

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Escuela Académico Profesional de  
Biología – Microbiología**

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE "OCOPA" LISTA PARA USO  
DIRECTO EN MERCADOS PERTENECIENTE AL CENTRO DE LA  
CIUDAD DE TACNA”**

**TESIS**

**Presentada por:**

**Bach. Evelyn Beatriz Amayo Iglesias**

**Para optar por el Título Profesional de:**

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

**TACNA – PERÚ**

**2014**

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

TESIS N° 240      TITULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO-MICROBIÓLOGO

El secretario académico Administrativo de la Facultad de Ciencias certifica que con Resolución de Consejo de Facultad N° 8066-2015-C. FACI/UNJBG, ha designado como jurados para la sustentación de la Tesis: "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE "OCOPA" LISTA PARA USO DIRECTO EN MERCADOS PERTENECIENTES AL CENTRO DE LA CIUDAD DE TACNA" mismo que está conformado por:

PRESIDENTE: DR. SEGUNDO MANUEL ALVARADO CONTRERAS

SECRETARIO: DR. CESAR AUGUSTO CEVALLOS COLUMBUS

VOCAL      : MSC. ANGELA VERONICA CHOQUE MIRANDA

Para examinar y calificar el trabajo de Tesis sustentado en acto público el día 18 de diciembre del 2014.

Presentado por la señorita Bachiller: EVELYN BEATRIZ AMAYO IGLESIAS, de la Escuela Académico profesional de Biología- Microbiología.

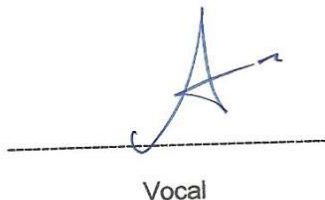
El jurado calificador, en forma secreta e individual se pronunció sobre el calificativo del trabajo expuesto y procedió a emitir el siguiente resultado:

Aprobado por unanimidad con el calificativo de 16 (Bueno) de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

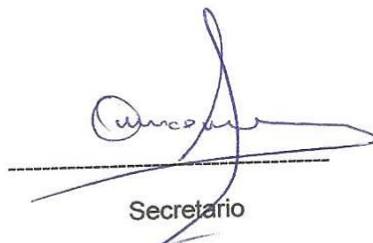
Para ratificar lo detallado firman:



Presidente



Vocal



Secretario

## **DEDICATORIA**

A DIOS, a Santo Tomás de Aquino, patrono de los estudiantes y a la Virgen María, quienes inspiraron mi espíritu para la conclusión de esta tesis de grado.

A mis padres Rodolfo y Eveli quienes me dieron vida, educación, apoyo y consejos. Por su sacrificio y dedicación hacia mí para que salga adelante y sobre todo por el ejemplo de lucha de mi madre ya que gracias a su fuerza para salir adelante con su enfermedad me inspiró que nada en esta vida me puede vencer.

A mi abuela que con sus consejos me hicieron sacar fuerzas de donde ya no las tenía.

A mi hermano Iván por haberme apoyado incondicionalmente en mi formación profesional con conocimientos y por su apoyo que siempre me ha brindado impulso fuerza y tenacidad.

A mi novio Johan por nunca haberme permitido dar marcha atrás e incentivado a terminar todo lo que había empezado con su constante interés en mi formación académica y tranquilidad espiritual.

A todos ellos se los agradezco desde el fondo de mi alma. Para todos ellos hago esta dedicatoria.

## **AGRADECIMIENTOS**

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

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, y a la facultad de Ciencias, alma mater de mi formación profesional, por formarme como Bióloga- Microbióloga.

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

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

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b>	01
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	03
1.1. Problema	11
1.2. Justificación del problema	11
1.3. Objetivos	13
1.4. Hipótesis	14
1.5. Antecedentes	14
1.6. Marco Teórico	17
1.6.1. Mercado Municipal	17
1.6.2. Alimentos preparados sin tratamiento térmico	27
1.6.3. Contaminación de alimentos	28
1.6.4. Riesgos biológicos en alimentos frescos	35
1.6.5. Enfermedades asociadas al consumo de alimentos	37
1.6.6. Buenas prácticas de Manipulación de alimentos	46
1.6.7. Principios del análisis microbiológico de los alimentos	52
1.6.8. Normas internacionales y nacionales relacionadas a los alimentos preparados sin tratamiento térmico	54
1.6.9. Marco legal para la investigación	55
1.6.10. Microorganismos indicadores	57

A. <i>Salmonella sp</i>	37
B. <i>Escherichia coli</i>	61
C. <i>Staphylococcus aureus</i>	64
D. Bacterias coliformes totales	69
E. Bacterias aerobias mesófilas viables	70
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>74</b>
2.1. Materiales de vidrio y otros	74
2.2. Equipos	75
2.3. Medios de cultivo y reactivos	76
2.4. Diseño de la investigación	77
2.5. Variables de estudio	77
2.6. Material de estudio	79
2.7. Tamaño de muestra y muestreo	79
2.8. Metodología de la investigación	80
2.8.1. Obtención y recolección de la muestra	80
2.8.2. Análisis microbiológico de la muestra	82
A. Método: Método: ISO 6887-1:1999. Instructivo de preparación y dilución de muestras de alimentos para análisis microbiológico.	82
B. Método: AOAC 990.12. Método rápido de análisis – placas petrifilm para el recuento de aerobios AC	83
C. Método: AOC 991.14. Método rápido de análisis – placas Petrifilm para el recuento de <i>Escherichia coli</i> y coliformes totales.	86
D. Método: AOAC 2003.07. Método rápido de	

análisis – placas Petrifilm para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	89
E. Método: ICMSF, 2000. Investigación de <i>Salmonella</i> .	92
<b>III. RESULTADOS</b>	95
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	114
<b>V. CONCLUSIONES</b>	131
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	132
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	133
<b>VIII. ANEXOS</b>	140

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>CUADRO 01:</b> Límites fisiológicos del crecimiento de <i>Salmonella spp</i> , en los alimentos y en los medios bacteriológicos.	60
<b>CUADRO 02:</b> Factores que permiten a <i>Staphylococcus aureus</i> crecer y producir enterotoxina.	66
<b>CUADRO 03:</b> Especies y subespecies de <i>Staphylococcus</i> producen coagulasa, nucleasa, enterotoxina, hemólisis, manitol y G + C de ADN.	67
<b>CUADRO 04:</b> Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa a la huancaína, ocopa, aderezos, postres, jugos, yogurt de fabricación casera u otros).	73
<b>CUADRO 05:</b> Porcentaje de muestras no aptas para los análisis microbiológicos obtenidos de las muestras de ocopas analizadas de los mercados del centro de la ciudad de Tacna.	97
<b>CUADRO 06:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de bacterias aerobias mesófilos viables de las muestras de ocopa analizadas.	98
<b>CUADRO 07:</b> Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de coliformes totales de las muestras de ocopa analizadas.	102

<b>CUADRO 08:</b>	Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> de las muestras de ocopa analizadas.	106
<b>CUADRO 09:</b>	Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de <i>Staphylococcus aureus</i> de las muestras de “ocopa” de las muestras analizadas	110

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	<b>Pág.</b>
<b>GRAFICO 01:</b> Resultados del análisis microbiológico de las bacterias aerobias mesófilas viables para las muestras de ocopas analizadas	101
<b>GRÁFICO 02:</b> Resultados del análisis microbiológico de las bacterias coliformes totales para las muestras de ocopa analizadas.	105
<b>GRÁFICO 03:</b> Resultados del análisis microbiológico de las bacterias <i>Escherichia coli</i> para las muestras de ocopas analizados.	109
<b>GRÁFICO 04:</b> Resultados del análisis microbiológico de las bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> para las “ocopas” de acuerdo a los puestos analizados de los cuatro mercados.	113

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>ANEXO 01:</b> NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, para los parámetros microbiológicos.	140
<b>ANEXO 02:</b> Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de <i>Escherichia coli</i> y Coliformes totales.	142
<b>ANEXO 03:</b> Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> .	143
<b>ANEXO 04:</b> Certificación del Aseguramiento de la Calidad de los discos Petrifilm™ Staph Express.	144
<b>ANEXO 05:</b> Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas Petrifilm™ para la numeración de Aerobios Mesófilos.	145
<b>ANEXO 06:</b> Resultado de los Análisis Microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas viables para cada puesto de mercado (con 3 repeticiones)	146
<b>ANEXO 07:</b> Resultado de los Análisis Microbiológicos de coliformes totales para cada puesto de mercado (con 3 repeticiones).	148

<b>ANEXO 08:</b>	Resultado de los Análisis Microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> para cada puesto de mercado (con 3 repeticiones).	150
<b>ANEXO 09:</b>	Resultado de los Análisis Microbiológicos de <i>Staphylococcus aureus</i> para cada puesto de mercado (con 3 repeticiones).	152
<b>ANEXO 10:</b>	Resultado de los Análisis Microbiológicos para <i>Salmonella sp.</i> de cada muestra (con 3 repeticiones).	154
<b>ANEXO 11:</b>	Ubicación de los 4 mercados estudiados pertenecientes a la ciudad de Tacna.	156
<b>ANEXO 12:</b>	Cuadro de la Población de los Distritos de Tacna.	157
<b>ANEXO 13:</b>	Método AOAC 990.12. Método rápido de Análisis – placas Petrifilm para la enumeración de Aerobios Mesófilos.	158
<b>ANEXO 14:</b>	Método AOAC 991.14. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de <i>Escherichia coli</i> y coliformes totales.	159
<b>ANEXO 15:</b>	Método: AOAC 2003.07. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos preparados.	160
<b>ANEXO 16:</b>	Método ICMSF, 2000. Investigación de <i>Salmonella sp.</i>	161
<b>ANEXO 17:</b>	Puestos evaluados del Mercado Central. (M <sub>C1</sub> , M <sub>C2</sub> )	162
<b>ANEXO 18:</b>	Puestos evaluados del Mercado 2 de Mayo y Mercado Leoncio Prado. (M <sub>2M</sub> , M <sub>LP</sub> )	163
<b>ANEXO 19:</b>	Puestos Evaluados del Mercado Grau. (M <sub>G1</sub> , M <sub>G2</sub> ,	

	M <sub>G3</sub> , M <sub>G4</sub> )	164
<b>ANEXO 20:</b>	Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de Salmonella, en caldo de pre-enriquecimiento de ATP, de los puestos del Mercado Grau M <sub>G1</sub> , M <sub>G2</sub> , M <sub>G3</sub> , M <sub>G4</sub> .	165
<b>ANEXO 21:</b>	Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de Salmonella, en caldo de enriquecimiento Tetracionato, en los puestos del Mercado Grau: M <sub>G1</sub> , M <sub>G2</sub> , M <sub>G3</sub> , M <sub>G4</sub> .	166
<b>ANEXO 22:</b>	Resultados de la supuesta presencia de <i>Salmonella</i> .	167
<b>ANEXO 23:</b>	Resultados del recuento de bacterias Arobias Mesófilas de la muestra M <sub>G3</sub> y M <sub>G4</sub> setiembre.	168
<b>ANEXO 24:</b>	Resultados del recuento de coliformes totales de la muestra del Mercado Grau M <sub>G3</sub> y M <sub>2M</sub> de setiembre.	169
<b>ANEXO 25:</b>	Resultados de E. coli de las muestras del Mercado Grau (M <sub>G3</sub> de setiembre y Mercado Central (M <sub>C1</sub> ) de julio	170
<b>ANEXO 26:</b>	Resultados del recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> del Mercado 2 de Mayo (M <sub>2M</sub> ) del mes de setiembre.	171

## RESUMEN

La investigación se realizó en la ciudad de Tacna durante los meses de julio a setiembre del 2014, el objetivo fue evaluar la calidad microbiológica de Ocopa que se expende artesanalmente en los mercados del centro de la ciudad de Tacna.

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

La recolección de las muestras se llevó a cabo en el centro de la ciudad de Tacna, en 4 mercados representativos: Mercado Central (2 puestos), Mercado 2 de Mayo (1 puesto), Mercado Leoncio Prado (1 puesto) y Mercado Grau (4 puestos). La toma de muestra se realizó por

triplicado en cada puesto escogido dentro de los mercados ya mencionados, obteniéndose un total de 24 muestras analizadas en diferentes fechas.

En el análisis microbiológico de la ocopa se determinó que el 20,83% de las muestras analizadas presentaron *Staphylococcus aureus*, sobrepasando los límites microbiológicos permisibles para estos alimentos y en ninguna muestra se logró hallar la presencia de *Salmonella sp*; en cuanto a los microorganismos indicadores de higiene, en 50% de las muestras se aisló *E. coli* y en el 79,17% de las muestras presentaron bacterias coliformes totales, sobrepasando el límite permisibles. Con respecto a las bacterias aerobias mesófilas viables, el 70,83% de las muestras evidenciaron la presencia de estas, sobrepasando así el límite permisible según la norma técnica peruana.

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

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos dos años se ha venido expendiendo en los mercados más conocidos y concurridos de la ciudad de Tacna la venta de un alimento muy conocido y consumido por nuestra población la famosa ocopa la cual es de un sabor muy intenso y agradable y su uso es directo por la población, es decir no necesita cocción alguna. Este alimento es elaborado de forma artesanal por los vendedores, distribuido a los consumidores de forma a granel y entregado en bolsas de plástico.

La ocopa es considerada una comida preparada sin tratamiento térmico, por lo que puede ocasionar problemas gastrointestinales sobre todo en niños y/o ancianos, si presentan inmunosupresión o disminución de sus defensas naturales, debido a una mala manipulación tanto en el momento de la preparación como en el transporte y venta del mismo, esto según la “norma sanitaria peruana que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y consumo humano” (Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA).

Los alimentos preparados sin tratamiento térmico deben reunir características de calidad bacteriológica que se enmarque dentro de los parámetros establecidos por los organismos nacionales e internacionales, encargados de velar por la salud pública, la economía y la tecnología. Por, tanto estos alimentos deberán estar libres de microorganismos patógenos, bajo en conteo bacteriano, libre de sedimentos y materias extrañas o nocivas, entre otras.

En la ciudad de Tacna la demanda de este producto va creciendo por lo que también crece la incertidumbre de conocer si este alimento es preparado, transportado y vendido adecuadamente de manera que el público lo pueda consumir sin temor a presentar enfermedades gastrointestinales sobre todo en niños y adultos mayores.

Los manipuladores de alimentos son todas aquellas personas que, por su actividad laboral, tienen contacto directo con los alimentos durante su preparación, transformación, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, venta, suministro y servicio.

La adecuada manipulación de los alimentos, desde que se producen hasta que se consumen, incide directamente sobre la salud de la población.

Está demostrada la relación existente entre una inadecuada manipulación de los alimentos y la producción de enfermedades transmitidas a través de éstos. Las medidas más eficaces en la prevención de estas enfermedades son las higiénicas, ya que en la mayoría de los casos es el manipulador el que interviene como vehículo de transmisión, por actuaciones incorrectas, en la contaminación de los alimentos.

El manipulador de alimentos necesita conocer el proceso de preparación y conservación de alimentos y respetar las exigencias culinarias, sanitarias y nutritivas que permiten que el alimento llegue al consumidor en las mejores condiciones de calidad.

Los principales microorganismos contaminantes y de riesgo para el hombre según la “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y consumo humano en el Perú” son:

a) Aerobios mesófilos: cuyos recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario. La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que puede haberse dado condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal. Todas las bacterias patógenas conocidas vehiculadas por los alimentos son mesófilas y en algunos casos contribuyen con su presencia a los recuentos en placa.

b) Coliformes: El término habitual “coliformes” comprende *E. coli* y diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia Enterobacteriaceae fermentadores de la lactosa con producción de gas a 31-37°C. Pueden ser o no de origen fecal. En los alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, la presencia de niveles considerables de Enterobacteriaceae o de coliformes indica: tratamiento térmico inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento, más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico.

c) *Staphylococcus aureus*: Se encuentran de forma natural en la piel, nariz, boca y manos y, son un foco de infección son especialmente importante los cortes en las manos, las heridas infectadas y los flemones.

d) *Escherichia coli*: Es el único microorganismo índice válido en el análisis de los alimentos vegetales frescos. En los alimentos frescos o naturales de origen animal, la mayor parte de las Enterobacteriaceae proceden de contaminaciones de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado.

e) *Salmonella sp.* Esta bacteria se encuentra de forma natural en el intestino del ser humano y de los animales; por ello, las heces son foco de contaminación de los alimentos y el agua. Los alimentos implicados más frecuentemente en esta infección son los huevos crudos (mayonesas, clara batida, sopas o leche con yema) o poco cocinados, las aves mal cocidas y los alimentos cocinados que se han dejado sin refrigerar durante varias horas.

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

Las ETA's constituyen un problema mundial ya que son una importante causa de morbilidad y mortalidad, producen un gran impacto económico tanto por los gastos en salud, como en las actividades económicas relacionadas con la producción de alimentos. En las últimas décadas las acciones de prevención y control se han complicado debido a factores asociados con cambios globales, tales como el crecimiento de la población, la pobreza, la urbanización y la globalización del comercio de alimentos, lo cual permite que los alimentos producidos en un país se vendan y consuman en todo el mundo, esto significa que un producto alimentario contaminado puede causar brotes de enfermedad en muchos países al mismo tiempo.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005), la incidencia anual de diarrea estimada en el mundo es de 1500 millones de casos y, se ha descrito que el 70% de las diarreas se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos y/o sus toxinas. Alrededor de 250 son los agentes causantes de ETA, entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales. En el Perú, donde solo el 38% de hogares tienen acceso a agua, las ETA's son un importante problema de salud pública, las cuales a menudo, ocurren como brotes, por lo que la vigilancia epidemiológica es de vital importancia. La notificación obligatoria e inmediata de las ETA's al sistema de vigilancia, también desarrolla una vigilancia, de los agentes patógenos causantes de ETA más frecuentes en el país mediante una variedad de métodos de tipificación.

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

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

En la Ley General de Salud, Ley N° 26842 del año 1997, el artículo 92° establece que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada entre otros, del control sanitario de los alimentos y bebidas. La Ley del Ministerio de Salud, Ley N° 27657, el artículo 25° señala que la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) es el órgano técnico normativo en los aspectos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente.

