 se encuentran los microorganismos no patógenos que suelen estar asociados a ellos, como coliformes (que para efectos de la presente norma sanitaria se refiere a coliformes totales), Enterobacteriáceas, a excepción de este último en el caso de "Preparaciones en polvo para Lactantes" (MINSA, 2008).

### ) **Microorganismos patógenos**

“Son los que se hallan en las categorías 7 a la 15. Las categorías 7, 8 y 9 corresponde a microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, cuya cantidad en los alimentos condiciona su peligrosidad para causar enfermedades alimentarias. A partir de la categoría 10 corresponde a microorganismos patógenos, tales como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* H7: O157 entre otros patógenos, cuya sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud”, como se visualiza en la Tabla 3 (MINSA, 2008).

**Tabla 3**

*Plan de muestreo para combinaciones de diferente grado de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación*

Grado de importancia y relación con la utilidad y riesgo sanitario	Condiciones esperadas de manipulación y consumo del alimentos o bebida luego del muestreo		
	Grado de peligrosidad reducido	Sin cambio de peligrosidad	Aumento de Peligrosidad
Vida útil y alteración	Aumento de vida útil Categoría 1 3 clases n=5, c=3.	Sin modificación Categoría 2 3 clases n=5, c=2.	Disminución de vida útil Categoría 2 3 clases n=5, c=3.
Indicadores de riesgo bajo indirecto para la salud	Disminución del riesgo Categoría 4 3 clases n=5, c=3.	Sin modificación Categoría 5 3 clases n=5, c=2.	Aumento del riesgo Categoría 6 3 clases n=5, c=1.
Patógenos de riesgo moderado directo, de diseminación limitada.	Categoría 7 3 clases n=5, c=2.	Categoría 8 3 clases n=5, c=1.	Categoría 9 3 clases n=10, c=1.
Patógenos de riesgo moderado directo, de diseminación potencialmente extensa.	Categoría 10 2 clases n=5, c=0.	Categoría 11 2 clases n=10, c=0.	Categoría 12 2 clases n=20, c=0.
Patógenos de riesgo grave directo para la salud.	Categoría 13 2 clases n=15, c=0.	Categoría 14 2 clases n=30, c=0.	Categoría 15 2 clases n=60, c=0.

*Nota.* "n" (minúscula): Número de unidades de muestra requeridas para realizar el análisis, que se eligen separada e independientemente, de acuerdo a normas nacionales o internacionales referidas a alimentos y bebidas apropiadas para fines microbiológicos.

"c". Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o unidades de muestra provisionalmente aceptables en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a "c" se rechaza el lote. MINSA (2008).

## **2.8. Métodos de ensayo microbiológico en la vigilancia sanitaria**

El Laboratorio de Microbiología presta servicios de ensayos microbiológicos de alimentos y aguas de consumo humano, brindando un servicio de ensayos confiables a través de la aplicación de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL). Los métodos de ensayo son seleccionados según la necesidad tecnológica de vigilancia sanitaria, control de calidad o investigación. Según el tipo de estudio, el ensayo microbiológico incluye (MINSA, 2008):

- ✓ Recuento del número total de microorganismos.
- ✓ Recuento del número de microorganismos indicadores.
- ✓ Detección de patógenos específicos.

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1. Material biológico

- ) Muestras de carne molida de res de los diferentes puestos del mercado Ciudad Nueva.

##### 3.1.2. Material de vidrio y otros

- ) Matraz de 250 ml, 500 ml
- ) Placas Petri 10 x 100 mm
- ) Tubos de ensayo de 15 x 125 mm
- ) Vaso de precipitación de 250, 500 ml
- ) Probeta de 100 ml
- ) Lámina portaobjeto
- ) Embudo de vidrio.
- ) Puntas desechables azules 1000 ml
- ) Espátula
- ) Bagueta
- ) Asa de Kolle
- ) Pinza punta plana

) Gradilla para tubos

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

) Agua peptonada tamponada

) Caldo Brilla

) Agar para recuento (PCA)

) Agar Hierro Tres Azúcares (Agar TSI)

) Agar Urea

) Medio L-Lisina Descarboxilasa

) Agar Nutritivo Semisólido

) Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)

) Medio de cultivo RM – VP

) Alcohol etílico de 70°

) Alcohol yodado

) Agua destilada

) Set de colorantes para la tinción Gram

) Reactivo para Voges Proskauer (VP)

) Reactivo para la detección del Indol (Reactivo de Kovac)

) Solución Salina Fisiológica

### **3.1.4. Equipos**

- ) Autoclave
- ) Balanza analítica
- ) Estufa de incubación
- ) Mechero Bunsen
- ) Refrigeradora
- ) Microscopio
- ) Micropipeta

## **3.2. Población y muestra**

### **3.2.1. Población**

La población estuvo compuesta por todos los puestos que venden carne molida en el mercado Ciudad Nueva, siendo exactamente cinco puestos. Se recolectaron un total de 45 en un tiempo de 3 meses.

### **3.2.2. Muestra**

De cinco puntos de venta de carne molida se realizó tres muestreos por mes en un periodo de tres meses (septiembre – noviembre) haciendo un total de 45 muestras, de cada punto

de muestreo se compró 100 g de los cuales sólo 25 g se usaron para realizar los ensayos microbiológicos.

Las muestras de carne molida fueron sometidas a una evaluación de acuerdo a la Norma Técnica Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano NTS N°071-MINSA, 2008.

- Criterio de inclusión: Carne molida de res tomada al azar por el propio vendedor y comercializada en ese estado.
- Criterio de exclusión: Carne en trozos, pulpa de carne, carne con huesos o carne molida de otras especies.

### **3.3. Tipo y diseño de la investigación**

#### **3.3.1. Tipo de investigación**

La investigación fue de tipo básico, ya que el enfoque estuvo dirigido a la evaluación de la calidad microbiológica de la carne molida de res expendida en el mercado Ciudad Nueva.

### **3.3.2. Diseño de la investigación**

Se usó un diseño no experimental descriptivo, de corte transversal, porque el muestreo se realizó en un tiempo determinado.

### **3.3.3. Variables y operacionalización**

Variables independientes: Agentes microbianos de la carne molida de res.

Variables dependientes: Calidad microbiológica.

