

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA  
PERUANA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ESCUELA DE FORMACION PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y  
NUTRICIÓN HUMANA**



**TRABAJO FINAL DE CARRERA**

**“RELACIÓN ENTRE LA CONDICIÓN HIGIÉNICA SANITARIA Y LA CALIDAD  
MICROBIOLÓGICA EN JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS DE DOS MERCADOS DE  
LA CIUDAD DE IQUITOS, 2015”**

**PRESENTADO POR:**

**BACHILLER MIGUEL ANGEL FLORES FLORES**

**BACHILLER SARA INES MOREY LANCHA**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN  
BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA**

**ASESORADO POR:**

**BIOLOGA JESSY PATRICIA VASQUEZ CHUMBE, Mg.**

**INGENIERO ALENGUER GERONIMO ALVA AREVALO, Dr.**

**IQUITOS – PERÚ**

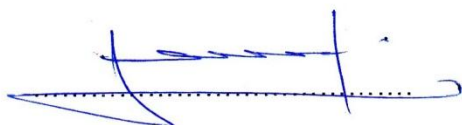
**2016**

## AUTORIZACION DE LOS ASESORES

Jessy Patricia Vásquez Chumbe, profesora principal del departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, profesor principal del departamento de Ingeniería de los Alimentos, de la Facultad de Industrias Alimentarias, de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana:

**INFORMAMOS:** Que los Bachilleres Miguel Ángel Flores Flores y Sara Inés Morey Lancha, han realizado bajo nuestra dirección, el trabajo en la memoria titulada "RELACIÓN ENTRE LA CONDICIÓN HIGIÉNICA SANITARIA Y LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS DE DOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE IQUITOS, 2015" y considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentados ante el Jurado Calificador, a tal efecto para la obtención del título de Licenciado (a) en Bromatología y Nutrición Humana.

**AUTORIZAMOS:** A los citados bachilleres a presentar el Trabajo Final de Carrera, para proceder a su sustentación cumpliendo así con la normativa vigente que regula los Grados y Títulos en la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.



Dr. Alenguer G. Alva Arévalo

Alenguer Gerónimo Alva Arévalo  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 45167



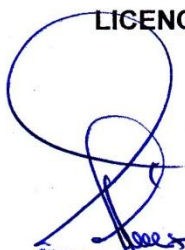
Mg. Jessy P. Vásquez Chumbe

Blga. Jessy Vásquez Chumbe  
CBP: 2584

## MIEMBROS DEL JURADO

Tesis aprobada en la Sustentación Pública el 05 de Febrero del 2016 por el Jurado nombrado por la Dirección de Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana para optar el Título de:

### LICENCIADO EN BROMATOLOGIA Y NUTRICION HUMANA



Carlos Enrique López Panduro  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 31070

Ing. Carlos Enrique López Panduro  
Presidente



Ing. María Isabel Maury Laura  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 35238

Ing. María Isabel Maury Laura  
Miembro Titular



Juan Alberto Flores Garazatua  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 11946

Ing. Juan Alberto Flores Garazatua  
Miembro Titular



Félix Humberto Cabrera Sánchez  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 77142

Ing. Félix Humberto Cabrera Sánchez  
Miembro Suplente



**UNAP**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Escuela de Formación Profesional de  
Bromatología y Nutrición Humana

**ACTA DE SUSTENTACIÓN**

En la ciudad de Iquitos, siendo las...18:00... horas del día Viernes 05 de febrero 2016, en las instalaciones del SECEDO-UNAP, ubicado en la calle Alférez West N° 553 de esta ciudad, se dio inicio a la sustentación pública del Trabajo de Final de Carrera intitulado "RELACION ENTRE LA CONDICION HIGIENICA SANITARIA Y LA CALIDAD MICROBIOLOGICA EN JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS DE DOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE IQUITOS, 2015", presentado por los bachilleres: **MIGUEL ANGEL FLORES FLORES y SARA INES MOREY LANCHA**, con el asesoramiento de don **Alenguer Gerónimo Alva Arévalo y doña Jessy Patricia Vásquez Chumbe**.

Estando el Jurado Calificador conformado por los siguientes miembros, según Resolución Decanal N° 164-FIA-UNAP-2015, del 06 de agosto del 2015.

Ing. Carlos Enrique López Panduro	-	Presidente
Ing. Maria Isabel Maury Laura	-	Miembro
Ing. Juan Alberto Flores Garzatúa	-	Miembro
Ing. Félix Humberto Cabrera Sánchez	-	Miembro Suplente

Siendo las 19:30 horas del mismo día, se dio por concluida la sustentación, habiendo sido aprobado con la nota de 15 y el calificativo de muy bueno, estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Licenciado en Bromatología y Nutrición Humana.