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

tienen como finalidad proteger los intereses de los consumidores y prevenir los riesgos de la salud pública.

### **1.1. Problema**

¿Será elevada la contaminación microbiológica de la Ocopa que se expende en los mercados del centro de la ciudad de Tacna, Perú?

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

La Organización Mundial de la Salud (OMS) declara anualmente miles de casos de enfermedades, de origen microbiano, causadas por la contaminación de alimentos y, pese al elevado número de éstas, tan sólo reflejan el 10% de los casos que se producen. La contaminación microbiológica de los alimentos así como la producida por los residuos procedentes de la utilización de medicamentos veterinarios o aditivos incorporados a la alimentación de los animales, los contaminantes existentes en el ambiente, los

procedentes de las transformaciones tecnológicas o de los tratamientos culinarios etc. se produce tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo ya que existen numerosas circunstancias que favorecen la contaminación alimentaria y, entre ellas, la más importante es la propia complejidad de la cadena alimentaria y la falta de sensibilización del consumidor en relación con el tema. Hay que ser muy riguroso en la manipulación de los alimentos, desde la compra hasta el consumo, para garantizar la máxima seguridad e higiene.

Una fuente principal de contaminación de los alimentos es el hombre y la otra fuente son los microorganismos. La contaminación provocada por el hombre disminuye si se tienen en cuenta medidas de higiene personal.

Asimismo, la contaminación por microorganismos es algo más complicada y se tiene que conocer todos y cada uno de ellos, así como su forma de actuación.

### **1.3. Objetivos**

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

- Evaluar la calidad microbiológica de Ocopa que se expende artesanalmente en los mercados del centro de la ciudad de Tacna.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Realizar el recuento microbiológico de las bacterias indicadoras de calidad (Coliformes totales, *E. coli*).
- Realizar el recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables que estén presentes en Ocopa.
- Realizar el recuento de *Staphylococcus aureus* como bacteria patógena presentes en Ocopa.

- Determinar la presencia de bacterias patógenas de *Salmonella sp* que estén presentes en Ocopa.

#### **1.4. Hipótesis**

La venta a granel de “ocopa” lista para uso directo presenta una elevada contaminación microbiológica.

#### **1.5. Antecedentes**

MINSA (2012) reportó que entre los años 2010 al 2012 se reportaron un promedio de 35 brotes de ETA de los cuales el 47% se relacionaron clínicamente con casos agudos de salmonelosis. Los alimentos mayormente implicados fueron los preparados con mayonesa 43% (crema de mayonesa, ensaladas). El total de personas afectadas fueron 2800 y, el 51% de los brotes reportados tuvieron entre 10 a 50 afectados en promedio. Mediante los programas de vigilancia sanitaria de alimentos, se reportaron a

*Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*, como los patógenos más frecuentes en alimentos examinados.

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

TORRES, G. y HERRERA, J. (2008) realizaron el trabajo titulado, “Determinación de la inocuidad microbiológica de dos marcas de ensaladas empacadas listas para consumo, comercializadas en los supermercados de área Metropolitana de San Salvador”, en el 2008, encontrando la presencia de *E. coli* y *Salmonella*; las cuales deberían estar ausentes en el alimento. También encontraron una elevada

cantidad de  $1,1 \times 10^3$  NMP g/mL de coliformes fecales. Para el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables encontraron la cantidad de  $77 \times 10^5$  UFC/g en ensaladas no cumpliendo con las normas establecidas en Norma Mexicana NOM-093- SSA1-1994, por lo tanto, no fueron aptas para el consumo humano. Ellos recomendaron realizar un monitoreo más estricto en el proceso de elaboración de estas ensaladas y realizar una vigilancia microbiológica al producto por las autoridades.

SANTACRUZ, F. y ÁVALOS, C. (2009) realizaron el trabajo titulado, “Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del distrito dos de la zona Metropolitana de San Salvador”, en el 2009. Encontraron la presencia de *E. coli*, *Proteus spp.*, coliformes totales y termotolerantes, los cuales deberían estar ausentes en las ensaladas frescas. Con respecto a los resultados obtenidos, el 100% de las muestras no cumplieron con las normas establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Ellos recomendaron a las instituciones de salud correspondientes que realicen monitoreos periódicos en los establecimientos de comida rápida que comercializan ensaladas frescas, para verificar que las

condiciones en que éstas se preparan sean las idóneas y se ofrezca al consumidor un producto de calidad.

## **1.6. Marco teórico**

### **1.6.1. Mercado Municipal**

Gallo, C. (2002) El Mercado Municipal se define como un conjunto de establecimientos minoristas independientes, fundamentalmente de alimentación perecedera. Estos establecimientos están agrupados en un edificio de titularidad pública y normalmente de uso exclusivo, que tienen servicios comunes y requieren una gestión de funcionamiento también común, según las fórmulas jurídicas establecidas en la legislación de régimen local.

#### **1.6.1.1. Insalubridad en mercados municipales**

Los controles sanitarios y la aplicación de buenas prácticas de higiene no son esporádicas, deben realizarse todos los días durante el almacenamiento y expendio de los productos comestibles aptos para comerciar en ambiente saludable (sin polvo, vectores, roedores, olores desagradables) que disminuye la carga bacteriana y el riesgo de contaminación cruzada. La eliminación interna y periférica de desechos orgánicos e inorgánicos es diaria, la desinfección interna y externa es periódica, dependiente del grado de infestación se puede hacer cada tres meses.

Todos los días de nuestra existencia como seres humanos debemos ser amigos de la higiene y enemigos de la insalubridad y partiendo de este enunciado, exigir a las autoridades que nos administran como comunidad civilizada y organizada

que asuman su responsabilidad en este sentido y que cumplan con el rol de capacitar y concienciar a los comerciantes para hacer que apliquen lo aprendido cumpliendo y respetando ordenanzas municipales establecidas que justifiquen su existencia ante las futuras generaciones. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.2. Infraestructura urbana de mercado**

Muchos mercados han sido destruidos en los últimos años en distintos países en el mundo por razones de inadecuación de las estructuras, su mantenimiento, gestión, falta de respeto de las normas anti-incendios... o para obligar a los comerciantes a trasladarse a nuevos mercados. (FAO, 1999)

Los mercados y las facilidades existentes son a menudo insuficientes. Consecuentemente, la ocupación de espacios por parte de los comerciantes

de alimentos a lo largo de las vías crea grandes interrupciones al tráfico, ocasiona mayor uso de combustible y eleva los costos operacionales. (FAO, 1999)

Los mercados urbanos son usualmente vistos como una fuente de ingreso para las arcas de la ciudad, pero esos fondos a menudo no se reinvierten en el mantenimiento de la infraestructura y en mejores servicios. Esto hace que los comerciantes sientan que los impuestos no son justificados y llega incluso a provocar motines. (FAO, 1999)

La capacidad de almacenamiento en frío suele ser insuficiente y de alto costo. Muchas de las bodegas construidas por los administradores de los mercados son ineficaces debido a mal diseño o no trabajan por falta de mantenimiento. (FAO, 1999)

La administración de los mercados públicos raramente es adecuada. Esto se debe a que las autoridades de los mercados: no disponen de personal calificado; no tienen ni autoridad ni recursos para aplicar las reglamentaciones; no tienen suficiente continuidad. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.3. Mercados mayoristas**

En muchos países latinoamericanos y asiáticos, la creación y expansión de mercados mayoristas ha quedado a la zaga del crecimiento de las poblaciones urbanas y del flujo de alimentos. Los mercados de São Paulo, Bogotá, Caracas y Ciudad de México, entre otros, son claramente insuficientes para las necesidades de su población actual. (FAO, 1999)

La insuficiencia de instalaciones mayoristas es causa de pérdidas de alimentos, problemas de

congestión de tráfico, higiene y seguridad. También es un impedimento hacia el logro de un eficaz sistema de comercialización de alimentos. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.4. Venta al detalle**

Los consumidores de ingresos medios y altos compran en los supermercados mientras los consumidores de bajos ingresos, que gastan casi el 80 por ciento de sus ingresos en alimentos, acuden a tiendas locales, a mercados públicos cercanos a sus hogares o compran a vendedores ambulantes. (FAO, 1999)

Los mercados al por menor no se han expandido con suficiente rapidez en las áreas recientemente urbanizadas y los ya existentes no han podido dar cabida al creciente número de pequeños vendedores. (FAO, 1999)

La falta de espacio y las nuevas oportunidades de venta en distritos satélites son, por lo tanto, la causa de mercados espontáneos. En Lima, Perú, el 80 por ciento de los mercados ha aparecido espontáneamente, a menudo cerca de barriadas pobres donde hay poca disponibilidad de servicios públicos. Los mercados espontáneos juegan un papel importante en la cadena de distribución, pero su naturaleza no planificada es a menudo la causa de problemas de tráfico, higiénicos y ambientales. (FAO, 1999)

En los barrios pobres de las ciudades latinoamericanas, muchas tiendas tradicionales de alimentos se reparten el mercado local. Esta competencia, agudizada por los supermercados e hipermercados, la falta de una actitud empresarial así como de conocimientos técnicos y de gestión, conducen muchas veces a niveles reducidos de rentabilidad que hacen difícil invertir en el mejoramiento del negocio. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.5. Distribución informal de alimentos**

Las ventas informales al por menor y las ventas en la calle son importantes fuentes de alimentos baratos para los consumidores urbanos de bajos ingresos. Las actividades informales generan también empleo e ingresos para los pobres, particularmente mujeres. (FAO, 1999)

Sin embargo, debido a su condición ilegal, los comerciantes informales son a menudo acosados por la policía municipal, quienes no tienen acceso a los mercados y sus servicios porque no pueden pagar los derechos o tasas correspondientes, terminan vendiendo en las calles. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.6. Planificación de mercados**

Los proyectos de desarrollo de mercados lejos de los centros urbanos a menudo resultan en una subutilización de éstos. Ello se debe a que: el diseño es deficiente; las tarifas de uso de los nuevos mercados son demasiado altas para el comerciante pequeño; los minoristas no pueden asumir costos adicionales de transporte; los comerciantes temen perder a sus clientes. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.7. Higiene, salubridad, seguridad y ambiente**

Las autoridades de los mercados son responsables de la limpieza al interior de éstos. En realidad, los servicios sanitarios son raros y nunca están limpios, a la vez que los puntos de agua, drenaje y alcantarillado son a menudo insuficientes. (FAO, 1999)

La inadecuada iluminación en los mercados expone a los usuarios y a los productos a riesgos adicionales. (FAO, 1999)

Las precarias condiciones higiénicas de los mercados establecidos y espontáneos, las crecientes cantidades de sus desechos, y el cada vez mayor número de camiones utilizados para el transporte de los alimentos, tienen un impacto adverso sobre el ambiente, ya que contaminan el aire y el agua, incrementan el ruido, y atentan contra la salud pública. (FAO, 1999)

#### **1.6.1.8. Legislación y reglamentación**

La racionalización del sistema de mercadeo de alimentos puede requerir cambios en las reglas que gobiernan las actividades comerciales. Un ejemplo es el caso de las frutas y hortalizas en la ciudad de Rabat, Marruecos, donde la legislación

nacional y los reglamentos locales obligaban a que los alimentos transitaran a través de una serie de mercados mayoristas en los cuales pasaban por intermediarios innecesarios pero obligatorios y eran gravados por una serie de impuestos, lo que ocasionaba mayores precios al por menor. (FAO, 1999)

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

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

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

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

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

LAURA (2011) indica que la contaminación es todo aquel producto que tiene sustancias o elementos ajenos a la composición natural en concentración o cantidad, tal que puede causar daño a la salud del consumidor. La cantidad de microorganismos en los alimentos indican la calidad, determinando al mismo tiempo si el producto es consumible,

inocuo o rechazable para hacer consumido y llevado al mercado.

#### **1.6.3.1. Insalubridad en mercados municipales**

Los controles sanitarios y la aplicación de buenas prácticas de higiene no son esporádicas, deben realizarse todos los días durante el almacenamiento y expendio de los productos comestibles aptos para comerciar en ambiente saludable (sin polvo, vectores, roedores, olores desagradables) que disminuye la carga bacteriana y el riesgo de contaminación cruzada. La eliminación interna y periférica de desechos orgánicos e inorgánicos es diaria, la desinfección interna y externa es periódica, dependiente del grado de infestación se puede hacer cada tres meses.

Todos los días de nuestra existencia como seres humanos debemos ser amigos de la higiene y

enemigos de la insalubridad y partiendo de este enunciado, exigir a las autoridades que nos administran como comunidad civilizada y organizada que asuman su responsabilidad en este sentido y que cumplan con el rol de capacitar y concienciar a los comerciantes para hacer que apliquen lo aprendido cumpliendo y respetando ordenanzas municipales establecidas que justifiquen su existencia ante las futuras generaciones.

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

##### **A. Contaminación biológica**

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

## **B. Contaminación química**

Cuando es causado por sustancias químicas que llegan a los alimentos de forma accidental, pueden ser producidas por: metales pesados, aplicación de plaguicidas, etc. También se considera a la aplicación de aditivos alimentarios no autorizados y el uso de los autorizados. (DIGESA, 2000).

## **C. Contaminación física**

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

## **D. Contaminación cruzada**

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

- Los alimentos crudos se almacenan en refrigeración, estarán protegidos y se ubicarán por separado de los alimentos cocinados, pre-cocidos y de consumo directo.
- El personal encargado de la manipulación de los alimentos, se lavara

y desinfectara las manos antes de entrar en contacto con los alimentos cocidos o crudos.

- Las tablas de picar y utensilios que se empleen para los alimentos deben ser diferentes para los alimentos crudos y cocidos; luego deben de desinfectarse después de haberse utilizado para los alimentos.

(DIGESA, 2000)

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

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

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

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

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

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

Debido a que los patógenos bacterianos forman parte del medio ambiente, pueden contaminar fácilmente las hortalizas si no se manipulan adecuadamente antes del consumo. El número de bacterias para provocar enfermedades humanas varía con el tipo de organismo, la edad y el estado del huésped. En algunos casos es necesario que haya un millón de bacterias patógenas por gramo o cm<sup>2</sup> en el alimento, para que se produzca la enfermedad. Sin embargo, algunos patógenos pueden provocar enfermedades en cantidades menores. La prevención de la contaminación bacteriana constituye el factor de control más

importante para reforzar la seguridad del alimento. (FDA, 2001).

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

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

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

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

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

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

Las ETA's son muy frecuentes en la mayoría de los países. Estas son llamadas así porque el alimento actúa como vehículo en la transmisión de organismos patógenos

y sustancias tóxicas. Este tipo de padecimientos se presentan debido al consumo de alimentos que han estado expuestos a una pequeña o gran contaminación, debido a una amplia variedad de microorganismos, que pueden ser o no patógenos. (ALUFFI y RUMBADO, 2006).

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

Se refiere a las enfermedades alimentarias originadas por la entrada de bacterias en el organismo por ingestión de alimentos contaminados y a la reacción del organismo provocada por su presencia o por sus metabolitos. Se pueden dividir en dos tipos: aquellas en las que los microorganismos patógenos no necesariamente se multiplican en el alimento, sino que el alimento sólo actúa como vehiculador, siendo éste el caso de microorganismos patógenos como los que produce difteria, tuberculosis, disenterías, fiebre tifoidea, cólera, hepatitis infecciosa, etc.; y aquellas en las que el alimento puede servir de medio de cultivo para que los microorganismos patógenos se

multipliquen en él y alcance cifras que aumentará la posibilidad de que el consumidor del alimento se infecte, en este tipo de enfermedades se incluyen las producidas por las especies *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* y *E. coli* ETEC. (FRAZIER, 2003).

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

Pueden ser consecuencia de un envenenamiento químico o de la ingestión de una toxina (intoxicación). La toxina se puede encontrar en forma natural en determinadas plantas o animales, o ser un producto metabólico de naturaleza tóxica excretado por un microorganismo. En una intoxicación alimentaria bacteriana se alude a las enfermedades alimentarias causadas por la presencia de una toxina bacteriana que se ha originado en el alimento. Existen dos tipos de intoxicaciones alimentarias producidas por bacterias: el botulismo, originado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por *Clostridium botulinum* y la intoxicación estafilocócica,

originada por una toxina existente en los alimentos producida por *Staphylococcus aureus*. (FRAZIER, 2003).

#### **1.6.5.4. Epidemiología**

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

En la conferencia internacional sobre nutrición de la FAO/OMS se reconoció que cientos de millones de personas de todo el mundo padecen de enfermedades asociadas a la ingestión de alimentos. Es importante notar

que la notificación de estos casos es obligatoria, se sabe que son muchos los casos que no se denuncian. (www.fao.org).

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

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

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

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

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

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

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

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

Conocer y cumplir las instrucciones de trabajo establecidas por los comedores, garantiza la seguridad de los alimentos, esto se asocia generalmente con la limpieza personal; por lo que la higiene personal del manipulador debe ser impecable. (LÓPEZ, 2002).

El manipulador debe mantener un grado elevado de aseo personal, llevar una vestimenta limpia y de uso exclusivo, ropa protectora, cubre cabeza y calzado adecuado; cubrirse los cortes y las heridas con vendajes impermeables apropiados; de ser posible

lavarse las manos con agua caliente y jabón, emplear desinfectante para las manos, tantas veces como lo requieran las condiciones de trabajo, tanto antes de incorporarse a su puesto como después de una ausencia o de haber realizado actividades ajenas a su actividad específica. (LÓPEZ, 2002).

Durante la actividad de trabajo, los manipuladores de alimentos no podrán: fumar, masticar chicle, comer en el puesto de trabajo, estornudar o toser sobre los alimentos, ni realizar cualquier otra actividad que pueda ser causa de contaminación de los alimentos, tal como llevar objetos personales que puedan entrar en contacto directo con los alimentos, tales como: anillos, pulseras, relojes, etc. (LÓPEZ, 2002).