**Tabla 4***Operacionalización de las variables*

TIPO DE VARIABLES	VARIABLES	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Unidad de medida														
INDEPENDIENTE	AGENTES MICROBIANOS DE LA CARNE MOLIDA DE RES	Son los microorganismos de vida útil, indicadores y patógenos	Se refiere a la aceptabilidad o rechazo de la muestra de carne, que en este caso solo se analizó carne molida de res.																
DEPENDIENTE	CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE MOLIDA DE RES	Conjunto de requisitos microbiológicos que debe reunir la carne molida de res para que pueda ser considerado apto para el consumo humano.	Se refiere a la aceptabilidad o rechazo de la muestra de carne molida de res, por su grado de contaminación microbiano de acuerdo a la Norma Técnica de Salud N°071.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Agente microbiano</th> <th>Límite por g</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td><b>M</b></td> </tr> <tr> <td>Aerobios Mesófilos (30°C)</td> <td>10<sup>7</sup></td> </tr> <tr> <td><i>Escherichia coli</i></td> <td>5x10<sup>2</sup></td> </tr> <tr> <td><i>Staphylococcus aureus</i></td> <td>10<sup>3</sup></td> </tr> <tr> <td><i>Salmonella sp.</i></td> <td>Ausencia/25 g</td> </tr> <tr> <td><i>Escherichia coli</i> 0157:H7</td> <td>Ausencia/25 g</td> </tr> </tbody> </table>	Agente microbiano	Límite por g		<b>M</b>	Aerobios Mesófilos (30°C)	10 <sup>7</sup>	<i>Escherichia coli</i>	5x10 <sup>2</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>3</sup>	<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia/25 g	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Ausencia/25 g	
Agente microbiano	Límite por g																		
	<b>M</b>																		
Aerobios Mesófilos (30°C)	10 <sup>7</sup>																		
<i>Escherichia coli</i>	5x10 <sup>2</sup>																		
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>3</sup>																		
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia/25 g																		
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Ausencia/25 g																		

### **3.4. Área de estudio**

El presente trabajo se realizó en el mercado Ciudad Nueva de la ciudad de Tacna, en el cual se comercializa diferentes productos alimenticios (Ver anexos 1 y 2).

En cuanto a la infraestructura, los puestos de venta de carne molida de res son de material noble, piso pulido, con iluminación individual; sin embargo, no tienen servicio de agua potable, por lo cual, almacenan agua en depósitos o contenedores como baldes.

Con respecto a los vendedores y/o manipuladores, no emplean gorros para el cabello ni usan guantes, pero si utilizan un delantal. También poseen congeladoras, tablas de picar, cuchillos, máquinas cortadoras y moledora para los diferentes cortes de carne de res (Ver anexo 3).

### **3.5. Metodología**

#### **3.5.1. Obtención y recolección de la muestra: (ICMSF, 2000)**

Las muestras de carne molida de res fueron obtenidas de los cinco puntos de venta donde se realizó tres muestreos por mes en un periodo de tres meses (septiembre – noviembre) haciendo un total de 45 muestras, de cada punto de muestreo se compró 100 g

de los cuales sólo 25 g se usaron para realizar los ensayos microbiológicos.

Para su transporte, se utilizó bolsas de polietileno de primer uso, las muestras fueron introducidas en una caja isotérmica (cooler) con bolsas de gel refrigerante, para evitar la reproducción microbiana.

Las muestras fueron codificadas, etiquetadas y transportadas al Laboratorio de Microbiología de la E.A.P. de Biología – Microbiología, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna, para su inmediato análisis microbiológico (ver Anexo 4).

### **3.5.2. Recuento de coliformes: Técnica del Número Más Probable, NMP (ICMSF, 2000)**

#### **Preparación de la muestra**

) Se pesó 25 gramos de la muestra con cubiertos estériles y se adicionó 225 mL de agua peptonada al 0,1 %, se homogeneizó en Stomacher a 3500 r.p.m. por un lapso de tiempo de 1 a 2 minutos y luego se dejó en reposo de 2 - 3 minutos.

- ) Se realizaron 2 diluciones decimales más usando tubos con 9,0 mL de agua peptonada al 0,1 %.

### **Prueba presuntiva**

- ) Se añadió 1,0 mL de la dilución  $10^{-1}$  g/mL a cada uno de 3 tubos con 10,0 mL de caldo lauril sulfato de sodio.
- ) Se añadió 1,0 mL de las diluciones  $10^{-2}$  g/mL y  $10^{-3}$  g/mL a dos series de 3 tubos cada una con caldo lauril sulfato de sodio.
- ) Se incubaron los tubos a 35 - 37 °C durante 24 - 48 horas.
- ) Se registró como positivos todos los tubos en donde se observó crecimiento y producción de gas después de un período de incubación de 24 a 48 h.

### **Prueba confirmativa de microorganismos coliformes totales**

- ) Se transfirió de 2 a 3 asadas de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva a tubos que contienen caldo de bilis verde brillante (brilla).
- ) Se agitó suavemente los tubos para su homogeneización. Incubar a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 24 a 48 h (Ver Anexo 5).

Los resultados obtenidos se expresaron como recuento de coliformes totales UFC/mL (Ver anexo 6).

### **3.5.3. Recuento estándar en placa de aerobios mesófilos (ICMSF, 2000)**

Se pesó asépticamente 25 g del producto en estudio y se agregó en un matraz con 225 mL que contenía agua peptonada tamponada (dilución  $10^{-1}$ ), para luego homogenizarlo en un Stomacher. A partir de esta, se transfirió 1 mL de la primera dilución a un tubo con 9 mL del diluyente, hasta obtener las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  (ver Anexo 7).

De cada dilución y por duplicado, se pipeteó 1 mL en placas Petri (por duplicado y luego se vertió agar para recuento en placa templado a 44 – 46°C.

Inmediatamente se homogenizó el inóculo con el medio fundido y templado, este procedimiento se realizó de la siguiente manera: (a) se realizó movimientos en la placa de vaivén cinco veces en una dirección, (b) cinco veces en sentido de las agujas del reloj, (c) movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y (d) cinco veces en sentido contrario a las agujas del reloj.

Una vez solidificado el agar, se invirtieron las placas y se incubó a 29 – 31 °C durante  $48 \pm 3$  horas.

Transcurrido este tiempo, se procedió a realizar los cálculos de recuento estándar de las placas correspondientes a una dilución, que presenten entre 30 y 300 colonias, se contó todas las colonias de cada placa hallando la media aritmética y se multiplicó por la inversa de la dilución (Ver anexo 8).

Los resultados obtenidos se expresaron como recuento estándar en placa por gramo del alimento (Ver anexo 9).

#### **3.5.4. Método Horizontal: ISO 6579:2002. Detección de *Salmonella* spp.**

Preenriquecimiento:

- ) Se pesó 25 gramos de la muestra y se adicionó 225 mL de agua peptonada al 0,1 %, se homogeneizó en Stomacher a 3500 r.p.m. por un lapso de tiempo de 1 a 2 minutos y luego se dejó en reposo de 2 - 3 minutos.
- ) Se incubó la muestra homogénea a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  x 24 horas.

Enriquecimiento selectivo:

- ) Se transfirió 1,0 mL del cultivo de preenriquecimiento (con una pipeta de vidrio de 1 mL, estéril) a un tubo con 10,0 mL de medio enriquecido con tetracionato más 0,2 mL de solución

de yodo-yoduro de potasio y 0,1 mL solución de verde brillante al 0,1%.

) Se incubó a  $35 \pm 2$  °C x 24 horas. (Ver anexo 10).

Aislamiento diferencial:

) Se homogenizó el tubo con el medio de enriquecimiento ya incubado.

) Se tomó la muestra del cultivo anterior con asa microbiológica estéril y se sembró en estría por agotamiento en cuadrantes en placas Petri, en el medio selectivo Agar SS.

) Se incubaron las placas ya sembradas en posición invertida a  $35 \pm 2$  °C x 24 h.

) Se observó las características macroscópicas de las colonias en el medio sólido selectivo.

) Se seleccionaron 5 colonias sospechosas de *Salmonella* sp. de cada medio selectivo, de acuerdo con las características específicas de desarrollo en cada uno de los medios, tal como se visualiza en la Tabla 5.

