

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Profesional de Biología - Microbiología**

**“Incidencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna– 2015.”**

**TESIS**

Presentada por:

Bach. MAGALY FLORES ARRATIA

**Para optar el Título Profesional de:**

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

**TACNA-PERÚ**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA  
FACULTAD DE CIENCIAS**

**TESIS N° 271**

**TÍTULO PROFESIONAL DE:  
BIÓLOGO – MICROBIÓLOGO**

El Secretario Académico de la Facultad de Ciencias, certifica que mediante la resolución de la Facultad N° N° 8416-2016-FACI/UNJBG se ha designado como jurado calificador para la sustentación de la tesis: "Incidencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna – 2015", conformado por:

<b>PRESIDENTE:</b>	Mgr. Daladier Miguel Castillo Cotrina
<b>SECRETARIO:</b>	Mgr. Soledad Amparo Bornas Acosta
<b>VOCAL:</b>	Mblgo. Luis Lloja Lozano


Quienes calificaron el trabajo de tesis sustentado en acto público el día 06 de Abril del 2016, a las 15:00 horas, por la Bachiller MAGALY FLORES ARRATIA, de la Escuela Académico Profesional de Biología – Microbiología, para optar el título profesional de Biólogo - Microbiólogo.


El jurado calificador en forma secreta e individual, se pronunció sobre el calificativo del trabajo expuesto, procediendo a emitir el siguiente resultado:

Aprobado por unanimidad con la nota de 15 (QUINCE).

Para ratificar firma:

  
.....  
Mgr. Daladier Miguel Castillo Cotrina  
PRESIDENTE

  
.....  
Mgr. Soledad Amparo Bornas Acosta  
SECRETARIO

  
.....  
Mblgo. Luis Lloja Lozano  
VOCAL

## DEDICATORIA

La presente tesis la quiero dedicar con todo mi amor y cariño a todos los que hicieron posible lograr este éxito; a **Dios**, por quererme inmensamente como solo Él puede comprender; a mi Madre **Doña Elena** por ser mi mejor amiga, mi confidente y mi soporte en los momentos más difíciles que me han tocado vivir, a mi Padre **Don Julio César**, por enseñarme que todo en la vida se logra con estudio y perseverancia, y a mi abuelita **Bárbara Cristina (+)**, que me apoyo desde antes que ingresara a la universidad hasta sus últimos días con nosotros, por cuidarme y acompañarme en cada paso que doy, por aconsejarme aun después de su partida.

A ustedes les dedico mi éxito de lograr la meta más importante en mi vida, por permitirme culminar satisfactoriamente mi carrera profesional y estar siempre a mi lado apoyándome en todo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme la oportunidad de seguir adelante, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

A mis padres; Julio César y Elena, por haberme dado la vida, por su amor, comprensión, motivación y preocupación en todo momento, impulsándome a lograr mis sueños y anhelos.

A mi asesor de tesis Dr. César Cáceda Quiroz que me apoyo y exigió en la culminación pronta de la tesis, por sus enseñanzas y sus consejos.

Al Blgo. Mblgo. Edwin Obando que me apoyo en la ejecución de la tesis, por sus enseñanzas, apoyo, colaboración y paciencia.

A mis amigos Mery, Mara, Alexis y Freeman que me apoyaron durante todo el trayecto de la tesis.

A José Ávila que me ayudo con la comprensión estadística de la tesis.

A Oscar Martínez, que me impulso en la elaboración de la presente tesis, por su apoyo en la ejecución y culminación de la misma. Por brindarme su apoyo y sabios consejos para mi vida profesional y personal.

## CONTENIDO

	<b>PÁG.</b>
RESUMEN .....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema .....	5
1.2. Enunciado del problema .....	5
1.3. Delimitación del problema.....	5
1.4. Hipótesis.....	7
1.5. Objetivos .....	8
1.6. Marco teórico.....	9
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
2.1. Material de vidrio y otros.....	25
2.2. Tipo de estudio .....	27
2.3. Variables de estudio .....	27
2.4. Área de estudio .....	28
2.5. Muestra o material de estudio.....	29
2.6. Tamaño de muestra y muestreo .....	29
2.7. Obtención y recolección de la muestra .....	30
2.8. Metodología de laboratorio .....	31
2.8.1. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	31
a. PREPARACIÓN DE LA DILUCIÓN MADRE .....	31
b. SISTEMA DE RECuento 3M™ PETRIFILM™ STAPH EXPRESS. 31	31
c. APLICACIÓN DEL DISCO CONFIRMATORIO PETRIFILM STAPH EXPRESS .....	33
d. PRUEBA DE LA COAGULASA APLICADA AL SISTEMA DE RECuento 3M™ PETRIFILM™ STAPH EXPRESS .....	33
2.8.2. METODOLOGÍA PARA EVALUAR LAS CONDICIONES HIGIÉNICO- SANITARIAS .....	34
III. RESULTADOS .....	37

3.1.	EVALUACIÓN DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	37
3.2.	EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES HIGIÉNICO-SANITARIAS	50
IV.	DISCUSIÓN.....	67
V.	CONCLUSIONES.....	80
VI.	RECOMENDACIONES.....	83
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	85
VIII.	ANEXOS .....	92

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el área de Salud Alimentaria, cuyo objetivo fue determinar si la incidencia del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expandido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna - 2015, excedía el Límite Máximo Permisible establecido según la Norma Técnica Peruana 2002.087 para queso fresco.

El trabajo se realizó efectuando muestreos por duplicado del alimento queso fresco de los 21 puntos de venta de queso de dicho mercado, obteniéndose un total de 42 muestras respectivamente.

El análisis microbiológico del alimento se realizó mediante el sistema de recuento PETRIFILM Staph Express el cual consistió en una placa de recuento Petrifilm Staph Express y un disco Petrifilm Staph Express. Aislándose el microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo ejecutándose en el Laboratorio de Microbiología de la E. A. P. de Biología Microbiología, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.

Por otro lado para determinar las condiciones higiénicas-sanitaria de los puestos de venta y de los vendedores en las que se expando el alimento queso fresco artesanal, se utilizó fichas de cotejo como parte el estudio.

En los resultados obtenidos, el 90.5% de las muestras superan el límite máximo permisible según Norma Técnica Peruana-ITINTEC 202:087, 1982, cuyo valor máximo es hasta  $10^2$  UFC/g; debido a que el promedio del recuento del estudio realizado de las muestras de queso fresco fue de  $(8.7 \times 10^4)$  UFC/g). Se contrasto también los resultados del análisis microbiológico con los valores del análisis de las condiciones higiénicas-sanitaria, de lo cual se obtuvo que ningún puesto y vendedor calificó como “Nivel Bueno” con 0.0%, sin embargo, las condiciones de “Nivel Regular” predominaron con 52.4% frente a las condiciones de “Nivel Malo” con 47.6%.

## I. INTRODUCCIÓN

El queso fresco artesanal es un derivado lácteo ampliamente consumido en el Perú y se expende en una cantidad apreciable en los mercados municipales. En Tacna, la provincia de Candarave es la de mayor producción de queso fresco artesanal, el cual es un alimento muy concurrido en la mesa de familias tacneñas, además de ser en especial el queso proveniente de Candarave el de con mayor elección por los compradores y ser el Mercado Mayorista “Miguel Grau” de la ciudad el Tacna, el mercado con mayor distribución y venta de este alimento derivado lácteo.

Se conoce también que la elaboración de los quesos se realiza de manera tradicional como parte de sus actividades complementarias en diferentes establecimientos ganaderos de la provincia, utilizando metodologías rudimentarias, que se heredan de generación en generación, debido a eso lleva el nombre de “queso fresco artesanal”.

Se conoce que una de las mayores causas de infecciones gastrointestinales estafilocócicas es causada por la bacteria *Staphylococcus aureus* la cual es asociada al consumo del alimento queso fresco, considerándose además que algunos brotes de intoxicación estafilocócicas han sido atribuidos a este alimento derivado lácteo. Sin embargo; los factores

asociados para poder causar brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) son las malas condiciones higiénicas sanitarias en las cuales se expende dicho alimento debido a su elaboración artesanal, ya que la materia prima leche fresca no pasa por ningún tipo de pasteurización y al ser un alimento artesanal, las condiciones de elaboración no cuentan con las medidas de control para asegurar una calidad higiénica sanitarias en su elaboración; sumado a esto las condiciones en las que el alimento es expendido en los puntos de venta, no cuentan con un control adecuado que asegure las condiciones óptimas para su consumo. Lo cual suman factores que acondicionan al crecimiento efectivo de la bacteria *Staphylococcus aureus* en el alimento, siendo de este modo causal de Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) y en especial una enfermedad gastrointestinal estafilocócica o una intoxicación estafilocócica.

Por ello, la presente investigación tiene como finalidad generar información acerca de las condiciones en las que se encuentra el alimento queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en mercado Mayorista Miguel Grau; asimismo, evaluar las condiciones higiénicas sanitarias del alimento mediante la evaluación microbiológica a través el sistema de recuento Petrifilm Staph Express.

### **1.1. Planteamiento del problema**

Uno de los alimentos mayormente relacionado con infecciones gastrointestinales estafilocócicas causado por la bacteria *Staphylococcus aureus* es el queso fresco artesanal, el cual es un derivado lácteo ampliamente consumido en Tacna y se expende en una cantidad apreciable en el Mercado Mayorista Miguel Grau, donde el público consumidor generalmente no conoce la procedencia ni la forma de elaboración, la misma se realiza sin la debida calificación técnica, a ello se suma el desconocimiento de las condiciones higiénicas en las que se expenden el alimento en los puestos de venta. Considerando que algunos brotes de intoxicación estafilocócica han sido atribuidos al consumo de este tipo de alimento se hace la siguiente interrogante

### **1.2. Enunciado del problema**

¿Excederá el Límite Máximo Permisible la incidencia del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna - 2015?

### **1.3. Delimitación del problema**

Desde 1980 la provincia de Candarave inicia la producción sostenida de leche fluida destinada a la fabricación artesanal de queso fresco a escala comercial, año en que se impulsó la producción del llamado “Queso de

Candarave". Asimismo, desde ese año se incrementó su expendio en los principales centros de abastos del mercado de Tacna y las zonas peri-urbanas, debido a que la provincia con mayor producción de queso fresco es la Provincia de Candarave.

El presente trabajo tiene como finalidad evaluar la incidencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave, el cual es expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna, se mediante criterios de análisis microbiológicos para conocer las condiciones higiénica-sanitarias en la que se encuentra el alimento al momento de su venta.

## **1.4. Hipótesis**

### **1.4.1. Hipótesis general**

La incidencia del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en queso fresco artesanal de Candarave expandido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna, excede el Límite Máximo Permisible establecido según la Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087, 1982.

### **1.4.2. Hipótesis específicas**

- Existe diferencia significativa en la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo por zonas de muestreo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expandidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.
  
- Existe correlación directa positiva con alta significancia entre las condiciones higiénico-sanitario de los puestos y vendedores con la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en el alimento queso fresco del Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.

## **1.5. Objetivos**

### **1.5.1. Objetivo general**

Determinar si la incidencia del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna, excede el Límite Máximo Permisible establecido según la Norma Técnica Peruana 2002.087 establecido para queso fresco.

### **1.5.2. Objetivos específicos**

- Evaluar la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.
  
- Comparar la carga microbiana *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo por zonas de muestreo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.
  
- Determinar las condiciones higiénicas-sanitaria de los vendedores y de los puestos de venta en los que se expende el alimento queso fresco artesanal proveniente de candarave en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna

- Establecer el grado de correlación entre las condiciones higiénicas-sanitarias de los puestos y vendedores con la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en el alimento queso fresco artesanal proveniente de Candarave en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.

## **1.6. Marco teórico**

### **1.6.1. Antecedentes**

#### **Antecedentes en Latinoamérica**

En Argentina, en el 2004, un estudio realizado por (Vasek y col, 2004), quienes analizaron 20 muestras de leche cruda de vaca para la elaboración de quesos artesanales, obtuvieron el 44% de las muestras entre  $10^3$  a  $10^4$ UFC/ml de *Staphylococcus aureus*.

En Nicaragua, entre el año 1993 y 2002, se presentaron 719 brotes debido a infección estafilocócica que afectó a 27693 personas de las cuales 3 fallecieron. (MINSA, 2003; OPS/OMS, 2005; OPS, 2001).

En Bolivia, en el año 2008, se reportaron dos brotes de ETAs, uno de ellos afectó a 32 personas y el otro a 486 personas afectadas, ambos asociados a intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus*, el alimento implicado fue leche. (Espada, 2008).

En Colombia, en el 2004, se realizó el trabajo “Evaluación de la calidad higiénico–sanitaria y determinación de las características organolépticas y físico–químicas del queso que se expende en los mercados de la Ciudad de Loja”; (Castillo, 2004). En la investigación se realizó la detección y cuantificación de los microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus* y se determinaron las características organolépticas y físico-químicas del queso que se expende. Concluyéndose que el queso expendido, estaba contaminado en un 65.8% por *Staphylococcus aureus*.

En Chile, entre enero 2011 y octubre 2012, se recibieron 253 cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de 129 muestras para confirmación de enterotoxinas. Un total de 116 cepas provenían de casos de intoxicación alimentaria y 137 provenían de alimentos del programa de vigilancia. En el 44.7% de las cepas se detectaron enterotoxinas; éstas provinieron en un 59% de alimentos involucrados en casos de intoxicación alimentaria y en un 33% del programa de vigilancia. (INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA – CHILE 2011-2012).

En Uruguay, en el 2012, se realizó un trabajo de tesis doctoral denominado “Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura elaborados en la Zona de Colonia, Uruguay”. En dicho trabajo, el 92.8% (n= 77) de las muestras se encontraron por debajo de dicho límite, en relación al recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva según admite como límite

hasta 100 UFC/ml (3 log<sub>10</sub> UFC/ml), resultando aptas según este requisito. (Barneche, 2012).

En Venezuela, en el año 2012, realizaron un trabajo por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), investigación denominada: “Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, Estado Lara, Venezuela”, (Vasquez y col, 2012). Se realizó en muestras de queso fresco elaborado con leche de vaca, las características fisicoquímicas (humedad, pH, actividad de agua-aw) y microbiológicas (aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*) mediante el método de Petrifilm. La calidad microbiológica fue deficiente evidenciada por la cuantificación elevada de *Staphylococcus aureus* ( $119 \times 10^2$  -  $>10$  UFC/g), cuyos valores no cumplen con los niveles establecidos por la norma COVENIN-3821-2003.

### **Antecedentes en Perú**

En Lima, en el año 2001, se realizó una investigación por parte de la Universidad Cayetano Heredia, trabajo que lleva como título “Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp.” En el estudio se halló como resultados los siguientes valores promedio de carga microbiana: bacterias aerobias mesófilas,  $7.1 \geq 10^6$  UFC/g; coliformes totales,  $9.3 \geq 10^2$  NMP/g;

coliformes fecales,  $8.3 \geq 10^2$  NMP/g; *E. coli*,  $2.6 \geq 10^2$  NMP/g; *Staphylococcus aureus*,  $3.1 \geq 10^5$  ufc/g; *E. faecalis*,  $4.6 \geq 10^2$  NMP/g; y *Lactobacillus* spp.,  $1.6 \geq 10^5$  UFC/g. En general, la carga microbiana de 97.4% de las muestras estuvo por encima de los valores máximos permitidos por la Norma Técnica Peruana 202.087 para los diferentes microorganismos o grupos de microorganismos: coliformes totales (74.2% de las muestras), coliformes fecales (58.6%), *E. coli* (28.1%) y *S. aureus* (87.2%). La presencia de *Lactobacillus* spp no impidió la presencia de *Staphylococcus aureus* y *E. faecalis*. Concluyendo que la elevada carga microbiana en las muestras de queso analizadas reflejó deficiencias higiénicas en la manipulación del queso fresco artesanal que se comercializa en los mercados estudiados, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor. (Delgado y col, 2001).

También se realizó en el 2004 el siguiente trabajo: “Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima-Perú”, a cargo del Instituto de Investigación Nutricional, Laboratorio de Microbiología (Lima-Perú), California Polytechnic State University (California, Unitedstate); (Lujan D., Valentín M., Molina M., 2004). Con respecto a la carga microbiana de *Staphylococcus aureus*, en dicho trabajo se analizó en total 30 muestras, de las cuales el 80% presentaron *Staphylococcus aureus* por encima de  $10^2$  UFC/g límite máximo establecido por la NTP 2002.087 para queso fresco.

En Lambayeque, en agosto del 2008, la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo realizó el trabajo denominado: “Análisis Microbiológico de leche, quesos y helados a base de lácteos”, en dicho trabajo se sembró muestra de queso en tres diferentes agares: Agar S-S, Manitol Salado y ENDO. Llegándose a encontrar positividad en el medio ENDO para presencia de coliformes totales y *E. coli* mientras que para *Staphylococcus aureus* en manitol salado, resultó negativo pero sí encontrándose positivo en la muestra de leche, en dicho trabajo solo se evaluó presencia-ausencia por lo cual se concluyó que no se podría determinar con exactitud el microorganismo presente pueda causar enterotoxinas (Díaz y col, 2008).

#### **Antecedentes en el departamento de Tacna**

En el año 1992, en Tacna, se realizó un trabajo sobre el queso elaborado en la provincia de Candarave a cargo del DRST (Dirección de Estadística e Informática y Telecomunicaciones), en donde se logró determinar su calidad Sanitaria e Higiénica; catalogándolo, según normas de ITINTEC, como marginalmente aceptable respecto a coliformes totales ( $1.1 \times 10^4$  UFC/g) y *E. coli* ( $2.1 \times 10^2$  UFC/g) e inaceptable respecto a *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo ( $4.7 \times 10^4$  UFC/g); registrándose además la presencia de microorganismos aerobios mesófilos viables ( $3.0 \times 10^7$  UFC/g) *Clostridium* sulfito reductor (10/g) y hongos ( $2.3 \times 10^3$  UFC/g). (Dirección de Estadística e Informática y Telecomunicaciones – DRST / Sistema de Información HIS, 2000).