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

Todos los mercados deberán cumplir con todas las disposiciones estipuladas en las reglamentaciones oficiales que cada país indica, las cuales son reconocidas para poder funcionar. La ubicación y el diseño deberá haber sido previamente examinada para luego ser aprobada por la autoridad competente. Ofrecer un espacio suficientemente amplio y una disposición ordenada de puestos, permitiendo un movimiento ordenado de materiales y mercancías, dentro y fuera del centro para evitar posibles vías de contaminación; ubicar adecuadamente a los clientes; ofrecer espacios aptos y suficientes para el almacenamiento de residuos sólidos, limpieza, lavado de mercancía; permitir una ventilación suficiente, abastecimiento de energía eléctrica, agua potable, etc. Los mercados tienen que estar bien contruidos, tener suelos de cemento lisos, azulejos o asfalto con un sistema de desagüe para eliminar el agua de superficie y facilitar la limpieza; cumplir con cualquier otro requisito estipulado por la autoridad competente en

relación con la estructura de los mercados. (MURILLO, 2011).

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

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

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

Todos los alimentos deben provenir de una fuente aprobada. Se debe trabajar con su proveedor(es) para asegurar los alimentos que está utilizando y cumpliendo las normas de seguridad alimentaria. Cuando se recibe

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

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

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

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

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

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

## **D. Control de temperatura**

La temperatura es el factor clave que controla el crecimiento de bacterias en los alimentos. Todos los alimentos deben ser almacenados en frío entre 0 – 5°C y por debajo o en caliente de 57,2°C o más. La refrigeración evita que los alimentos se conviertan en un peligro al desacelerar el crecimiento de la mayoría de las bacterias. Mantener fríos los alimentos no detiene el crecimiento de bacterias, pero va a bajar la velocidad. Si se nota que la comida parece tener crecimiento de moho u olores: un buen lema para adoptar en este caso es: “En caso de duda, tirarlo a la basura”. Una vez que la comida se calienta o cocina, debe mantenerse a una temperatura para limitar el crecimiento de bacterias. La temperatura correcta de mantenimiento de calor es de 57°C. (FAO, 2009).

## **E. Vestimenta**

Los manipuladores de alimentos (del área de cocina) deben usar ropa protectora de color blanco que les cubra el cuerpo, llevar completamente cubierto el cabello y usar calzado cerrado. Toda la vestimenta debe ser lavable, mantenerla limpia y en buen estado de conservación, a menos que sea de uso desechable (solo un uso). El resto del personal debe usar ropa protectora mantenida en buen estado de conservación e higiene. Las personas encargadas de la limpieza y desinfección de los establecimientos deben usar delantales y calzados impermeables. (DIGESA, 2000).

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

El uso de guantes no reemplaza la necesidad de lavarse las manos. Debe de lavarse las manos correctamente antes y después de usar guantes y cambiarse de guantes cuando se realicen diferentes

tareas o usarlos para una sola tarea. No reutilizar guantes. Desechar los guantes cuando estén sucios o dañados. (FAO, 2009).

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

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

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

### **A. Importancia**

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

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

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

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

#### **Normas Técnicas Internacionales**

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

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

#### **Normas Técnicas Nacionales**

Son aquellas que son aprobadas por el Organismo Peruano de Normalización. En Perú las normas que

establecen requisitos que deben cumplir los alimentos preparados sin tratamiento térmico para el consumo humano, es la Dirección General de Salud Ambiental, DIGESA, que es el Órgano Técnico-Normativo en los aspectos relacionados al Saneamiento Básico, Salud Ocupacional, Higiene Alimentaria, Zoonosis y Protección del Ambiente. La normatividad usada actualmente relacionada a los alimentos preparados sin tratamiento térmico es la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”(ver Anexo 01).

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

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

- NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 27 de agosto del 2008, “Norma Técnica Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo Humano”, para los parámetro microbiológicos
  
- Decreto Supremo N° 007-98-SA17, del 24 de setiembre de 1998. Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, para la evaluación de la información al consumidor y registro sanitario.
  
- Derecho Legislativo N° 1062, del 28 de junio del 2008. Ley de la Inocuidad de los Alimentos. (Ver anexo 01 y 02)

## 1.6.10. Microorganismos indicadores

### A. *Salmonella sp.*

#### **Etiología**

Sus principales reservorios son los animales y las personas. La intoxicación alimentaria por *Salmonella* es consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen cepas de estos géneros en grandes cantidades. (JAMES M. JAY, 2000).

#### **Patogenia y signos clínicos asociados a *Salmonella*.**

Los síntomas son de fiebre ligera, náusea, vómito, dolor abdominal y diarrea duran pocos días pero pueden persistir de una semana a más. La

enfermedad suele ser autolimitante, pero puede ser más grave en grupos especialmente sensibles, como los niños, ancianos y en las personas enfermas. La dosis infecciosa es de 10<sup>6</sup> células, aunque esto varía con los factores de virulencia del serotipo, sensibilidad del individuo y el alimento vehiculador. Las especies *S. typhi* y *S. paratyphi* A, B y C son causantes de la enfermedad septicémica conocida como fiebre entérica en las personas, tiene un periodo de incubación entre 3 y 56 días, aunque habitualmente está comprendida entre 10 y 20 días. La fiebre persiste pero va acompañada al comienzo de una diarrea en las que son excretadas grandes cantidades de bacterias en la orina. (ADAMS y MOSS, 2011).

### **Asociación con los alimentos**

La salmonelosis se define como una infección zoonótica, puesto que la fuente principal de la enfermedad humana la constituyen los animales

infectados. La transmisión tiene lugar por la vía fecal-oral por medio de la cual el contenido intestinal de un animal infectado es ingerido con un alimento o con el agua. Un tiempo de uso incorrecto de la temperatura que permita crecer a las salmonelas en el alimento y un tratamiento térmico final insuficiente o ausente son factores comunes que cooperan en la aparición de brotes. Puede haber contaminación cruzada por contacto directo o indirecto por medio del material y utensilios de cocina. Si el manipulador de alimentos tiene las manos contaminadas y tocan el alimento que posteriormente es consumido sin la cocción adecuada tiene lugar el crecimiento microbiano. La diseminación se da en todo lugar donde se preparan y/o consumen alimentos, en los hospitales, guarderías y residencias para personas ancianas. (ADAMS y MOSS, 2011).

**CUADRO 01: Límites fisiológicos del crecimiento de *Salmonella spp.*, en los alimentos y en los medios bacteriológicos.**

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

<sup>a</sup>Contaminada de modo natural. <sup>b</sup>Contaminada artificialmente.

<sup>c</sup>Crecimiento en 24 horas a 22°C. <sup>d</sup>Acidificado con HCL o con ácido

cítrico, crecimiento de 24 horas a 30°C. <sup>e</sup>Crecimiento en 3 días a 30°C.

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

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

### **Etiología**

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

### **Patogenia y signos clínicos**

Hay cuatro clases importantes de *E. coli*, productor de diarreas (la diarrea acuosa aguda que se presenta con frecuencia en las personas recién llegadas en algunos países extranjeros) basadas en diferentes propiedades de virulencia codificadas por plásmidos. ETEC: se presenta la enfermedad entre 12 a 36 horas después de la ingestión del organismo. Los síntomas pueden variar desde una ligera diarrea febril hasta un

síndrome grave parecido al cólera, con heces acuosas sin sangre ni moco, dolor abdominal y vómito, persistiendo de 2 a 3 días, la diarrea en niños pueden causar deshidrataciones graves. EIEC: origina disentería bacilar invasora normalmente asociada con *Shigella*, invade las células epiteliales del colon y se multiplica en su interior causando ulceración e inflamación. Los signos clínicos son fiebre, dolor abdominal, malestar y con frecuencia una diarrea acuosa que contiene sangre, moco y leucocitos fecales. EPEC: los síntomas son malestar, vómitos y diarrea, con deposiciones que contienen moco pero rara vez sangre, aparecen 12 a 36 horas después de la ingestión del organismo. En niños es más grave, que algunas otras infecciones diarreicas y puede persistir de un tiempo de más de dos semanas. EHEC: conocido también como *E. coli* productor de Verotoxina (VTEC). El serotipo, que con mayor frecuencia se aísla en las personas, es capaz de causar enfermedades que amenazan la vida, como con la colitis hemorrágica (diarrea aguda, sanguinolenta, con periodo de incubación de 3 a 8 días, se puede diferenciar de la

colitis inflamatoria por la falta habitual de fiebre y por la ausencia de leucocitos en las heces), el síndrome urémico hemolítico (se caracteriza por la insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica) y la púrpura trombótica trombocitopénica (descenso del número de plaquetas sanguíneas). (ADAMS y MOSS, 2011).

### **Asociación con los alimentos**

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

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

### **Etiología**

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

### **Patogenia y signos clínicos**

La intoxicación alimentaria por *S. aureus* es el resultado de la ingestión de una toxina preformada en el alimento. *S. aureus* produce siete exotoxinas: A, B, C1, C2, C3, D y E. El periodo de incubación es de 2 a 4 horas, los síntomas son náuseas, vómitos,

diarrea y postración, siendo la curación completa de 1 a 2 días.

En casos graves es posible que la deshidratación, la palidez y el colapso requieran un tratamiento por infusión intravenosa. Se desconoce de qué modo la toxina induce a la diarrea, pero se ha demostrado que no estimula a la actividad de adenilactociclasa. (ADAMS y MOSS, 2011)

**CUADRO 02: Factores que permiten a *Staphylococcus aureus* crecer y producir enterotoxina.**

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

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

**CUADRO 03: Especies y subespecies de *Staphylococcus* producen coagulasa, nucleasa, enterotoxina, hemólisis, manitol y G + C de ADN.**

<b>Organismos</b>	<b>Coagulasa</b>	<b>Nucleasa</b>	<b>Enterotoxina</b>	<b>Hemólisis</b>	<b>Manitol</b>	<b>G + C de ADN</b>
<i>S. aureus</i> subesp. <i>anaerobius</i>	+	TS	-	+		31,7
<i>aureus</i>	+	TS	+	+	+	32 - 36
<i>S. intermedius</i>	+	TS	+	+	(+)	32 - 36
<i>S. hyicus</i>	(+)	TS	+	-	-	33 - 34
<i>S. delphini</i>	+	-		+	+	39
<i>S. caprae</i>	-	TL	+	(+)	-	36,1
<i>S. chromogenius</i>	-	-w	+	-	v	33 - 34
<i>S. schleiferi</i> subesp. <i>coagulan</i>	+	TS		+	(+)	35 - 37

<i>Scheleiferi</i>	-	TS		+	-	37
<i>S. cohnii</i>	-	-	+	-	v	36-38
<i>S. epidermis</i>	-	-	+	v	-	30 - 37
<i>S. haemolyticus</i>	-	TL	+	+	v	34 - 36
<i>S. lentus</i>	-		+	-	+	30 - 36
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	+	-	+	31 - 36
<i>S. sciuri</i>	-		+	-	+	30 - 36
<i>S. simulans</i>	-	v		v	+	34 - 38
<i>S. warneri</i>	-	TL	+	-w	+	34 - 35
<i>S. xylosus</i>	-	-	+	+	v	30 - 36

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

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

## **Asociación con los alimentos**

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

## **D. Bacterias coliformes totales**

En la higiene de los alimentos, los coliformes totales no se consideran indicadores de contaminación fecal sino solamente indicadores de calidad higiénica. Los coliformes totales incluyen una amplia variedad de bacilos aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos y bacterias no esporulados capaces de proliferar en presencia de

concentraciones relativamente altas de sales biliares, fermentando la lactosa y produciendo ácido o aldehído en 24 horas a 35 -37 °C. *E. coli* y los coliformes termotolerantes son un subgrupo del grupo de los coliformes totales que pueden fermentar la lactosa a temperaturas más altas. El grupo de los coliformes totales incluye especies fecales y ambientales. (OMS, 2006)

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

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

Algunas cepas de bacterias aerobias mesófilas comunes, no generalmente consideradas como agentes de enfermedades transmitidas por los alimentos han sido señaladas como causa de enfermedad cuando existía un número elevado de células viables en los alimentos. Sin embargo, los datos con que se cuenta acerca de la patogenicidad de estas cepas son conflictivos. No obstante, parece prudente evitar que los alimentos industrializados no fermentados den recuentos en placa elevados. (ICMFS, 2000).

La causa más frecuente de alteración, debe esperarse en los mismos recuentos elevados. Los niveles de población precisos para producir modificaciones organolépticas, varía ampliamente según el tipo de alimento y de modo particular, la clase de microorganismo. La alteración de los alimentos refrigerados es producida frecuentemente por bacterias que no pueden crecer a temperaturas de 30°C y superiores. Así, los recuentos en placa de gérmenes aerobios realizados en alimentos alterados mientras se

mantengan refrigerados pueden alcanzar cifras uno o más ciclos logarítmicos superiores cuando la incubación se hace a 5-28°C que cuando se lleva a cabo a 35-37°C.

Los recuentos elevados de bacterias aerobias mesófilas, en productos crudos no tratados, a menudo están constituidos por la microflora normal o quizás indican una alteración incipiente del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor. (ICMFS, 2000).

#### **1.6.11. Criterios microbiológicos**

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

**CUADRO 04: Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa a la huancaína, ocopa, aderezos, postres, jugos, yogurt de fabricación casera u otros).**

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

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

## II. MATERIALES

### 2.1. Materiales de vidrio y otros

- Asa de siembra de níquel de 3 a 3,5 mm de diámetro
- Matraz de 250 mL, 500 mL.
- Mechero de alcohol.
- Mechero Bunsen.
- Pipetas de 10 mL.
- Placas Petri 100 x 20 mm, 100 x 15 mm.
- Probeta de 50 mL y 100 mL.
- Puntas desechables azules para Micropipeta de rango variable de 100 – 1000  $\mu$ L.
- Tubos de Ensayo de 15 x 125 mm.
- Vaso de Precipitación de 250, 500 mL.
- Algodón
- Asa de Kollé.
- Bolsas de polipropileno de primer uso.
- Bombilla de succión.

- Cooler
- Gradilla para tubos.
- Vasos colectores estériles.
- Guantes quirúrgicos.
- Mascarilla.
- Pabilo.
- Papel kraff.
- Marcador.

## **2.2. Equipos**

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

### 2.3. Medios de cultivo y reactivos

- Agar Citrato de Simmons.
- Agar Hierro Lisina (LIA).
- Agar Hierro Triple Azúcares (TSI).
- Agar Nutritivo.
- Agar SIM.
- Agua peptonada tamponada.
- Caldo urea.
- Caldo Tetracionato de Kauffmann.
- Placas Petrifilm™ para el recuento de *E. coli* / Coliformes.
- Placas Petrifilm™ para el recuento de *Staphylococcus aureus*.
- Placas Petrifilm™ para el recuento de Aerobios Mesófilos.
- Reactivo para la detección de Indol (Reactivo de Kovac's)
- Agua destilada.
- Alcohol etílico de 70°.

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

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

## **2.5. Variables de estudio**

### **2.5.1. Variable dependiente**

- Carga Microbiana

## **Indicadores**

### **Ocopa:**

- Los envases
- Condiciones sanitarias del manipulador
- Condiciones higiénicas del lugar
- Condiciones higiénicas del preparador

### **Indicadores de Calidad:**

Los microorganismos

#### **2.5.2. Variable Independiente**

Preparación de la ocopa.

## **2.6. Material de estudio**

Ocopa, alimento preparado sin tratamiento térmico, vendido en los mercados: Central, 2 de Mayo, Leoncio Prado y Grau, listo para su consumo directo.

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

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

La toma de muestras se realizó durante los meses de julio, agosto y setiembre del año 2014. Las muestras de ocopa se tomaron de los 4 mercados del centro de Tacna, los cuales fueron codificados. Se escogió del Mercado central 2 puestos, del Mercado 2 de Mayo 1 puesto, del mercado Leoncio Prado 1 puesto y del Mercado Grau 4 puestos. Las muestras se tomaron por triplicado por lo que en total fueron 24 muestras, cada una tomada en fechas diferentes, muestras que fueron transportadas al Laboratorio de

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

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

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

Para obtener los datos representativos se tomó en cuenta la cantidad de mercados en donde se expende la ocopa en el centro de la ciudad de Tacna ya que son los más concurridos; de esta manera se estableció el siguiente método de muestreo:

- Se realizó muestreos (3 en cada puesto de mercado elegido) en los meses de julio, agosto y setiembre (Cuadro 07), con lo que se obtuvieron 24 muestras de ocopa de los 8 puestos pertenecientes a los 4 mercados.

- Las muestras se colectaron tal y como las venden y puestas en bolsas de polipropileno de primer uso, luego fueron colocadas en la caja isotérmica (cooler) a temperatura ambiente (18 – 24 °C) para no alterar las características originales del producto, cada muestra fue etiquetada con la siguiente información: fecha y hora de la toma de muestra, punto de recolección, luego fueron trasladadas al laboratorio, para su inmediato análisis microbiológico.
  
- Se realizaron, por triplicado los análisis microbiológicos de todos los puestos de mercados escogidos, sacando un promedio de los 3 valores, obteniendo al final un solo resultado por cada puesto de mercado.

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

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

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

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

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

- Se transfirió, por medio de una micropipeta, 1 mL de la suspensión inicial (primera dilución) a un tubo

conteniendo 9 ml de diluyente estéril a una temperatura apropiada.

- Se mezcló cuidadosamente durante 5 a 10 segundos, para obtener la dilución 10-2. Utilizándose una punta o tip estéril diferente para cada una de las diluciones 10-2, 10-3, 10-4, etc.

**B. Método: AOAC 990.12. Método rápido de análisis – placas petrifilm para el recuento de aerobios AC**

**Inoculación**

- Se colocaron las placas Petrifilm para el recuento de aerobios sobre una superficie plana y lisa.
- Se levantó la lámina superior y se transfirió por medio de una pipeta estéril 1 mL de las diluciones decimales

a cada una de las dos placas Petrifilm, colocándose en el centro de la lámina hacia abajo sobre la muestra, evitar la formación de aire.

- Se colocó el esparcidor plástico sobre el centro de la placa Petrifilm, presionándose cuidadosamente y distribuyéndose la muestra sobre el área de crecimiento antes que se forme el gel.
- Se removió el aplicador de la placa Petrifilm y se esperó que se gelatinice la placa. No se deslizó el aplicador a través de la lámina.

### **Incubación**

- Se incubaron las placas en una posición horizontal, con el área limpia hacia arriba y no más de 20 placas una sobre otra, por 48 horas (+- 3 horas) a 35°C (+- 1°C).