**Tabla 2***Colonias típicas de Salmonella spp. en medios sólidos selectivos*

Medio Selectivo	Color antes de la inoculación	Características coloniales de <i>Salmonella</i> spp
<b>Agar Verde Brillante (VB)</b>	Oscuro, color marrón	Rosas o rojas pueden ser transparentes, rodeadas de medio enrojecido. Las bacterias fermentadoras de lactosa son amarillas.
<b>Agar Sulfito Bismuto (SB)</b>	Opaco, verde pálido	Café, grises o negras; con o sin brillo metálico. Algunas veces presencia de halo café o negro.
<b>Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)</b>	Claro, color rojo brillante	Rosas o rojas pueden ser transparentes, con o sin centro negro. En algunos casos completamente negras.
<b>Agar para <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> SS</b>	Claro, color rosa	Translúcidas en ocasiones opacas. Algunas con centro negro. Las colonias fermentadoras de lactosa son rojas.
<b>Agar entérico Hektöen</b>	Oscuro, color verde	Verdes o azules verdes con o sin centro negro. En algunos casos completamente negras

*Nota.* Camacho et al. (2009)

De cada colonia sospechosa de *Salmonella* spp., de acuerdo a las características morfológicas y culturales, se le realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: Agar TSI, Agar LIA, Caldo Triptonado Indol, Prueba Voges-Proskauer, Prueba de rojo de metilo y Agar Citrato de Simmons (como se visualiza en la siguiente Tabla 6).

Tabla 6

Reacciones bioquímicas de *Salmonella*

Medio	Resultado <sup>a</sup>	Color antes de inocular/incubar	Color después de inocular/incubar
Kligler: Fermentación Glucosa	+	Naranja	Fondo tubo amarillo. Crecimiento
Kligler: Fermentación Lactosa	- <sup>c</sup>	Naranja	Pico de flauta naranja. Crecimiento
Kligler: Producción de H <sub>2</sub> S	+	Naranja	Ennegrecimiento. Crecimiento
Agar LIA: Lisin descarboxilasa	+	Púrpura tenue	Púrpura intensa. Crecimiento
Agar LIA: H <sub>2</sub> S	+	Púrpura tenue	Ennegrecimiento. Crecimiento
Agar LIA: Fermentación Glucosa	+	Púrpura tenue	Fondo tubo amarillo. Crecimiento
Caldo Surraco: Ureasa	-	Rosa mexicano	Rosa-violeta. Crecimiento
Caldo Surraco: Fermentación sacarosa	-	Rosa	Amarillo. Crecimiento
Medio SIM: Movilidad	+ <sup>d</sup>	Amarillo tenue. Semisólido, translúcido	Crecimiento en superficie y picadura, turbiedad/difusión fuera de picadura
Medio SIM: Indol	-	Amarillo tenue. Semisólido, translúcido	Con reactivo Kovac's: Formación de anillo rojo en superficie
Medio SIM: H <sub>2</sub> S	+	Amarillo tenue. Semisólido, translúcido	Ennegrecimiento. Crecimiento
Caldo RMVP: Prueba de rojo de metilo	+	Amarillo tenue, translúcido	Con indicador rojo de metilo: Rojo
Caldo RMVP: Prueba Voges-Proskauer	-	Amarillo tenue, translúcido	Con reactivos VP1 y VP2: Anillo rojizo
Agar Citrato Simmons	V <sup>a+</sup>	Verde	Azul Crecimiento
Caldo malonato	- <sup>c</sup>	Verde	Azul
Caldo manitol rojo fenol	+	Rojo	Amarillo
Caldo dulcitol rojo fenol	+ <sup>b</sup>	Rojo	Amarillo
Caldo KCN	-	Sin desarrollo	Desarrollo
Caldo manitol rojo fenol	+	Rojo	Amarillo
<b>Observación microscópica</b>		Bacilos cortos Gram-negativos, no esporulados	

Nota. <sup>a</sup> +, 90 % o más positivos en 1 o 2 días; - 90 % o más negativos en 1 o 2 días, v, variable.

<sup>b</sup> La mayoría de los cultivos de *S. arizonae* son negativos.

<sup>c</sup> La mayoría de los cultivos de *S. arizonae* son positivos.

<sup>d</sup> Excepto *S. entérica* serovar Pullorum y *S. entérica* serovar Gallinarum y cepas con flagelos disfuncionales. Camacho et al. (2009).

Informe de resultados:

) Se reportó presencia o ausencia de *Salmonella* spp. en 25,0 g del alimento (Ver Anexo 11).

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Recuento de coliformes totales

En la Tabla 7 se muestra el promedio según el recuento de coliformes totales de las muestras de carne molida de res, por cada puesto de expendio, donde se puede evidenciar que el recuento de coliformes fue mayor en los puestos A, D y E (100 %), en contraste con los puestos B y C (66,67 %).

**Tabla 7**

*Porcentaje promedio del recuento de coliformes totales por establecimiento que expenden carne molida de res en el mercado de Ciudad Nueva*

PUESTO	ACEPTABLE		RECHAZABLE		TOTAL
	Número	%	Número	%	
A	0	0%	9	100%	9
B	3	33,33%	6	66,67%	9
C	3	33,33%	6	66,67%	9
D	0	0%	9	100%	9
E	0	0%	9	100%	9
<b>TOTAL</b>	6	13,33%	39	86,67%	45

#### 4.2. Recuento de coliformes termotolerantes

En la Tabla 8 se puede evidenciar que no se reportó coliformes termotolerantes.

**Tabla 8**

*Promedio del recuento de coliformes termotolerantes por establecimiento que expenden carne molida de res en el mercado de Ciudad Nueva*

PUESTO	ACEPTABLE		RECHAZABLE		TOTAL
	Número	%	Número	%	
A	9	100%	0	0%	9
B	9	100%	0	0%	9
C	9	100%	0	0%	9
D	9	100%	0	0%	9
E	9	100%	0	0%	9
<b>TOTAL</b>	45	100%	0	0%	45

### 4.3. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables

En la Tabla 9 se contempla los resultados obtenidos en los 5 puestos de venta, donde A, C, D y E están por encima del valor máximo permisible (10 UFC/g) establecido por la Norma Técnica de Salud (NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01, ítem X.6) considerándose no aptos para el consumo humano, asimismo, el puesto B, no reportó la presencia de bacterias aerobias mesófilas viables.

**Tabla 9**

*Porcentaje promedio del recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables en carne molida de res de los puestos del mercado de Ciudad Nueva que expenden este producto*

PUESTO	ACEPTABLE		RECHAZABLE		TOTAL
	Número	%	Número	%	
A	6	66,67%	3	33,33%	9
B	9	100%	0	0%	9
C	3	33,33%	6	66,67%	9
D	6	66,67%	3	33,33%	9
E	3	33,33%	6	66,67%	9
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>60%</b>	<b>18</b>	<b>40%</b>	<b>45</b>

#### 4.4. Recuento de *Staphylococcus aureus*

En la Tabla 10 se observa el promedio según el recuento de *Staphylococcus aureus* de las muestras de “carne molida de res”, por cada puesto de expendio. No se evidenció presencia de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla 10**

*Promedio del recuento de Staphylococcus aureus en carne molida de res, de los puestos del mercado de Ciudad Nueva que expenden este producto*

Puesto	ACEPTABLE		RECHAZABLE		TOTAL
	Número	%	Número	%	
A	9	100%	0	0%	9
B	9	100%	0	0%	9
C	9	100%	0	0%	9
D	9	100%	0	0%	9
E	9	100%	0	0%	9
<b>TOTAL</b>	45	100%	0	0%	45

#### 4.5. Investigación de *Salmonella* spp.

En la Tabla 11 se observa el promedio según investigación de *Salmonella* spp. (presencia o ausencia) de las muestras de “carne molida de res”, por cada lugar de expendio, sobre el particular cabe destacar que, en los locales B, C y E se encontró presencia de *Salmonella*, mientras que en los locales A y D, ofrecen un producto aceptable para el consumo humano.