En el año 2003 se realizó un trabajo similar en la Facultad de Industrias Alimentarias de la UNJBG, a cargo de la Ing. Liliana Lanchipa Bergamini y de la Ing. Yolanda Sosa Gutierrez, trabajo que llevó como título “Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el distrito de Tacna” obteniéndose como resultados Coliformes totales  $1.1 \times 10^3$  UFC/g, *E. coli*  $2.1 \times 10^2$  UFC/g, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva  $4.7 \times 10^4$  UFC/g, Aerobios mesófilos viables  $3.0 \times 10^5$  UFC/g. La contaminación de los quesos frescos estuvo representada por una elevada carga de los indicadores microbiológicos *Staphylococcus aureus* y *E. coli*; es decir las condiciones higiénico sanitarias de proceso y de personal fueron deficientes. (Lanchipa y Sosa, 2003).

## **1.6.2. Revisión bibliográfica**

### **DEFINICIÓN DE TÉRMINOS**

#### **Incidencia**

Magnitud que cuantifica la dinámica de ocurrencia de un determinado evento en una población dada. (OPS/OMS, 1994).

#### **Higiene de los alimentos**

La higiene alimentaria comprende todas las medidas necesarias para garantizar la inocuidad sanitaria de los alimentos que incluye la manipulación de alimentos de origen vegetal, la cría, comercialización y sacrificio de animales así

como los procesos sanitarios encaminados a prevenir que las bacterias de origen humano lleguen a los alimentos. (OMS, 2000).

### **Inocuidad de los alimentos**

La inocuidad de los alimentos hace referencia a todos los riesgos, sean crónicos o agudos, que pueden hacer que los alimentos sean nocivos para la salud del consumidor, por lo cual engloba acciones encaminadas a garantizar la máxima seguridad posible de los alimentos. Las políticas y actividades que persiguen dicho fin deberán de abarcar toda la cadena alimenticia, desde la producción al consumo incluyendo la venta del producto. (OMS, 2000).

### **Calidad de los alimentos**

El concepto de calidad abarca todos los demás atributos que influyen en el valor de un producto para el consumidor. Engloba, por lo tanto, atributos negativos, como estado de descomposición, contaminación con suciedad, decoloración y olores desagradables, pero también atributos positivos, como origen, color, aroma, textura y métodos de elaboración de los alimentos. La calidad de los alimentos tiene como objeto no sólo las cualidades sensoriales y sanitarias, sino también la trazabilidad de los alimentos durante los procesos industriales que van desde su recolección, hasta su llegada al consumidor final (FAO/OMS, 2012).

### **Control higiénico-sanitario de los alimentos**

Actividad reguladora obligatoria de cumplimiento, realizada por las autoridades nacionales o locales para proteger al consumidor y garantizar que todos los alimentos, durante su producción, manipulación, almacenamiento, elaboración y distribución sean inocuos, sanos y aptos para el consumo humano, cumplan los requisitos de inocuidad y calidad y estén etiquetados de forma objetiva y precisa, de acuerdo con las disposiciones de la ley. Engloba también a los procesos sanitarios de los lugares, estructuras, plantas, etc. Así como materiales, instrumentos y equipos cuya finalidad cuenten con las condiciones necesarias para asegurar la inocuidad de los alimentos en el momento de la preparación y o elaboración. (FAO/OMS, 2012).

### **Calidad sanitaria**

Conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado inocuo para el consumo humano. (DIGESA, 2010).

### **Inspección sanitaria**

Es la evaluación o examen de los alimentos, de los establecimientos de alimentos o de los sistemas de control de las materias primas alimenticias su elaboración y distribución, incluidos los ensayos durante el proceso y el producto

terminado, con el fin de comprobar si se ajusta a los requisitos establecidos en las normas sanitarias. (DIGESA, 2010).

### **Vigilancia sanitaria**

Observaciones y mediciones de parámetros de control sanitario, sistemáticos y continuos que realiza la Autoridad de Salud, a fin de prevenir, identificar, reducir y/o eliminar peligros y riesgos en la cadena alimentaria considerada. (DIGESA, 2010).

### **Alimento apto**

Un alimento es apto cuando cumple con las características de inocuidad, idoneidad y aquellas establecidas en la norma sanitaria aprobada por la Autoridad de Salud. (DIGESA, 2010).

### **Definición de queso**

Es el producto madurado o no, obtenido por coagulación bajo acción del cuajo y /o fermentos lácticos de la leche procesada y /o ácidos orgánicos permitidos. (NORMA TÉCNICA PERUANA – ITINTEC 202:044, 1988).

### **Definición de queso fresco**

Es el producto blando no madurado, obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche ya sea cruda, entera, reconstituida,

recombinada, estandarizada o una mezcla de algunos de estos productos: pasteurizada y que cumple con los requisitos especificados en la Norma correspondiente. (NORMA TÉCNICA PERUANA – ITINTEC 202:044, 1988).

### **Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA)**

Las ETA son enfermedades de transmisión alimentaria producidas por el consumo de alimentos contaminados por agentes biológicos (bacterias, virus, parásitos) o sus toxinas (Roig Sagues, 2004). Estas enfermedades pueden separarse en dos categorías: las intoxicaciones alimentarias resultantes de la ingestión de alimentos que contienen toxinas microbianas y las infecciones alimentarias ocasionadas por una infección resultante de la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos (Madigan y col., 1999). Estos agentes y toxinas llegan a los alimentos por inadecuada manipulación o conservación (Roig Sagues, 2004).

### **Intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus***

La enfermedad estafilocócica transmitida por alimentos, resulta de la ingestión de enterotoxinas termoestables preformadas por una cepa toxigénica de *Staphylococcus aureus* en alimentos (OPS, 2002). La infección es causada por la bacteria *Staphylococcus aureus*, la cual es encontrada en la piel y mucosas de los humanos como parte de la flora normal; sin embargo, si estas bacterias llegan a los alimentos por medio manipulación en condiciones

antihigiénicas o a través de muchas fuentes de contaminación de los manipuladores directos de alimentos pueden causar una ETA.

Cuando esta bacteria se encuentra en cargas superiores a  $10^5$  UFC/g en los alimentos puede contener enterotoxinas y ser origen de intoxicación alimentaria. (NORMA TECNICA PERUANA – INTINTEC, 1982.

Se reconoce la vinculación de malas prácticas higiénico-sanitarias en la preparación de alimentos con la producción de brotes alimentarios, siendo *Staphylococcus aureus* una de las principales causas de intoxicación alimentaria a nivel mundial (Rodriguez y col., 2009).

De acuerdo a Kousta y col. (2010), se considera la tercera causa más importante en el mundo de ETA. Además, las infecciones estafilocócicas de la glándula mamaria del ganado vacuno (mastitis) representa una reserva muy significativa de cepas enterotoxigénicas de *Staphylococcus aureus*.

### **Síntomas característicos de la intoxicación estafilocócica**

Se presentan como náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. Se desarrollan entre 1 y 6 horas después de haber consumido el alimento conteniendo enterotoxinas. Pueden ocurrir otras manifestaciones, como dolor de cabeza y disnea, pero con menor frecuencia. En general los síntomas no

persisten más allá de las 24 horas y en casos severos puede haber deshidratación, originando descompensación electrolítica. Las muertes son raras y pueden ocurrir en ancianos, niños o personas débiles con alguna enfermedad (Díaz y González, 2001).

### **Microorganismos importantes en queso según Norma Técnica Peruana-ITINTEC 202:087, 1982**

La contaminación del queso con patógenos puede ocurrir en varias etapas. A nivel del predio, entre otros: ambiente, ubres infectadas y los operarios. Asimismo, la leche cruda puede ser la causa de ETA en quesos elaborados a partir de la misma. Los microorganismos pueden estar presentes en equipos e instalaciones de las plantas elaboradoras. Las deficientes condiciones sanitarias de producción, almacenamiento, transporte y comercialización de este producto, son causas importantes de contaminación.

Según Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982 los siguientes microorganismos bacterianos coliformes, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* pueden estar presentes en quesos, sin embargo, deberán cumplir ciertos requisitos microbiológicos para ser apto para el consumo humano. Considerándose también que una carga mayor a  $10^5$  UFC/g de *Staphylococcus aureus* en el alimento puede contener enterotoxinas y ser origen de intoxicación alimentaria.

**Tabla 1:** Requisitos microbiológicos para queso

<b>Requisitos</b>	<b>N</b>	<b>m</b>	<b>M</b>	<b>C</b>
Numeración de coliformes	5	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	2
Numeración de <i>Escherichia coli</i>	5	10	10 <sup>2</sup>	1
Numeración de <i>Staphylococcus aureus</i>	5	10	10 <sup>2</sup>	1
Detección de <i>Salmonella</i>	5	Ausencia en 5 g		-

**Fuente:** Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982

**Dónde:**

N = Número de muestras que se deben analizar del lote

m = Valor del recuento que separa la calidad adecuada de la marginal, es decir, de los dudosamente aceptables.

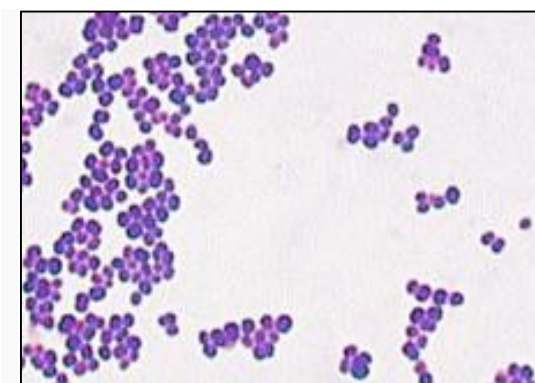
M = Valor del recuento máximo, que si se sobrepasa por cualquiera de las muestras examinadas, hay que rechazar el lote.

c = Número máximo de muestras analizadas que pueden ser clasificadas en la categoría de dudosamente aceptables, antes de que sea rechazado el lote

## MICROORGANISMO *Staphylococcus aureus*

### Morfología

Los integrantes del género *Staphylococcus*, son cocos Gram positivos, de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$  de diámetro, catalasa positivos, inmóvil y no esporulada que se encuentran microscópicamente aislados, en pares, tétradas o formando racimos. Son inmóviles, facultativamente anaerobios, no formadores de esporas, generalmente no capsulados o con limitada formación de cápsula. (Murray, 2009).



**Imagen 01:** Frotis de una muestra que contiene *Staphylococcus aureus* coloreada con la tinción de Gram.

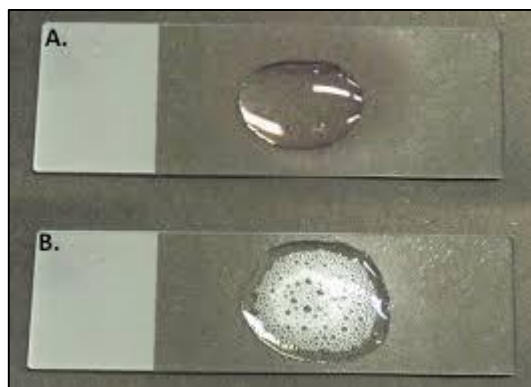
**Fuente:** Microbiología de Brooks. Capítulo 13: *Staphylococcus*.

## PRUEBAS BIOQUÍMICAS

### Catalasa

La catalasa funciona para catalizar la destrucción de peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, y es de utilidad para evitar la formación de radicales tóxicos formados por el sistema de la mieloperoxidasa en las células fagocíticas. La catalasa constituye un blanco para pruebas de identificación bioquímica.

La prueba de la catalasa descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. El desprendimiento de burbujas procedentes del oxígeno indica que la prueba es positiva para diferenciar a *Staphylococcus* y negativa para *Streptococcus*. (Brooks, 2011).



**Imagen 02:** Prueba de la catalasa

**Fuente:** Microbiología de Brooks. Capítulo 13: *Staphylococcus*.

## **Coagulasa**

Coagulasa es un activador de protrombina presente en la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus*, también conocida como factor de agregación y constituye una prueba muy sensible y específica para esta bacteria. Esta proteína representa un importante factor de virulencia. La coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble, la cual tiende a formar depósitos donde los estafilococos pueden agregarse y formar grupos. (Brooks,2011).

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Material de vidrio y otros

- Placas Petri de 10 x 10mm
- Tubos de ensayo de 16 x 150mm
- Micropipeta de 0.1 – 10  $\mu$ l
- Micropipeta de 100 - 1000  $\mu$ l
- Matraces Erlenmeyer de 250ml
- Probeta de 100ml
- Asa de Drigalsky
- Asa bacteriológica
- Cuchillo de acero inoxidable con mango de plástico
- Bolsas estériles para Stomacher
- Tips micropipetas de 0.1 – 10  $\mu$ l
- Tips micropipetas de 100 - 1000  $\mu$ l
- Marcador de vidrio
- Gradilla
- Mecheros
- Algodón
- Papel kraft
- Alcohol 96°
- Ron de quemar

- Fósforos
- Papel aluminio
- Guantes descartables
- Mascarillas descartables
- Gorro protector de cabello descartable

### **Equipos**

- Balanza digital de 100g
- Incubadora de 37°C ± 1
- Vortex
- Stomacher 3600rpm
- Horno para esterilización
- Autoclave
- Refrigeradora

### **Medios de cultivo y reactivos**

- Agua peptonada
- Placas Petrifilm Staph Express
- Discos confirmatorios Petrifilm Staph Express

## **2.2. Tipo de estudio**

El tipo de estudio aplicado para la presente investigación es de tipo no experimental, descriptivo transversal.

## **2.3. Variables de estudio**

### **Variable dependiente**

Incidencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau.

### **Indicadores**

Queso fresco artesanal contaminado por encima del Límite Máximo Permisible para *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo.

Queso fresco artesanal contaminado por debajo del Límite Máximo Permisible para *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo.

### **Variable independiente**

Microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau.

## **Indicadores**

Presencia y recuento del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau.

### **2.4. Área de estudio**

El presente estudio se realizó en el Mercado Mayorista Miguel Grau debido a que es el mercado con mayor distribución y expendio del queso fresco artesanal en la ciudad de Tacna, presenta puestos de venta en zonas de ambientes cerrados rodeados de otros establecimientos donde se comercializa diferentes alimentos, así como espacios abiertos donde se ubican a la intemperie los puestos de venta del alimento rodeados de desechos orgánicos, restos vegetales, entre otros, siendo fuentes de contaminación.

Se realizaron los muestreos clasificándolos por zonas, debido a la ubicación de los puestos de venta, teniendo en total 4 zonas identificadas correctamente de las cuales 2 zonas pertenecen a un área cerrada al interior del mercado y otras 2 zonas a un área abierta ubicadas en los exteriores del mismo. (ANEXO 09).

## **2.5. Muestra o material de estudio**

Los quesos frescos artesanales considerados para el estudio fueron exclusivamente aquellos provenientes de la provincia de Candarave, expendidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau. La toma de muestra se realizó durante los meses de agosto y septiembre del 2015.

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

El tamaño de la muestra que se definió para la investigación fue el total de puestos de venta del Mercado Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna que solo expenden quesos provenientes de Candarave, debido a que en dicho mercado existen puestos que expenden quesos elaborados en otros lugares como: Sama, Ite, Coruca y Palca.

Teniendo en total 21 puestos de venta que cumplieron con estas condiciones específicas para tener un número de muestras representativas se realizó un muestreo por duplicado obteniéndose un total de 42 muestras de queso fresco artesanal proveniente de Candarave. Por lo cual se designó como “primer muestreo” a los 21 muestreos realizados por primera vez en distintas fechas a los 21 puestos de venta seleccionados, y “segundo muestreo” a los otros 21 muestreos realizados por segunda vez en diferentes fechas a los mismos 21 puestos de venta del mercado. Obteniéndose así los 42 muestreos.

Se clasificó las áreas de muestreo en 4 zonas estratégicas debido a la ubicación y características que presentaron, se les denominó como: Zona A, Zona B, Zona C y Zona D respectivamente ubicadas en los planos realizados. (ANEXO 07). La Zona A conto con 4 puestos de venta, la Zona B con 5 puestos de venta, la Zona C con 7 puestos de venta y la Zona D con 5 puestos de venta, haciendo un total 21 puestos de venta.

La toma de muestra se realizó durante los meses de agosto y septiembre del 2015

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

Se compró 100 g de queso el cual fue manipulado por el vendedor del alimento y se recepcionó en bolsas de plástico estériles. Una vez obtenida la muestra se procedió al marcado respectivo indicando el número de muestra, su clasificación y fecha. El muestreo se realizó mediante el corte del área. E inmediatamente se trasladó la muestra a los ambientes del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. (ANEXO 01).

## **2.8. Metodología de laboratorio**

### **2.8.1. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

#### **a. PREPARACIÓN DE LA DILUCIÓN MADRE**

Se pesó 10 g de muestra, se mezcló y homogeneizó con 90ml de un diluyente estéril Agua Peptonada Tamponada usando el Stomacher y bolsas estériles para Stomacher, se transfirió el homogenizado en un matraz estéril y se dejó reposar durante 2 minutos.

De esta manera se obtuvo la dilución madre con una dilución  $10^{-1}$ . Luego se tomó 1ml de la dilución y se transfirió a un tubo conteniendo 9ml del diluyente agua peptonada obteniéndose así la dilución  $10^{-2}$ . De igual manera se procedió para la dilución  $10^{-3}$ . Obteniéndose diluciones seriadas. (Pascual, 1992).

#### **b. SISTEMA DE RECuento PETRIFILM STAPH EXPRESS**

El sistema de recuento PETRIFILM Staph Express consiste en una placa de recuento Petrifilm Staph Express y un disco Petrifilm Staph Express. La placa de recuento Petrifilm Staph Express contiene un sistema de medio de cultivo preparado. El medio cromogénico de Baird-Parker modificado de la placa es selectivo y diferencial para *S. aureus*. En el cual el microorganismo aparece como colonias rojo-violeta en la placa. Otras colonias que no sean de color rojo-violeta también pueden aparecer en la placa. El disco Petrifilm Staph Express ha sido diseñado para la detección de las reacciones de desoxiribonucleasa (DNasa) específicas de *Staphylococcus aureus* aislado en la placa de recuento

Petrifilm Staph Express; contiene azul-O toluidina que facilita la visualización de las reacciones de DNasa. El disco PETRIFILM Staph Express debe de usarse siempre que aparezcan en la placa otras colonias que no sean de color rojo-violeta.