## **Interpretación**

- El tinte de color rojo es un indicador que se encontró en la placa, se coloreó las colonias para su mejor identificación.
- Se contaron todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.

## **Reporte**

- Los resultados obtenidos, se expresaron en (UFC) de aerobios mesófilos / gramo o mL.

(Ver anexo 13)

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

**Inoculación**

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

## **Incubación**

- Se incubaron las placas en posición horizontal por 24 horas  $\pm$  2 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , para el recuento de coliformes totales.
- Para el recuento de *E. coli* se incubó adicionalmente 24 horas  $\pm$  2 horas (48 horas  $\pm$  4 horas) a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

## **Selección de placas de interpretación**

- Para la confirmación de *E. coli* se tomaron las colonias de color azul a rojo-azulado asociados con formación de burbujas de gas. Las colonias azules sin gas fueron enumeradas como *E. coli*.

- Para el recuento total de coliformes se contaron las colonias rojas y asociadas con gas en 24 h. Las colonias no asociadas con gas no fueron enumeradas como coliformes totales.

### **Reporte**

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

(Ver anexo 14)

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

**Inoculación**

- Similar al procedimiento anterior.

**Incubación**

- Se incubaron las placas en una posición horizontal por 24 horas  $\pm$  2 horas a 35 °C  $\pm$  1°C.

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

- Se enumeraron como *S. aureus* las colonias color rojo violeta.

### **Empleo del disco**

Cuando aparecieron colonias de color diferente al rojo – violeta, se empleó el disco Petrifilm Staph Express.

- Se retiró el disco de su envase individual agarrándolo por la lengüeta.
- Se levantó el film superior de la placa Petrifilm y se colocó el disco en el alojamiento central de la placa.
- Se bajó el petrifilm.

- Se aplicó presión a la parte superior del disco, incluidos los bordes del disco, mediante deslizamiento firme de los dedos a través del film superior.
- Se incubaron las placas con el disco insertado en pilas de no más de 20 placas durante 3 h a 37°C ± 1°C.
- Se contaron todas las zonas rosas haya o no colonia como *S. aureus*.

### **Reporte**

Los resultados obtenidos se expresaron en unidades formadoras de colonias (UFC) de *Staphylococcus aureus* /gramo o mL.

(Ver anexo 15)

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

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

- Se preparó la suspensión inicial añadiéndose 25 gramos de la muestra a 225 mL de Agua Peptonada Tamponada.
- Se incubó la suspensión inicial a 37°C +- 1°C por 18 a 24 horas a 35°C – 37°C.

### **Enriquecimiento selectivo**

- De la suspensión inicial obtenida, se transfirió 10 mL a un matraz que contenía 90 mL de Caldo Tetracionato.

- Se incubó el Caldo Tetracionato a  $43^{\circ}\text{C} \pm 0,05^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

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

- Del caldo Tetracionato se tomó un asa de 5 mm para el sembrado en la superficie de una placa de medio agar selectivo de Agar SS y se extendió de tal manera que se obtuvieron colonias aisladas. Se incubaron las placas de Agar SS durante 24 horas a  $35^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$ .
- Las colonias típicas de *Salmonella* se observaron de color gris a negro, con un halo transparente, a veces con un brillo metálico.

### **Confirmación bioquímica**

Se usaron los medios de cultivo como: agar citrato de SIMMONS, agar hierro lisina (LIA). Agar hierro triple azúcares (TSI), agar SIM, caldo Urea e Indol.

### **Reporte**

Se indicó la presencia o ausencia de *Salmonella sp.* en una muestra de x 25 g/mL de producto.

(Ver anexo 16)

### III. RESULTADOS

En el presente trabajo se realizó la evaluación microbiológica de las ocopas (alimentos preparados sin tratamiento térmico), durante los meses de julio, agosto y setiembre, de un total de cuatro mercados, Mercado Central, Mercado 2 de Mayo, Mercado Leoncio Prado y Mercado Grau, pertenecientes al centro de la ciudad de Tacna, tomándose las muestras de todos los puestos donde expenden este producto.

Del total de muestras de ocopa analizadas, el 50% presentó *E. coli* en un valor no permisible para el consumo humano, el 20,83% presentó ocopa con *Staphylococcus aureus*, el 79,17% presentó coliformes totales y un 70, 83% presentó bacterias aerobias mesófilas viables. Por otro lado, del total de muestras analizadas ninguna registró la presencia de *Salmonella sp.* (Ver cuadro 05).

Los resultados presentados a continuación se refieren exclusivamente a las muestras indicadas, obtenidos de los cuatro

mercados, de los cuales se tomaron las muestras de la siguiente manera:  
mercado Central: 2 muestras, mercado 2 de Mayo: 1 muestra, mercado Leoncio Prado: 1 muestra, mercado Grau: 4 muestras, las cuales se muestrearon respectivamente 3 veces durante los meses de julio, agosto y setiembre respectivamente obteniendo un computado de 24 muestras en total.

Los resultados obtenidos se compararon con la NTS N° 071 – MINS/DIGESA-V0.1 (Ver anexo 01)

**CUADRO 05: Porcentaje de muestras no aptas para los análisis microbiológicos obtenidos de las muestras de ocopas analizadas de los mercados del centro de la ciudad de Tacna.**

<b>Análisis Microbiológico</b>	<b>Total de muestras analizadas</b>	<b>N° de muestras no aptas</b>	<b>% de muestras no aptas</b>	<b>N° de muestras aptas</b>	<b>% de muestras aptas</b>
Bacterias aerobios mesófilas viables	24	17	70,83	7	29,17
<i>Escherichia coli</i>	24	12	50	12	50
Coliformes totales	24	19	79,17	5	20,83
<i>S. aureus</i>	24	5	20,83	19	79,17
<i>Salmonella sp.</i>	24	0	-	24	100

**CUADRO 06: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de bacterias aerobias mesófilos viables de las muestras de ocopa analizadas.**

Lugar de muestreo (mercados)	Análisis Microbiológico			
	Mes	Tamaño de la muestra (g)	Bacterias Aerobias Mesófilas (UFC/g)	Observaciones
MC <sub>1</sub>	Julio	25	13,4 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	12 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Setiembre	25	13 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
MC <sub>2</sub>	Julio	25	34,3 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	156 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Setiembre	25	355 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
M <sub>2M</sub>	Julio	25	438 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	554 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Setiembre	25	669 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
M <sub>LP</sub>	Julio	25	160 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	283 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Setiembre	25	452 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable

(Continúa en la siguiente página. . .)

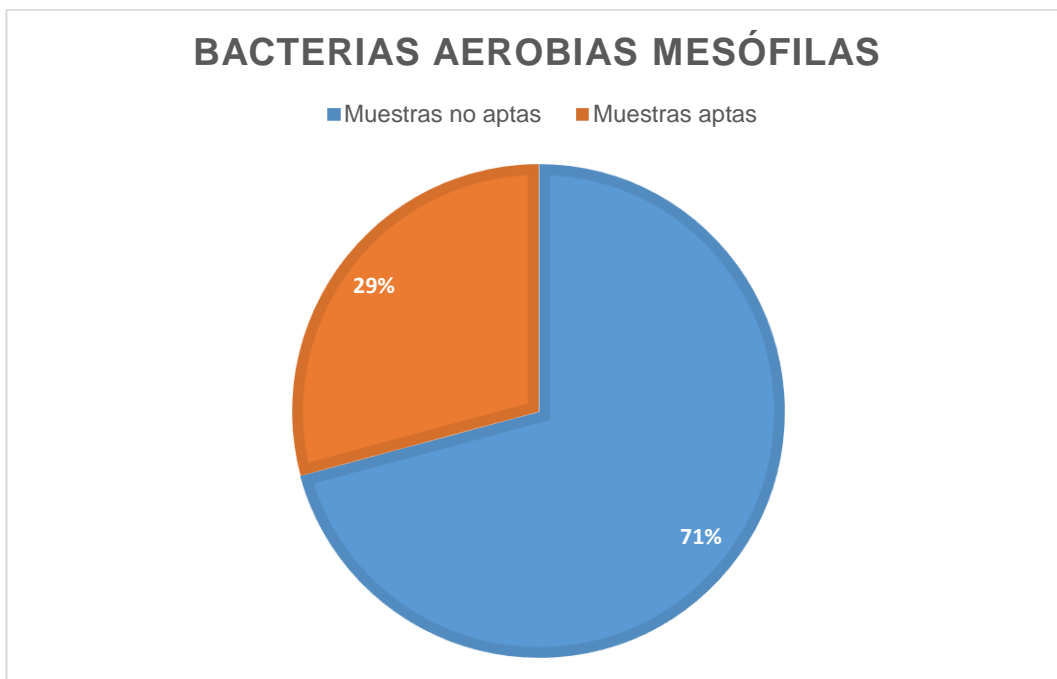
Lugar de muestreo (mercados)	Análisis Microbiológico				Promedio	Observaciones
MG <sub>1</sub>	Julio	25	77 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable	443 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	266 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	289 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG <sub>2</sub>	Julio	25	108 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable	213,67X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	284 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	249 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG <sub>3</sub>	Julio	25	374 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	202,33X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	108 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	125 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG <sub>4</sub>	Julio	25	399 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	192X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	69 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable		
	Setiembre	25	108 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		

**Fuente:** Elaboración propia.

## **Bacterias aerobias mesófilas viables**

El Cuadro 06 indica que hubo la presencia de estas bacterias en la totalidad de muestras analizadas, presentando solo en 7 muestras, ( $M_{C1}$  julio, agosto, setiembre,  $M_{C2}$  julio,  $M_{G1}$  julio,  $M_{G2}$  julio,  $M_{G4}$  agosto), una enumeración dentro del rango que nos indica la norma; representando así un 29,17% según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica ausencia/gramo de bacterias aerobias mesófilas viables en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de  $10^6$  gérmenes por gramo. (Ver anexo 01).



**GRAFICO 01:** Resultados del análisis microbiológico de las bacterias aerobias mesófilas viables para las muestras de ocopas analizadas.

**Fuente:** Elaboración propia.

**CUADRO 07: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de coliformes totales de las muestras de ocopa analizadas.**

Lugar de muestreo (mercados)	Mes	Análisis Microbiológico			Promedio	Observaciones
		Tamaño de la muestra (g)	Bacterias Coliformes Totales (UFC/g)	Observaciones		
MC <sub>1</sub>	Julio	25	0,8 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	0,6 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
MC <sub>2</sub>	Julio	25	0,6 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	0,2 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
M <sub>2M</sub>	Julio	25	0	Aceptable	5,67 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	2 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	15 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
M <sub>LP</sub>	Julio	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	1,67 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	4 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		

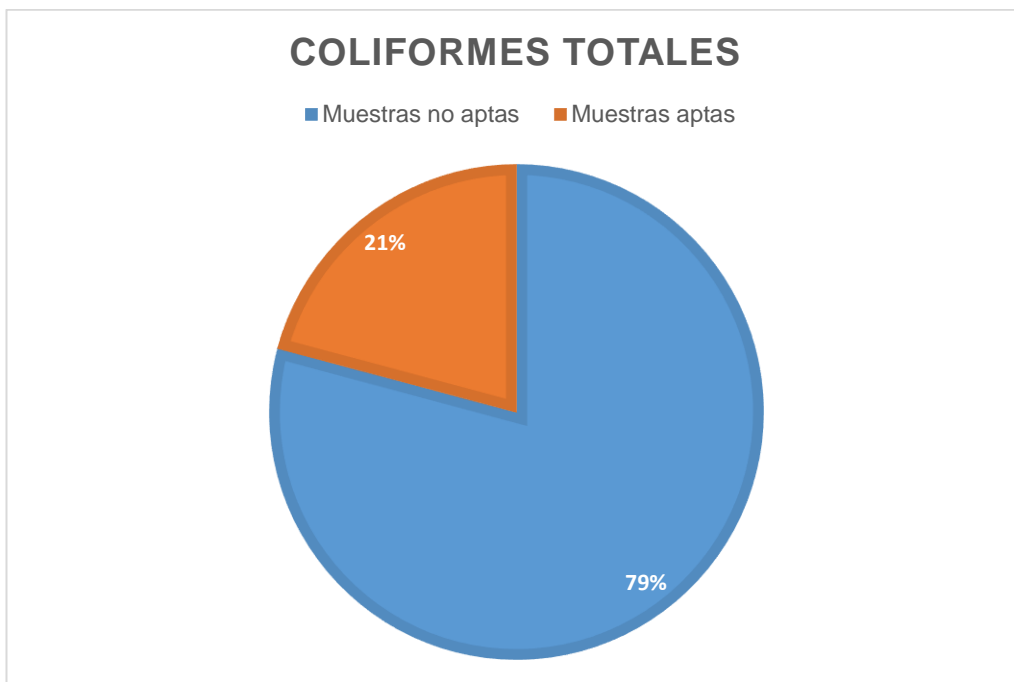
(Continúa en la siguiente página...)

Lugar de muestreo (mercados)		Análisis Micro-biológico	Promedio	Observaciones	Lugar de muestreo (mercados)	
MG <sub>1</sub>	Julio	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	2,67 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	3 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	4 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG <sub>2</sub>	Julio	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	4,33 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	8 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	4 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG <sub>3</sub>	Julio	25	3 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	3,33 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	6 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG <sub>4</sub>	Julio	25	7 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	4,33 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	5 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		

## **Coliformes totales**

El Cuadro 07 indica que de las 24 muestras analizadas en 19 hubo la presencia de estas bacterias, siendo solo 5 muestras ( $M_{C1}$  setiembre,  $M_{C2}$  agosto,  $M_{C2}$  setiembre,  $M_{2M}$  julio,  $M_{LP}$  agosto) las aptas para el consumo humano. Las bacterias aptas para el consumo humano representaron el 20,83% del total según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N°071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/gramo de coliformes totales en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de  $10^3$  gérmenes por gramo. (Ver Anexo 01)



**GRÁFICO 02:** Resultados del análisis microbiológico de las bacterias coliformes totales para las muestras de ocopa analizadas.

**Fuente:** Elaboración propia.

**CUADRO 08: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de *Escherichia coli* de las muestras de ocopa analizadas.**

Lugar de muestreo (mercados)	Análisis Microbiológico				Promedio	Observaciones
	Mes	Tamaño de la muestra (g)	Bacterias <i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	Observaciones		
MC <sub>1</sub>	Julio	25	0,4 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	0,13 x 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
MC <sub>2</sub>	Julio	25	0,1 X10 <sup>4</sup>	Inaceptable	0,03 x 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
M <sub>2M</sub>	Julio	25	0	Aceptable	1 x 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	2 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
	Setiembre	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
M <sub>LP</sub>	Julio	25	0	Aceptable	0	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		

(Continúa en la siguiente página...)

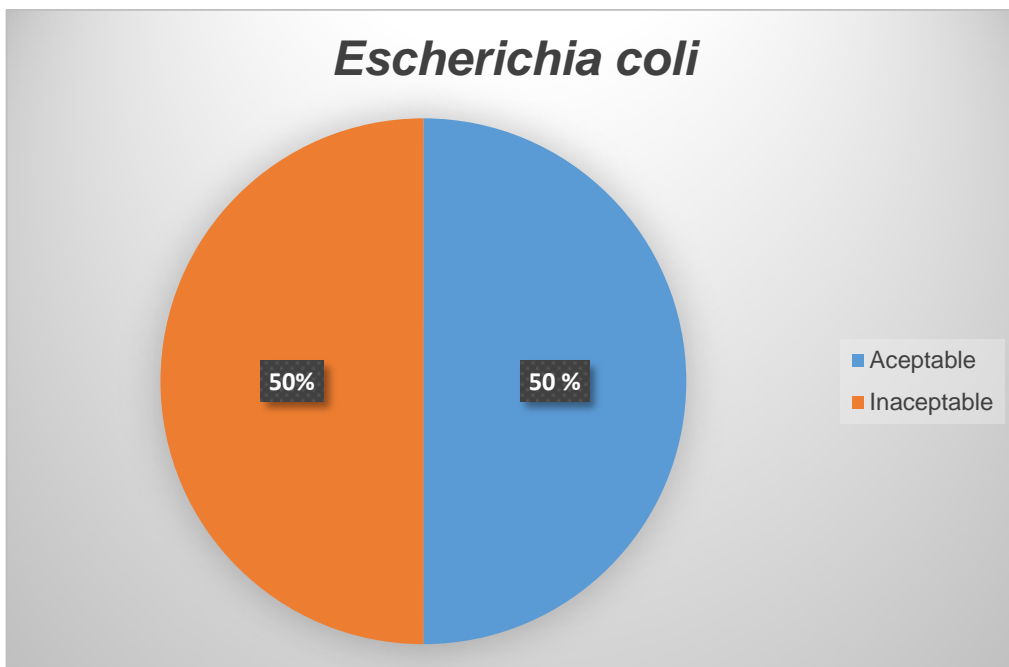
		Análisis Microbiológico			Promedio	Observaciones
		Mes	Tamaño de la muestra (g)	Bacterias <i>Escherichia coli</i> (UFC/g)		
MG1	Julio	25	$4 \times 10^4$	Inaceptable	$2 \times 10^4$	Inaceptable
	Agosto	25	$1 \times 10^4$	Inaceptable		
	Setiembre	25	$1 \times 10^4$	Inaceptable		
MG2	Julio	25	$1 \times 10^4$	Inaceptable	$0,67 \times 10^4$	Inaceptable
	Agosto	25	$1 \times 10^4$	Inaceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
MG3	Julio	25	0	Aceptable	$11,67 \times 10^4$	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	$35 \times 10^4$	Inaceptable		
MG4	Julio	25	$1 \times 10^4$	Inaceptable	$12,67 \times 10^4$	Inaceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	$37 \times 10^4$	Inaceptable		

**Fuente:** Elaboración propia

### ***Escherichia coli***

El Cuadro 08 indica que de las 24 muestras analizadas en 12 hubo la presencia de estas bacterias. Las muestras aceptables para el consumo humano fueron 12 (M<sub>C1</sub> agosto, MC1 setiembre, MC2 agosto, MC2 setiembre, M2M julio, MLP julio, MLP agosto, MLP setiembre, MG2 setiembre, MG3 julio, MG3 agosto, MG4 agosto). Las bacterias aptas para el consumo humano representaron el 50% del total según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/gramo de *Escherichia coli* en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de 10<sup>2</sup> gérmenes por gramo. (Ver anexo 01)



**GRÁFICO 03:** Resultados del análisis microbiológico de las bacterias *Escherichia coli* para las muestras de ocopas analizados.