El Jurado Calificador alcanzará a las sustentantes, si el caso lo requiere, las correcciones u observaciones presentadas.

  
Carlos Enrique López Panduro  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 31070  
Presidente

  
Ing. Maria Isabel Maury Laura  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 35238  
Miembro Titular

  
Juan Alberto Flores Garzatúa  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 31646  
Miembro Titular

  
Félix Humberto Cabrera Sánchez  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 27142  
Miembro Suplente

## DEDICATORIA

*A mis padres Rubén y María Paz por el apoyo incondicional que me brindaron en toda mi etapa de formación profesional y también a mis cuatro Hermanos por su cercanía y confianza hacia mi persona. (Br. Miguel Ángel Flores Flores)*

*A mis queridos padres Celidonia y Julio por el gran ejemplo de perseverancia, confianza y los ánimos que me brindan siempre, en los momentos de dificultades. Y de manera muy especial a mi esposo por el apoyo incondicional, la paciencia y creer siempre en mi. (Br. Sara Inés Morey Lancha)*

## AGRADECIMIENTO

*A Dios, porque en él nos movemos, vivimos y existimos. A nuestros asesores Mg. Jessy Patricia Vásquez Chumbe y Dr. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo por su tiempo que dedicaron a nuestra investigación científica. A nuestros amigos, compañeros, trabajadores de la biblioteca central y especializada de nuestra Universidad. (Br. Miguel Flores y Sara Morey)*

*Mi gratitud por el apoyo ético y moral a cuantos ministros consagrados a Dios que formaron parte de mi educación cristiana, formándome en los buenos valores para mi crecimiento espiritual, personal y social. (Br. Miguel Flores)*

*En especial a mi esposo Jovito Mozombite Solón por el apoyo, cariño y amor que me da durante todo el tiempo. A mis dos hermosos hijos Jhoana Celeste y Julio Cesar Adriano por su comprensión y todos en mi familia que no me negaron su apoyo cuando más lo necesite. A mis amigos y compañeros de la Universidad. (Br. Sara Morey)*

## TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE SIGLAS.....	viii
RESUMEN .....	ix
ABSTRACT.....	i
INTRODUCCION .....	1
CAPITULO I.....	2
REVISION DE LA LITERATURA .....	2
1. ANTECEDENTES:.....	2
1.1. INTERNACIONAL:.....	2
1.2. NACIONAL:.....	4
1.3. REGIONAL:.....	5
2. MARCO TEORICO: .....	7
2.1. FRUTAS: .....	7
2.2. MICROORGANISMOS INDICADORES: .....	13
2.3. REGLAMENTO SANITARIO DE FUNCIONAMIENTO DE MERCADOS DE ABASTO (RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 282-2003-SA/DM).MINSА (2003).....	24
2. 4. NTS N° 071 – MINSА/ DIGESA-V.01. NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO.MINSА (2008).....	30
2.5. REGLAMENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO (DS N° 031-2010-SA). DIGESA (2011).....	34
4. MARCO CONCEPTUAL: .....	36
CAPITULO II.....	39
MATERIALES Y METODOS.....	39
2.1. MATERIALES: .....	39
2.2. EQUIPOS: .....	40
2.3. MÉTODOS:.....	40
a. Tipo de Investigación:.....	40

b.    Diseño de Investigación: .....	40
2.4. POBLACIÓN Y MUESTRA: .....	41
2.4.1. Población: .....	41
2.4.2. Muestra: .....	41
2.5. PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN:	
42	
<i>Para la inspección de la condición higiénica sanitaria:</i> .....	42
<i>Para el análisis de la calidad microbiológica:</i> .....	43
CAPITULO III.....	51
RESULTADOS.....	51
<b>3.1. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS JUGOS DE FRUTA</b> .....	51
3.1.1. RECUENTO DE AEROBIOS MESÓFILOS: .....	51
3.1.2. RECUENTO DE COLIFORMES .....	52
3.1.3. RECUENTO DE <i>Escherichia coli</i> .....	54
3.1.4. RECUENTO DE <i>Staphylococcus aureus</i> .....	55
3.1.5. RECUENTO DE <i>Salmonella</i> .....	56
<b>3.2. CONDICIONES HIGIENICAS SANITARIAS DE LOS PUESTOS DE VENTA DE JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS DE LOS MERCADOS CENTRAL Y BELEN</b> .....	57
3.2.1. ALIMENTO: .....	59
3.2.2. AGUA:.....	59
3.2.3. HIELO:.....	59
3.2.4. VENDEDOR: .....	60
3.2.5. BUENAS PRACTICAS DE MANIPULACIÓN .....	60
3.2.6. AMBIENTES Y ENSERES .....	60
<b>3.3. RELACION ENTRE LAS CONDICIONES HIGIENICAS SANITARIAS DE LOS PUESTOS DE VENTA Y LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS JUGOS</b> .....	60
A) COMPARACIONES MULTIPLES: PRUEBA DE TUKEY .....	61
CAPITULO IV .....	64
DISCUSION .....	64
CAPITULO V .....	67