### **Procedimiento**

- Se levantó con cuidado la película superior de la placa Petrifilm Staph Express y se inoculó 1ml de la dilución madre  $10^{-1}$  sobre la placa Petrifilm Staph Express. Dejando caer la película superior con cuidado y evitando la formación de burbujas de aire, se esparció cuidadosamente en forma circular presionando suavemente el disco giratorio de Petrifilm.
- Se llevó a incubación la placa a 35°C durante 24 horas. Cumpliendo el tiempo de incubación se llevó a una segunda temperatura de incubación de 62°C por 1 hora para eliminar las nucleasas que no son termoestables.
- Se realizó el conteo de colonias características, clasificándolas en: colonias confirmadas y colonias dudosamente confirmadas (ANEXO 04).

### **Interpretación**

En la Placa Petrifilm pueden crecer colonias color rojo-violeta pertenecientes a *Staphylococcus aureus*. Colonias color azul-verdosas no son *Staphylococcus aureus* y colonias color negro que pueden pertenecer a *Staphylococcus aureus*. En caso aparezca colonias color negro, se aplica el disco confirmatorio.

**c. APLICACIÓN DEL DISCO CONFIRMATORIO PETRIFILM STAPH EXPRESS**

El disco confirmatorio solo debe aplicarse si en la lectura de las 25 horas después de pasar las dos temperaturas de incubación 35°C y 62°C, se visualizan colonias color negro pertenecientes a colonias dudosamente confirmadas.

**Procedimiento**

- Se levantó la película superior y se colocó el disco de Tnasa con cuidado y dejó caer la película superior.
- Se llevó la placa nuevamente a incubación a 35°C por 1 a 3 horas.
- Contar las colonias confirmadas. (ANEXO 04).

**d. PRUEBA DE LA COAGULASA APLICADA AL SISTEMA DE RECUENTO PETRIFILM STAPH EXPRESS**

Se realizó la siguiente prueba con el fin de corroborar la identificación de *Staphylococcus aureus*, para lo cual se seleccionó colonias características de la Placa Petrifilm y se procedió a su posterior siembra en caldo BHI.

**Procedimiento**

- Se sembró colonias seleccionadas en Caldo BHI e incubó a 37°C durante 20 a 24 horas.

- Se adicionó 0.1ml del cultivo a tubos de 75 x 10 mm que contengan 0.3ml de plasma de conejo y se incubó a 37°C.
- Se examinó después de 4 horas de incubación si el plasma ha perdido fluidez o se observaba coágulos más o menos grandes. (ANEXO 03).

### **Interpretación**

Al leer los tubos después de 4 horas de incubación se observaron tubos con el coágulo formado debido a que la coagulasa de la cepa de *Staphylococcus aureus* activó a la protombina, la cual se unió al fibrinógeno formando fibrina insoluble, que hizo que la bacteria se agregue en grupos formando el coágulo, interpretándola como coagulasa positiva. Si no se observó el coágulo formado, la prueba se consideró negativa y no pertenece a *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo.

### **2.8.2. METODOLOGÍA PARA EVALUAR LAS CONDICIONES HIGIÉNICO-SANITARIAS**

Para determinar las condiciones higiénicas-sanitaria de los puestos de venta y de los vendedores en las que se expende el alimento queso fresco artesanal, se utilizó fichas de cotejo en las cuales se evaluó si cumplieron o no con las condiciones de higiene como son: el uso de mandil, gorros, guantes, mascarilla, entre otros, así como la limpieza de los instrumentos para el corte y despacho del alimento al consumidor. (ANEXO 09).

**a. Procesamiento y análisis de datos**

Después de recolectada la información en la ficha técnica para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* y de las condiciones higiénico-sanitario de los puestos de expendio de queso artesanal, se codificó las variables para elaborar una base de datos en el programa Excel de Microsoft Windows 2013; el control de calidad y procesamiento de los mismos se realizó utilizando el software estadístico informático Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v 21.0.

En el análisis univariado del recuento de *Staphylococcus aureus* por zonas del 1er y 2do muestreo y la medición de las condiciones higiénico-sanitario de las zonas de muestreo se utilizó estadística descriptiva de frecuencia relativa simple y acumulada; asimismo, medidas de tendencia central (Media aritmética) y de dispersión (Desviación estándar).

Para comparar el recuento de UFC/g de *Staphylococcus aureus* por zonas del 1er y 2do muestreo se utilizó la prueba estadística de Análisis de Varianza ANOVA, considerando un nivel de confianza de 95% y una probabilidad de error de  $p < 0.05$ .

Para evaluar la normalidad de la variable recuento de *Staphylococcus aureus* y del ponderado total de la variable condiciones higiénico-sanitario de las

zonas de muestreo se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk por tener una serie de datos menor a 30 y como probabilidad de significancia fue menor a  $p < 0.05$ , se utilizó la prueba estadística no paramétrica de Rho Spearman para determinar el grado de correlación entre condiciones higiénico-sanitario de las zonas de muestreo y el recuento de las UFC/gr de *Staphylococcus aureus* aisladas del queso fresco artesanal.

Los resultados se presentaron en cuadros estadísticos en base a los objetivos planteados con los respectivos gráficos.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. EVALUACIÓN DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Tabla 1: Resultados de los recuentos microbiológicos obtenidos de las muestras de queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna – 2015.

ZONA	Puestos de expendio de queso	Recuento de colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo (UFC x 10 <sup>3</sup> )	
		Primer muestreo	Segundo muestreo
ZONA A	N° 1	1 x 10 <sup>3</sup>	3 x 10 <sup>3</sup>
	N° 2	8.1 x 10 <sup>4</sup>	8 x 10 <sup>3</sup>
	N° 3	0	3.2 x 10 <sup>4</sup>
	N° 4	4.4 x 10 <sup>4</sup>	1.8 x 10 <sup>4</sup>
ZONA B	N° 1	5 x 10 <sup>3</sup>	1.4 x 10 <sup>4</sup>
	N° 2	2.3 x 10 <sup>5</sup>	5.1 x 10 <sup>4</sup>
	N° 3	1 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>4</sup>
	N° 4	2 x 10 <sup>3</sup>	1 x 10 <sup>4</sup>
	N° 5	3.6 x 10 <sup>5</sup>	6.9 x 10 <sup>5</sup>
ZONA C	N° 1	4.1 x 10 <sup>4</sup>	4 x 10 <sup>3</sup>
	N° 2	2,1 x 10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>3</sup>
	N° 3	8 x 10 <sup>4</sup>	0
	N° 4	9.8 x 10 <sup>4</sup>	1.1 x 10 <sup>4</sup>
	N° 5	9.5 x 10 <sup>4</sup>	1.3 x 10 <sup>5</sup>
	N° 6	6 x 10 <sup>3</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>
	N° 7	0	4.7 x 10 <sup>4</sup>
ZONA D	N° 1	4 x 10 <sup>3</sup>	6 x 10 <sup>5</sup>
	N° 2	9.2 x 10 <sup>4</sup>	0
	N° 3	6.5 x 10 <sup>4</sup>	9 x 10 <sup>4</sup>
	N° 4	1.3 x 10 <sup>4</sup>	2 x 10 <sup>3</sup>
	N° 5	8 x 10 <sup>3</sup>	8 x 10 <sup>3</sup>

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 2: Valores promedio de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del primer muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna 2015.**

Zona	Número de puestos de expendio de queso	Media (UFC/g)	Mínimo (UFC/g)	Máximo (UFC/g)	Desviación Estándar
Zona A	4	$1.3 \times 10^5$	0	$4.4 \times 10^5$	208.8
Zona B	5	$1.4 \times 10^5$	$2 \times 10^3$	$3.6 \times 10^5$	155.1
Zona C	7	$4.9 \times 10^4$	0	$9.8 \times 10^4$	42.0
Zona D	5	$3.6 \times 10^4$	$4 \times 10^3$	$9.2 \times 10^4$	39.7

**Fuente:** Elaboración propia

### Interpretación

En la Tabla 2, se muestra los valores promedio de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso fresco artesanal proveniente de Candarave, observándose que las 4 zonas en el primer muestreo resultaron con promedios muy altos y superaron lo establecido en la Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982, cuyo valor máximo permisible es hasta  $10^2$ , que si se sobrepasa este valor en cualquiera de las muestras examinadas, hay que rechazar el lote.

Los valores promedio más altos de los 5 puestos muestreados fueron en la Zona B ( $1.4 \times 10^5$  UFC/g) y de los 4 puestos de la Zona A ( $1.3 \times 10^5$  UFC/g). Se observó que un puesto de expendio de queso en la Zona A y Zona C no desarrolló crecimiento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo.

**Tabla 3: Valores promedio de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del segundo muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna 2015.**

Zona	Número de puestos de expendio de queso	Media (UFC/g)	Mínimo (UFC/g)	Máximo (UFC/g)	Desviación Estándar
Zona A	4	$1.5 \times 10^4$	$3 \times 10^3$	$3.2 \times 10^4$	12.79
Zona B	5	$1.6 \times 10^5$	$1 \times 10^4$	$6.9 \times 10^5$	295.23
Zona C	7	$2.9 \times 10^4$	0	$1.3 \times 10^5$	46.53
Zona D	5	$1.4 \times 10^5$	0	$6 \times 10^5$	259.89

**Fuente:** Elaboración propia

### Interpretación

La Tabla 3, presenta los valores promedio de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo obtenida del segundo muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave, encontrándose que las 4 zonas resultaron con promedios muy altos y superaron lo establecido en la Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982, cuyo valor máximo permisible es hasta  $10^2$ , que si se sobrepasa por cualquiera de las muestras examinadas, hay que rechazar el lote.

Los valores promedio más altos fue de los 5 puestos muestreados en la Zona B ( $1.6 \times 10^5$  UFC/g) y de los 5 puestos de la Zona D ( $1.4 \times 10^5$  UFC/g). Se observó que un puesto de expendio de queso en la Zona C y Zona D no desarrolló crecimiento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo.

**Tabla 4: Distribución de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del primer muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave que excede el LMP según la NTP - ITINTEC 202:087. Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015.**

Zona	Recuento de colonias de <i>S. aureus</i> coagulasa positivo (UFC x 10 <sup>3</sup> por gramo)					
	Sin crecimiento		Excede el LMP		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Zona A	1	25.0	3	75.0	4	100.0
Zona B	0	0.0	5	100.0	5	100.0
Zona C	1	14.3	6	85.7	7	100.0
Zona D	0	0.0	5	100.0	5	100.0
<b>Total</b>	2	9.5	19	90.5	21	100.0

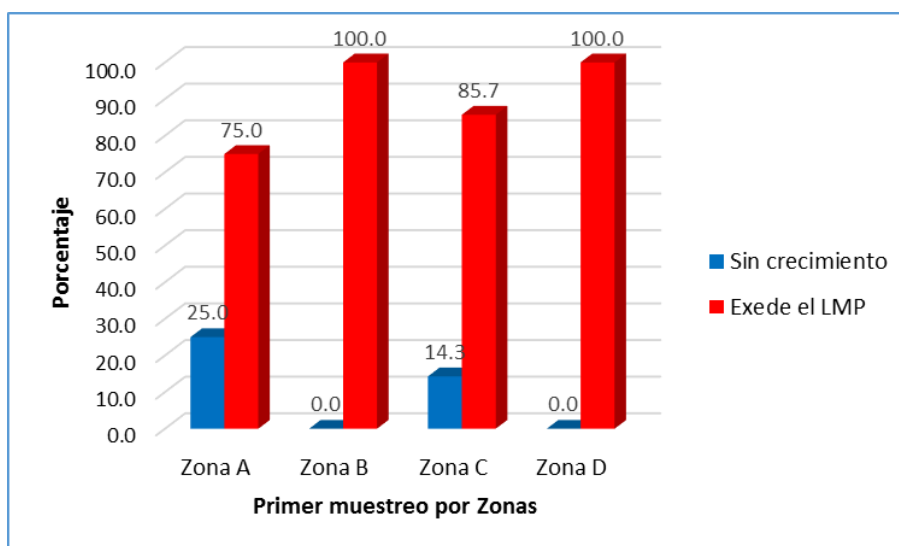
**Fuente:** Elaboración propia.

### **Interpretación**

En la Tabla 4, se presenta la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del primer muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave, observándose que de 21 puestos muestreados, la gran mayoría (90.5%) excedieron el Límite Máximo Permissible de acuerdo con lo establecido en la Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982.

Según las Zonas de muestreo, en la Zona A, 3 de 4 puestos muestreados (75%) y en la Zona C, 6 de 7 puestos (85.7%) excedieron significativamente el Límite Máximo Permisible; mientras que en la Zona B y D, los 5 puestos muestreados (100%), excedieron el Límite Máximo Permisible.

**Gráfico 1: Distribución de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del primer muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave que excedió el LMP según la NTP - ITINTEC 202:087. Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015.**



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 5: Distribución de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del segundo muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave que excede el LMP según la NTP - ITINTEC 202:087. Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015.**

Zona	Recuento de colonias de <i>S. aureus</i> coagulasa positivo					
	Sin crecimiento		Excede el LMP		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Zona A	0	0.0	4	100.0	4	100.0
Zona B	0	0.0	5	100.0	5	100.0
Zona C	1	14.3	6	85.7	7	100.0
Zona D	1	20.0	4	80.0	5	100.0
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>9.5</b>	<b>19</b>	<b>90.5</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

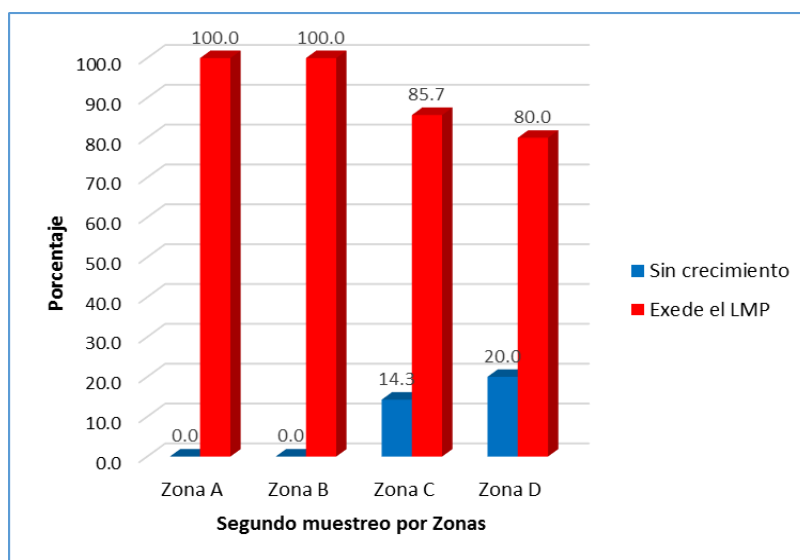
**Fuente:** Elaboración propia.

### **Interpretación**

La Tabla 5, presenta la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del segundo muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave. Se observó que de 21 puestos muestreados, la gran mayoría (90.5%) excedieron el Límite Máximo Permisible de acuerdo con lo establecido en la Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982.

Según las Zonas de muestreo, en la Zona A, los 4 puestos muestreados (100%) y en la Zona C, los 5 puestos muestreados (100%) excedieron significativamente el Límite Máximo Permisible; mientras que en la Zona C uno de 7 puestos (14.3%) y en la Zona D, uno de 5 puestos muestreados (20%) no tuvieron crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, por tanto fueron los únicos que resultaron aptos para el consumo humano en el segundo muestreo.

**Grafico 2: Distribución de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del segundo muestreo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave que excede el LMP según la NTP - ITINTEC 202:087. Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015.**



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 6: Análisis de varianza (ANOVA) para comparar la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo de queso fresco artesanal proveniente de Candarave. Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015.**

<b>Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo</b>						
		<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Primer muestreo</b>	<b>Inter-grupos</b>	44167.37	3	14722.46	1,026	0.406
	<b>Intra-grupos</b>	243880.63	17	14345.92		
	<b>Total</b>	<b>288048.00</b>	<b>20</b>			
<b>Segundo muestreo</b>	<b>Inter-grupos</b>	86955.54	3	28985.18	0,779	0.522
	<b>Intra-grupos</b>	632298.75	17	37194.04		
	<b>Total</b>	<b>719254.29</b>	<b>20</b>			

(\*) La diferencia es significativa al nivel p valor < 0.05

**Fuente:** Elaboración propia

### **Interpretación**

Utilizando la prueba de Análisis de Varianza de ANOVA se determinó que no existe diferencia significativa entre los promedios de población bacteriana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo aislados de queso fresco artesanal

proveniente de Candarave en las Zonas de Muestreo A, B, C y D del Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015. Para ello se tomó los siguientes criterios.

### **Regla de decisión**

A nivel de una confiabilidad igual a 0.05 con 3 y 17 Grados Libertad, el valor crítico de  $F$  a partir de la tabla G (Bioestadística de Wayne W. Daniel) es 5.18. La regla de decisión, entonces, es rechazar  $H_0$  si el valor calculado de R.V. ( $F$ ) es mayor o igual a 5.18.

### **Decisión estadística**

Debido a que el valor calculado para  $F$ , 1.026 en el primer muestreo y  $F$  igual a 0.779 en el segundo muestreo es menor que el valor crítico  $F$ , 5.18, no se rechaza  $H_0$  (Hipótesis de nulidad).

### **Conclusión**

Ya que se aceptó  $H_0$  se concluye que en los dos muestreos no existe diferencia significativa entre los promedios de la población bacteriana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo aislados de queso fresco artesanal proveniente de Candarave en las Zonas de Muestreo A, B, C y D del Mercado Mayorista Miguel Grau, Tacna 2015.