**Fuente:** Elaboración propia.

**CUADRO 09: Resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de *Staphylococcus aureus* de las muestras de “ocopa” de las muestras analizadas**

Lugar de muestreo (mercados)	Análisis Microbiológico				Promedio	Observaciones
	Mes	Tamaño de la muestra (g)	Bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Observaciones		
MC <sub>1</sub>	Julio	25	0,4 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	0,13 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
MC <sub>2</sub>	Julio	25	0	Aceptable	0	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
M <sub>2M</sub>	Julio	25	7 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable	3 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	2 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
M <sub>LP</sub>	Julio	25	0	Aceptable	0,67 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	2 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		

(Continúa en la siguiente página...)

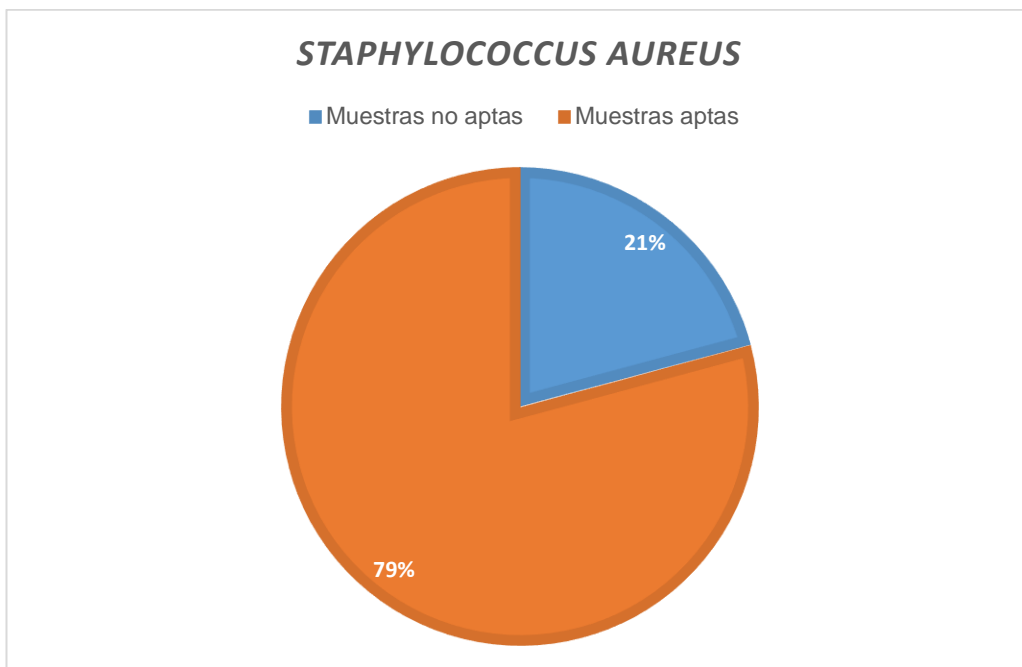
Lugar de muestreo (mercados)	Mes	Análisis Microbiológico			Promedio	Observaciones
		Tamaño de la muestra (g)	Bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Observaciones		
MG1	Julio	25	0	Aceptable	1 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	3 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG2	Julio	25	0	Aceptable	0,33 X 10 <sup>4</sup>	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	1 X 10 <sup>4</sup>	Inaceptable		
MG3	Julio	25	0	Aceptable	0	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		
MG4	Julio	25	0	Aceptable	0	Aceptable
	Agosto	25	0	Aceptable		
	Setiembre	25	0	Aceptable		

**Fuente:** Elaboración propia.

### ***Staphylococcus aureus***

El Cuadro 09 indica que de las 24 muestras analizadas en 6 hubo la presencia de estas bacterias. Las muestras aceptables para el consumo humano fueron 18 (M<sub>C1</sub> agosto, M<sub>C1</sub> setiembre, M<sub>C2</sub> julio, M<sub>C2</sub> agosto, M<sub>C2</sub> setiembre, M<sub>2M</sub> agosto, M<sub>LP</sub> julio, M<sub>LP</sub> agosto, M<sub>G1</sub> julio, M<sub>G1</sub> agosto, M<sub>G2</sub> julio, M<sub>G2</sub> agosto, M<sub>G3</sub> julio, M<sub>G3</sub> agosto, M<sub>G3</sub> setiembre, M<sub>G4</sub> julio, M<sub>G4</sub> agosto, M<sub>G4</sub> setiembre). Las bacterias aptas para el consumo humano representaron el 75% del total según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01) que indica presencia/gramo de *Staphylococcus aureus* en los alimentos preparados sin tratamiento térmico.

Los criterios microbiológicos para este germen son de 10<sup>2</sup> gérmenes por gramo. (Ver Anexo 01).



**GRÁFICO 04:** Resultados del análisis microbiológico de las bacterias *Staphylococcus aureus* para las “ocopas” de acuerdo a los puestos analizados de los cuatro mercados.

**Fuente:** Elaboración propia.

#### **IV. DISCUSIÓN**

La ocopa es un plato típico peruano, originario de la ciudad de Arequipa. Consiste en una salsa a base de huacatay y ají mirasol servido sobre papas hervidas, similar a otro plato peruano conocido como papa a la huancaína.

La ocopa analizada en el presente trabajo se obtuvo de mercados muy concurridos en el centro de la ciudad de Tacna y en el estudio se observó que la demanda crece con el pasar de los meses ya que las personas cada día presentan menos tiempo en su vida para preparar este alimento en casa y por lo tanto, esto conlleva a comprarlo listo para el consumo y no solo del hogar, sino también para el consumo en restaurantes y quioscos; lo cual es preocupante ya que puede afectar a la población inmunodepresora como son los niños y ancianos.

La ocopa es clasificada como un alimento preparado sin tratamiento térmico, por lo que ha sido descrita como fuente de contaminación por causa de diversas bacterias patógenas, por lo tanto, la determinación de estas bacterias es esencial para la evaluación de patologías provocadas por una posible infección y su especial importancia desde el punto de vista de la salud pública hacia los comensales.

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

No existen estudios específicos acerca de la evaluación microbiológica de la ocopa, siempre se ve asociada a otras salsas como son la mayonesa, huancaína y rocoto, y a las ensaladas frescas, por lo que el presente trabajo se basó en datos referentes a los alimentos ya mencionados.

QUISPE J. Y SÁNCHEZ V. (2000) evaluó la calidad microbiológica y sanitaria de los puestos de venta ambulatoria de alimentos (PVAA) del distrito de Comas. De agosto a noviembre del 2000, se evaluaron la calidad microbiológica y sanitaria de 61 PVAA del Distrito de Comas, Lima-Perú. Para la parte microbiológica se analizaron el número de coliformes fecales y la presencia de *Salmonella spp* en muestras de alimentos, agua, superficies inertes y superficies vivas; y para la evaluación sanitaria se empleó una encuesta de factores de riesgo. Los resultados fueron 60,7% de PVAA superaron los límites aceptables de coliformes fecales en una o más muestras analizadas. Por tipo de muestra de alimentos, 41.0% de PVAA tuvieron un alimento no apto para el consumo humano (NAPCH) y 19,7% ambos alimentos NAPCH (coliformes fecales >100 NMP/g), y respecto a las muestras de agua, superficies inertes y superficies vivas, se encontraron resultados microbiológicos inaceptables (coliformes fecales >100 NMP/g) en 32,8%, 42,6% y 49,2% de los PVAA, respectivamente. No se encontró *Salmonella spp* en ninguna de las muestras evaluadas. Sobre la evaluación sanitaria, 90,2% de los PVAA tuvieron "Riesgo Sanitario Alto", observándose deficiencias estructurales y culturales de manipulación e higiene de alimentos. Estos resultados con respecto a los coliformes y a *Salmonella* son parecidos a los obtenidos en el presente estudio ya que

con respecto a los coliformes se obtuvo su presencia en un 79,17% de las muestras y con respecto a *Salmonella* no se obtuvieron la presencia de estas en ninguno de los 2 estudios.

CACEDA, C. y CHOQUE, A. (2002) realizaron la evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos elaborados en 37 comedores populares del mercado de la ciudad de Tacna, donde reportaron que el 21,6% de los análisis microbiológicos para muestras de ensaladas aislaron *Salmonella sp* y el 10,8% de las muestras de ensaladas se aislaron *S. aureus*; en el 13,5% y 40,5% encontraron coliformes totales y coliformes termotolerantes, respectivamente, no cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos para este alimento. En el análisis microbiológico de bacterias aerobias mesófilas viables ninguna de las muestras de ensaladas sobrepasaron los límites permisibles para este alimento. Comparando este estudio con el presente trabajo se encuentra que con respecto a *S. aureus* la presencia en el trabajo actual es prácticamente el doble, presentando un 20,83% de muestras no aptas; con respecto a los coliformes totales se encontró que en el presente trabajo es prácticamente excesiva la presencia de estas bacterias en comparación ya que se halló un 79,19% de muestras no aptas para consumo humano, aunque la presencia de estas no nos indica una

contaminación netamente fecal o entérica es importante ya que nos permite saber que el alimento necesita ser congelado. Con respecto a los coliformes termotolerantes (*E. coli*) se halló un resultado mayor al encontrado por CACEDA, C. y CHOQUE, A. (50%) esto probablemente se puede atribuir a una contaminación posterior al proceso, al equipo, manipuladores o contaminación cruzada.

La Dirección Nacional de Salud Ambiental (2006) realizó la evaluación microbiológica de alimentos en muestras de ensaladas procedentes del restaurante correspondiente al “Programa Restaurante Saludable”, en el laboratorio de Control Ambiental de la DIGESA en la ciudad de Tacna, entre los meses de mayo a setiembre del 2006, donde reportaron que en las muestras de ensaladas se obtuvo el 2,6% de *S. aureus*, el 51,4% de coliformes totales, el 8,6% de *E. coli* y el 40% de bacterias aerobias mesófilas viables, no cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos para este alimento y en la investigación de *Salmonella sp*, en todas las muestras de ensaladas se declaró ausente. Asimismo, obtuvieron valores por encima de lo establecido para las ensaladas cuando realizaron el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables. Estos resultados no son comparables con el trabajo realizado ya que en el presente trabajo se hallaron cantidades mucho más elevadas.

La Red Nacional de Epidemiología (RENACE) reportó entre los años 2003 y 2007, 134 brotes de ETA; de estos 57 (42,5%) se relacionaron clínicamente con casos agudos de Salmonellosis. Los alimentos preparados mayormente implicados fueron: crema de mayonesa (27 brotes, 20,1%), salpicones y ensaladas preparados con mayonesa (20 brotes, 14,9%), bebidas preparadas (10 brotes, 7,46%). Por lo cual, hay que tener muchísimo cuidado ya que si bien en el presente trabajo no se encontró la presencia de *Salmonella* bien podría contaminarse en cualquier momento debido a que uno de los ingredientes de la ocopa es la leche y sobre todo en la etapa de verano.

EL MINSA (2008) notificó que en Moquegua se realizó la evaluación microbiológica de alimentos y se demostró que en la ciudad de Moquegua se analizaron 404 muestras, de los cuales 258 muestras resultaron contaminadas, superando los niveles máximos permisibles para el consumo humano, siendo los alimentos más perecibles (rocoto molido, ají molido, mayonesa, ceviches, refrescos y otros).

El MINSA (2010) notificó la presencia de un brote de Síndrome Diarreico Agudo en la localidad de San José, departamento La Libertad el

pasado 06 de noviembre del 2006, luego de haber ingerido alimentos en una pollada (pollo, ensalada de lechuga, betarraga, zanahoria, mayonesa y ají), se presentaron 17 casos de síndrome diarreico agudo, presentando sintomatología gastrointestinal. Se tomaron muestras de hisopado rectal a los pacientes. El resultado de estas muestras presentaron aislamientos positivos para *Salmonella enteritidis* en 6 pacientes.

VÁSQUEZ, M., ALVARADO, P., SALDAÑA, W. (2010) realizaron un estudio cuyo objetivo fue determinar la calidad microbiológica de los jugos frescos de fruta que se expenden en cafetines de la Universidad Nacional de Trujillo. Se demostró que los jugos de fruta fresca que se expenden en los diferentes cafetines de la Ciudad Universitaria de la UNT, el 100% muestra la presencia de coliformes totales, el 92% de coliformes fecales y el 90% de *E. coli*; así mismo, cabe destacar que el 90% de las muestras son no aptas para el consumo humano, debido a que tienen *E. coli* en un número que supera el límite permisible establecido por la NTS N° 071-MINSA/DIGESA- V.0112. Todas las muestras analizadas presentan BAMV en un número que fluctúa entre  $15 \times 10^3$  a  $58 \times 10^4$  ufc/mL de muestra, el 60% presenta mohos en un número que fluctúa entre 10 a 60 ufc/mL y el 78% presenta levaduras en un número que fluctúa entre  $15 \times 10^1$  a  $11 \times 10^2$ . Estos resultados

presentan una ligera similitud ya que en cuanto a los coliformes totales en el actual trabajo se halló su presencia en un 80%.

VELÁSQUEZ J., PALACIOS B. y CAJALEÓN D. (2010) Realizaron un estudio cuyo objetivo fue determinar la calidad sanitaria de los sándwiches que se expenden en la ciudad de Huacho durante el período febrero a noviembre del 2010. Se realizó el análisis microbiológico de 43 muestras de sándwiches que se expenden en las cafeterías, dulcerías, restaurantes formal e informal y kioscos. Los microorganismos que desarrollaron en mayor número fueron los coliformes totales (60%) de las muestras, los *S. aureus* se encontró en un 46% y el 83% de las muestras no presentaron *E. coli*. La similitud con el actual estudio es con respecto a los coliformes totales que se hallaron no aptas para consumo humano en un 80%.

La subgerencia de salud de la municipalidad provincial de Trujillo (2011) (La Libertad) encontró que de 26 muestras tomadas de puestos de comida del mercado Central, para realizar un análisis microbiológico en el laboratorio, solo 7 estaban aptas para el consumo humano. Los resultados demostraron la presencia de coliformes fecales y *E. coli* en

cantidades que las hacen no aptas para el consumo humano. La muestra se tomó de cebiches, ensaladas de verduras, ají molido, crema a la huancaína, entre otros.

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

AROSQUIPA, P. (2013) realizó un análisis microbiológico de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el programa de complementación alimentaria de los comedores pertenecientes al distrito de Gregorio Albarracín de la municipalidad provincial de Tacna el cual determinó que el 83,23% de las muestras analizadas presentaron *Staphylococcus aureus*, sobrepasando los límites microbiológicos permisibles para estos alimentos y en 2,94% de las muestras analizadas hubo presencia de *Salmonella sp*; el 29,41% de las muestras se aisló *E. coli* y en el 76,47% de las muestras los valores para coliformes totales sobrepasaron los límites permisibles para estos alimentos. Para los microorganismos indicadores de alteración, como son las bacterias

aerobias mesófilas viables, ninguna sobrepasó los límites permisibles. Aquí encontramos similitud con respecto a los coliformes totales ya que en el actual estudio se halló su presencia en forma no apta para el consumo humano en un 79,17%.

El MINSA (2013) notificó brote de ETA en los distritos de Abancay y Curahuasi, departamento de Apurímac el pasado 16 de setiembre del 2013. El programa “Qali Warma”, que ofrece desayuno escolar de nivel inicial y primario, con alimentos como la leche, trigo, cebada y pan con queso, registraron 112 casos de intoxicación alimentaria. El grupo de edad más afectado fue de 5 a 9 años con cuadro clínico de deshidratación leve moderada. DIGESA de Apurímac, realizó seguimiento de los casos, como la inspección sanitaria a los ambientes del proveedor. No se encontró agente causal de esta intoxicación alimentaria. Según la investigación es probable que el brote se haya originado por la inadecuada manipulación de los alimentos por parte de los encargados de la preparación y distribución de los mismos. Esto podría deberse a las condiciones de distribución y almacenamiento por parte del proveedor. Luego de este incidente del Programa Qali Warma, nuevamente notificó otro caso de intoxicación alimentaria el 25 de setiembre del 2013, en Huancayo. El informe demostró que se trató de una contaminación por la

inadecuada manipulación de los alimentos. Se reveló que la materia prima utilizada por la proveedora de desayunos, como clavo de olor y hojuela de quinua precocida, no cumplió los parámetros adecuados y estaba contaminada con bacterias en cantidades por encima de lo permitido.

La evaluación consistió en un análisis microbiológico de la “ocopa” que es considerada, según la “Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y consumo humano” (Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA), como una comida preparada sin tratamiento térmico. Se analizaron las bacterias, según la Norma mencionada, patógenas para el organismo humano: bacterias aerobias totales, bacterias coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*

Para la investigación de *Salmonella sp.*, el resultado fue ausencia total en todas las muestras analizadas, por lo tanto, se cumplió la Norma N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008. Este ensayo microbiológico es de gran importancia ya que *Salmonella* es un patógeno muy importante causante de enfermedades serias.

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

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

En el 20,83% de las muestras procesadas se aisló a *Staphylococcus aureus* en una cantidad que sobrepasó los valores permisibles para este alimento que es de  $10^2$  UFC/g (cuadro 05). En el resto de muestras analizadas no se encontró esta bacteria. Si hablamos de promedios con respecto a los puestos analizados podemos observar que de los ocho puestos solo uno perteneciente al Mercado Leoncio

Prado presenta valores inaceptables debido a que dos de las tres muestras tomadas de ahí presentaron valores de *Staphylococcus aureus* mucho mayores a los permisibles según la Norma N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008. (cuadro 09). Por ser *Staphylococcus* uno de los microorganismos de amplia distribución, es más fácil de llegar a los alimentos, a esto sumado las condiciones de limpieza y manipulación de los alimentos por la persona encargada de la preparación y venta.

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

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

Las fosas nasales y las manos constiruyen lugares comunes donde se encuentran los *Staphylococcus*. Los estafilococos son buenos indicadores de la higiene del personal que manipula los alimentos al prepararlos. Los manipuladores de alimentos pueden ser el origen de estafilococos que llegan a estos productos como consecuencia de infecciones respiratorias, lesiones supuradas (forúnculos, cortes infectados), a partir de los orificios nasales de portadores (generalmente dedos), o por la tos, estornudos y expectoraciones. (ICMFS, 2000).