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	67
5.1. CONCLUSIONES: .....	67
5.2. RECOMENDACIONES:.....	68
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	69
CAPITULO VII .....	75
ANEXOS .....	75
ANEXO I: Permisos de los Municipios de Belén y Central para la recolección de las muestras. ....	76
ANEXO II: Formato N° 06 (Vigilancia Sanitaria en Mercados de Abasto) establecidos en el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto.....	79
ANEXO III: Tabla ANOVA de la diferencia significativa de la condición higiénica sanitaria y la calidad microbiológica. ....	81
ANEXO IV: Prueba de Tukey.....	83
ANEXO V: Recolección de las muestras de jugo de frutas surtidos y prueba de pH y Cloro del agua. ....	86
ANEXO VI: Análisis de las muestras de jugos de frutas surtidos en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos. ....	89
ANEXO VII: Procedimientos realizados en el análisis de la calidad microbiológica de jugos de frutas. ....	92
ANEXO VIII: Resultados de los análisis de la calidad microbiológica.....	101

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Limite permisible del recuento de bacterias Aerobias mesófilas expresado en Log <sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta.....	52
Figura 02: Frecuencia de Recuento de Coliformes expresado en Log <sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta. ....	54
Figura 03: Recuento de <i>E. coli</i> expresado en Log <sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta.....	55
Figura 04: Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> expresado en Log <sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta. ....	56
Figura 05: Condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos .....	59
Figura 06: Puestos de venta de jugos de frutas surtidos del mercado Central (interior). ....	87
Figura 07: Muestra de jugos de frutas surtidos en bolsas de polietileno. ....	87
Figura 08: Puestos de venta de jugos de frutas surtidos del mercado Central (exterior).....	88
Figura 09: Kit y pH y Cloro para el análisis de agua.....	88
Figura 10: Recuento de Bacterias Aerobios mesofilos en placas Petrifilm. ....	90
Figura 11: Recuento de Bacterias Coliformes/ <i>Escherichia coli</i> en placas Petrifilm. ....	90
Figura 12: Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en placas Petrifilm. ....	91
Figura 13: Recuento de <i>Salmonella</i> en placas Petrifilm. ....	91

## LISTA DE TABLAS

Tabla N° 01: Planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación:.....	31
Tabla N° 02: Alimentos Elaborados.....	33
Tabla N° 03: Límites máximo permisibles de parámetros de calidad organoléptica.....	34
Tabla N° 04: Calificación del formato de vigilancia sanitaria.....	43
Tabla 05: Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos expresadas en ufc/ml y $Lg_{10}$ de ufc/ml según mercado y puesto de venta.....	51
Tabla 06: Recuento de coliformes expresadas en ufc/ml y $Lg_{10}$ de ufc/ml según mercado y puesto de venta.....	54
Tabla N° 07: Puntaje de las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos del mercado Central.....	57
Tabla N° 08: Puntaje de las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos del mercado Belén.....	58
Tabla N° 09: Comparaciones múltiples de la media en $LOG_{10}$ del recuento bacteriano según mercado y condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta.....	62
Tabla N° 10: Comparaciones múltiples de medias según Subgrupos homogéneos.....	63
Tabla N° 11: Prueba Estadística de ANOVA para el Recuento de Bacterias de los puestos de venta del Mercado Belén y Central.....	82
Tabla N° 12: PRUEBA DE TUKEY HSD – COMPARACIONES MULTIPLES.....	84
Tabla N° 13: Resultado de microorganismos en jugos de frutas surtidos en el mercado Central.....	102
Tabla N° 14: Resultado de microorganismos en jugos de frutas surtidos en el mercado Belén.....	103

## LISTA DE SIGLAS

**NTP:** Norma Técnica Peruana.

**NTS:** Norma Técnica de Salud.

**ISO:** Organización Internacional de Normalización (Ingles: International Organization for Standardization)

**pH:** Potencial Hidrógeno.

**A<sub>w</sub>:** Actividad de Agua.

**BMA:** Bacterias mesófilas aerobias.

**MINSA:** Ministerio de Salud.

**BPM:** Buenas prácticas de manipulación.

**DIGESA:** Dirección General de Salud.

**GOREL:** Gobierno Regional de Loreto.

**ANOVA:** Análisis de la Varianza.

**LOG:** Logaritmo.

**UFC/g o ml:** Unidad formadoras de colonias/ gramos o mililitro.

**IMVIC:** Prueba utilizada en biología para la identificación bacterias. Se compone de cuatro pruebas: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato.