### 3.2. EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES HIGIÉNICO-SANITARIAS

**Tabla 7. Condición higiénicas-sanitaria global de puestos y de vendedores en las que se expenden el alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

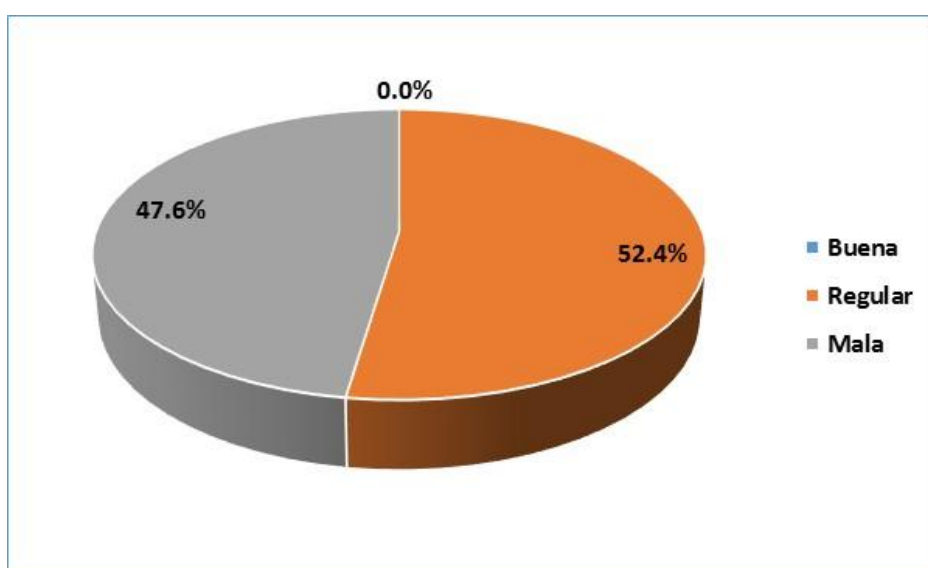
<b>Nivel de Condiciones Higiénico-Sanitario</b>	<b>Frecuencia (n° de puestos de venta)</b>	<b>Porcentaje</b>
Buena	0	0.0%
Regular	11	52.4%
Mala	10	47.6%
Total	21	100.0%

**Fuente:** Elaboración propia.

#### **Interpretación**

Con los datos que se presenta en la Tabla 7, se observó que ningún puesto o vendedor en las que se expenden el alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna, calificó con nivel bueno, no obstante, las condiciones de nivel regular predominaron con 52.4% frente a las condiciones de nivel malo con 47.6%.

**Gráfico 3. Condiciones higiénicas-sanitaria de puestos y de vendedores en las que se expenden el alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 8. Condiciones higiénico-sanitario de la unidad de expendio en las que se expenden el alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>HIGIENE DE LA SUPERFICIE DE TRABAJO</b>		
Materias extrañas	3	14.3%
Restos vegetales/Insectos	2	9.5%
Materias extrañas/Insectos	1	4.8%
Restos Vegetales/materias extrañas/insectos	3	14.3%
Tierra/Restos vegetales/materias extrañas/insectos	12	57.1%
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0%</b>
<b>HIGIENE DEL MEDIO AMBIENTE</b>		
Insectos	1	4.8%
Residuos de otros alimentos	4	19.0%
Insectos/residuos de otros alimentos	3	14.3%
Insectos/desechos orgánicos en descomposición	1	4.8%
Insectos/residuos de otros alimentos/desechos orgánicos en descomposición	12	57.1%
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0%</b>
<b>UBICACIÓN DE LA UNIDAD DE EXPENDIO</b>		
Puesto propio	6	28.6%
Intemperie / campo abierto	15	71.4%
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0%</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

## **Interpretación**

En la tabla 8, se presenta las características específicas de la condición higiénico-sanitaria de la unidad de expendio en las que se expenden el alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de Tacna.

Sobre la higiene de la superficie de trabajo, 12 de 21 puestos (57.1%) se caracterizaban por tener tierra, restos vegetales, materias extrañas e insectos, 14.3%, presentaron restos vegetales y materias extrañas e insectos y otro 14,3% solo restos de materias extrañas.

Con relación a la higiene del medio ambiente, 12 de 21 puestos (57.1%) presentaron insectos, residuos de otros alimentos y desechos orgánicos en descomposición, también un 19% tenía la presencia de residuos de otros alimentos

Respecto a la ubicación de la unidad de expendio, 15 de 21 puestos (71.4%) se ubicaban a la intemperie o campo abierto y 28.6% era puesto propio del vendedor.

**Tabla 9. Condiciones higiénico-sanitario del expendio del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>ALMACENAMIENTO DEL ALIMENTO</b>		
Baldes de plástico	20	95.2%
Cajas de madera	0	0.0%
Canastas de madera	1	4.8%
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0%</b>
<b>PROTECCIÓN DEL ALIMENTO</b>		
SÍ	1	4.8%
NO	20	95.2%
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0%</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

### **Interpretación**

En la tabla 9, se presenta las características específicas del expendio del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de Tacna. En lo concerniente al almacenamiento de dicho alimento, 20 de 21 puestos (95.2%) almacenan en baldes de plástico y solo uno (4.8%) lo hace en canasta de madera.

Respecto a la protección del alimento, 20 de 21 puestos (95.2%) no protege el alimento queso fresco proveniente de Candarave y solo el 4.8% lo protege.

**Tabla 10. Condiciones higiénico-sanitario del expendio del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

CARACTERÍSTICA	SI		NO		Total
	Nº	%	Nº	%	
<b>HIGIENE EN LA MANIPULACIÓN DEL ALIMENTO</b>					
Coge el alimento directamente con la mano	18	85.7%	3	14.3%	21
Usa guantes o bolsas de plástico	19	90.5%	2	9.5%	21
Usa cuchillos limpios	6	28.6%	15	71.4%	21
<b>HIGIENE DE LAS MANOS</b>					
Se desinfecta las manos antes de coger los alimentos	1	4.8%	20	95.2%	21
Se limpia las manos antes de coger el alimento	13	61.9%	8	38.1%	21
<b>HIGIENE DEL MATERIAL DE MANIPULACIÓN</b>					
El cuchillo esta al intemperie	18	85.7%	3	14.3%	21
Usa agua para enjuagar el cuchillo	0	0.0%	21	100.0%	21
Usa paños para limpiar los cuchillos	21	100.0%	0	0.0%	21
El paño está limpio	0	0.0%	21	100.0%	21

**Fuente:** Elaboración propia.

## **Interpretación**

En la tabla 10, se presenta las características específicas del expendio del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de Tacna.

Referente a la higiene en la manipulación del alimento, 18 de 21 vendedores (85.7%) coge el alimento directamente con la mano, el 90.5% usa guantes o bolsas de plástico y 71,4% no usa cuchillos limpios.

Con relación a la higiene de las manos, 20 de 21 vendedores (95.2%) no se desinfecta las manos antes de coger los alimentos y el 61.9% se limpia las manos antes de coger el alimento.

En cuanto a la higiene del material de manipulación, el 85.7% tiene el cuchillo en la intemperie, el 100% utiliza agua para enjuagar el cuchillo, el 100% usa paños para limpiar los cuchillos, sin embargo en el 100% se observó que dichos paños no estuvieron limpios.

**Tabla 11. Características del manipulador que expende el alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

CARACTERÍSTICA	SI		NO		Total
	Nº	%	Nº	%	
<b>PRESENTACIÓN PERSONAL DE MANIPULADOR</b>					
Usa mandil	19	90.5%	2	9.5%	21
Usa gorro	3	14.3%	18	85.7%	21
Usa guantes	0	0.0%	21	100.0%	21
Usa mascarilla	0	0.0%	21	100.0%	21
Esta limpio el mandil	6	28.6%	15	71.4%	21
<b>HIGIENE PERSONAL DE MANIPULADOR</b>					
Manos sucias	21	100.0%	0	0.0%	21
Uñas largas	10	47.6%	11	52.4%	21
Cabello recogido	10	47.6%	11	52.4%	21
Presenta maquillaje	4	19.0%	17	81.0%	21
Presenta joyas	9	42.9%	12	57.1%	21
<b>LESIONES O INFECCIONES EN PIEL DE CARA Y MANOS</b>					
Cara	3	14.3%	18	85.7%	21
Manos	3	14.3%	18	85.7%	21

**Fuente:** Elaboración propia.

## **Interpretación**

En la tabla 11, se presenta las características específicas del manipulador del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de Tacna.

Referente a la presentación personal del manipulador, 19 de 21 vendedores (90.5%) usa mandil, el 85.7% no usa gorro, el 100% no usa guantes ni mascarillas y el 71.4% de vendedores no tiene limpio el mandil.

Respecto a la higiene personal del manipulador, el 100% de vendedores presentaba las manos sucias, el 47.6% tenía uñas largas, el 52.4% no tenía el cabello recogido, el 19% presentaba maquillaje y 42.9% presentaba joyas.

En lo concerniente a lesiones o infecciones en la piel, el 14.3% presentaba lesiones en cara y mano y el 85.7% no presentaba.

**Tabla 12. Prueba de bondad de ajuste para las variables de condiciones higiénico-sanitario y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo aislado del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

<b>PRUEBAS DE NORMALIDAD</b>			
	<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Ponderación de Condiciones Higiénico-Sanitario</b>	0.949	21	0.321
<b>Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo (1ra muestra)</b>	0.697	21	0.000
<b>Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo (2da muestra)</b>	0.477	21	0.000

**Fuente:** Elaboración propia.

### **Interpretación**

La prueba de bondad se calcula utilizando el ajuste de Shapiro-Wilk (S-W), prueba para poblaciones menores de 30, para determinar si la ponderación de la variable condiciones higiénico-sanitario de los puestos y vendedores del alimento

queso fresco proveniente de Candarave y el recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo tienen o no distribución normal.

La Tabla 12, presenta los resultados de esta prueba observándose que el puntaje obtenido de condiciones higiénico-sanitario se aproxima a una distribución normal, ya que el coeficiente es mayor a  $p > 0.05$ , mientras que la variable recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo no se aproxima a una distribución normal porque el coeficiente es menor a  $p < 0.05$ ; por tanto, se utilizó prueba estadística no paramétrica en la correlación de estas dos variables.

**Tabla 13. Grado de correlación entre condiciones higiénico-sanitario y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del primer muestreo aislado del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

			<b>Ponderación de Condiciones Higiénico-Sanitario</b>	<b>UFC x 10<sup>3</sup> <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo</b>
<b>Rho de Spearman</b>	<b>Ponderación de Condiciones Higiénico-Sanitario</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>	1.000	0.581**
		<b>Sig. (bilateral)</b>		0.006
		<b>N</b>	21	21
	<b>UFC x 10<sup>3</sup> <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>	0.581**	1.000
		<b>Sig. (bilateral)</b>	0.006	
		<b>N</b>	21	21
** . La correlación es significativa al nivel p=0.05 (bilateral).				

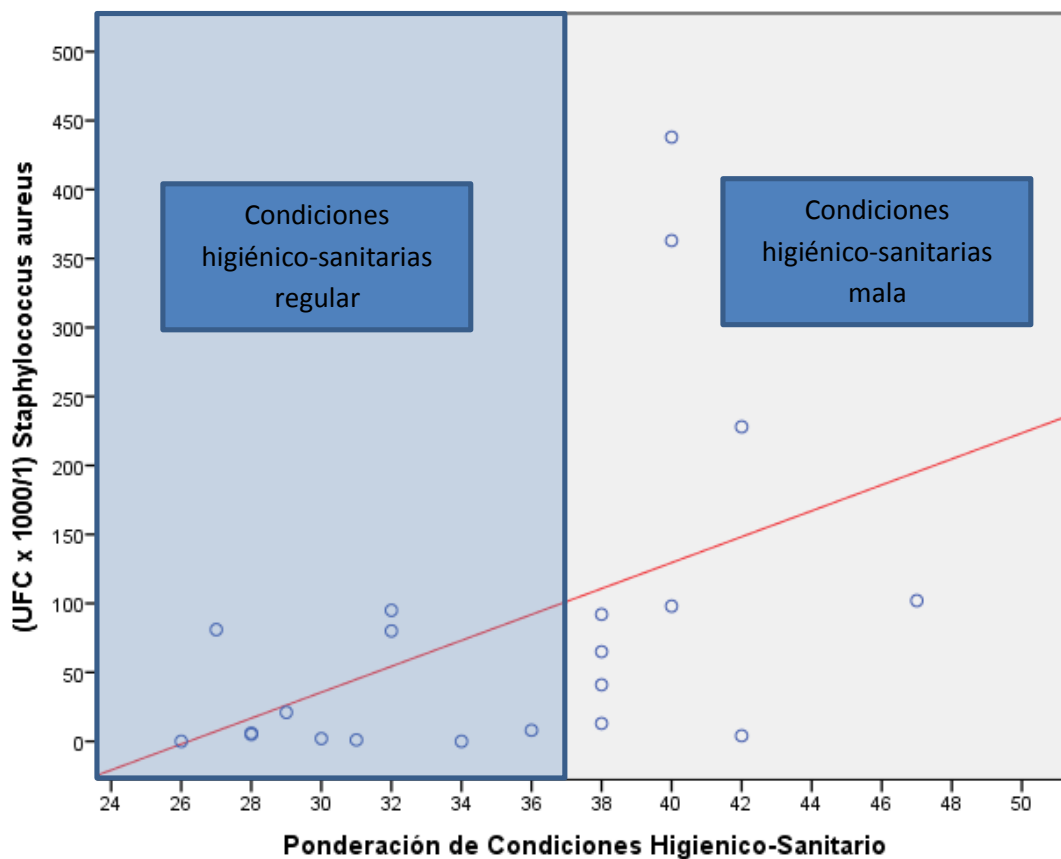
**Fuente:** Elaboración propia.

### **Interpretación**

En esta Tabla 13 se muestra la correlación del primer muestreo entre el puntaje de la variable condiciones higiénico-sanitario y el recuento (UFC x 10<sup>3</sup>)

de la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo; se puede afirmar que existe evidencia de relación positiva con intensidad moderada ( $Rho = 0.581$ ) y significativa ( $p - \text{valor} = 0.006 < 0,05$ ), entre estas variables. Por tanto, permite inferir que cuando las condiciones higiénico-sanitario es de regular a mala, el recuento ( $UFC \times 10^3$ ) de la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo se incrementa en el alimento queso fresco proveniente de Candarave en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.

**Gráfico 4. Dispersión de puntos y correlación entre condiciones higiénico-sanitario y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del primer muestreo aislado del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 14. Grado de correlación entre condiciones higiénico-sanitario y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del segundo muestreo aislado del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**

			<b>Ponderación de Condiciones Higiénico-Sanitario</b>	<b>(UFC x 1000/1) <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo</b>
<b>Rho de Spearman</b>	<b>Ponderación de Condiciones Higiénico-Sanitario</b>	<b>Coeficiente de correlación</b>	1.000	0.370
		<b>Sig. (bilateral)</b>		0.099
		<b>N</b>	21	21
	<b>(UFC x 1000/1) <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo</b>	<b>Coeficiente de correlación</b>	0.370	1.000
		<b>Sig. (bilateral)</b>	0.099	
		<b>N</b>	21	21

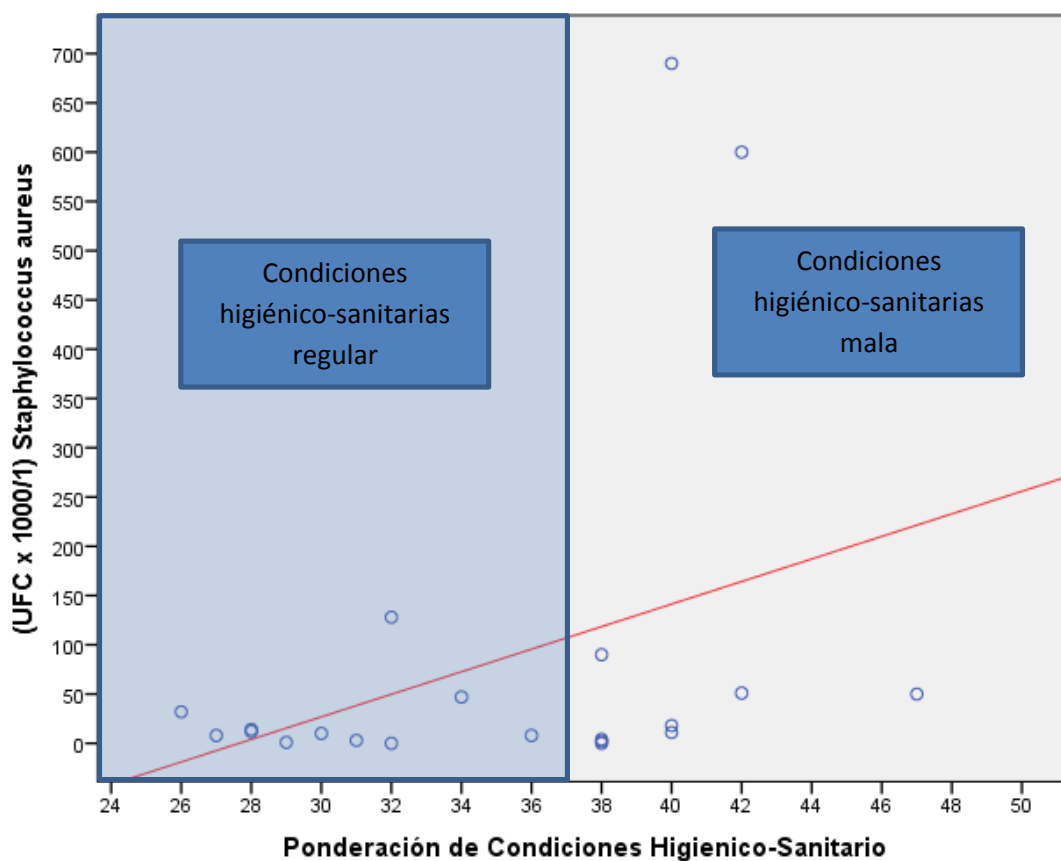
**Fuente:** Elaboración propia.

### **Interpretación**

En esta Tabla 14 se presenta el grado de correlación del segundo muestreo entre el puntaje de la variable condiciones higiénico-sanitario y el recuento (UFC x 10<sup>3</sup>) de la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa

positivo; se puede afirmar que existe evidencia de relación positiva con intensidad leve ( $Rho = 0.370$ ) no significativa ( $p - \text{valor} = 0.099 > 0.05$ ), entre estas variables. Por tanto, permite inferir que cuando las condiciones higiénico-sanitario es de regular a mala, hubo un leve incremento en el recuento (UFC x  $10^3$ ) de la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo aislado del alimento queso fresco proveniente de Candarave en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.