**Tabla 11**

*Promedio de la investigación de Salmonella spp. (ausencia o presencia) por establecimiento que expende carne de res molida en el mercado de Ciudad Nueva.*

PUESTO	AUSENCIA		PRESENCIA		TOTAL
	Número	%	Número	%	
A	9	100%	0	0%	9
B	6	66,67%	3	33,33%	9
C	6	66,67%	3	33,33%	9
D	9	100%	0	0%	9
E	6	66,67%	3	33,33%	9
<b>TOTAL</b>	<b>36</b>	<b>80%</b>	<b>9</b>	<b>20%</b>	<b>45</b>

#### 4.6. Análisis microbiológico de la carne molida de res según los recuentos realizados

En la Tabla 12 se observa una tabla con todos los recuentos y aislamientos (promedio) realizados en el presente estudio, donde se puede destacar que los microorganismos aerobios mesófilos viables son rechazables en un 40 %, y para coliformes totales en un 86,7 %. También se debe mencionar que se presenció *Salmonella* spp. en un 20 % de las muestras analizadas.

**Tabla 12**

*Promedio del análisis microbiológico de la carne molida de res según los recuentos realizados obtenidos de los puestos del mercado de Ciudad Nueva*

	ACEPTABLE	RECHAZABLE
Mesófilos totales	60,0%	40,0%
Coliformes Totales	13,3%	86,7%
Coliformes Termotolerantes	100,0%	0,0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0%	0,0%
<i>Salmonella</i> spp.	80,0%	20,0%

## V. DISCUSIÓN

La carne es un medio que proporciona, por su naturaleza, los nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano, en consecuencia, puede albergar microorganismos perjudiciales provocando enfermedades alimentarias (Adams y Moss, 2011).

En las diversas formas de los productos cárnicos la que está más propensa a una alteración es la carne molida o carne picada, debido a su extensa superficie de contaminación, por su amplia manipulación y porque se encuentra triturada (Pascual y Calderón, 2000).

La piel humana, al no poder desinfectarse tan profundamente constituye un medio de difusión de microorganismos potencialmente importante, tal difusión puede implicar la transferencia microbiana de las manos al alimento o de un alimento a otro (Millar, 2011).

Los análisis microbiológicos realizados en este estudio indican que 39 de 45 muestras analizadas mostraron contaminación por coliformes totales, representando el 86,67 % del total, el cual superó a lo reportado por Moncayo, T. (2019), donde encontró una carga microbiana de coliformes totales entre 3NMP/100 ml, y 7NMP/100 ml y coliformes termotolerantes entre 3NMP/100 ml y 4NMP/100 ml para mercado Modelo y Central respectivamente, reportándose en un 70 % de las muestras

estudiadas, mencionando que la mayoría de los vendedores de carne no terminan de vender sus productos, además no cuentan con buenas condiciones de almacenamiento y no usan delantales, ni guantes, ni gorras o elementos protectores al momento de manipular los alimentos, por lo cual se favorece a una contaminación cruzada (Moncayo, 2019).

No se obtuvieron resultados de coliformes termotolerantes, siendo el 100 % aceptable.

En el recuento de aerobios mesófilos se determinó que el 40,00 % de las muestras (18/45) sobrepasaron el límite máximo permisible (10 ) establecido por la Norma Técnica de Salud (NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01, ítem X.6).

La presencia de aerobios mesófilos en los alimentos indica que estos han estado expuestos a condiciones que favorecen su proliferación (ICMSF, 2000), es indicativo de riesgo de contaminación por la falta de limpieza y desinfección de materiales usados en la comercialización, seguido de la carencia de limpieza de utensilios, que en la mayoría de casos, en la comercialización no utilizan equipos de frío, por lo que, las condiciones ambientales favorecen la proliferación de estas bacterias (Saltos et al., 2019).

Los resultados de la investigación sobre aerobios mesófilos podrían atribuirse a la discontinuada cadena de frío de la carne molida de res almacenado en los puestos de venta (Millar, 2011).

También se relaciona con la existencia de deficiencias en la infraestructura como carecer de agua potable de manera continua, vestimenta incompleta de los manipuladores y falta de buenas prácticas de manipulación e higiene (Nina, 2019).

Respecto a la temperatura, que a pesar de que no fue evaluada, juega un rol muy importante en la proliferación de bacterias patógenas, ya que diversos estudios han revelado que el deterioro de carnes a altas temperaturas se ha debido a microorganismo mesófilos tales como *Escherichia* y *S. aureus* (Millar, 2011).

También se observó que, en la mayoría de puestos de venta de carne molida de res, no mantenían un control de temperatura y muchas veces el producto sobrante se refrigeraba durante la noche y al día siguiente eran expuestos nuevamente en el mostrador de mayólica a temperatura ambiente por un periodo de 8 horas aproximadamente, por lo que estas condiciones permitirían el crecimiento y replicación de las bacterias (Nina, 2019).

En cuanto a *Staphylococcus aureus*, no hubo crecimiento en las muestras estudiadas, tampoco se obtuvieron resultados en la investigación de Moncayo (2019), sin embargo, en este trabajo se realizó *Staphylococcus* coagulasa negativa con 5 muestras positivas en el mercado Modelo y 7 en el mercado Central. Respecto a esto, menciona que la presencia de estas bacterias se encuentra en las manos de los manipuladores y las condiciones higiénico-sanitarias del proceso de faenamiento, transporte y comercialización de la carne.

Respecto a *Salmonella* spp., en el Perú, la vigente Norma Técnica de Salud N°071 – MINSA/DIGESA – V.01. ítem X.6, para carnes crudas picadas y molidas, establece la ausencia de esta bacteria en 25 g de carne molida de res (MINSA, 2008).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, se aisló este germen en 9 de 45 muestras analizadas siendo el 20 % del total, valores superados por Alvarado (2015), donde estuvo presente en cuatro de los cinco mercados muestreados, lo cual demuestra la mala calidad e incumplimiento de las normas sanitarias que exigen la ausencia de *Salmonella* spp. en 25 g de muestra.