## RESUMEN

El “jugo de frutas surtido” es una bebida consumida por la mayoría de pobladores de la ciudad de Iquitos por su sabor natural, y porque las frutas utilizadas en su preparación poseen propiedades nutricionales importantes. Además, es una bebida de bajo costo y al alcance de cualquier grupo social. Este tipo de alimento al no ser tratado térmicamente, las condiciones de preparación y conservación inadecuadas, y por su fácil alteración debido a sus componentes altamente perecibles, constituye una fuente de riesgo para la salud de la población consumidora, por lo que conocer su calidad es importante.

El objetivo del estudio fue evaluar la relación entre las condiciones higiénicas sanitarias y la calidad microbiológica de los jugos de frutas surtidos que se comercializa en dos mercados de la ciudad de Iquitos (Belén y Central) en el 2015.

La investigación fue descriptiva, transversal y asociativa. Se tomaron muestras en 16 puestos de venta del mercado Central y 23 puestos de venta en el mercado Belén (calle 9 de diciembre).

Las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos se determinó mediante el formato N° 06 Vigilancia sanitaria en mercados de Abasto de Jugos y Frutas del Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercado de Abastos; y la calidad microbiológica (bacterias Aerobias mesófilas, Coliformes, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*) de acuerdo al punto XV.1 de alimentos preparados sin tratamiento térmico de los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano, mediante técnica del Petrifilm.

Los resultados de las condiciones higiénicas sanitarias de 39 puestos de ventas analizadas, el 28% fueron calificados como no aceptables y el 72% fueron calificados como regular. En la calidad microbiológica de los jugos de frutas surtidos se encontró que el 100% de las muestras analizadas presentó crecimiento de bacterias Aerobias mesófilas, el 94.9% de Coliformes, el 2.6% de *Escherichia coli*, y el 2.6% demostró crecimiento de *Staphylococcus aureus*

y ninguna muestra tuvo crecimiento de *Salmonella sp.* Considerándose al jugo de fruta surtido expandidas en los mercados de Belén y Central no aptas para el consumo humano por sobrepasar los límites permitidos para el consumo humano.

Se estableció que existe diferencia estadísticamente significativa con un alfa 0.05 entre las condiciones higiénicas sanitaria de los puestos de venta de jugo de frutas surtidos y la calidad microbiológica de los mismos.

Por lo que se recomienda a los municipios locales realizar la vigilancia higiénica sanitaria para garantizar la calidad de los productos que se expenden de forma ambulatoria, ya que actualmente no cumplen con esta normativa.

## ABSTRACT

The mixed juice drink is consumed by most people for their natural flavor, since most of the raw material (fruit) has important nutritional properties. It is also a drink inexpensive and accessible to any social group. This type of food because it is not pasteurized is a source of risk to the health of the consumer population, so knowing its quality is important.

The aim of the study was to evaluate the relationship between healths and hygienic conditions microbiological quality of mixed juice that is sold in two markets of the city of Iquitos, 2015.

In the present study, the research design was a descriptive, cross-sectional association. Taking as shown in the 16 stalls in the Central Market and 23 stalls in the market Bethlehem (lane 9 December) both places assorted fruit juices marketed.

Sanitary hygienic conditions of the stalls selling assorted fruit juices was determined by a survey in the form No. 06 (health surveillance provision markets) and microbiological quality (mesophilic aerobic bacteria, coliforms, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp.*) through technical Petrifilm (AOAC Official Method 2011).

According to the results from the survey for hygienic sanitary conditions it found that 39 stalls analyzed 28% were rated as acceptable and 72% were rated as fair. For the microbiological quality of juices assorted fruit was found that 100% of the samples analyzed growth of aerobic mesophilic bacteria, 94.9% showed growth of coliforms, 97.4% no growth of *Escherichia coli*, 97.4% had no growth of *Staphylococcus aureus* and 100% no growth of *Salmonella sp.* It was established that there is a difference statistically significant at  $\alpha = 0.05$  between health hygienic conditions of the stalls selling assorted fruit juice and the microbiological quality of the same.

So it is recommended to local municipalities with a plan of health surveillance and not currently regularly meets adequate review in these establishments, so it is recommended as sanitary surveillance to ensure the quality of products that are sold in a outpatient.