**Gráfico 5. Dispersión de puntos y correlación entre condiciones higiénico-sanitario y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo del segundo muestreo aislado del alimento queso fresco en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna.**



**Fuente:** Elaboración propia

#### IV. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, los valores promedio de la carga microbiana para *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo encontrados en los muestreos en queso fresco artesanal proveniente de Candarave, superan el Límite Máximo Permisible de la Norma Técnica Peruana - ITINTEC 202:087, 1982, cuyo valor máximo permisible es hasta  $10^2$  UFC/g.

Los muestreos fueron clasificados en dos muestreos: Primer Muestreo y Segundo Muestreo; y en cuatro zonas cada uno, las cuales son: Zona A, Zona B, Zona C, Zona D.

La "Zona A" cuenta con 4 puestos de venta; la "Zona B" con 5 puestos de venta, la "Zona C" con 7 puestos de venta y la "Zona D" cuenta con 5 puestos de venta.

Para el "Primer Muestreo" se obtuvo recuentos más elevados en la Zona A con  $(1.3 \times 10^5$  UFC/g), en la Zona B con  $(1.4 \times 10^5$  UFC/g), en las Zonas C con  $(4.9 \times 10^4$  UFC/g) y en la Zona D con  $(3.6 \times 10^4$  UFC/g). De los cuales un 90.5% del total excedieron los valores máximos permisibles para el recuento de *Staphylococcus aureus* en queso fresco.

Contrastando con los resultados del “Segundo Muestreo” son elevados para la Zona B con  $(1.6 \times 10^5 \text{ UFC/g})$ , en la Zona D  $(1.4 \times 10^5 \text{ UFC/g})$  y menos elevados pero que igualmente superan los el LMP en la Zona A con  $(1.5 \times 10^4 \text{ UFC/g})$  y en la Zona C con  $(2.9 \times 10^4 \text{ UFC/g})$ . Con un promedio del total del segundo muestreo de 90.5% de muestras que también superan el LMP del total de muestras estudiadas.

Obteniéndose como recuento promedio del total de 42 muestras analizadas un resultado de  $(8.7 \times 10^4 \text{ UFC/g})$  lo que equivale a que un 90.5% de las muestras superan el límite máximo permisible según Norma Técnica Peruana-ITINTEC 202:087, 1982, cuyo valor máximo permisible es hasta  $10^2 \text{ UFC/g}$ .

Asimismo en el trabajo realizado en el año 2001 por Delgado y col, en la investigación que llevo como título “Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp.”, el recuento para *Staphylococcus aureus* fue de  $\geq 3.1 \times 10^5 \text{ UFC/g}$  como promedio de un total de 39 muestras analizadas, obteniéndose un 87.2% de recuento elevado del total de las muestras. Lo que al contrastarlo con el presente trabajo también supera en un porcentaje elevado el número de muestras que superan el límite máximo permisible para *Staphylococcus aureus* por lo cual hace referencia a las malas condiciones

higiénicas-sanitarias en las que se expendió el alimento queso fresco artesanal en ambos estudios. (Delgado y col, 2001).

Un resultado similar se obtuvo en la investigación realizada por Díaz y col en el año 2004, investigación que lleva como título “Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima-Perú”, al analizarse 30 muestras de las cuales el 80% presentaron *Staphylococcus aureus* por encima de  $10^2$  UFC/g límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana 2002.087 para queso fresco. Se observó, además, que el 53.3% de las muestras presentaba un valor  $\geq 10^5$  UFC/g, lo cual es indicador de una posible formación de la toxina estafilocócica. Asimismo, el valor promedio de la carga bacteriana hallado fue de  $3.5 \times 10^5$  UFC/g. Al comparar los resultados de Díaz con los resultados del presente trabajo se concluye que el queso fresco es un alimento con alto potencial de contaminación por *Staphylococcus aureus* a través de los manipuladores de alimentos, esto debido a que en ambos estudios más 80% de los quesos muestreados superan el límite máximo permisible y peor aún en el estudio de Díaz más del 50% podrían ser causales de la formación de la toxina estafilococica, corroborando que el alto nivel de contaminación en el alimento queso fresco se debe a las malas condiciones higiénico-sanitarias en las que se elabora, transporta y comercializa dicho alimento.

Otro estudio realizado en la ciudad de Tacna por la Dirección de Estadística e Informática y Telecomunicaciones en el año 1992, hoy INEI Instituto Nacional de Estadística e Informática, asemeja sus resultados obtenidos con los resultados del presente trabajo, debido a que sus resultados fueron de  $(4.7 \times 10^4 \text{ UFC/g})$  de un promedio de 30 muestras analizadas y el obtenido en el presente trabajo tuvo como promedio del total un recuento de  $(8.7 \times 10^4 \text{ UFC/g})$  de un total de 42 muestras de queso fresco artesanal. Es destacable los resultados obtenidos en el estudio de la DRST (Dirección de Estadística e Informática y Telecomunicaciones) ya que su recuento representa que el 85% de las muestras que superan el límite máximo permisible, porcentaje que es poco menos al obtenido en el presente trabajo con 90.5% pero que sigue siendo elevado. Ahora es importante recalcar que las muestras analizadas por la DRST fueron quesos fresco provenientes de Candarave, característica peculiar ya que las demás investigaciones analizaron quesos de otros lugares del país, e incluso de otros países. Por lo que se puede deducir que el alimento queso fresco artesanal proveniente de Candarave tiene deficiencias higiénicas y sanitarias tanto en la elaboración, manipulación, transporte y comercialización. E incluso que no se ha mejorado estas condiciones de higiene ya que el recuento para el microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo encontrado en el presente trabajo ha ido elevándose con el paso de los años. (DRST - Dirección de Estadística e Informática y Telecomunicaciones, 1992).

Otra de las investigaciones realizadas en la ciudad de Tacna se asemeja con los resultados obtenidos en la presente investigación, nos referimos al trabajo realizado en el año 2004 por la Ing. Liliana Lanchipa Bergamini y la Ing. Yolanda Sosa Gutierrez, que lleva como título “Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el distrito de Tacna”, en el cual se obtuvieron como resultado del análisis de un total de 20 muestras, un recuento de  $(4.7 \times 10^4 \text{ UFC/g})$  para el microorganismo *Staphylococcus aureus*. Es importante mencionar que las muestras obtenidas fueron de 4 centros de producción del departamento (Planta lechera de Tacna, Planta Fongal, Planta semi industrial San Pedro, y Planta Artesanal de Candarave). Lo que resalta que, al analizarse las muestras provenientes de Candarave el 100%, superaron el límite máximo permisible para este organismo lo cual es significativo para el presente trabajo debido a que las muestras de este centro de producción son de la provincia de Candarave, de lo cual se concluye que en la Planta Artesanal de Candarave, las condiciones higiénicas y sanitarias fueron deficientes en la elaboración y manipulación del alimento, lo que al contrastar con el presente trabajo al evaluarse las condiciones higiénicas sanitarias a través del recuento del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en el alimento en la etapa de expendio o comercialización, se sumaría a la contaminación de dicho alimento. (Lanchipa y Sosa, 2003).

Otro trabajo con similar resultados es el de Ocampo con la investigación “Evaluación de la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales del distrito de Palca – 2011”, debido a que en dicho trabajo obtuvieron un recuento de  $(3.3 \times 10^5 \text{ UFC/g})$  para el microorganismo *Staphylococcus aureus* como resultado del análisis de 36 muestras provenientes de Palca y comercializados en los centros de comercialización: Mercado Bolognesi ( $2.88 \times 10^5 \text{ UFC/g}$ ), Mercado Central ( $3.5 \times 10^6 \text{ UFC/g}$ ), y Mercado Dos de Mayo ( $1.5 \times 10^6 \text{ UFC/g}$ ) viendo que superan el límite máximo permisible en un 100% para el Mercado Bolognesi, 91.7% para el Mercado Central y 100% para el Mercado Dos de Mayo. (Ocampo A., 2011). Al contrarrestar los resultados de Ocampo se observa recuentos más elevados en comparación con los resultados obtenidos en el presente trabajo, cuyo recuento máximo fue de  $(8.7 \times 10^4 \text{ UFC/g})$  y con un 90.5% de muestras que superan el límite máximo permisible, lo que hace suponer que los recuentos elevados en las muestras de debe a las deficientes condiciones higiénicas-sanitarias en las que se elabora, manipula, transporte y comercializa en alimento.

Sin embargo, en estudios realizados en otros países el recuento es muy similar superando los límites máximo permisibles, pero, a diferencia con el presente trabajo, sus porcentajes de contaminación son menores. Tal es el caso en el estudio realizado por Vasek y col en el año 2004, con el trabajo llamado: “Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes -

Argentina”; en el cual obtuvieron como resultados de un análisis de 20 muestras el 45% con un promedio de recuento de  $10^3$  a  $10^4$ UFC/ml, un 49.4% del recuento fue con valores menores o iguales a  $10^2$ UFC/ml y solo un 7.2% de las muestras analizadas con recuento microbiano  $10^3$  a  $10^4$ UFC/ml. Se diferencia en que las muestras analizadas en el estudio realizado por Vasek, fueron leche cruda de vaca destinada a la elaboración de queso fresco, además de 20 muestras de queso en la que se encontró *Staphylococcus aureus* en un 37% con un recuento mayor a  $10^5$  UFC/g. Al comparar los resultados de Vasek y col, con el presente trabajo concluimos que la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo es elevada según su recuento y que supera el límite máximo permisible, pero en un porcentaje mucho menor al obtenido en el presente trabajo cuyo porcentaje fue de 90.5% de muestras que superan el límite máximo permisible con un promedio de  $8.7 \times 10^4$ UFC/g, lo que indica que es posible que la contaminación sea mayor en el momento de transporte, manipulación y comercialización del alimento y no tanto en el momento de la elaboración ya que sus recuento en leche fue menor en comparación con el recuento en queso.

Otro estudio realizado en Colombia, “Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria y determinación de las características organolépticas y físico-químicas del quesillo que se expende en los mercados de la Ciudad de Loja”; (Castillo y col, 2004), corrobora lo mencionado, ya que en este estudio los resultados para el microorganismo *Staphylococcus aureus* obtuvieron un

recuento de ( $10^6$ UFC/g) como promedio de un total de 120 muestras analizadas, lo que equivale a que 79 muestras superaron el límite máximo permisible con un 65.8% (INEN1528 para queso fresco según Argentina  $10^2$  UFC/g para *Staphylococcus aureus*), lo que hace deducir que quizá las medidas de control higiénico sanitario en ese país son más rigurosas. Ya que poco menos de la mitad fueron muestras que obtuvieron resultados por debajo su límite máximo permisible. Sin embargo no se descarta la alta contaminación del alimento queso fresco por el microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, esto debido a las deficientes condiciones higiénicas y sanitarias. (Castillo y col, 2004).

Muy diferente resultado se encontró en el estudio realizado por Brooks y col., (2012), en el trabajo "Encuesta de quesos de leche cruda de calidad microbiológica y la prevalencia de patógenos transmitidos por los alimentos", donde analizaron 41 muestras de diferentes localidades de Estados Unidos de América, donde el queso artesanal es elaborado a partir de leche cruda, obteniendo como resultados que el 2.4% del total fueron muestras con un recuento por encima de ( $10^3$  UFC/g) lo que al comparar los resultados de Brooks y col, con el presente trabajo, es considerado como quesos de mayor calidad sanitaria altamente diferentes ya que sus porcentajes son de 2.4% de quesos que superan el límite máximo permisible en comparación con un 90.5% de las muestras del presente trabajo que supera el límite máximo permisible. Lo que evidencia que en este país hay un mayor control de las condiciones de

higiénico-sanitarias del alimento queso fresco en el momento de elaboración, manipulación, transporte y comercialización.

Los resultados de Vasek y col., (2004-Argentina), así como los de Castillo y col., (2004-Argentina) y los obtenidos por Brooks y col., (2012 - EUA) son resultados que se contrastan mejor en comparación con el presente trabajo debido a que sus normas INEN1528 para queso fresco según Argentina ( $10^2$ UFC/g) para *Staphylococcus aureus* y para EUA con un límite máximo permisible de ( $10^2$  UFC/g) para el mismo microorganismo *Staphylococcus aureus*. Tienen el mismo valor de aceptación en comparación con la Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087 cuyo valor del recuento para *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo es de ( $10^2$  UFC/g).

Resultados diferentes se encontraron en el estudio realizado por Díaz y Gonzales., 2001, en el que evaluaron, en la ciudad de Merina (Venezuela), 72 muestras de queso blanco fresco semiduro y cuyos resultados fueron de un 41.7% de muestras con un recuento microbiano por encima de  $10^3$  UFC/g. No obstante, los rangos obtenidos por esos autores coinciden con los estudios, realizados en Caracas (Venezuela) estudio realizado por Marquez (2012) con el trabajo “Recuento de *Staphylococcus aureus* y detección de enterotoxinas estafilocócicas en queso blanco venezolano artesanal tipo “telita” expendido en mercados de la ciudad de Caracas” en donde se analizaron un total de 80

muestras de queso blanco artesanal tipo telita y el recuento se efectuó según norma Venezolana (COVENIN 1292:89. Con un recuento de  $1 \times 10^3$  UFC/g para el microorganismo *Staphylococcus aureus*). Encontrándose un recuento microbiano de  $10^3$  a  $10^4$  UFC/g de *Staphylococcus aureus* en el 40% de las muestras, seguidas de un 25% con recuentos  $>10^2$  a  $\leq 10^3$  UFC/g; sólo un 3.8% de las muestras analizadas presentaron un recuento  $>$  de  $10^6$  UFC/g. Con lo cual exceden los límites permitidos ( $1 \times 10^3$  UFC/g) respecto a la presencia de *Staphylococcus aureus*, según los criterios microbiológicos establecidos en la Norma Venezolana COVENIN 3822:2003. Al contrarrestar los resultados de Díaz y Gonzales, comprobamos que se rigen a la norma venezolana que acepta un recuento por debajo de  $1 \times 10^3$  UFC/g para el microorganismo *Staphylococcus aureus*, en cambio en nuestro país, la Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087 es de ( $10^2$  UFC/g) evidenciando un alto nivel de contaminación en los quesos por este microorganismo.

Similar resultado se encuentra el trabajo realizado por Caldas y Qgeerally (2008) en el trabajo "Microorganismos indicadores de interés sanitario en queso artesanal tipo "telita" en el Estado de Bolivar. Septiembre a octubre 2008", (Caldas y Qgeerally, 2008). En cuyo estudio obtuvieron como resultados el recuento para *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en queso artesanal tipo telita, obteniendo un recuento microbiano de ( $10^3$  a  $10^4$  UFC/g), lo que representó el 46.7 % de un total de 14 muestras de queso. Según establece la

Norma Venezolana COVENIN 3822:2003 la aceptabilidad del queso si los recuentos se encuentran por debajo de  $10^3$  UFC/g. Lo que contrastando con el presente estudio al obtener un recuento máximo de  $(1.6 \times 10^5)$  UFC/g lo que equivale a un 90.5% de las muestras de un total de 42 muestras que superan el límite máximo permisible, lo que evidencia el alto nivel de contaminación del alimento por el microorganismo *Staphylococcus aureus* debido a las deficientes condiciones higiénicas sanitarias en las que se expende el queso.

Del mismo modo, en el trabajo “Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, Estado Lara, Venezuela”, (Vasquez y col, 2012), el recuento microbiano de *Staphylococcus aureus* realizado en 18 muestras de queso fresco elaborado con leche de vaca presentó un rango de  $(119 \times 10^2)$  UFC/g a  $( >10^3)$  UFC/g, del 83.33% del total de muestras. Lo que según Norma Venezolana COVENIN 3822:2003 exige un valor mínimo de  $(10^2)$  UFC/g y un valor máximo de  $(10^3)$ UFC/g. Sin embargo, al comparar los resultados con el presente trabajo se obtuvo un máximo de  $(1.6 \times 10^5)$ UFC/g) y un recuento mínimo de  $(1.4 \times 10^5)$ UFC/g) con un 90.5% de un total de 42 muestras que superan el límite máximo permisible que es de  $(10^2)$  UFC/g), según la Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087, lo que indica mayor calidad microbiológica de quesos en ese país.

Resultados muy similares a la anterior discusión se encontró en un estudio realizado en Uruguay; en el 2012 denominado “Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura elaborados en la Zona de Colonia, Uruguay”, por Barreneche, concluyéndose en dicho trabajo el 92.8% (n= 77) de las muestras se encontraron por debajo de dicho límite, en relación al recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva según admite como límite mínimo establecido  $10^3$  UFC/ml (3 log<sub>10</sub> UFC/ml) como criterio más exigente, con un recuento microbiano del valor mínimo  $10^2$  UFC/g y el máximo  $5 \times 10^6$  UFC/g resultando aptas según este requisito. (Barreneche, 2012). Es importante resaltar que en este país los límites microbiológicos de aceptación para *Staphylococcus aureus* en queso fresco es de ( $10^3$  UFC/g), y sin embargo en nuestro país es de ( $10^2$  UFC/g). Considerando que los resultados obtenidos en el presente estudio son de un recuento máximo de ( $1.6 \times 10^5$  UFC/g) y un recuento mínimo de ( $1.4 \times 10^5$  UFC/g) con un 90.5% de un total de 42 muestras que superan el límite máximo permisibles según la Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087.

Se considera que los resultados tanto de Díaz y Gonzales (2001-Venezuela) como los de Marquez (2012-Venezuela), Caldas y Qgeerally (2008 - Venezuela), Vasquez y col, (2012 - Venezuela) y los de Barreneche (2012 – Uruguay) superan el límite máximo permisible según sus países ya que según Norma Venezolana COVENIN 3822:2003 la aceptabilidad del queso es si

los recuentos se encuentran por debajo de  $10^3$  UFC/g para *Staphylococcus aureus*, y en Uruguay el recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva según admite como límite mínimo establecido  $10^3$  UFC/ml ( $3 \log_{10}$  UFC/ml). Lo que se concluye que sus resultados son igual de elevados y que, en comparación con los resultados del presente trabajo, no sería aceptables ya que para nuestro país según Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087, el límite máximo permisible es de  $10^2$  UFC/g para el mismo microorganismo.