## VI. CONCLUSIONES

En la presente investigación desarrollada durante el período septiembre de 2021 a diciembre de 2021 se concluye que:

1. La carne molida de res expendida en el Mercado Ciudad Nueva, del distrito de Ciudad Nueva, presentó contaminación microbiana de riesgo para la salud pública. Del total de muestras analizadas (27/45), el 60 % no cumplió con los parámetros de calidad microbiológica, dado que excedió el límite máximo permisible.
2. Los coliformes totales presentaron un crecimiento en un 86,67 % de muestras analizadas (39/45), esta presencia se puede atribuir a diversos factores como malas condiciones higiénicas del vendedor, utensilios e instalaciones inadecuadas.
3. En el recuento de microorganismos aerobios mesófilos, se determinó que el 40 % de las muestras (18/45) sobrepasaron el límite máximo permisible (10 ) establecido por la Norma Técnica de Salud (NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01, ítem X.6) considerándose no aptos para el consumo humano.
4. *Staphylococcus aureus* no mostró crecimiento en ninguna de las muestras analizadas, según la Norma Técnica de Salud (NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01, X.6) el límite máximo permitido es de  $10^3$ .

5. En la investigación de *Salmonella* spp., se determinó que el 20 % del total de muestras analizadas (9/45) presentaron esta bacteria, siendo no aptos para el consumo, de acuerdo a la Norma Técnica de Salud (NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01, ítem X.6).

## VII. RECOMENDACIONES

- 1) Se recomienda realizar supervisiones constantes de los puestos de ventas de productos cárnicos, respecto de las características organolépticas y la manipulación de los alimentos en los centros de acopio.
- 2) Se sugiere mejorar las instalaciones de los puestos de venta de carne, en el mercado Ciudad Nueva, en cuanto a su infraestructura, así como también mejorar los servicios básicos y el almacenamiento del producto.
- 3) Se propone que la Municipalidad del Distrito de Ciudad Nueva brinde charlas de capacitación a los vendedores de productos cárnicos referente a las buenas prácticas de higiene y manipulación de alimentos.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alcalde, P. (2010). *Calidad*. Ed. Paraninfo S.A Segunda edición. España.

Adams, M. y Moss, M. (2011). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

Alvarado, E. (2015). *Calidad bacteriológica de carne molida que se expende en los mercados del distrito de Trujillo*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Trujillo de Perú]. <https://1library.co/document/ky6vn6oq-calidad-bacteriologica-carne-molida-expende-mercados-distrito-trujillo.html>

Almeida, V. (2008). Salmonella - Concepts and Examples. *Facultad de Medicina Veterinaria/ Universidad Técnica de Lisboa - Faculty of Life Sciences*. Portugal.

Andino F. y Castillo Y. (2010). *Microbiología de alimentos*. <https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>

Boletín Epidemiológico (2022). *Situación epidemiológica de las enfermedades diarreicas agudas en el Perú, SE 40-202*. Vol. 31. Perú

Canadá, B. (2015). *Buenas prácticas en el manejo de carne de res molida*. Canada Beef Latinoamerica. <http://www.canadabeef.mx/buenas-practicas-en-el-manejode-carne-de-resmolida/>

Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serran, B., & Velazquez, O. (2009). *Técnicas para el análisis Microbiológico de Alimentos*. (2da. ed.). México D.F.: Comité editorial de la Facultad de Química, UNAM-UAM. <https://docplayer.es/66963795-Tecnicas-para-el-analisis-microbiologico-de-alimentos-segunda-edicion.html>

Comisión Venezolana de Normas Industriales Ministerio De Fomento (COVENIN 2301-85) (1985). *Norma Venezolana, Carne Molida* [Archivo PDF]. <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2301-85.pdf>

Chavez P., Santivañez K. (2015). Determinación de la calidad microbiológica de carne de vacuno comercializada en el mercado modelo de Huancayo. septiembre - noviembre 2015. *Rev. Cient. Fac. Farmacia y Bioquímica*, Vol. 2(1),1 - 9.

Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) (02 de julio de 2001). *Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos*. [Archivo de PDF]. [http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61\\_MAN.ANA.MICROB.pdf](http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61_MAN.ANA.MICROB.pdf)

Doyle, M., Beuchat, L., y Montville, T. (2001). *Microbiología de los alimentos: Fundamentos y fronteras*. Zaragoza, España: Acribia S.A.

Espinales, K. (2012). *Análisis microbiológico para control cualitativo de carne ovina y caprina, seca y salada*. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico de Braganca]. <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/8729>

Fernández, W. (2012). *Determinación de Escherichia coli por los métodos de placas Petrifilm y Agar Mac Conkey en presas de pollo*

*seleccionadas (pechugas) que se comercializan en la ciudad de Loja.*  
[Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja]  
<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/5412>

Food and Agriculture Organization (FAO) (2015). Carne y productos cárnicos. *Organización de las Naciones Unidas.*  
<https://www.fao.org/agriculture/animal-production-and-health/en/>

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2016). *Carne y productos cárnicos.* <https://www.fao.org/agriculture/animal-production-and-health/en/>

Frazier W. y Wethoff D. (1993). *Microbiología de los Alimentos.* Cuarta edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España

Franco, P., Ramírez, L., Orozco, M. y López, L. (2013). Determinación de *Escherichia coli* e identificación del serotipo o157:H7 en carne de cerdo comercializada en los principales supermercados de la ciudad de Cartagena. *Revista Scielo.* Vol. 10(1), 91-100.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v10n1/v10n1a09.pdf>

Galué, A. & Cáceres K. (2018). Análisis Microbiológico de carne molida de diferentes puntos de venta ubicados en Santa Barbara de Zulia – Estado Zulia – Venezuela. *Revista Electrónica Conocimiento Libre y Licenciamiento (CLIC), Mérida – Venezuela.*  
<https://convite.cenditel.gob.ve/revistacliv/index.php/revistacliv/article/view/925/891>

Galván A., Rosales A. y Días J. (2011). Estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida proveniente de una

cadena de supermercados y mercados en el Municipio de Ecatepec.  
*Revista Nacameh. Vol 5(1).*  
[http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v5n1/Nacameh\\_v5n1\\_001Galvan-etal.pdf](http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v5n1/Nacameh_v5n1_001Galvan-etal.pdf)

González, T. & Rojas, R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: Prevención y Diagnóstico. *Rev. Scielo. Vol. 47(5), 388- 389*

International Commission on Microbiological Specifications for foods (I.C.M.S.F) (2000). *Microbiología de los alimentos. Vol. 1: Su significado y métodos de enumeración. 2 da Edición. Editorial Acribia, S.A – Zaragoza (España).*

International Commission on Microbiological Specifications for foods (I.C.M.S.F) (2002). *Microorganismos de los alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.*

Jara, H. (2016). *Análisis microbiológico de las carnes molidas expandidas en el mercado la Condamine de la Ciudad de Riobamba.* [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4977>

Jiménez, M. Chaidez, C. y León, J. (2012). Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. *Revista Scielo. Vol. 43(4), 273 - 284.*  
<https://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v43n4/v43n4a2.pdf>

Loayza, S. (2011). *Control de calidad de la carne de bovino en el mercado municipal de la ciudad de Piñas, Provincia de El Loro, Ecuador*. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/5387>

Ministerio de Salud (MINSa) (2020). *Boletín Epidemiológico del Perú. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades*. <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2020/01.pdf>

MINSa (Ministerio de Salud del Perú) (2003). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (RM 615-2003 SA/DM)*. Informe. Lima, PE.

MINSa (Ministerio de Salud del Perú) (2008). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (RM 591-2008/MINSa)*. Informe. Lima, PE.