## INTRODUCCION

En el mundo se encuentran muchos alimentos de elaboración sin tratamiento térmicos entre ellos: comidas, refrescos y jugos de frutas surtidos, que al ser analizados nos encontramos con gran cantidad de microorganismos indicadores de higiene. En el Perú se encontraron la presencia del 4.4% de *Listeriamonocytogenes* en diversos jugos de frutas que se expendían en la vía pública (Barrón, Chávez et. al., 2012); mientras que en nuestra localidad se presentó una intoxicación alimentaria, encontrándose un nivel alto de Aerobios mesófilos, Coliformes y *E. coli* (Gorel, 2012).

Así mismo la mayoría de los jugos de frutas están preparados por frutas frescas, ésta a su vez se encuentra expuesta a muchas alteraciones microbiológicas, el cual al encontrarse en un estado de podredumbre podría contener algunos microorganismos que podrían ser causante de infecciones alimentarias. Entre los microorganismos que se encuentran en un jugo de fruta preparado en malas condiciones higiénicas sanitarias, están las bacterias Aerobias mesófilas, Coliformes, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*, que al estar presente en los alimentos podrían ser causa de enfermedades diarreicas, e incluso si la ingesta de los patógenos es en dosis infectivas muy altas podría poner en riesgo no solo la salud, sino la vida del consumidor.

Cada alimento es un medio de proliferación de microorganismos, y los más afectados suelen ser aquellos que se expenden en la vía pública y sin ningún tratamiento térmico, como es el caso de los jugos de frutas surtidos que según la NTS N° 071 en ella podrían estar presentes microorganismos indicadores de higiene y también patógenos. Estos alimentos se convierten en vehículos de transmisión de patógenos si no son preparados de acuerdo a las buenas prácticas de manipulación e higiene, en concordancia con las exigencias del reglamento sanitario de funcionamiento de mercados de abasto. El agua también es un vehículo que puede contaminar los alimentos, si ésta no cumple con las exigencias de calidad y como manda la normativa de mercados, el cloro residual no debe ser menor de  $0,5 \text{ mg}^{-1}$ .



# CAPITULO I

## REVISION DE LA LITERATURA

---

### 1. ANTECEDENTES:

#### 1.1. INTERNACIONAL:

**CONTRERAS (2013)**, realizó la evaluación de la calidad higiénica sanitaria de la preparación de alimentos en hogares comunitarios tradicionales del instituto colombiano de bienestar familiar de Floridablanca, Colombia. Los resultados obtenidos en el estudio muestran un porcentaje de cumplimiento en las condiciones evaluadas en los hogares comunitarios tradicionales menor al 70%. De acuerdo a la cantidad de hogares que están por debajo de ese porcentaje se listan las condiciones así: salud ocupacional (29 hogares), manipulador de alimentos (26 hogares), control de plagas y residuos sólidos (25 hogares), instalaciones físicas (19 hogares), limpieza y desinfección (14 hogares), agua potable (13 hogares) e instalaciones sanitarias (11 hogares). Estos datos indican que los niños menores de cinco años que asisten a los hogares comunitarios tradicionales están en riesgo de adquirir ETAs, por causa de peligros microbiológicos y químicos que se originan por el no cumplimiento de los aspectos relacionados con la seguridad alimentaria.

Además, el mismo autor informa que se encontró que el principal factor de riesgo es el manipulador de alimentos por no cumplir con normas higiénica sanitarias, el 44,4% de los 45 manipuladores evaluados no realizan un adecuado lavado y secado de manos, debido a que algunos no emplean jabón, no se lavan desde el codo y se secan con limpiadores o toallas de tela; 28,8% no han recibido capacitación de BPM; 62% no emplea dotación; 38% usa anillos, pulseras, tiene las uñas largas y con esmalte; otros factores fueron: el no uso de agua potable, ya que en algunos hogares se encontró la presencia de Coliformes incluyendo *Escherichia coli* en muestras de agua, bacterias indicadoras de contaminación fecal y causantes de cuadros diarreicos que pueden llegar a causar la muerte; 29% de los hogares no disponen de botiquín de primeros auxilios y el 36% no tienen los materiales y medicamentos necesarios vigentes; 100% de los hogares no realizan reciclaje; 36% emplea algún utensilio de madera en la preparación de alimentos, deficiente limpieza y

desinfección en instalaciones y equipos, instalaciones no adecuadas sanitariamente, falta de elementos de higiene personal y la presencia de animales en áreas cercanas a la preparación de alimentos.