Con respecto a los resultados de las bacterias Coliformes Totales se obtuvo que el 79,19% de las muestras analizadas fueron inaceptables (cuadro 05), según la Norma N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008 obteniendo un resultado por encima del  $10^3$  UFC/g, las cuales pertenecieron a  $M_{C1}$ ,  $M_{2M}$ ,  $M_{LP}$ ,  $M_{G1}$ ,  $M_{G2}$ ,  $M_{G3}$ ,  $M_{G4}$  sobrepasando los valores permisibles para este alimento. Del total de veinticuatro muestras analizadas solo cinco muestras no presentaron estas bacterias (cuadro 07). La presencia de coliformes totales en alimentos puede deberse a: elaboración inadecuada, contaminación del alimento ya preparado, o crecimiento en el alimento. Uno de los factores por los cuales se pueden encontrar los coliformes es por una incorrecta manipulación de los alimentos o por contaminación cruzada con otros utensilios (cuchillos,

tablas de picar, etc.) y/o insectos (como moscas). Cuando los valores de este grupo microbiano es elevado pueden causar posibles efectos sobre la salud y causar ETA's con síntomas de diarrea, náuseas, insuficiencia renal, etc. Los niños y ancianos con un sistema inmunológico debilitado son los más vulnerables a estas bacterias.

Con respecto a los resultados obtenidos de las bacterias *E.coli* el 50% de las muestras analizadas presentaron valores por encima de los permitidos para consumo humano según la Norma N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008 que son  $10^2$  UFC/g (cuadro 05). Las muestras implicadas no aptas para consumo humano pertenecieron MC<sub>1</sub>, MC<sub>2</sub>, M<sub>2M</sub>, M<sub>G1</sub>, M<sub>G2</sub>, M<sub>G3</sub>, M<sub>G4</sub> (cuadro 08). Las investigaciones ecológicas han demostrado que *E. Coli* proviene del tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, si puede sobre vivir e incluso multiplicarse en otros nichos apropiados. Por lo tanto, la presencia de esta bacteria indica que puede haber existido contaminación fecal y que el consumidor podría estar expuesto a patógenos entéricos cuando ingiere el alimento. Para la evaluación higiénica de alimentos crudos o de productos que no habían sido sometidos al tratamiento de inocuidad completo mediante calor, *E. Coli* es el microorganismo índice más válido. Esta bacteria se caracteriza porque pueden dar muchos cuadros clínicos

en el hombre que van desde un simple malestar estomacal hasta provocar diarreas sanguinolientas e incluso la muerte. Esta contaminación podría deberse a una mala higiene del personal encargado de la preparación del alimento y el no cumplimiento de los requisitos sanitarios. La mala desinfección del material utilizado para servir el alimento en las bolsas respectivas como la utilización de utensilios mal lavados podrían permitir una contaminación de la o las personas encargadas de la preparación de la ocopa.

Con respecto a los resultados se obtuvo que las bacterias Aerobias Mesófilas de las 24 muestras observadas solo siete pertenecientes al MC<sub>1</sub>, MC<sub>2</sub>, MG<sub>1</sub>, MG<sub>2</sub> y MG<sub>4</sub> fueron aptos para el consumo humano (cuadro 06). Por lo que el resto de muestras que constituyen un 70,83% del total no apto para el consumo humano, sobrepasando así el límite permisible según la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008 que es 10<sup>6</sup> UFC/g (cuadro 05). Un recuento elevado de estas bacterias puede significar: excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación durante el proceso de elaboración, la posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos, la inmediata alteración del producto. El recuento de

mesófilos, por lo tanto, y esto es lo más importante: nos indica las condiciones de salubridad de este alimento.

La vigilancia de estos microorganismos indicadores, en el período estudiado, nos ha permitido conocer el estado de la ocopa, un alimento preparado sin tratamiento térmico, por los mercados: Central, 2 de Mayo, Leoncio Prado y Grau, y la presencia de estos microorganismos, nos indican que se deben mejorar el cuidado, prevención, manipuleo y calidad del alimento. Los niveles de contaminación por estos patógenos señalan que puede existir riesgo a la salud de los consumidores, por los mismos.

## V. CONCLUSIONES

- La "Ocopa", alimento preparado sin tratamiento térmico, vendida en los mercados: Central, 2 de Mayo, Leoncio Prado y Grau pertenecientes al centro de la ciudad de Tacna, presentan contaminación microbiana de riesgo para el consumidor.
- Del total de muestras analizadas en el recuento de microorganismos indicadores de higiene, se obtuvieron que coliformes totales se encuentran en el 79,17% de las muestras estudiadas.
- En el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, del total de muestras analizadas se obtuvo que el 70,83% de las muestras estudiadas presentaron este microorganismo.
- En el recuento de microorganismos patógenos se encontró a *Staphylococcus aureus* en un 20,83% de las muestras analizadas.
- No se aisló Salmonella en ninguna de las muestras analizadas.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Por el presente estudio se recomienda la evaluación permanente de la calidad microbiológica e higiénico-sanitaria, con el fin de conocer la carga microbiológica de estos alimentos y concluir si son para su consumo humano.
- La municipalidad de Tacna en coordinación con el Ministerio de Salud (DIGESA) dé charlas de capacitación para que las personas encargadas de elaborar, transportar y vender productos que no tienen cocción.
- Mejorar los ambientes donde se expende la ocopa, es decir, los puestos de los mercados, en su infraestructura e instalaciones físicas.
- Realizar estudios similares a la presente tesis tomando en cuenta el análisis de cualquier tipo de alimento listo para uso directo que se expende en los mercados del centro de la ciudad de Tacna.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**ADAMS, M.R. Y MOSS. (2011).** Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).

**ALUFFI, L. y M, RUMBADO. (2006).** Contaminación cruzada. Fondo Estatal de compensación de Seguros de CALIFORNIA. EE.UU.

**AROSQUIPA MAMANI, PAMELA C. (2013).** Calidad Microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el Programa de Complementación Alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna.” Tesis para optar por el Título de Biólogo Microbiólogo, Ciudad de Tacna. Perú.

**CACEDA, C. y CHOQUE, Á. (2002).** Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos elaborados en comedores populares del cercado de Tacna. COIN. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.

**CODEX ALIMENTARIUS. (2005).** Código de prácticas para la elaboración y expendio de alimentos en la vía pública. Norma Regional Latina y el Caribe CAC/RPC.

**D' Aoust, J. y H, pivnick. (1976).** Dosis infecciosas pequeñas de Salmonella. Lancet.

**DIGESA. (2000).** Guía para la Aplicación del Sistema HACCP en Mercados de Abasto. Lima – Perú.

**DIGESA. (2006).** Resultados de análisis microbiológico de alimentos (ensaladas) de la ciudad de Tacna entre los meses de mayo a setiembre del 2006-Programa Restaurante Saludable.

**DIGESA. (2008).** Protocolo de Análisis Microbiológico de Alimentos, Bebidas y Agua para consumo Humano, Ministerio de Salud, Laboratorio de Salud Ambiental, 02 de julio del 2008.

**FAO. (2009).** Buenas prácticas de Higiene en la preparación y venta de los alimentos en la vía pública en América latina y el Caribe.

**FAO. (2011).** Código Internacional recomendado de Prácticas- Principios Generales de Higiene de los Alimentos. Citado el domingo 1 de junio del 2011

**FERNÁNDEZ, ESCARTÍN, E. (2000).** Microbiología e Inocuidad de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro.

**FRAZIER, W. C. (2003).** Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España)

**HERNANDEZ, R., FERNÁNDEZ Y PILAR, BAPTISTA. (2010).** Metodología de la Investigación. 3ra edición. Editorial McGraw-Hill/Interamericana. Editores, S. A. México.

**I.C.M.S.F. (1980).** Ecología Microbiana de los Alimentos. Vol. 1: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Editorial Acribia, S.A. –Zaragoza (España)

**I.C.M.S.F. (1980).** Ecología Microbiana de los Alimentos. Vol. 2: Productos alimenticios. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

**I.C.M.S.F. (1998).** Microorganismos de Alimentos. Ecología Microbiana de los productos alimentarios. Principios y aplicaciones específicas, 2da edición. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

**I.C.M.S.F. 2000.** Microorganismos de los Alimentos. Vol. 1: Su significado y métodos de enumeración, 2da edición. Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza (España).

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

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

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

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

**MANIPULACIÓN DE ALIMENTOS (MANUAL COMÚN). 2011.** Consejería de Empleo y Desarrollo Tecnológico. Junta de Andalucía. España.

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

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

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

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

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

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

**MINISTERIO DE SALUD. (2013).** Boletín Epidemiológico Semanal XXII-N°44-2013. Ministerio de Salud. Oficina general de Epidemiología. Lima-Perú.

**PASCUAL. A. M. y CALDERÓN. (2000).** Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Editorial Diaz de Santos, S. A. Madrid – España.

**SÁNCHEZ, V. y QUISPE, J. (2001).** Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulancia de alimentos del distrito de Comas Lima-Perú. Revista Scielo, v.18 n. 1-2 Lima ene/jun 2011.

**SANTACRUZ, F. y ÁVALOS, C. (2009).** Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador. Tesis para optar por el título de Licenciado en Química y Farmacia, Ciudad de San Salvador. Centro América.

**TORRES, G. y HERRERA, J. (2008).** Determinación de la inocuidad microbiológica de dos marcas de ensaladas empacadas listas para consumo, comercializadas en los supermercados del área Metropolitana de San Salvador. Tesis para optar por el Título de Licenciado en Química y Farmacia, Ciudad de San Salvador. Centro América.

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

**3M PETRIFILM M.R.** Placas rehidratables para el recuento de Aerobios Mesófilos. Método AOAC 990.12.

## **PÁGINAS WEB**

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

## VIII. ANEXOS

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

XV. ALIMENTOS ELABORADOS						
XV.1 Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa a la huancaína, ocopa, aderezos, postres, jugos, yogurt de fabricación casera, otros). Alimentos preparados que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwich, cebiche, postres, refrescos. otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g o mL	
					m	M
Aerobios mesófilos (*)	2	3	5	2	$10^3$	$10^6$
Coliformes	5	3	5	2	$10^2$	$10^3$

<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	
(*) No procede para el caso de yogurt de fabricación casera.						

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

**ANEXO 02: Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de *Escherichia coli* y Coliformes totales.**

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

6404/6414/6444

**Quality Assurance Certification**

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

3M Food Safety is certified to ISO-9001.

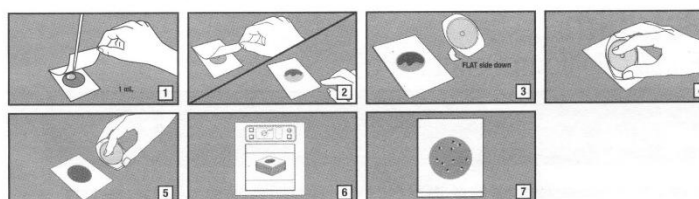
*Marta Hennickson*  
Marta Hennickson  
Quality Assurance

**LOT**  **2015-09 KF**

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

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

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



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

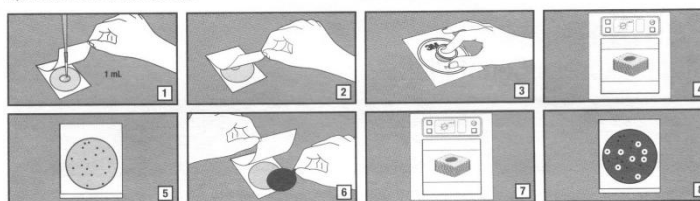
Disclaimer: 3M disclaims all express and implied warranties including warranties of merchantability or fitness for a particular use. If product is defective, the exclusive remedy is, at 3M's option, replacement, repair or refund. Except where prohibited by law, 3M will not be liable for any further loss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

**Fuente: 3M placas de Petrifilm™**

**ANEXO 03: Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas de Petrifilm™ para la numeración de *Staphylococcus aureus*.**



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



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

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

**Fuente: 3M placas de Petrifilm™**

## ANEXO 04: Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las discos Petrifilm™ Staph Express.

**3M**  
**Petrifilm™**  
**Staph Express Disk**

6492/6493

**Quality Assurance Certification**

At the time of manufacture, this lot of 3M™ Petrifilm™ Disks met the specifications set forth expressly on 3M's then-current "Product Information" sheet.

3M Food Safety is certified to ISO-9001.

*Marta Hennickson*  
Marta Hennickson  
Quality Assurance

**LOT**  **2015-08 KA**

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

© 2013, 3M. All rights reserved.  
3M and Petrifilm are trademarks of 3M.  
Used under license in Canada.  
34-6710-3294-1

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



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

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

Fuente: 3M placas de Petrifilm™

**ANEXO 05: Certificación del Aseguramiento de la Calidad de las placas Petrifilm™ para la numeración de Aerobios Mesófilos.**

**3M**  
**Petrifilm™**  
**Aerobic Count Plate**

6400/6403/6406/6442

**Quality Assurance Certification**

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

3M Food Safety is certified to ISO-9001.

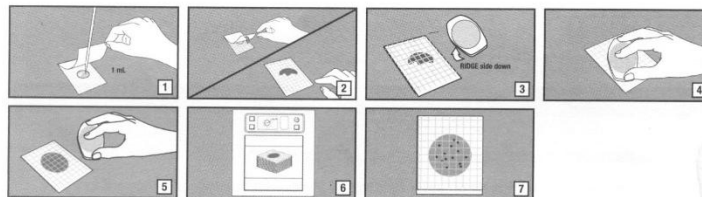
*Marta Hennickson*  
Marta Hennickson  
Quality Assurance


LOT  **2015-08 TL**

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

© 2012, 3M. All rights reserved.  
3M and Petrifilm are trademarks of 3M.  
Used under license in Canada.  
34-8710-1526-8

**3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate**  
**Quick Reference Guide**



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

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

**Fuente: 3M placas de Petrifilm™**

**ANEXO 06: Resultado de los Análisis Microbiológicos de bacterias  
aerobias mesófilas viables para cada puesto de mercado  
(con 3 repeticiones)**

<b>Código</b>	<b>Muestras</b>	<b>Placas Petrifilm™ para el recuento de Arobios Mesófilos</b>	
		<b>Método: AOAC 990.12.</b>	
		<b>Incubación: 48 horas por 35°C</b>	
		<b>Volumen del inóculo: 1 mL</b>	
		N° de colonias/dilución (d)	Promedio final: ufc / mL o gr
		ufc / MI o gr	
MC <sub>1</sub>	Julio	13,4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	12,8 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	12 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	13 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MC <sub>2</sub>	Julio	34,3 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	181,77 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	156 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	355 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
M <sub>2M</sub>	Julio	438 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	553,67 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	554 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	669 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
M <sub>LP</sub>	Julio	160 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	298,33 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	283 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	452 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	

(Continúa en la siguiente página...)

<b>Código</b>	<b>Muestras</b>	<b>Placas Petrifilm™ para el recuento de Arobios</b>	
		<b>Mesófilos</b>	
		<b>Método:</b> AOAC 990.12.	
		<b>Incubación:</b> 48 horas por 35°C	
		<b>Volumen del inóculo:</b> 1 mL	
		N° de colonias/dilución (d)	Promedio final:
ufc / ml o gr	ufc / mL o gr		

MG <sub>1</sub>	Julio	77 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	443 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	266 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	289 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>2</sub>	Julio	108 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	213,67 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	284 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	249 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>3</sub>	Julio	374 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	202,33 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	108 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	125 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>4</sub>	Julio	399 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	192 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	69 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	108 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	

**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 07: Resultado de los Análisis Microbiológicos de coliformes totales para cada puesto de mercado (con 3 repeticiones).**

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento Coliformes Totales	
		Método: AOAC 991.14.	
		Incubación: 24 horas por 35°C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		N° de colonias/dilución (d)	Promedio final: ufc / mL o gr
		ufc / MI o gr	
MC <sub>1</sub>	Julio	0,8 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	0.6 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	0	
MC <sub>2</sub>	Julio	0,6 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	0.2 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	0	
M <sub>2M</sub>	Julio	0	5.67 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	2 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	15 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
M <sub>LP</sub>	Julio	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	1.67 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	

(Continúa en la siguiente página...)

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento Coliformes Totales	
		Método: AOAC 991.14.	
		Incubación: 24 horas por 35°C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		Nº de colonias/dilución (d)	Promedio final: ufc / mL o gr
		ufc / Ml o gr	
MG <sub>1</sub>	Julio	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	2.67 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	3 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>2</sub>	Julio	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	4.33 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	8 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>3</sub>	Julio	3 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	3.33 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	6 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>4</sub>	Julio	7 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	4.33 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	5 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	

**Fuente:** Elaboración Propia

**ANEXO 08: Resultado de los Análisis Microbiológicos de *Escherichia coli* para cada puesto de mercado (con 3 repeticiones).**

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Escherichia coli</i>	
		Método: AOAC 991.14.	
		Incubación: 48 horas por 35°C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		Nº de colonias/dilución (d)	Promedio final:
		ufc / Ml o gr	ufc / mL o gr
MC <sub>1</sub>	Julio	0,4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	0,13 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	0	
MC <sub>2</sub>	Julio	0,1 X10 <sup>4</sup> ufc/g	0,03 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	0	
M <sub>2M</sub>	Julio	0	1 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	2 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
M <sub>LP</sub>	Julio	0	0
	Agosto	0	
	Setiembre	0	

(Continúa en la siguiente página...)

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Escherichia coli</i>	
		Método: AOAC 991.14.	
		Incubación: 48 horas por 35°C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		Nº de colonias/dilución (d)	Promedio final:
		ufc / Ml o gr	ufc / mL o gr
MG <sub>1</sub>	Julio	4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	2 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>2</sub>	Julio	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	0,67 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
	Setiembre	0	
MG <sub>3</sub>	Julio	0	11,67 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	35 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>4</sub>	Julio	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	12,67 x 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	37 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	

**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 09: Resultado de los Análisis Microbiológicos de  
*Staphylococcus aureus* para cada puesto de mercado  
(con 3 repeticiones).**

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	
		Método: AOAC 2003.07.	
		Incubación: 24 horas por 35°C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		Nº de colonias/dilución (d)	Promedio final: ufc / mL o gr
		ufc / MI o gr	
MC <sub>1</sub>	Julio	0,4 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	0.13 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	0	
MC <sub>2</sub>	Julio	0	0
	Agosto	0	
	Setiembre	0	
M <sub>2M</sub>	Julio	7 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	3 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	2 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
M <sub>LP</sub>	Julio	0	0.67 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	2 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	

(Continúa en la siguiente página...)