Millar, D. (2011). *Calidad Microbiológica de carne molida comercializada en carnicerías y supermercados de la ciudad de Valdivia* [Tesis de pregrado, Universidad Austral de Chile]. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2011/fvm645c/doc/fvm645c.pdf>

Moncayo de Freitas, T. (2019). *Calidad bacteriológica de carne molida que se comercializan en los mercados del distrito de Iquitos* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana]. <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6345>

Moreno, M., & Alarcón, A. (2015). Higiene alimentaria para la prevención de trastornos digestivos infecciosos y por toxinas. *Revista Médica Clínica Las Condes*. Vol. 27. Condes, Chile. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864010705964>

NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. (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.”

Nina, M. (2019). *Calidad microbiológica de la carne de pollo expendida en el Mercado Mayorista Miguel Grau del distrito de Tacna*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3872>

Organización Mundial de la Salud (2017). *Inocuidad de los alimentos*. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

Organización Mundial de la Salud (2022). *Enfermedades diarreicas*. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.

Pacombia, E. (2017). *Identificación de Escherichia coli en carnes molidas de res comercializados en los principales mercados del distrito de Tacna, julio a septiembre 2016*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/2356>

- Pascual, M. y Calderón, V. (2000). *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas*. Segunda edición. España: Editorial Díaz de Santos.
- Palacios, C. (2018). *Condición Higiénico-Sanitaria de la carne molida de res comercializada en el mercado modelo de Piura*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Piura]. [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUMP\\_966efcad1a4e8574fd1a1145c1f8d372/Details](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUMP_966efcad1a4e8574fd1a1145c1f8d372/Details)
- Rojas, M. (2000). *Calidad sanitaria de carne molida de res que se expende en cuatro municipios del área metropolitana de Nuevo León* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, México]. Repositorio Académico digital, UANL. <http://eprints.uanl.mx/22838/>
- Ruiz, M., Padola, N., Leotta, G., Colello, R., Passucci, J., Rodriguez, E., Fernández, D., Krüger, A., Sanz, M., Elichiribehety, E. & Etcheverría, A. (2020). Calidad microbiológica de la carne picada y detección de patógenos en muestras ambientales de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina, evaluó las condiciones higiénico-sanitarias de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires. *Revista Argentina de Microbiología*. Vol 54, 215-219. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1407193>
- Santivañez, K. (2015). *Determinación de la calidad microbiológica de carne molida de vacuno comercializada en el mercado modelo de Huancayo, setiembre – noviembre 2015*. [Artículo de revista] <https://es.scribd.com/doc/293756962/Re-Vista>

Saltos, J., Márquez B., Y., & Bermúdez D. (2019). Calidad microbiológica de la carne de res comercializada en la ciudad de Calceta. *Revista Espamciencia para el Agro*, 10(2), 63 - 70. [http://revistasepam.espam.edu.ec/index.php/Revista\\_ESPAMCIENCIA/article/view/196/206](http://revistasepam.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/196/206)

SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú) (07 de julio de 2021). *Guías de higiene en mataderos de animales de abasto*. Informe. Lima - Perú. <https://www.gob.pe/institucion/senasa/informes-publicaciones/2012227-guias-de-higiene-en-mataderos-de-animales-de-abasto>

Tijerina, L. (2014). *Validación de un método basado en filtración por membrana para la detección de patógenos bacterianos en melón, Cucumis melo (L., 1753) y chile jalapeño, Capsicum annuum (L., 1753)* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, México]. <https://cd.dgb.uanl.mx/handle/201504211/5836>

Vieira-Pinto, M. (2008). *Salmonella - Food safety perspectives. Concepts and Examples*. Facultad de Medicina Veterinaria / Universidad Técnica de Lisboa. Portugal.

## IX. ANEXOS

### Anexo 1

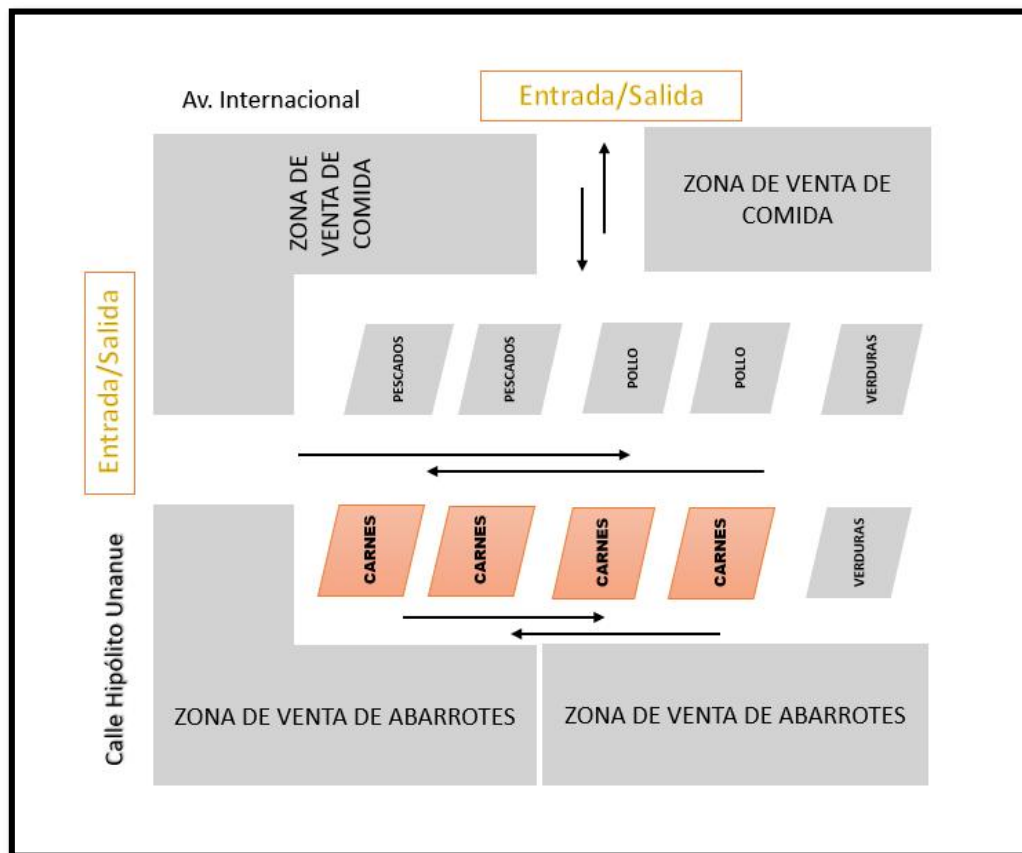
#### Ubicación satelital del mercado Ciudad Nueva de Tacna



Nota: Google Earth (2022)