**RODRIGUEZ y URBANO (2012)**, investigaron la calidad microbiológica de bebidas refrescantes dispensadas en máquinas de restaurantes de comida rápida del Distrito 1 de la zona metropolitana de San Salvador. El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad microbiológica de bebidas refrescantes dispensadas en máquinas de 7 restaurantes de comida rápida del distrito 1 de la zona metropolitana de San Salvador, se tomaron 28 muestras entre refrescos, jugos, té (naturales, artificiales) y 4 muestras de hielo, haciendo un total de 32 muestras. Los resultados del 100% de muestras (28) entre refrescos, jugos y té naturales y artificiales fueron: el 67.86% estaban contaminadas con Coliformes totales, 39.29% con Coliformes fecales y *E. coli*, el 100% resultó con ausencia de *Salmonella spp.* Y con respecto a las muestras de hielo el 100% de las muestras resultaron conformes para bacterias Mesófilas aerobias y *Pseudomonas spp.*, el 75% resultó no conforme para Coliformes totales y el 25% fueron no conforme para Coliformes fecales y *E. coli*.

**CASTELLON y TORRES (2009)**, investigaron la inocuidad microbiológica de refrescos artesanales a base de frutas comercializados en los diferentes mercados del Centro Histórico de San Salvador. El objetivo del estudio fue determinar la inocuidad microbiológica de refrescos artesanales a base de frutas comercializados en los diferentes mercados del Centro Histórico de San Salvador (Mercado Central, Sagrado Corazón, Tinety, Ex Cuartel y Belloso) en el periodo 2009. De acuerdo a la fórmula establecida, se llevó a cabo un muestreo aleatorio estratificado para determinar el número de muestras a tomar de cada puesto de refresco ubicados en cada mercado, para lo cual se realizó una prueba piloto, haciendo un total de 24 muestras de refrescos a base de frutas. De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis realizados a las muestras se encontró la presencia de *Escherichia coli*, la cual debe estar ausente en un alimento. Se encontraron valores altos de Coliformes totales, Coliformes fecales, bacterias Mesófilas aerobias, Mohos y Levaduras.

**AVILA y FONSECA (2008)**, estudió la calidad microbiológica en jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca, Colombia, aplicando encuestas en los diferentes hogares de bienestar familiar y se estableció un número de 60 muestras en los 5 municipios para ser tomadas en 2 meses. Las 60 muestras analizadas tuvieron recuentos por encima de los valores estipulados en el reglamento de elaboración, conservación y comercialización de jugos (Resolución 7992 de 1991), 36.7% de Mesófilos, 96.7% de hongos y levaduras, 71.7% de Coliformes totales en el jugo, y 23.3% de Coliformes fecales. En cuanto a análisis microbiológico de las aguas se evidenció 55% de Coliformes totales y 20% de Coliformes fecales por encima de la norma. Se logró demostrar que la fuente de contaminación de Coliformes totales y *Escherichia coli* de los jugos es el agua, poniendo en evidencia que es un factor crítico para la calidad de los jugos y posiblemente es una fuente de enfermedades diarreicas en los niños.

#### 1.2. NACIONAL:

**BARRON, CHAVEZ et. al. (2012)** determinaron la presencia de *Listeria monocytogenes* en los jugos de frutas frescas, como vehículos de transmisión de listeriosis humana, en la ciudad de Trujillo, Perú. Se evaluaron 360 muestras de jugos de “fresa”, “piña”, “papaya”, “manzana”, “naranja” y “toronja”, usando la Norma Técnica Peruana NTP ISO 2859-1:2009 y para evaluar los factores de riesgo de contaminación, se realizó una encuesta a través de la ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud, a cada uno de los comercializadores de jugos de frutas frescas. Se encontró a *Listeria monocytogenes* en el 4,4% de las muestras analizadas de las cuales, el 1,4% en fresa, 1,0% en papaya, 0,6% en piña, manzana y naranja y el 0,2% en toronja. Con respecto a los factores de riesgo de transmisión de listeriosis se determinó que el 52% de los puestos de venta expenden jugos en mal estado de conservación; los manipuladores de jugos en un 89% no aplican las buenas prácticas de manipulación, el 79% no cumplen con las reglas higiénicas personales y el 82% de los puestos de venta de jugos presentan condiciones higiénicas sanitarias no aceptables.

### 1.3. REGIONAL:

**GOREL (2012)**, realizó un informe de la presunta intoxicación de 15 personas, por la ingesta de alimentos procedentes de los puestos de venta de jugos surtidos el día 19 de agosto del 2012, ubicados en los exteriores de la casona del mercado Belén, en lo cual se observó la presencia de Aerobios mesófilos viables de 130000 ufc/ml, siendo el límite permisible de 100000 ufc/ml, Coliformes totales fue de 110, siendo el límite permisible de 100 y *Escherichia coli* fue de 11, siendo el límite permisible de 10 en los límites superiores a lo permitido.