Código	Muestras	Placas Petrifilm™ para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	
		Método: AOAC 2003.07.	
		Incubación: 24 horas por 35°C	
		Volumen del inóculo: 1 mL	
		N° de colonias/dilución (d)	Promedio final:
		ufc / Ml o gr	ufc / mL o gr
MG <sub>1</sub>	Julio	0	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	3 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>2</sub>	Julio	0	0.33 X 10 <sup>4</sup> ufc/g
	Agosto	0	
	Setiembre	1 X 10 <sup>4</sup> ufc/g	
MG <sub>3</sub>	Julio	0	0
	Agosto	0	
	Setiembre	0	
MG <sub>4</sub>	Julio	0	0
	Agosto	0	
	Setiembre	0	

**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 10: Resultado de los Análisis Microbiológicos para  
Salmonella sp. de cada muestra (con 3 repeticiones).**

Código	Muestras	Análisis de <i>Salmonella sp</i>								
		Método: Detección, Presencia (P) / Ausencia (A), ISO 6579.2002								
		Pre - Enriquecimiento (ATP)	Enriquecimiento ( Tetratonato)	Aislamiento ( Agar SS)	Medio de cultivo para la indiferenciación (Caldo Urea)	Pruebas Bioquímicas <i>Salmonella sp/25 gr o</i> mL				Microorganismo
TSI	LIA					CITRATO	SIM (Prueba Indol)			
MC <sub>1</sub>	Julio	√	√	√	√	x	x	x	x	Ausencia
	Agosto	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	x	x	Ausencia
MC <sub>2</sub>	Julio	√	√	√	√	x	x	x	x	Ausencia
	Agosto	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	X	x	Ausencia
M <sub>2M</sub>	Julio	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Agosto	√	√	√	√					Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	X	x	Ausencia
M <sub>LP</sub>	Julio	√	√		-	x	x	X	x	Ausencia
	Agosto	√	√	√	√	x	x	X	x	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	X	x	Ausencia

(Continúa en la siguiente página...)

Código	Muestras	Análisis de <i>Salmonella sp</i>								Microorganismo
		Método: Detección, Presencia (P) / Ausencia (A), ISO 6579.2002								
		Pre - Enriquecimiento (ATP)	Enriquecimiento ( Tetracionato)	Aislamiento ( Agar SS)	Medio de cultivo para la indiferenciación (Caldo Urea)	Pruebas Bioquímicas <i>Salmonella sp</i> /25 gr o mL				
TSI	LIA					CITRATO	SIM (Prueba Indol)			
MG <sub>1</sub>	Julio	√	√	√	√	x	x	x	x	Ausencia
	Agosto	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
MG <sub>2</sub>	Julio	√	√	√	√					Ausencia
	Agosto	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	x	x	Ausencia
MG <sub>3</sub>	Julio	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Agosto	√	√	√	√	x	x	x	X	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	x	X	Ausencia
MG <sub>4</sub>	Julio	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Agosto	√	√	√	x	-	-	-	-	Ausencia
	Setiembre	√	√	√	√	x	x	x	X	Ausencia

Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 11: Ubicación de los 4 mercados estudiados pertenecientes a la ciudad de Tacna.**

<b>Mercados estudiados – Tacna</b>		
<b>Código</b>	<b>Lugar de Muestreo - Mercado</b>	<b>Dirección del Mercado</b>
M <sub>C</sub>	Mercado Central	Av. Bolognesi cruce con Pallardelli
M <sub>2M</sub>	Mercado 2 de Mayo	Av. Patricio Meléndes cruce con Av. 2 de Mayo
M <sub>LP</sub>	Mercado Leoncio Prado	Av. Leoncio Prado
M <sub>G</sub>	Mercado Grau	Av. Jorge Basadre este

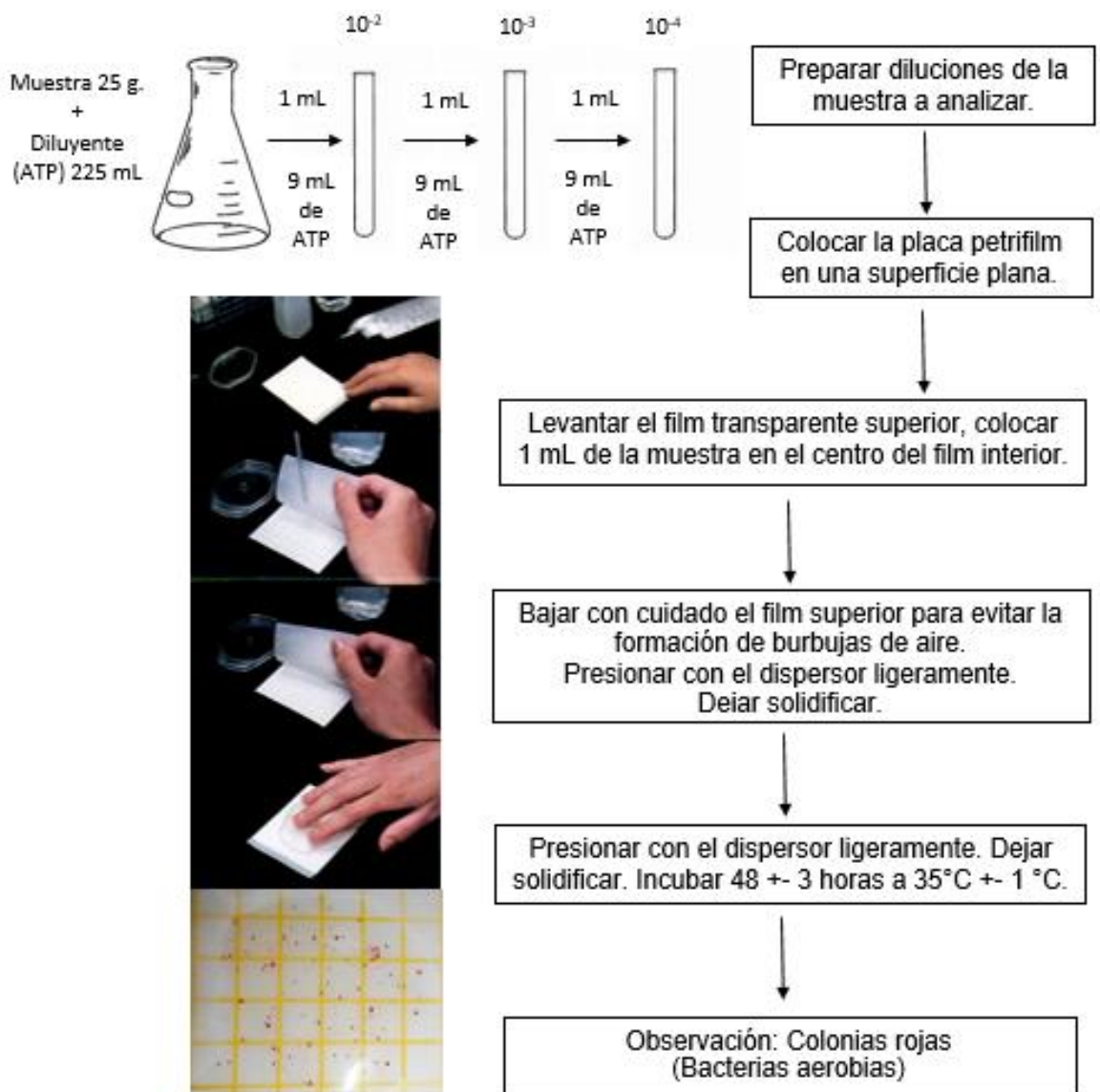
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 12: Cuadro de la Población de los Distritos de Tacna.**

Distritos	Hombres		Mujeres		Total población	% sobre población total
	Cifras absolutas	%	Cifras absolutas	%		
Población Provincial Total	130212	49,56	132519	50,44	262731	100,00
Distrito de Tacna	46138	48,86	48290	50,64	94428	35,94
Alto de la Alianza	17492	49,36	17947	50,64	35439	13,49
Calana	1400	53,33	1225	46,67	2625	1,00
Ciudad Nueva	16965	49,56	17266	50,44	34231	13,03
Coronel Gregorio Albarracín	33973	49,24	35016	50,76	69989	26,26
Inclán	2314	56,94	1750	43,06	4064	1,55
Pachía	1066	54,81	879	45,19	1945	0,74
Palca	817	54,11	693	45,89	1510	0,57
Pocollay	8693	50,82	8416	49,18	17113	6,51
Sama	1350	56,56	1037	43,44	2387	0,91

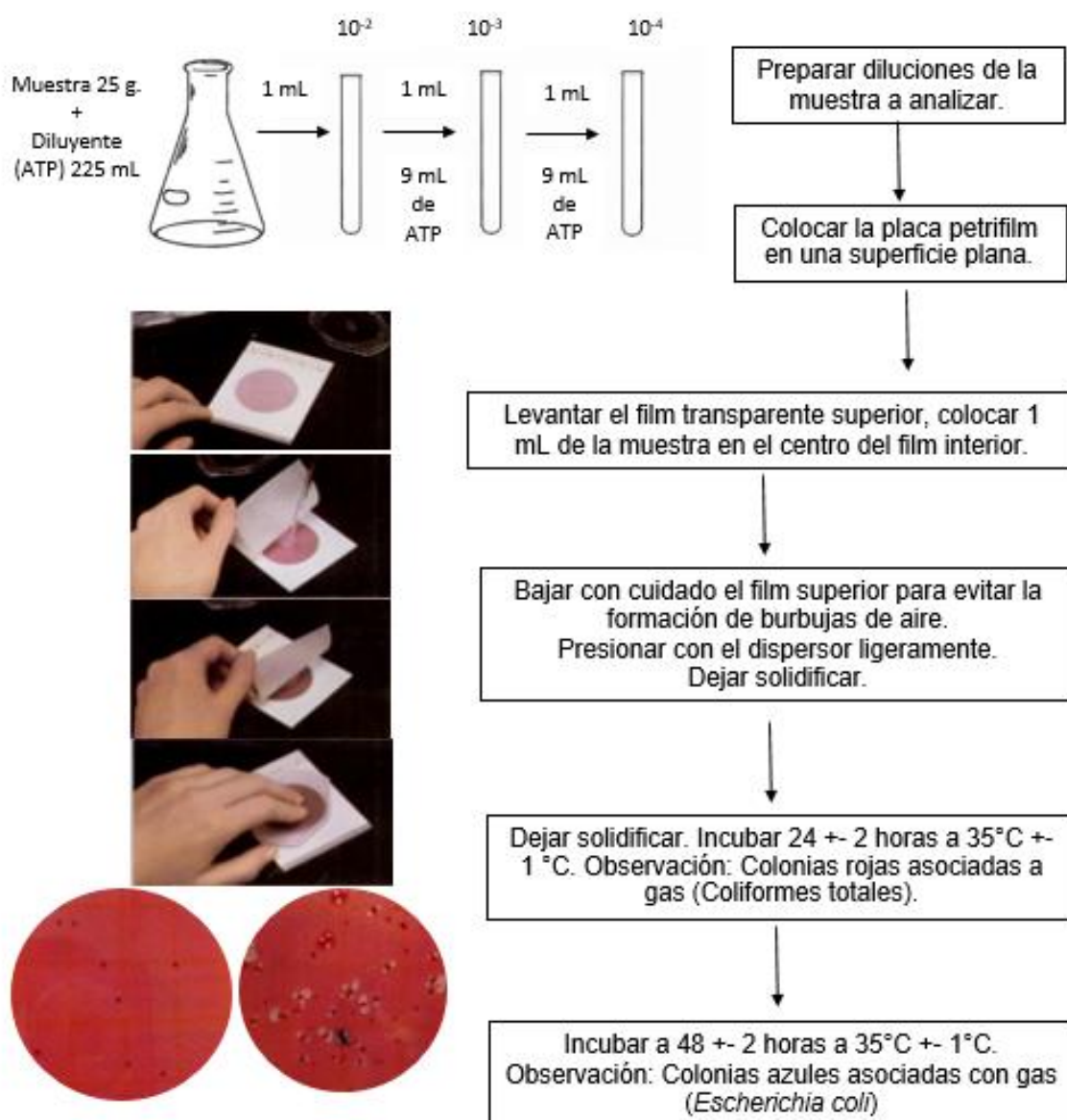
**Fuente:** INEI Censos Nacionales 2007. XI de Población y VI de Vivienda.

**ANEXO 13: Método AOAC 990.12. Método rápido de Análisis – placas  
Petrifilm para la enumeración de Aerobios Mesófilos.**



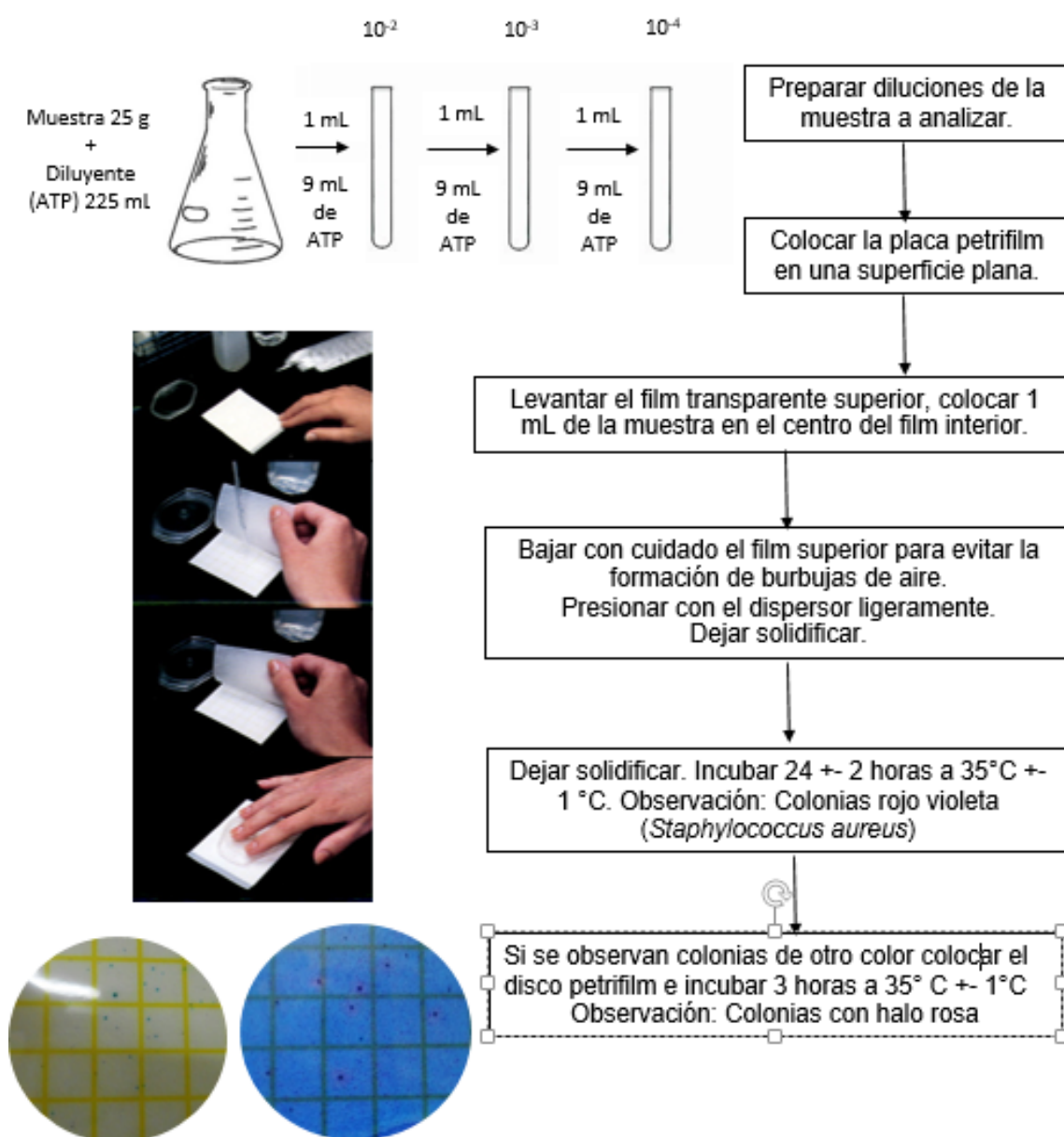
Fuente: Elaboración propia.