Como se observa en los trabajos de diferentes autores de otros países, el recuento del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en su totalidad superan el límite máximo permisible que es de ( $10^2$  UFC/g) según la Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087, pero que, sin embargo, en su totalidad, en los trabajos anteriores, el porcentaje de muestras con un elevado recuento es mucho menor comparado con el presente trabajo, cuyo porcentaje de las muestras superan el límite máximo permisible, con un 90.5% del total de las muestras. Lo cual manifiesta una muy baja calidad microbiológica y una falta del control higiénico sanitario del queso fresco artesanal, expandidos en el Mercado Mayorista miguel Grau de la ciudad de Tacna. Por lo tanto, es posible que la contaminación cruzada sea en el momento de elaboración, transporte y comercialización.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, se arribó a las siguientes conclusiones:

1. Se determinó que la incidencia del microorganismo *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, exceden el límite máximo permisible según Norma Técnica Peruana ITINTEC 202:087, cuyo valor límite es de  $(10^2 \text{ UFC/g})$ . Debido a que en promedio del total de 42 muestras analizadas se obtuvo un recuento de  $8.7 \times 10^4 \text{ UFC/g}$  lo que evidentemente supera el límite máximo permisible en muestras de queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna
2. Se evaluó la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo presente en el queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna, mediante el Sistema de Recuento Petrifilm Staph Express y se corroboró la identificación mediante el Método de Conteo Directo en Placa para *Staphylococcus aureus*, además del uso de la prueba de la coagulasa para identificar a *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo (FDA; 2001).

3. Al evaluar los recuentos promedio obtenidos en las zonas muestreadas en primer muestreo y en el segundo muestreo, y, al aplicar análisis de varianza, (ANOVA) se concluye que en los dos muestreos y no existe diferencia significativa entre los promedios de la población bacteriana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo aislados de queso fresco artesanal proveniente de Candarave del Mercado Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna.
  
4. Se determinó las condiciones higiénico-sanitarias con respecto a la Unidad de Expendio y a los vendedores. Por lo que al ser evaluadas se concluye que los puestos de venta y los vendedores que expenden el alimento queso fresco artesanal en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna, ninguno de ellos calificó como “Nivel Bueno”; sin embargo, las condiciones de “Nivel Regular” predominaron con 52.4% frente a las condiciones de “Nivel Malo” con 47.6%.
  
5. Se determinó que existe correlación entre las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos y vendedores, con la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en el alimento queso fresco artesanal expendido en el Mercado Mayorista Miguel Grau de la Ciudad de Tacna, debido que al aplicar la Rho de Spermán se concluye que para el primer y segundo muestreo las condiciones higiénico-sanitarias fueron de

regular a mala, por lo tanto incrementando el recuento de la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se sugiere a los vendedores de queso fresco artesanal del Mercado Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna que expendan sus productos protegiéndolos de insectos, materias extrañas y del ambiente en general usando vitrinas de vidrio y/o refrigerándolas en equipos de cooler portátiles.
- Se sugiere a la autoridad correspondiente, "MUNICIPALIDAD PROVINCIAL DE TACNA", exigir a los vendedores del alimento queso fresco artesanal expendir sus producto en un puesto de venta y no a la intemperie debido a que mejoraría las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos de venta, de la manipulación del alimento, del expendio del alimento e incluso del propio vendedor.
- Se sugiere a la autoridad sanitaria correspondiente, "DIRECCION REGIONAL DE SALUD TACNA", tomar medidas necesarias para el control de las condiciones higiénico-sanitarias de expendio del alimento queso fresco artesanal no solo en el Mercado Mayorista Miguel Grau, sino también en los principales mercados, puesto que es un alimento altamente consumido en la ciudad de Tacna.

- Se sugiere a las autoridades sanitarias, “DIRECCION REGIONAL DE SALUD TACNA”, evaluar periódicamente las condiciones higiénico-sanitarias como la carga microbiana presente en el queso fresco artesanal proveniente de Candarave y de otros lugares, expandidos en el Mercado Mayorista Miguel Grau como también en los demás mercados de la ciudad de Tacna.
  
- Se sugiere a la Escuela Académico Profesional de Microbiología de la Facultad de Ciencias, promover investigaciones microbiológicas con respecto a la evaluación de la carga microbiana presente en la elaboración, transporte y comercialización del queso fresco a fin de recabar información y mejorar las condiciones higiénico-sanitarias del alimento. Y así mejorar la calidad sanitaria del queso fresco artesanal debido a su alta comercialización y consumo en la ciudad de Tacna.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. ADAMS, M.R. Y MOSS, S.A. (2011). Microbiología de los Alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia.
2. ARES CEA JOSE L. (2000). Calidad de los quesos: Fundamentos y aspectos generales. Centro de Investigación y Formación agraria. Córdoba.
3. BARNECHE M. (2012). "Evaluación de la calidad Higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura elaborados en la zona de Colonia, Uruguay". Tesis de Doctorado.
4. BROOKS, GEO. F.; CARROLL, KAREN C.; BUTEL, JANET S.; MORSE, STEPHEN A.; MIETZNER, TIMOTHY A. (2011). Capítulo 13: *Staphylococcus*. En Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. José Rafael Blengio Pinto (traductor) (25a edición).
5. BROOKS, J.C.; MARTINEZ, B.; STRATTON, J.; BIANCHINI, A.; KROKSTROM, R.; HUTKINS, R. (2012). Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. Food Microbiology; 30: p 1-5.
6. CASTILLO M., TANDAZO D. (2000). "Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria y determinación de las características organolépticas y fisicoquímicas del quesillo que se expenden en los mercados de la ciudad de Loja".

7. DA SILVA NAUSELI; (1997). Manual de Métodos de Análisis de Microbiología de Alimentos; Ed. Varela; Sao Paulo.
8. DÍAZ C. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Revista Sal Cum Propositum Vitae, 3 - 5. 2001
9. DÍAZ A. y col., (2008). "Análisis microbiológico de leche queso y helado a base de lácteos". Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque Perú. Escuela Profesional de Biología.
10. DÍAZ C.; (2001). González de García, B. "*Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con los diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria". Revista Salud Pública y Nutrición.
11. DELGADO C., DORA J., MAURTUA TORRES. (2001). "Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima-Perú y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp*". Revista Salud Pública 14(3): 158-64.
12. DIGESA. (2010). Reglamento Sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos. Dirección General de Salud Ambiental. Ministerio de Salud. Ministerio de Economía y Finanzas. Ministerio de Comercio Exterior y Turismo.
13. ESPADA A., MONTIVEROS D., DAMIANI ESTHER, 2; REVOLLO C., RUIZ T. 3; CAERO M., (2008). "Vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos en Bolivia- 2008". Ministerio de Salud y Deportes, Instituto

Nacional de Laboratorios de Salud, Laboratorio de Microbiología de Alimentos-Coordinador Nacional de la RELOAA,1; Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica, 2; Unidad Nacional de Epidemiología, 3; Ministerio de Agricultura y Ganadería, Laboratorio de Investigación y Diagnostico Veterinario de Cochabamba LIDIVECO, 4.

14. ESPINOZA A., VÍCTOR SÁNCHEZ. (2004). "Determinación de *Listeria monocytogenes* en queso fresco de producción artesanal que se expende en los mercados del distrito de Ica, Enero - Marzo 2003." Rev. Perú Medica Expediente Salud Pública 21(2): 71 - 75.
15. FAÚNDEZ Z., GUSTAVO; NAVARRETE W, PAOLA; CARO C, MARICELA; TRONCOSO, MIRIAM. (2002). "Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos". (HTML). Rev. Med. Chile (Chile: Scielo) 130 (8): 859–894.
16. FAO. (2000). Manual de inspección de los alimentos basados en riesgo. Estudio FAO alimentación y nutrición. 89p. 2000
17. FAO/OMS (2007). Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Codex Alimentarius: Leche y productos Lácteos. Roma. 2007
18. I.C.M.S.F. (1999). Microorganismos de los Alimentos. Vol. 2: Métodos de muestreo para análisis microbiológico. Principios y aplicaciones específicas, 2da edición. Editorial Acribia, S.A. –Zaragoza, España.

19. I.C.M.S.F. (2000). Los microorganismos de los Alimentos.Vol. 1: Su significado y métodos de enumeración 2ª Edición. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).
20. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA, 2013. “Vigilancia de enterotoxinas en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de alimentos, Chile 2011-2012”. Vol. 3, No 1, enero 2013.
21. JAY, J. (2002). Microbiología Moderna de Alimentos 4º Edición. Editorial Acribia. Zaragoza – España.
22. KOUSTA, M.; MATARAGAS, M.; SKANDAMIS, P. (2010). “Prevalencia y fuente de contaminación de queso con patógenos a nivel de granja y de procesamiento”.
23. LANCHIPA L., SOSA Y., (2003). “Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el Distrito de Tacna”. Facultad de Industrias Alimentarias – UNJBG.
24. LUJAN D., VALENTÍN M., MOLINA M., (2006). “Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima- Perú”. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN NUTRICIONAL. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. LIMA PERÚ.
25. MADIGAN, M.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. BROCK. (1999). Biología de los Microorganismos. 8a ed. Madrid.
26. Márquez J. G. (2012). MICROORGANISMOS INDICADORES DE INTERÉS SANITARIO EN QUESO ARTESANAL TIPO “TELITA”. UPATA, MUNICIPIO

PIAR, ESTADO BOLIVAR. SEPTIEMBRE A OCTUBRE 2008 Rev. Soc.  
Ven. Microbiol. vol.32 no.2 Caracas dic.

27. MENDO R. M. (1995). Lecciones de microbiología y medios de cultivo. Cuarta edición. Editorial Ediciones Labores SRL. 1995
28. MINSA. (2006). Manual de procedimientos para la vigilancia sanitaria en salud ambiental. Ministerio de Salud. Dirección de Salud V Lima. Organización Panamericana de la Salud. 84p.
29. MURRAY, PATRICK R.; ROSENTHAL, KEN S.; PFALLER, MICHAEL A. (2009). "Capítulo 21: *Staphylococcus* y cocos gram positivos relacionados". En Patrick R. Murray. *Microbiología Médica* 6 Ed (6a edición). España: Elsevier-Mosby. pp. 209–224.
30. NORMA TECNICA PERUANA - ITINTEC 202.044. (1982). Queso. Definiciones, clasificación y requisitos. Norma técnica Peruana
31. NORMA TECNICA PERUANA - ITINTEC 202.045. (1982). Queso. Extracción de muestra. Norma técnica Peruana
32. NORMA TECNICA PERUANA - ITINTEC 202.087. (1982). Queso Fresco. Norma técnica Peruana.
33. OPS. (2002). Organización Panamericana de la Salud. "Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay". Montevideo. 2002
34. PASCUAL A., M. DEL ROSARIO, CALDERÓN PASCUAL, VICENTE. (1999). *Microbiología Alimentaria*, 2ª Edición, Edita Díaz de Santos, Madrid España.

35. RAMÍREZ, M. (2004). Información Técnica: Fermentación y Maduración personalizada, una contribución nueva para las fábricas de quesos españolas. Industrias Lácteas Españolas.
36. RIVERA R., MONASTERIO D. (2013). Probabilidad y Estadística. Aplicaciones a la ingeniería”. Universidad Nacional Experimental Politécnica Antonio José de Sucre. Venezuela. 2013.
37. RODRÍGUEZ, C.; CALDAS, L.; OGEERALLY. (2009). P. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo “telita”. Upata, estado Bolívar, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.
38. ROIG S. A. (2004). “Riesgos y peligros en los productos lácteos”. CERPTA, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos Universidad Autónoma de Barcelona.
39. TAPIA G., JOSÉ A. (1994). “Incidencia: concepto, terminología y análisis dimensional”. Programa de Publicaciones. Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS). Washington, DC. EE.UU.
40. VASEK O., CABRERA, R.; CORONEL, G.J.; GIORI, G.S.; FUSCO, A.J.V. (2004). “Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina)”. Facena.
41. VASQUEZ N., DURAN L. (2012). “Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, estado Lara, Venezuela”. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas INIA – Venezuela. Zootecnia Tropical. 30(3): 217-223.

42. 3M PetrifilmM. R. (2002). Sistema de Recuento Staph Express. Guia de interpretacion. Cat. 6490. Madrid.

### Websites

- [http://www.who.int/topics/food\\_safety/es/](http://www.who.int/topics/food_safety/es/)
- <http://controldealimentos.galeon.com/contenido.htm>
- [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=s0378-18442008000400006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=s0378-18442008000400006&script=sci_arttext)
- <http://html.rincondelvago.com/control-microbiologico-de-calidad.html>
- <http://www.fao.org/docrep/003/t1768s/T1768S03.htm#ch3.1.2.4>
- [http://www.respyn.uanl.mx/vii/2/articulos/quesos\\_frescos-1.htm](http://www.respyn.uanl.mx/vii/2/articulos/quesos_frescos-1.htm)
- [http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1020-49892003000800002&script=sci\\_arttext](http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1020-49892003000800002&script=sci_arttext)
- <http://es.scribd.com/doc/6907272/Microbiologia-de-Alimentos-Analisis-Microbiologico-Leche-y-Derivados#scribd>
- [http://www.academia.edu/3786693/Evaluaci%C3%B3n\\_de\\_la\\_presencia\\_de\\_Staphylococcus\\_aureus\\_en\\_quesos\\_frescos\\_artesanales\\_en\\_tres\\_distritos\\_de\\_Lima\\_Per%C3%BA\\_-\\_Rev\\_Salud\\_Pub\\_Nutr](http://www.academia.edu/3786693/Evaluaci%C3%B3n_de_la_presencia_de_Staphylococcus_aureus_en_quesos_frescos_artesanales_en_tres_distritos_de_Lima_Per%C3%BA_-_Rev_Salud_Pub_Nutr)
- <https://explorable.com/es/muestreo-no-robabilistico>

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1

#### Procedimiento de muestreo para el queso – ICMSF, 1999.

Se usa una de las tres técnicas existentes dependientes del peso, forma y tipo de queso.

#### Muestreo mediante el corte de un sector

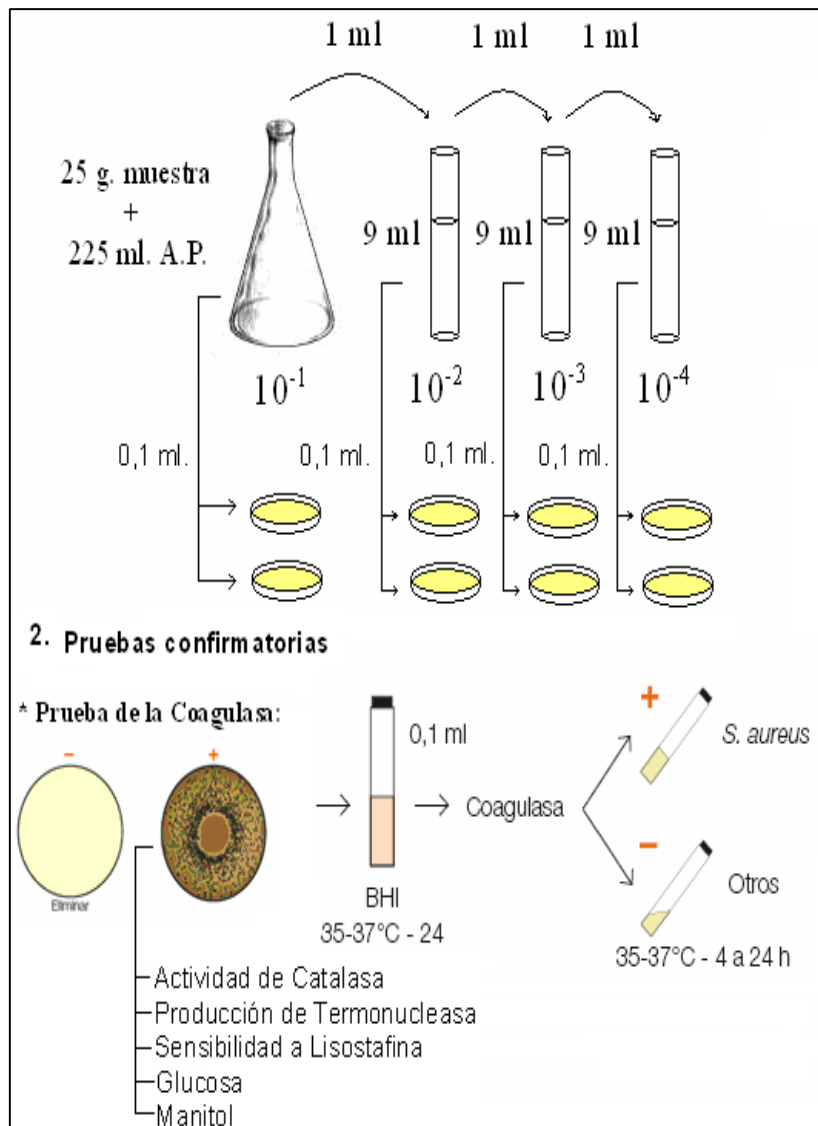
La técnica consiste en utilizar un cuchillo de punta afilada, para hacer dos cortes radiales desde el centro del queso, el tamaño de la muestra obtenida debe ser tal, que luego de quitarle una capa superficial, la porción restante sea como máximo 2 veces la cantidad requerida para el análisis.