**LAZO y VASQUEZ (2004)**, determinó la contaminación del “paté” que se comercializa en el mercado Belén. Mediante el análisis de bacterias Aerobias mesófilas y Coliformes fecales; estableciendo la calidad microbiológica de este producto mediante la comparación de los resultados del análisis, con los parámetros establecidos en la Norma Técnica Peruana; además se determinó la frecuencia y porcentaje de muestras aptas para el consumo humano en base a los indicadores microbiológicos analizados. El 68.89% de las muestras de “paté” analizadas, presentaron nivel de contaminación con bacterias Aerobias Mesófilas, con valores mayores a  $10^5$  ufc/g y el 58.89% de las muestras superan los valores de referencia para Coliformes fecales; obteniéndose un total de 85.56% de muestras de “paté” no aptas para el consumo humano.

**PEREZ (1985)**, investigó la presencia de mohos en jugos de frutas al natural que se expenden en la ciudad de Iquitos, teniendo en cuenta como referencia que constituyen un vehículo de propagación de enfermedades pulmonares, atacando además a los órganos del oído e hígado. La determinación de mohos se realizó a través de observaciones macroscópicas y microscópicas llegándose a registrar las siguientes especies: 1. Hongos patógenos en Humanos (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*). 2. Hongos no patógenos en humanos (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus sydowi*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus tamarii*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium lanosum*, *Geotrichum sp.*)

**RUIZ (1984)**, investigó la determinación taxonómica de 40 cepas de levaduras aisladas de jugos de frutas, así mismo indicara la presencia de levaduras patógenas para el hombre. El cumplimiento del primer objetivo se hizo en base al estudio morfológico (1. Estudio morfológico de la colonia, 2. Formación de yemas, 3. Ascosporas y pseudomicelio) y bioquímico (1. Asimilación de carbohidratos y compuestos nitrogenados, 2. Fermentación de carbohidratos, 3. Resistencia al actidione). Se determinaron 13 géneros y 21 especies y dentro de ellas no se encontraron levaduras patógenas para el hombre.

## 2. MARCO TEORICO:

### 2.1. FRUTAS:

#### 2.1.1. Generalidades:

Ferrel (2011) manifiesta que los mayores grupos de bebidas refrescantes, las cuales comparten características líquidas son las bebidas carbonatadas no alcohólicas, comúnmente conocidas como soda o bebidas gaseosas y los refrescos de fruta o jugos de fruta.

Según CODEX STAN 247- 2005 para zumos (jugos) y néctares de frutas, define lo siguiente:

Zumos (jugos) de frutas: El zumo (jugo) de fruta es el producto líquido sin fermentar pero fermentable obtenido de la parte comestible de frutas frescas sanas de madurez apropiada o de fruta que se ha mantenido sana por medios idóneos. El zumo (jugo) se prepara mediante un procedimiento adecuado que mantiene las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales de los zumos (jugos) de la fruta de la que procede el producto.

Un zumo (jugo) de un solo tipo es el que se obtiene de un solo tipo de fruta. Un zumo (jugo) mixto es el que se obtiene mezclando dos o más zumos (jugos), o zumos (jugos) y purés de diferentes tipos de frutas.

La NTP 203.110, define que los jugos de fruta son líquidos sin fermentar, pero fermentables, que se obtienen de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras. Algunos jugos pueden elaborarse junto con sus pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

La Norma Técnica Peruana NTP 203.111, define el refresco como el producto elaborado con agua potable tratada, ingredientes y aditivos permitidos, sometidos a un tratamiento de conservación adecuado, envasado y que es de consumo directo.

Por lo que podemos definir que los Jugos de Frutas surtidos (denominado así en nuestra región) son bebidas refrescantes, que se encuentran dentro del

grupo de bebidas no alcohólicas, que en su mayoría son elaboradas con la mezcla de agua tratada, zumos y pulpa de frutas en buen estado .

#### 2.1.2. Ingredientes y preparación de un jugo mixto:

Según López (2010) explica los ingredientes y la preparación de un jugo mixto:

- Papaya.
- Plátano manzana.
- Piña.
- Maracuyá.
- Arazá.
- Azúcar.
- Extracto de betarraga.
- Agua.

#### Preparación:

- Lavar y desinfectar las frutas.
- Picar a cuadritos cada una de las frutas.
- Verter todos los ingredientes en el vaso de la batidora y licuarlo hasta que esté bien triturado, probar con una cuchara si está a punto el dulce o agregarle más azúcar según el gusto de la persona.
- Lo mejor es beberlo en menos de 30 minutos, pues el gusto cambiaría.
- La betarraga es para darle color al jugo.

#### 2.1.3. Microbiología de las Frutas:

Shirai (2005), explica la microbiología de la fruta, basándose en las fuentes de contaminación, grupos de microorganismos que se encuentran en la fruta, alteraciones y patógenos.