## Anexo 2

## Zonas de expendio de carnes en el mercado Ciudad Nueva de Tacna



## Anexo 3

**Comercialización de la carne molida de res en el mercado Ciudad Nueva de Tacna**

#### Anexo 4

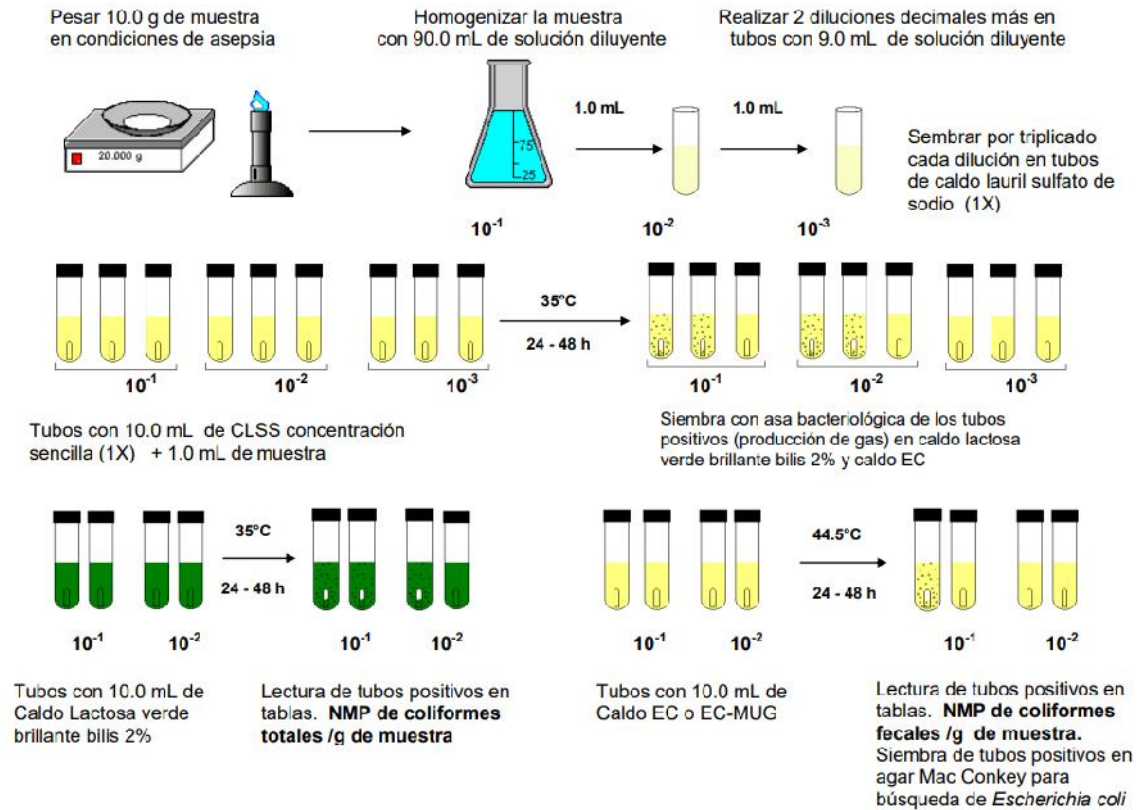
**Modelo del etiquetado de muestras de carne molida de res  
expendido en el mercado Ciudad Nueva, Tacna.**

<b>Código de muestra:</b>
<b>Número de puesto:</b>
<b>Fecha:</b>
<b>Hora:</b>
<b>Nombre y firma del recolector:</b>



## Anexo 5

## Determinación del NMP de coliformes en alimentos

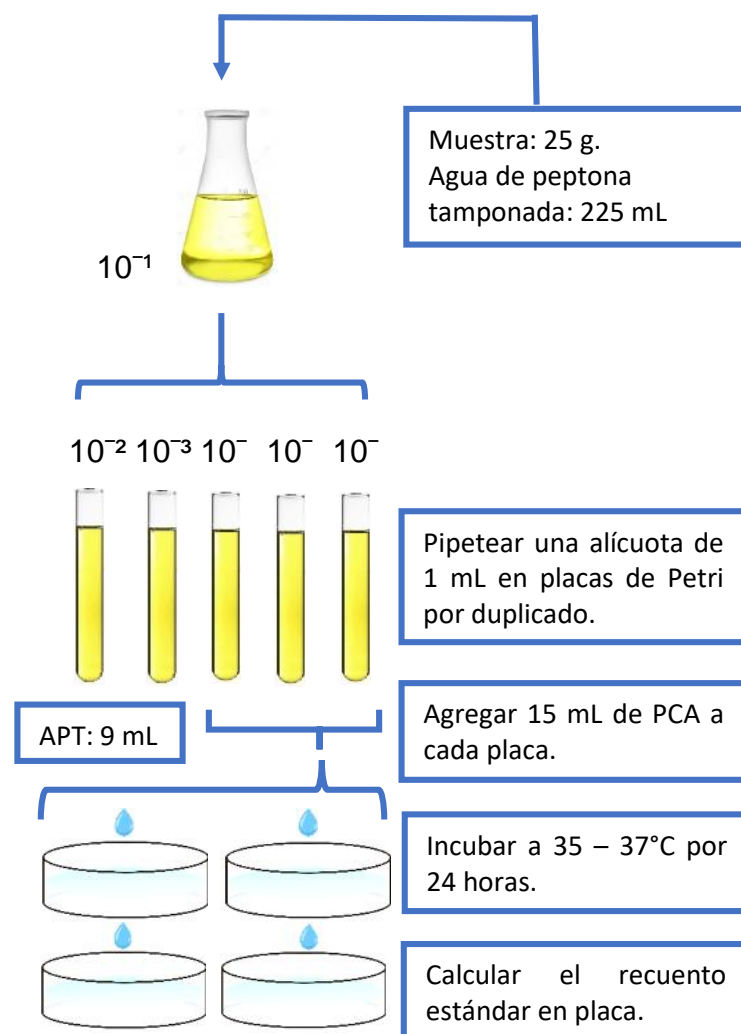


Nota: Camacho et al. (2009)

## Anexo 6

## Recuento de coliformes totales (ufc/ml)

PUESTO	MUESTRA	RECuento DE COLIFORMES TOTALES (ufc/ml)	CONCLUSIÓN
PTO 1	MTA 1	460	No apto
	MTA 2	240	No apto
	MTA 3	460	No apto
	MTA 4	2400	No apto
	MTA 5	2400	No apto
	MTA 6	1100	No apto
	MTA 7	3	No apto
	MTA 8	3	No apto
	MTA 9	4	No apto
PTO 2	MTA 1	1100	No apto
	MTA 2	460	No apto
	MTA 3	1100	No apto
	MTA 4	2400	No apto
	MTA 5	2400	No apto
	MTA 6	1100	No apto
	MTA 7	<3	Apto
	MTA 8	<3	Apto
	MTA 9	<3	Apto
PTO 3	MTA 1	210	No apto
	MTA 2	240	No apto
	MTA 3	210	No apto
	MTA 4	240	No apto
	MTA 5	150	No apto
	MTA 6	150	No apto
	MTA 7	<3	Apto
	MTA 8	<3	Apto
	MTA 9	<3	Apto
PTO 4	MTA 1	15	No apto
	MTA 2	14	No apto
	MTA 3	14	No apto
	MTA 4	150	No apto
	MTA 5	150	No apto
	MTA 6	93	No apto
	MTA 7	43	No apto
	MTA 8	43	No apto
	MTA 9	43	No apto
PTO 5	MTA 1	2400	No apto
	MTA 2	2400	No apto
	MTA 3	1100	No apto
	MTA 4	1100	No apto
	MTA 5	1100	No apto
	MTA 6	1100	No apto
	MTA 7	14	No apto
	MTA 8	14	No apto
	MTA 9	20	No apto