**Fuente:** Elaboración propia

## ANEXO 2

### Protocolo para la investigación y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+). PROTOCOLO: (FDA; 2001).

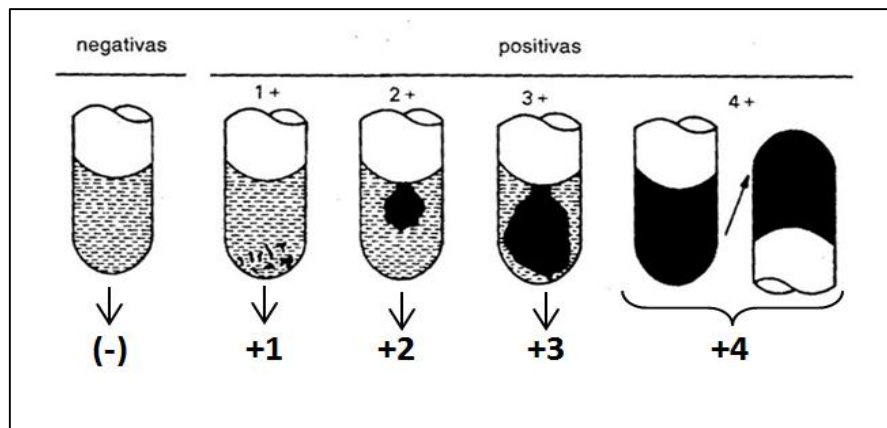


Fuente: ICMSF. 2000

### ANEXO 3

#### Protocolo de identificación de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+)

#### PRUEBA DE LA COAGULASA EN TUBOS



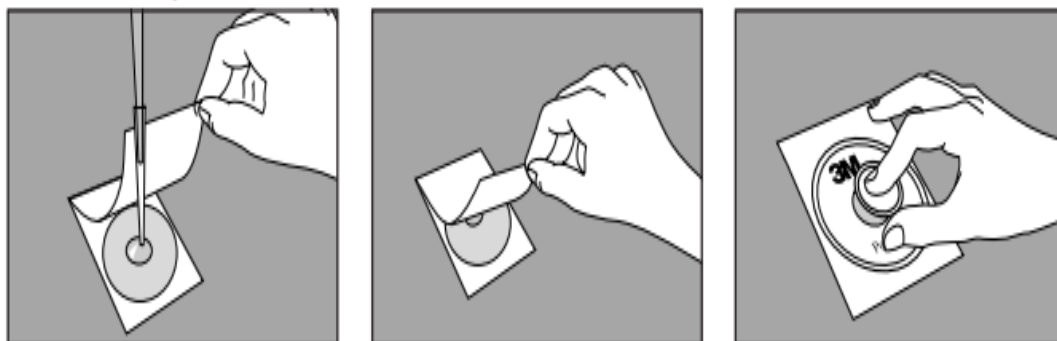
**Negativo:** ningún signo de formación de fibrina.  
**+1 positivo:** pequeños coágulos no organizados.  
**+2 positivo:** pequeños coágulos organizados.  
**+3 positivo:** gran coágulo organizado.  
**+4 positivo:** Todo el contenido aparece coagulado y se mantiene aun cuando se invierte el tubo.

Fuente: ICMSF, 2000

## ANEXO 4

### PROTOCOLO PETRIFILM Y DISCOS STAPH EXPRESS PARA *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo

- Inoculación
- Inocular la solución
- Bajar el film evitando introducir burbujas
- Ejercer presión suavemente con el aplicador del inculo sobre la superficie circular antes de la formación del gel.
- Incubación
- Incubar las placas cara arriba durante  $24h \pm 2h$  a  $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$



#### Interpretación

Si no aparecen colonias después de  $24h \pm 2h$  de incubación, el recuento es 0 y el ensayo se da por concluido.

Si únicamente aparecen colonias rojo-violetas, contarlas como *Staphylococcus aureus*. El ensayo se da por concluido. Las placas pueden contarse con un contador de colonias estándar u otra lente de aumento.

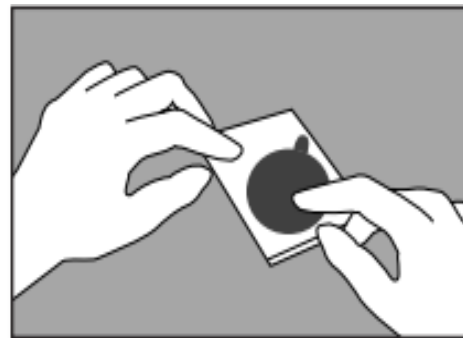
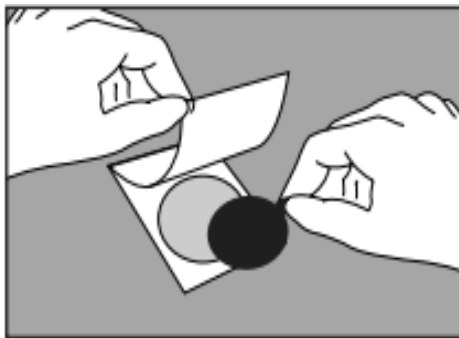
La Tnasa es una enzima producida por el *Staphylococcus aureus* que permanece estable a altas temperaturas. La detección de la Tnasa, al igual que la coagulasa, es un método de confirmación de la presencia de *Staphylococcus aureus*. En la Placa Petrifilm, la reacción de la Tnasa se ve como una zona de color rosado alrededor de una colonia roja o azul.



#### **Aplicación del disco confirmatorio**

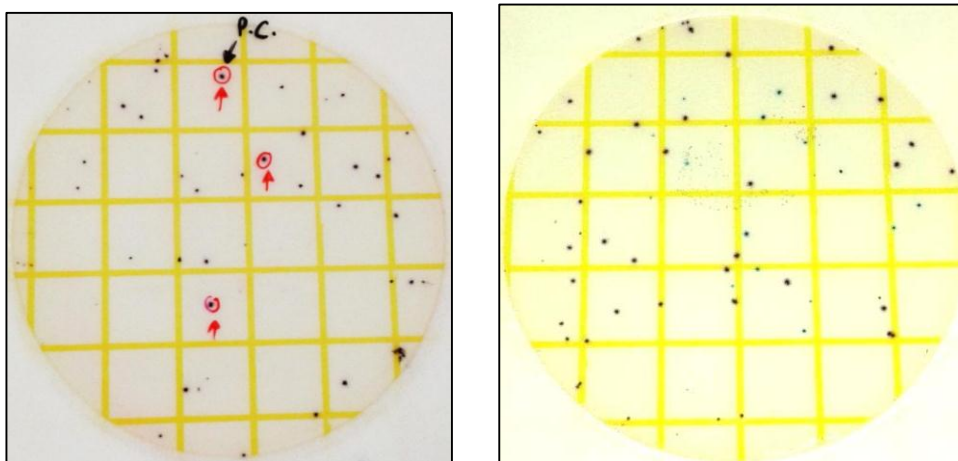
Si aparecen otras colonias de color diferente al rojo-violeta, emplear el disco Petrifilm Staph Express.

- Retirar un disco de su envase individual tomándolo con cuidado. Levantar el film superior de la placa Petrifilm y colocar el disco en el alojamiento central de la placa. Bajar el film superior.
- Aplicar presión a la superficie del disco, incluidos los bordes del disco, mediante deslizamiento firme de los dedos a través del film superior. De esta manera se asegura un contacto uniforme del disco con el gel y se eliminan las burbujas de aire.
- Incubar las placas con el disco insertado en pilas durante 3h a 37°C 1°C.
- Contar todas las zonas rosas haya o no colonia como *Staphylococcus aureus*.
- Las colonias pueden aislarse para posterior identificación. Levantar el superior y recuperar la colonia del gel. Ensayar mediante métodos habituales.



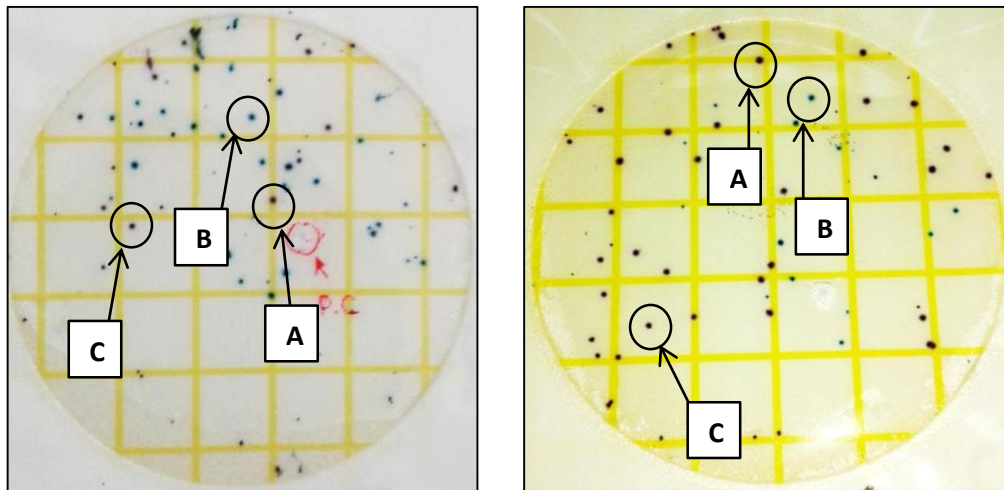
**ANEXO 5**  
**RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS LABORATORIALES**  
**PROTOCOLO PETRIFILM Y DISCOS STAPH EXPRESS PARA**  
***Staphylococcus aureus***

**Lectura de la Placa Petrifilm Staph Express a las 24 horas de incubación a  
37°C**



**Fuente:** Elaboración propia

**Lectura de la Placa Petrifilm Staph Express a las 24 horas de incubación a 37°C**



**Fuente:** Elaboración propia

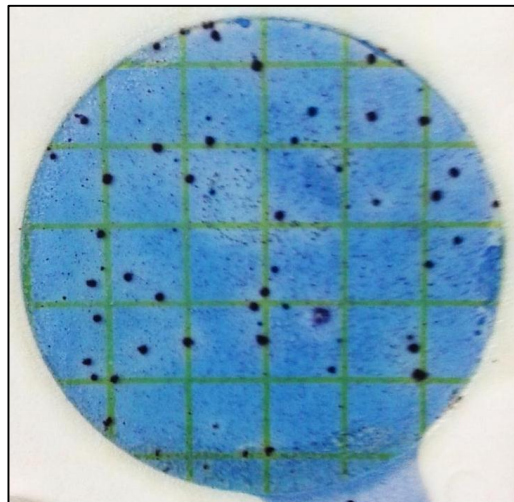
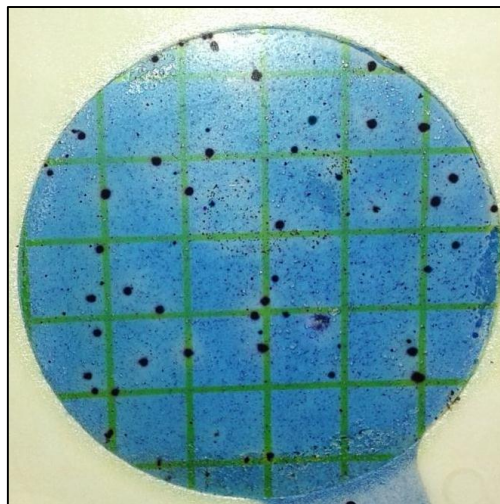
A: Colonias color ROJO-VIOLETA, pertenecen a *Staphylococcus aureus*

B: Colonias color AZUL-VERDOSAS, no son *Staphylococcus aureus*

C: Colonias color NEGRO, posiblemente serian *Staphylococcus aureus*. En este caso se debe colocar el disco confirmatorio.

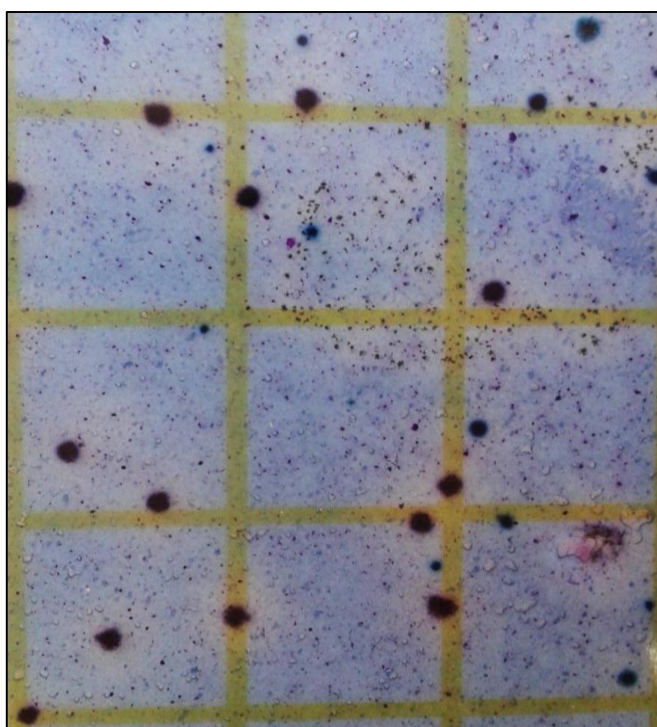
**Lectura de la Placa Petrifilm con el Disco Confirmatorio Petrifilm Staph Express. A las 3 – 4 horas de incubación a 37°C.**

**(Se observa el halo característico indicando que la colonia pertenece a *Staphylococcus aureus*).**



**Fuente:** Elaboración Propia

**Imagen agrandada de la Placa Petrifilm con el Disco Confirmatorio Petrifilm Staph Express. Se observa el halo característico indicando que la colonia pertenece a *Staphylococcus aureus*.**



**Fuente:** Elaboración Propia

## ANEXO 6

**Resultados de los recuentos microbiológico obtenidos de las muestras de queso fresco artesanal proveniente de Candarave expendido en el Mercado**

**Mayorista Miguel Grau de la ciudad de Tacna**

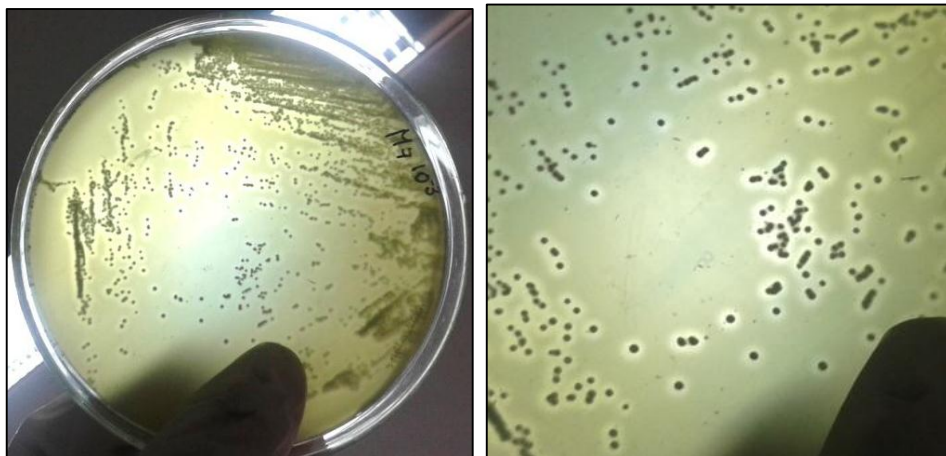
ZONA	Puestos de expendio de queso	Recuento de colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo (UFC x 10 <sup>3</sup> )	
		Primer muestreo	Segundo muestreo
ZONA A	N° 1	1 x 10 <sup>3</sup>	3 x 10 <sup>3</sup>
	N° 2	8.1 x 10 <sup>4</sup>	8 x 10 <sup>3</sup>
	N° 3	0	3.2 x 10 <sup>4</sup>
	N° 4	4.4 x 10 <sup>4</sup>	1.8 x 10 <sup>4</sup>
ZONA B	N° 1	5 x 10 <sup>3</sup>	1.4 x 10 <sup>4</sup>
	N° 2	2.3 x 10 <sup>5</sup>	5.1 x 10 <sup>4</sup>
	N° 3	1 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>4</sup>
	N° 4	2 x 10 <sup>3</sup>	1 x 10 <sup>4</sup>
	N° 5	3.6 x 10 <sup>5</sup>	6.9 x 10 <sup>5</sup>
ZONA C	N° 1	4.1 x 10 <sup>4</sup>	4 x 10 <sup>3</sup>
	N° 2	2,1 x 10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>3</sup>
	N° 3	8 x 10 <sup>4</sup>	0
	N° 4	9.8 x 10 <sup>4</sup>	1.1 x 10 <sup>4</sup>
	N° 5	9.5 x 10 <sup>4</sup>	1.3 x 10 <sup>5</sup>
	N° 6	6 x 10 <sup>3</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>
	N° 7	0	4.7 x 10 <sup>4</sup>
ZONA D	N° 1	4 x 10 <sup>3</sup>	6 x 10 <sup>5</sup>
	N° 2	9.2 x 10 <sup>4</sup>	0
	N° 3	6.5 x 10 <sup>4</sup>	9 x 10 <sup>4</sup>
	N° 4	1.3 x 10 <sup>4</sup>	2 x 10 <sup>3</sup>
	N° 5	8 x 10 <sup>3</sup>	8 x 10 <sup>3</sup>

**Fuente:** Elaboración propia

## ANEXO 7

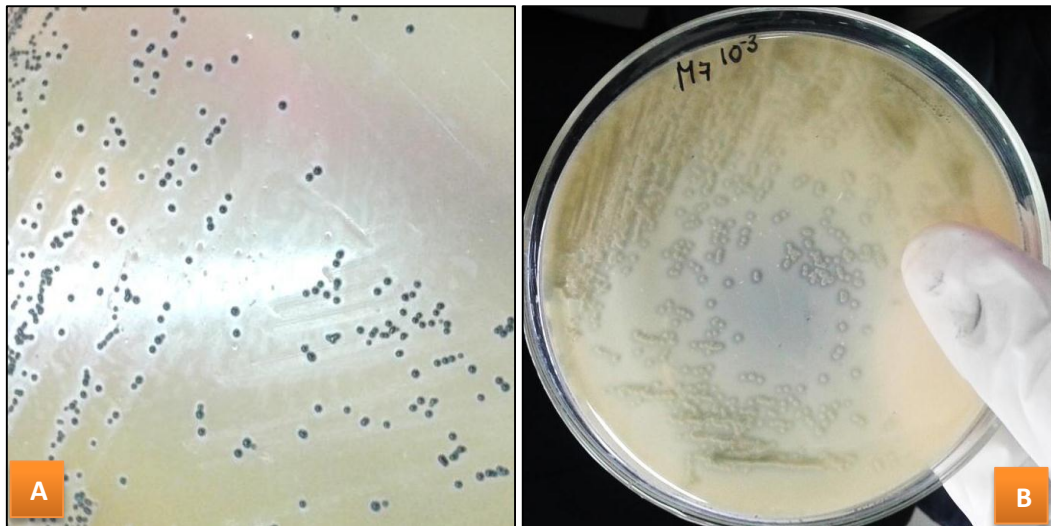
### RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS LABORATORIALES EN AGAR BAIRD PARKER

Determinación de *Staphylococcus aureus* en Agar Baird Parker  
(Formación del halo característico alrededor de las colonias. Observación a  
contraluz).