**ANEXO 14: Método AOAC 991.14. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de *Escherichia coli* y coliformes totales.**



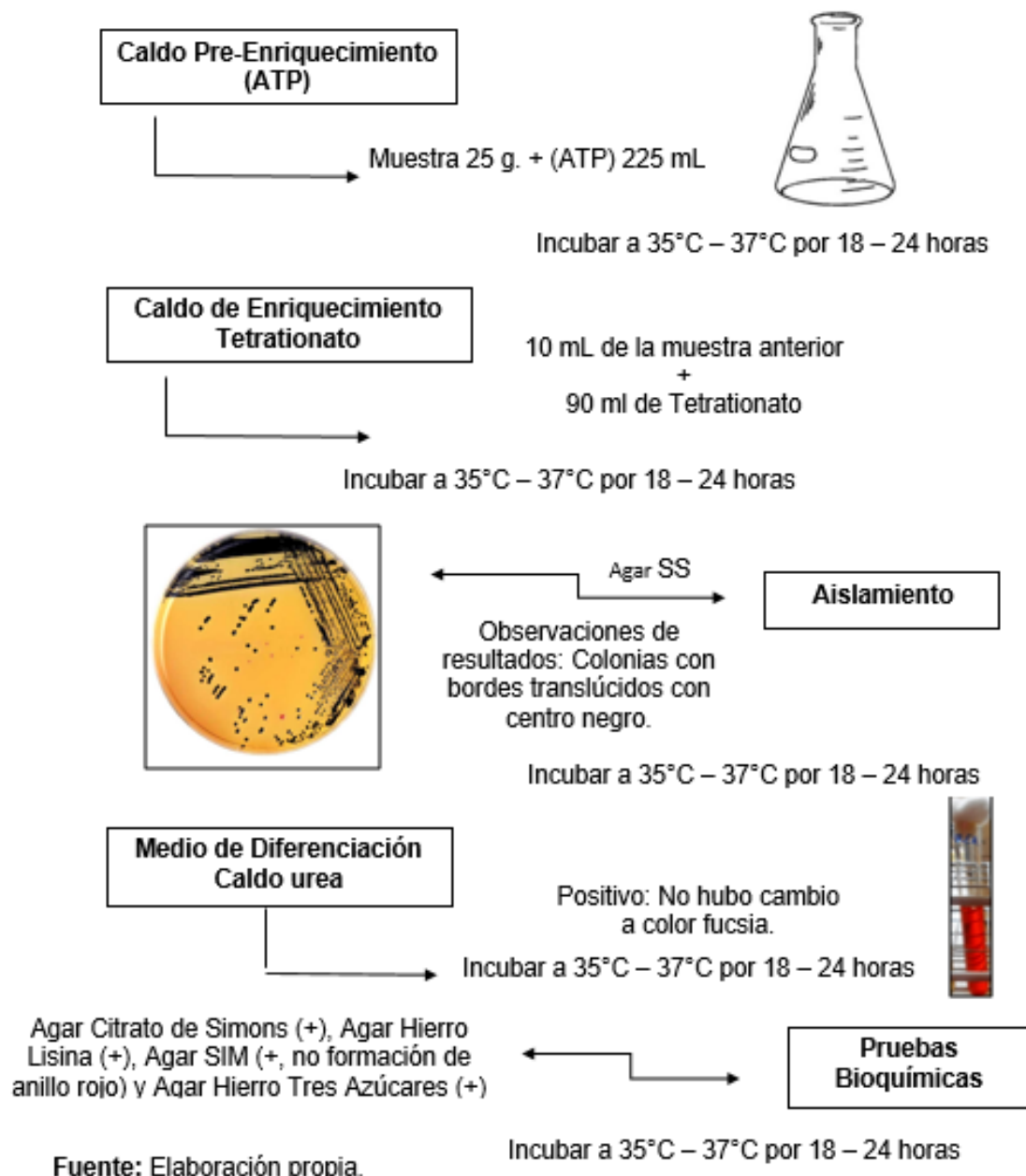
**Fuente:** Elaboración propia

**ANEXO 15: Método: AOAC 2003.07. Método Rápido de Análisis – placas Petrifilm para la numeración de *Staphylococcus aureus* en alimentos preparados.**



**Fuente:** Elaboración propia

**ANEXO 16: Método ICMSF, 2000. Investigación de *Salmonella sp.***



**ANEXO 17: Puestos evaluados del Mercado Central. (M<sub>C1</sub>, M<sub>C2</sub>)**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 18:** Puestos evaluados del Mercado 2 de Mayo y Mercado Leoncio Prado. (M<sub>2M</sub>, M<sub>LP</sub>)



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 19: Puestos Evaluados del Mercado Grau. (M<sub>G1</sub>, M<sub>G2</sub>, M<sub>G3</sub>, M<sub>G4</sub>)**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 20: Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de Salmonella, en caldo de pre-enriquecimiento de ATP, de los puestos del Mercado Grau M<sub>G1</sub>, M<sub>G2</sub>, M<sub>G3</sub>, M<sub>G4</sub>.**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 21: Muestras incubadas por 24 horas para la investigación de Salmonella, en caldo de enriquecimiento Tetracionato, en los puestos del Mercado Grau: M<sub>G1</sub>, M<sub>G2</sub>, M<sub>G3</sub>, M<sub>G4</sub>.**



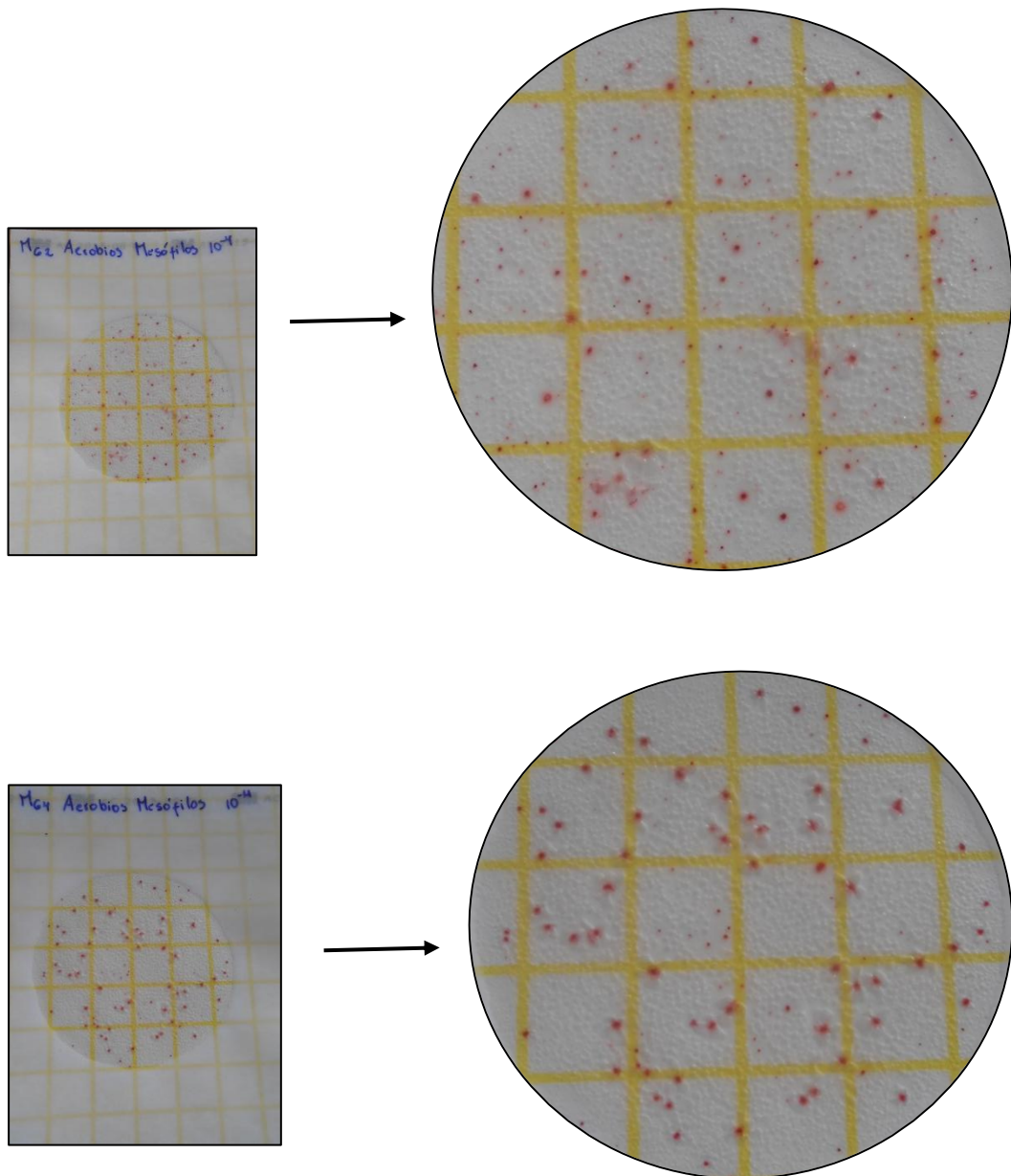
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 22: Resultados de la supuesta presencia de *Salmonella*.**



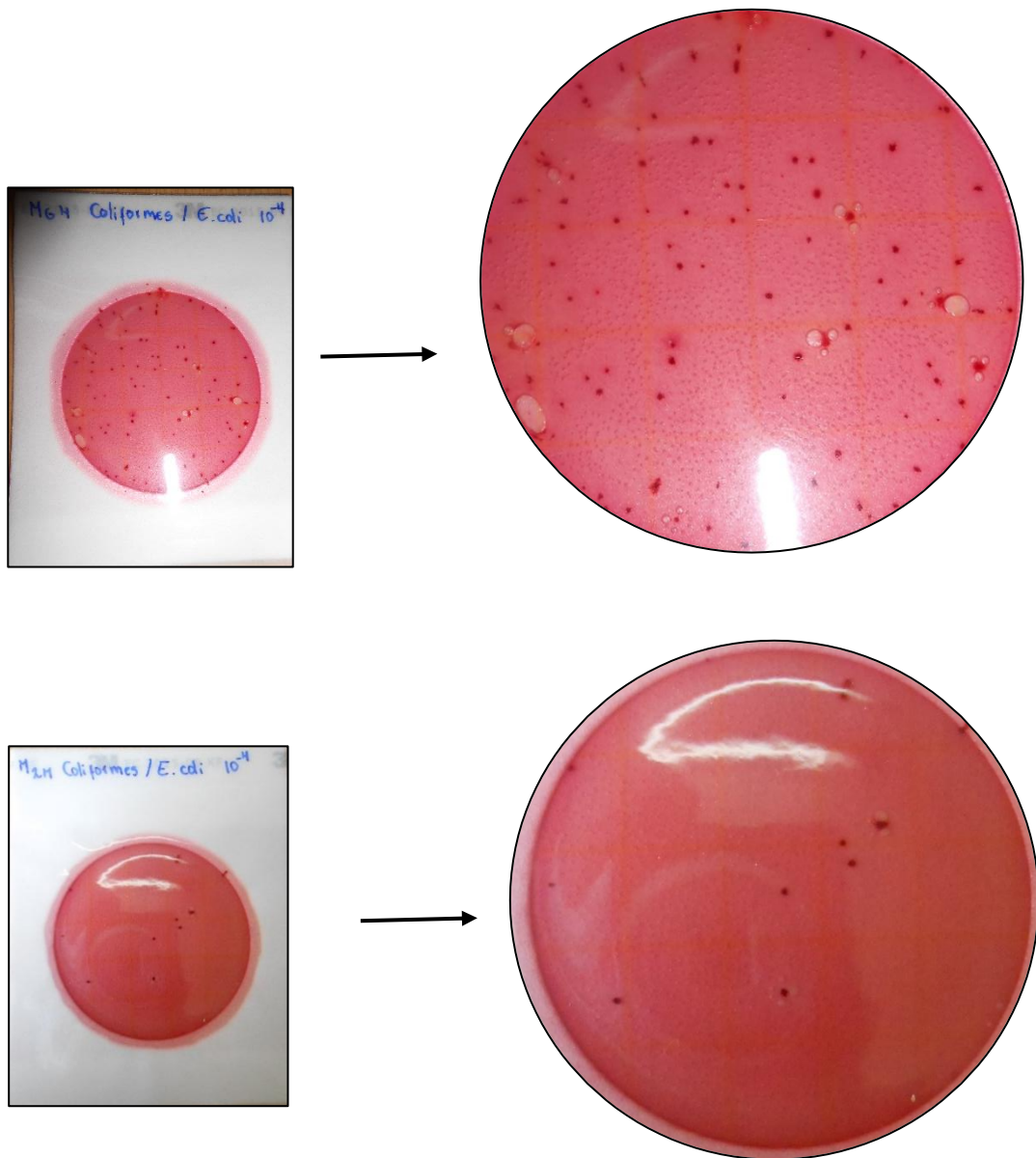
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 23: Resultados del recuento de bacterias Arobias Mesófilas de la muestra M<sub>G3</sub> y M<sub>G4</sub> setiembre.**



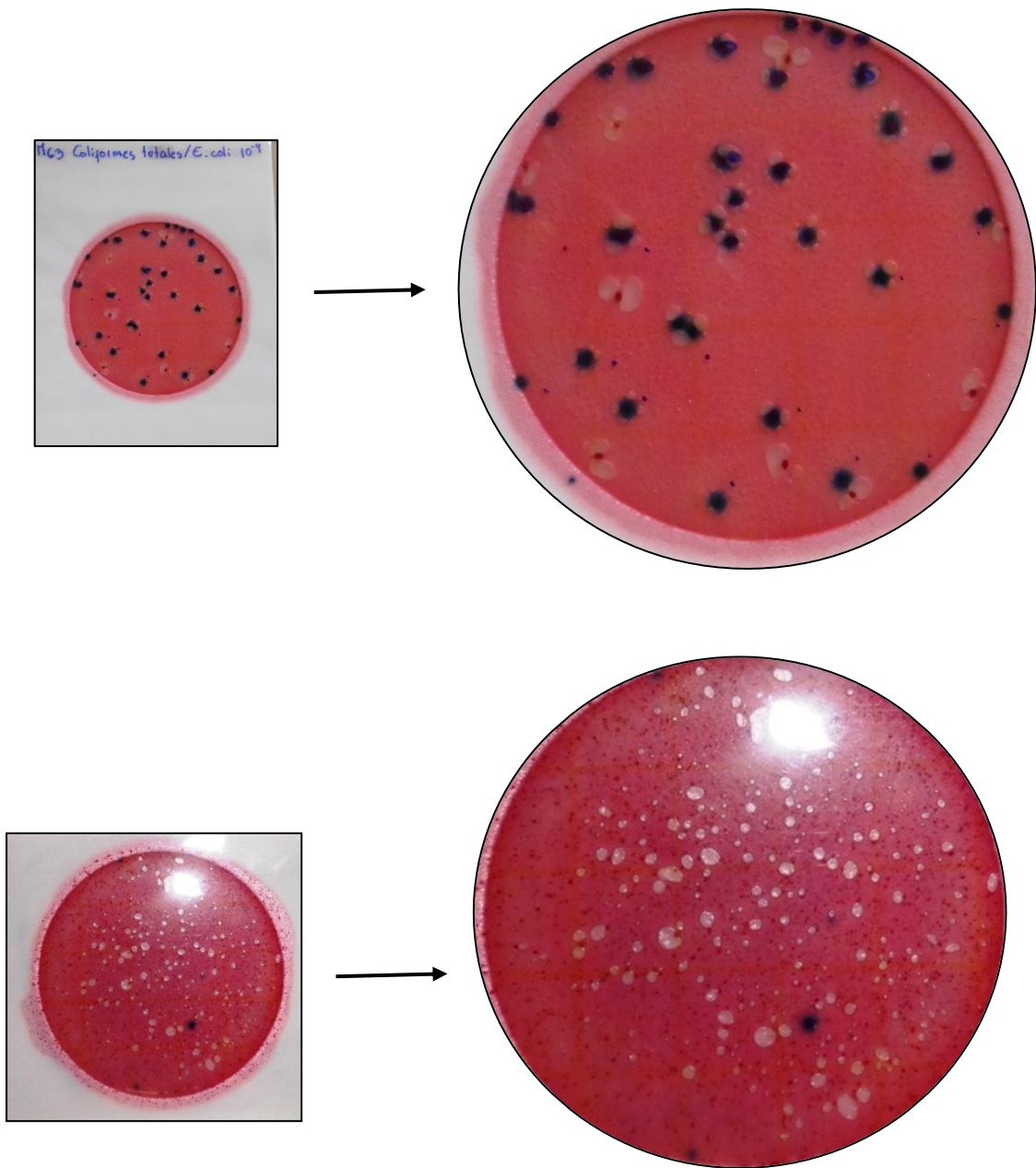
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 24: Resultados del recuento de coliformes totales de la muestra del Mercado Grau  $M_{G3}$  y  $M_{2M}$  de setiembre.**



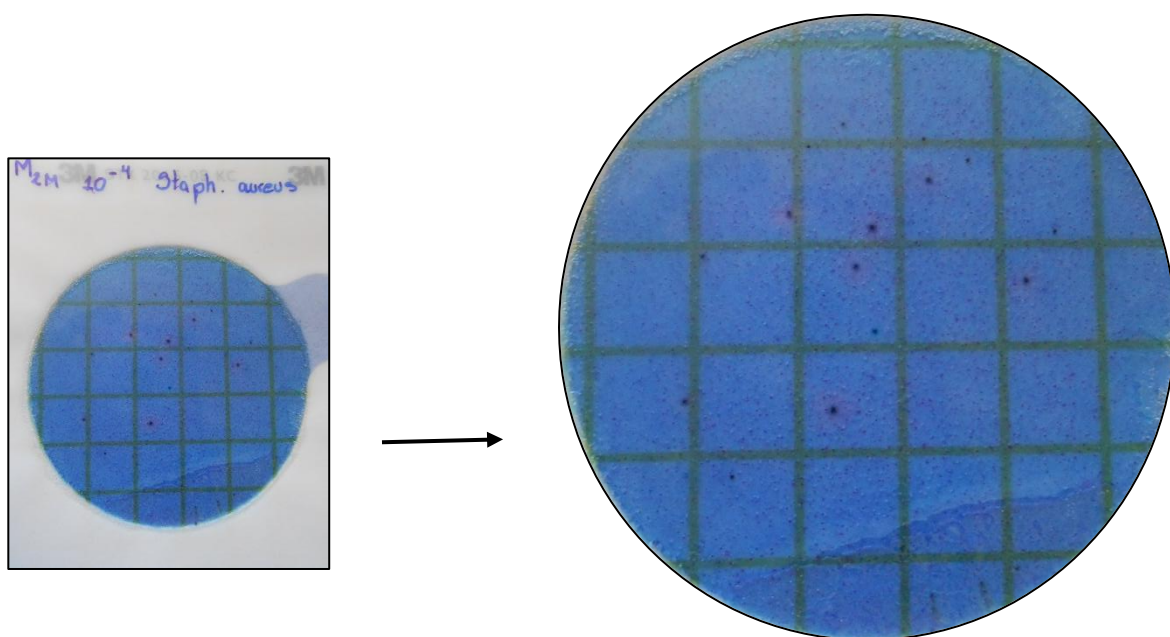
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 25: Resultados de E. coli de las muestras del Mercado Grau (M<sub>G3</sub> de setiembre y Mercado Central (M<sub>C1</sub>) de julio**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 26: Resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* del Mercado 2 de Mayo (M<sub>2M</sub>) del mes de setiembre.**



**Fuente:** Elaboración propia.