**Anexo 7****Esquema del método de Recuento Estándar en Placa de aerobios mesófilos**

*Nota:* Elaboración propia con datos extraídos de ICMSF (2000)

## Anexo 8

### Método de recuento estándar en placa de aerobios mesófilos a partir de las muestras de carne molida de res



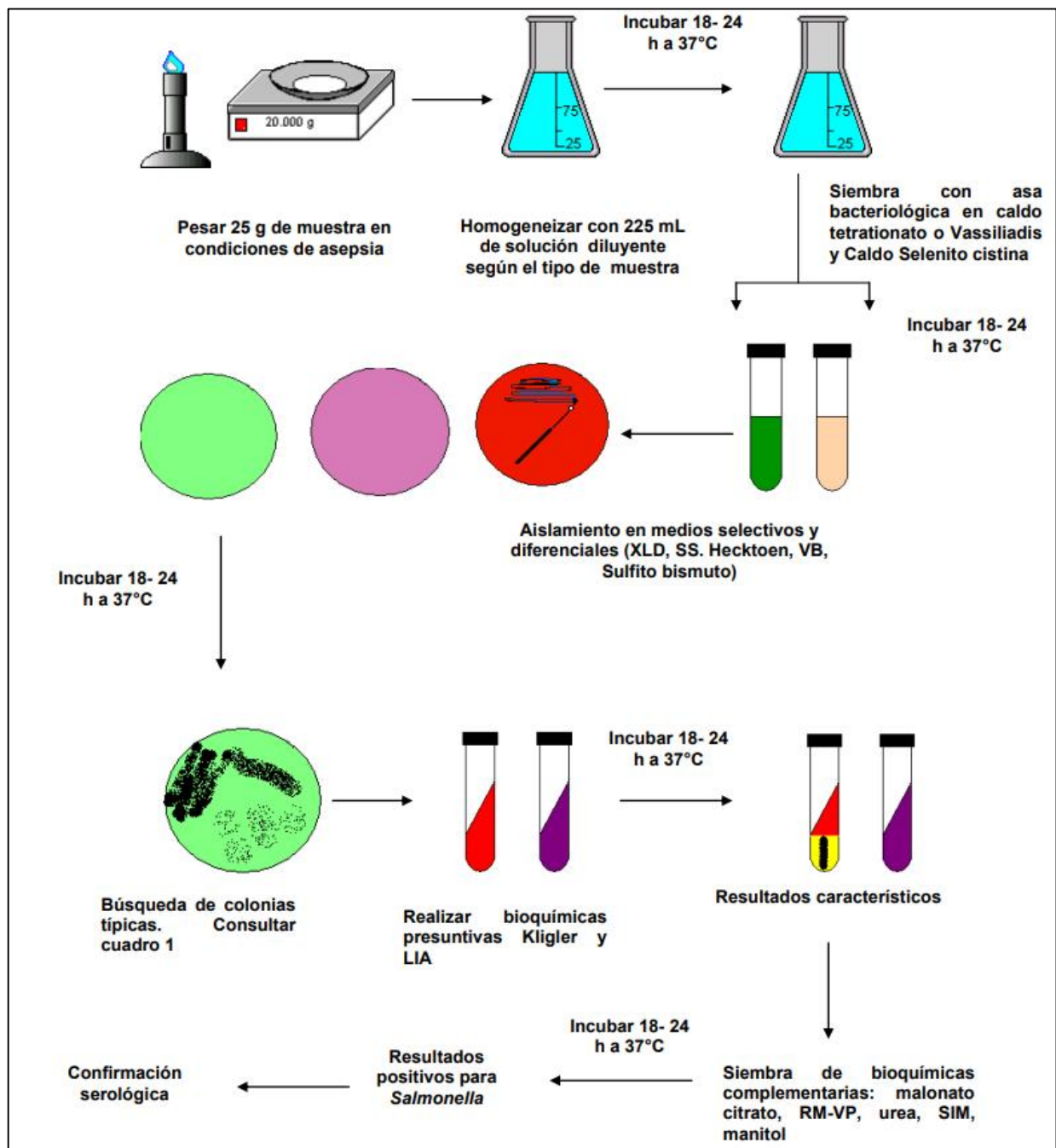
Donde: (A) Pesado de la muestra, (B) agua peptonada con muestra, (C) dilución seriada, (D) inóculo con PCA fundido y (E) empaquetado.

## Anexo 9

### Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables

PUESTO	MUESTRA	RECUESTO DE AEROBIOS MESÓFILOS	LÍMITE POR g SEGÚN NORMA TÉCNICA	CONCLUSIÓN
PTO 1	MTA 1	$5,1 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 2	$5,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 3	$5,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 4	$1,2 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 5	$1,1 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 6	$1,1 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 7	$6,7 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 8	$6,7 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 9	$6,5 \times 10^5$	$10^7$	Apto
PTO 2	MTA 1	$3,8 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 2	$3,8 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 3	$3,7 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 4	$6,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 5	$6,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 6	$6,3 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 7	$6,1 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 8	$6,3 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 9	$6,1 \times 10^5$	$10^7$	Apto
PTO 3	MTA 1	$1,4 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 2	$1,4 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 3	$1,5 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 4	$1,5 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 5	$1,5 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 6	$1,6 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 7	$8,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 8	$8,3 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 9	$8,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
PTO 4	MTA 1	$4,5 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 2	$4,5 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 3	$4,7 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 4	$1,7 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 5	$1,7 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 6	$1,8 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 7	$5,1 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 8	$5,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 9	$5,2 \times 10^5$	$10^7$	Apto
PTO 5	MTA 1	$5,3 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 2	$5,2 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 3	$5,2 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 4	$6,7 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 5	$6,7 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 6	$6,5 \times 10^5$	$10^7$	Apto
	MTA 7	$1,1 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 8	$1,1 \times 10^6$	$10^7$	No apto
	MTA 9	$1,1 \times 10^6$	$10^7$	No apto

## Anexo 10

Determinación de *Salmonella* spp.

Nota: Camacho et al. (2009)

## Anexo 11

Investigación (presencia/ausencia) de *Salmonella* spp.

PUESTO	MUESTRA	Investigación de <i>Salmonella</i>	Límite por mL según N.T.S. N° 071-MINSA/DIGESA-V.01	CONCLUSIÓN
PTO 1	MTA 1	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 2	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 3	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 4	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 5	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 6	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 7	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 8	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 9	X	AUSENCIA	AUSENCIA
PTO 2	MTA 1	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 2	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 3	X	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 4	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 5	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 6	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 7	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 8	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 9	X	AUSENCIA	AUSENCIA
PTO 3	MTA 1	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 2	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 3	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 4	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 5	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 6	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 7	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 8	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 9	X	AUSENCIA	AUSENCIA
PTO 4	MTA 1	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 2	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 3	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 4	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 5	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 6	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 7	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 8	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 9	X	AUSENCIA	AUSENCIA
PTO 5	MTA 1	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 2	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 3	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 4	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 5	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 6	v	AUSENCIA	PRESENCIA
	MTA 7	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 8	X	AUSENCIA	AUSENCIA
	MTA 9	X	AUSENCIA	AUSENCIA



.....  
Dr. César Julio Cáceda Quiroz

ASESOR



.....  
Bach. Pascuala Sofía Calisaya Chipana

TESISTA