**Fuente:** Elaboración propia

**Determinación de *Staphylococcus aureus* en Agar Baird Parker (Colonias negras rodeadas de un halo claro de 2 a 5mm y anillos opacos después de 48 horas).**

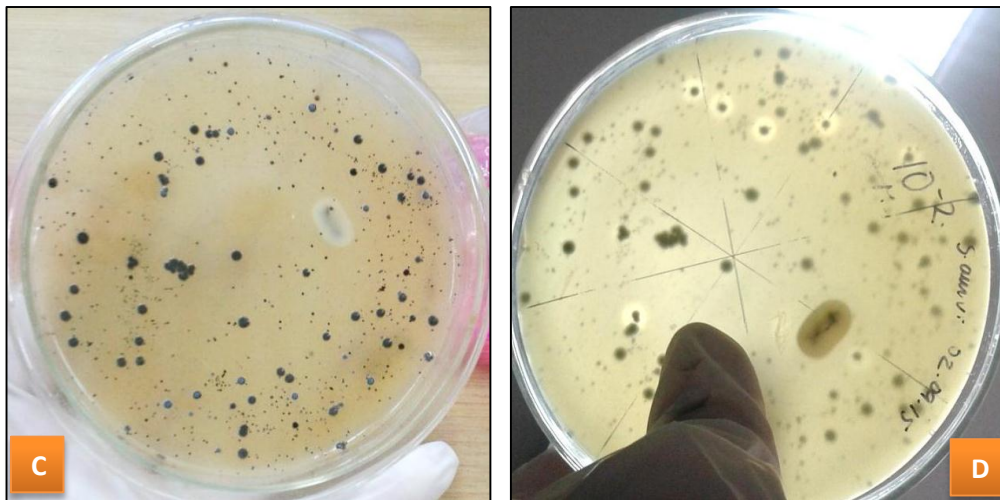


**Fuente:** Elaboración propia

**A:** Imagen de frente, observacion a las 24 horas de colonias negras con halo claro.

**B:** Imagen posterior, observacion a las 24 horas de los halos transparente.

**Determinación de *Staphylococcus aureus* en Agar Baird Parker**  
**(Colonias negras rodeadas de un halo claro de 2 a 5mm y anillos opacos**  
**después de 48 horas).**

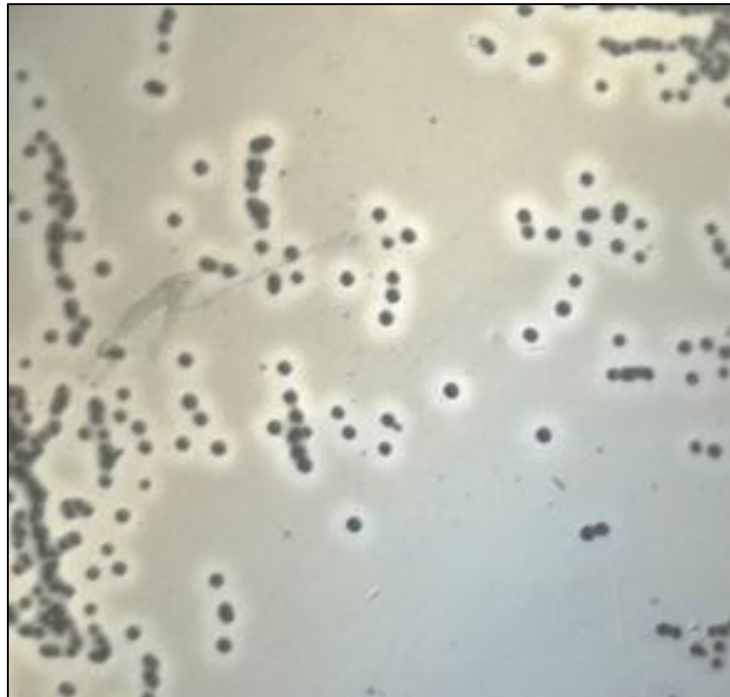


**Fuente:** Elaboración propia

**C:** Imagen de frente, observación a las 48 horas observación de colonias características con halo claro.

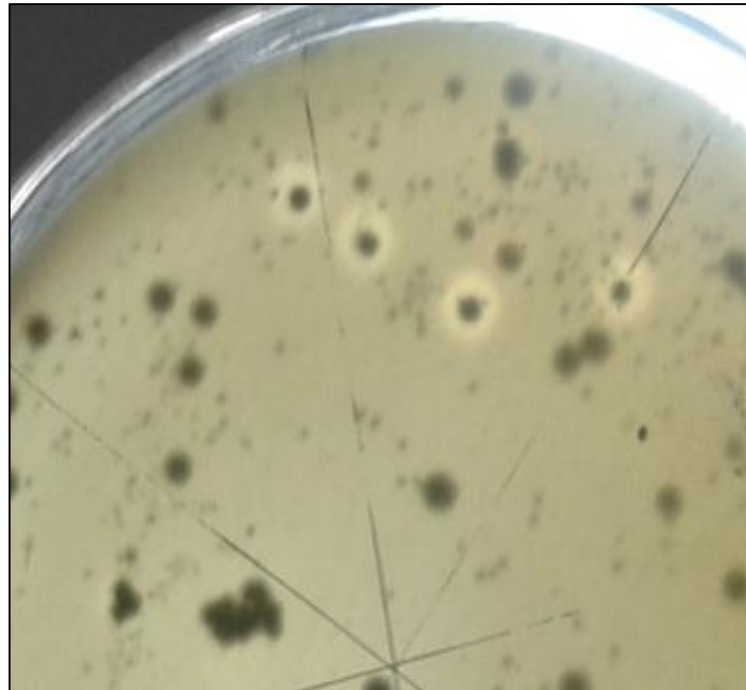
**D:** Imagen posterior, observación a las 48 horas colonias con el halo claro notablemente visible.

**Imagen maximizada. Observación de colonias de *Staphylococcus aureus* a las 24 horas de incubación. Halo claro, colonias negras.**



**Fuente:** Elaboración propia

**Imagen maximizada, observación de colonias de *Staphylococcus aureus* a las 48 horas de incubación. Hola claro a contraluz.**

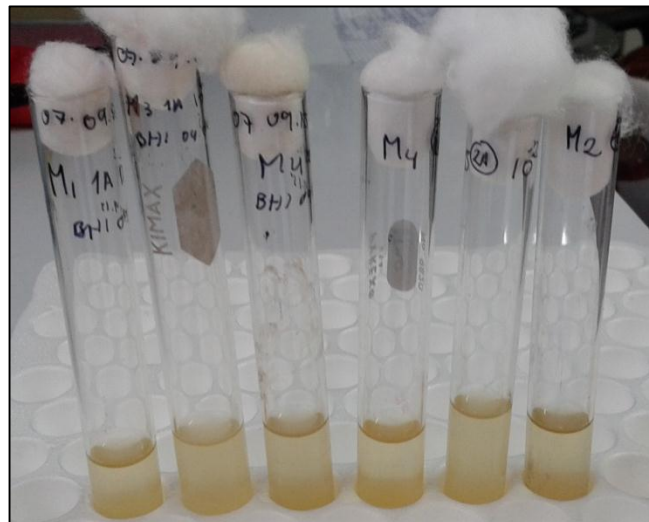


**Fuente:** Elaboración propia

## ANEXO 8

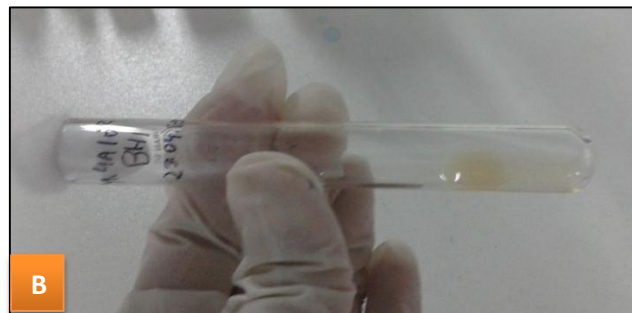
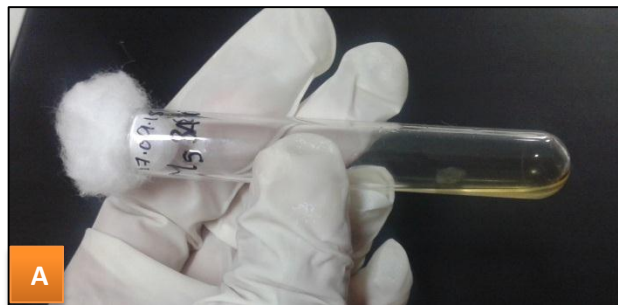
### PRUEBA DE LA COAGULASA

Caldo BHI. La turbidez del tubo incubado a 37°C por 24 horas indica el crecimiento positivo para *Staphylococcus aureus*



Fuente: Elaboración propia

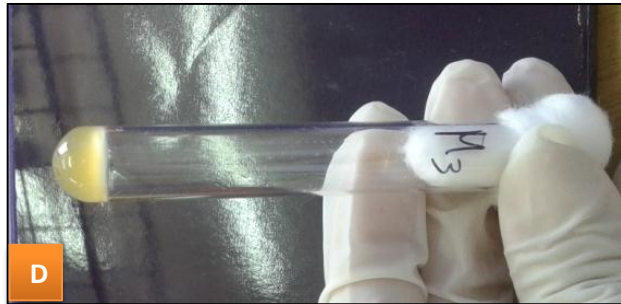
**Prueba de la Coagulasa para *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo**



**Fuente:** Elaboración propia

**A: +1 POSITIVO:** Pequeños coágulos no organizados

**B: +2 POSITIVO:** Pequeño coágulo organizado



**Fuente:** Elaboración propia

**C: +3 POSITIVO:** Gran coágulo organizado

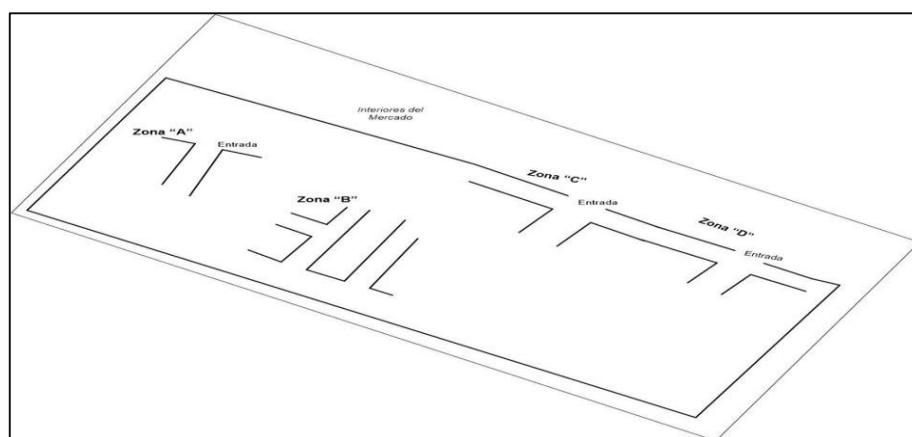
**D: +4 POSITIVO:** Todo el contenido aparece coagulado y se mantiene aun cuando se invierte el tubo

## ANEXO 9

### CLASIFICACION DE ZONAS DE MUESTREO - CROQUIS



Fuente: Google Earth

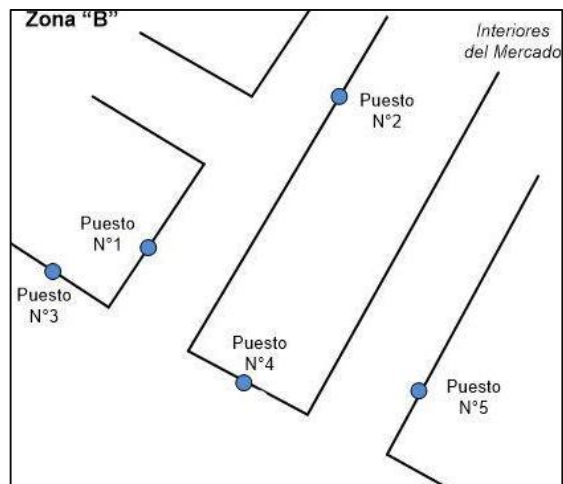


Fuente: Elaboración propia

## ANEXO 10

### CROQUIS DE LAS ZONAS DE MUESTREO AL INTERIOR DEL MERCADO

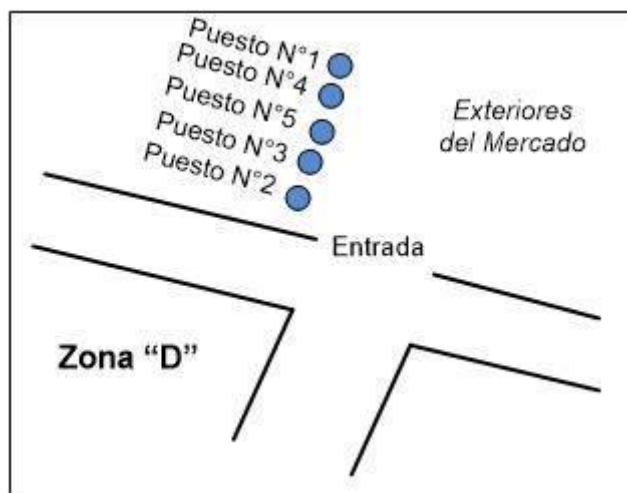
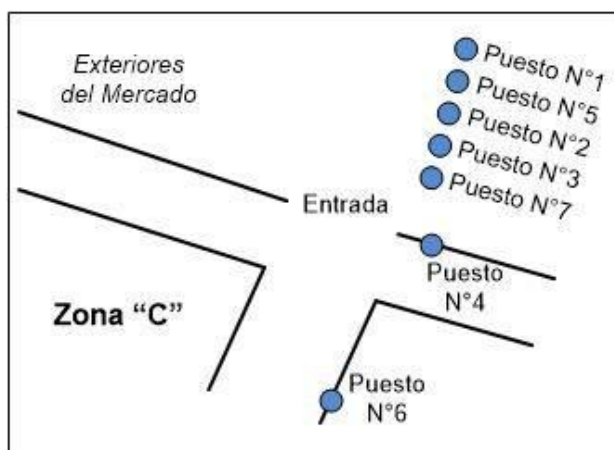
#### MAYORISTA MIGUEL GRAU



**Fuente:** Elaboración propia

**CROQUIS DE LAS ZONAS DE MUESTREO AL EXTERIOR DEL MERCADO**

**MAYORISTA MIGUEL GRAU**



**Fuente:** Elaboración propia

## ANEXO 11

### FICHAS DE COTEJO

#### DATOS FILIATORIOS QUE PERMITIRÁN EVALUAR LAS CONDICIONES HIGIÉNICAS-SANITARIAS

Fecha		Número de muestra	
Número de muestreo		Lugar de compra	
Croquis de referencia		Procedencia del alimento	

#### 1. CARACTERÍSTICA DE LA UNIDAD DE EXPENDIO

- **Higiene de la superficie de trabajo:**
  - Tierra ( )
  - Restos Vegetales ( )
  - Materias extrañas ( )
  - Insectos ( )
- **Higiene del Medio Ambiente**
  - Insectos ( )
  - Residuos de otros alimentos ( )
  - Desechos orgánicos en descomposición ( )
- **Ubicación de la unidad de expendio**
  - Intemperie / campo abierto ( )
  - Puesto propio ( )

#### 2. CARACTERÍSTICAS DEL EXPENDIO DEL ALIMENTO

- **Almacenamiento del alimento:**
  - Cajas de madera ( )
  - Canastas de madera ( )
  - Baldes de plástico ( )
- **Protección del Alimento con:**
  - Bolsas ( ) Manteles ( ) Equipo de frío / cooler ( )
- **Higiene en la manipulación del alimento**
  - Coge el alimento directamente con la mano:  
SI ( ) / NO ( )
  - Usa guantes o bolsas de plástico:  
SI ( ) / NO ( )
  - Usa cuchillos limpios:  
SI ( ) / NO ( )

- **Higiene de las manos**

Coge el dinero directamente con la mano:  
SI ( ) / NO ( )

Se limpia las manos antes de coger el alim.:  
SI ( ) / NO ( )

- **Higiene del material de manipulación**

El cuchillo esta al intemperie: SI ( ) / NO ( )

Usa agua para enjuagar el cuchillo: SI ( ) / NO ( )

Usa paños para limpiar los cuchillos SI ( ) / NO ( )

El paño está limpio: SI ( ) / NO ( )

### 3. CARACTERISTICAS DEL MANIPULADOR

- **Presentación personal de manipulador**

Usa mandil: SI ( ) / NO ( )

Usa gorro: SI ( ) / NO ( )

Usa guantes: SI ( ) / NO ( )

Usa mascarilla: SI ( ) / NO ( )

Estado: .....

- **Higiene personal de manipulador**

Manos sucias: SI ( ) / NO ( )

Uñas largas: SI ( ) / NO ( )

Cabello recogido: SI ( ) / NO ( )

Presenta maquillaje: SI ( ) / NO ( )

Presenta joyas: SI ( ) / NO ( )

- **Lesiones o infecciones en piel de cara y manos:**

Cara: SI ( ) / NO ( )

Manos: SI ( ) / NO ( )

Basado en el "Manual de procedimientos para la vigilancia sanitaria en salud ambiental" (Dirección de Salud V Lima ciudad / Dirección Ejecutiva de Salud Ambiental) Lima – Perú 2006. "Reglamento sobre la vigilancia y control sanitario de alimentos" (Decreto Supremo N° 19-86-SA del 10 de julio de 1986 relativo a los procedimientos para la calificación de alimentos no aptos para el consumo humano pertenecientes a los programas y agencias de asistencia alimentaria; y Resolución Suprema N° 0019-81- SA/DVN del 17 de septiembre de 1981, que aprueba las normas para el establecimiento y funcionamiento de servicios de alimentación colectiva).



.....  
**Dr. Blgo. - Mblgo. César Cáceda Quiroz**  
**ASESOR**



.....  
**Bach. Magaly Flores Arratia**  
**TESISTA**