##### 2.1.3.1. Fuentes de contaminación:

En el caso de las frutas y hortalizas, los principales contaminantes son de origen biológico (fundamentalmente microbiológico: bacterias o virus) o químico. Entre ellos tenemos:

- Infección Inicial: Suelo, agua, aire, insectos, animales actividades del hombre: uso de pesticidas, cultivos.
- Utensilios y manejo: Cuchillos, tijeras, mesas, molinos, vehículos de transporte, bandas transportadoras cajones, carretillas.
- Procesado.
- Manipulador de alimentos.

#### 2.1.3.2. Principales grupos de microorganismos que se encuentran en las frutas y hortalizas:

Las frutas también contienen una alta actividad del agua como para soportar el crecimiento de mohos. Sin embargo, la mayor parte de las frutas se diferencian de las hortalizas en que tienen un pH más ácido, con excepción de los melones, y un contenido de azúcar más alto. Entre los principales microorganismos tenemos:

- Bacterias: El pH favorece el predominio de hongos.
- Hongos y Levaduras.
- Los citados en hortalizas y, además: *Cladosporium*, *Phoma* y *Trichoderma*.

#### 2.1.3.3. Alteraciones:

La resistencia y la alteración microbiana de las frutas, dependen no sólo del tipo de fruta, del estado de madurez y del tiempo transcurrido desde que se recolectaron, sino también de las especies microbianas que en ella se desarrollen. En la práctica el aspecto externo de la fruta alterada varía poco en los distintos tipos de deterioro, por ello los caracteres que presentan las diversas podredumbres de las frutas científicamente son de escaso valor descriptivo y muy pocos exactos. Diferentes tipos de podredumbre (descomposición de una materia o una sustancia por la acción de diversos factores y de determinados microorganismos) se pueden encontrar:

- Podredumbre blanda bacteriana: Producida por *Erwinia*, *Carotovora* y *Pseudomonas marginalis*. En forma secundaria *Bacillus* y *Clostridium*.
- Podredumbre mohosa gris: Producida por *Botrytis cinérea*.
- Podredumbre blanda: Producida por *Rhizopus stolonifer*



- Podredumbre mohosa azul: Producida por *Penicillium italicum* (moho azul), *Penicillium digitatum* (moho verde) y *Penicillium expansum*.
- Royas vellosas y pulverulentas: Producida por *Phytophthora* y *Peronospora*.
- Podredumbre parda: Producida por *Sclerotinia*.
- Podredumbre de los extremos del tallo: Producida por *Fusarium*, *Diplodia*, *Phomosis* y otros.
- Podredumbre mohosa negra: Producida por *Alternaria tenuis*, *Aspergillus niger*, *Physalospora* y *Cerastostomella*.
- Podredumbre por antracnosis: Producida por *Colletotricum lindemuthianum*, *C. coccodes*.
- Podredumbre mohosa rosácea: Producida por *Trichothecium roseum*.
- Podredumbre mohosa verde: Producida por *Cladosporium herbarum*.

#### 2.1.3.4. Patógenos:

Muchas de las diarreas que se producen en la población vulnerable, la hepatitis A y diversas enfermedades transmitidas por alimentos (E.T.A.) tienen su origen en frutas y verduras mal lavadas, contaminadas con bacterias la cual podemos mencionar:

- *Salmonella*.
- *Shigella*
- *Vibrio* (*V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*)
- *Entamoeba histolítica*
- Virus causantes de hepatitis y gastroenteritis

#### 2.1.4. Composición nutricional de las frutas.

Según Ávila y Fonseca (2008) describiremos algunas características relacionadas con la composición nutricional de las frutas.

##### 2.1.4.1. Valor calórico:

El valor calórico está determinado por su concentración en azúcares, oscilando entre 30-80 Kcal/100g como excepción tenemos frutas grasas como el aguacate que posee un 16% de lípidos y el coco que llega a tener hasta un 60%. El aguacate contiene ácido oleico que es un ácido graso mono

insaturado, pero el coco es rico en grasas saturadas como el ácido palmítico. Al tener un alto valor lipídico tienen un alto valor energético de hasta 200 Kcal/100g, pero la mayoría de las frutas son hipocalóricas con respecto a su peso.

En los jugos de frutas surtidos también tenemos frutas con alto valor calórico (100 g), entre ellas tenemos: (Instituto Nacional de Salud, 2009)

- Papaya= 32Kcal
- Naranja = 40 Kcal
- Piña = 38Kcal
- Plátano = 90Kcal
- Maracuyá = 67 Kcal

#### 2.1.4.2. Carbohidratos:

Entre el 5% y el 18% de la fruta está formado por carbohidratos. El contenido puede variar desde un 20% en el plátano hasta un 5% en el melón y sandía. Las demás frutas tienen un valor medio de un 10%. El contenido en glúcidos puede variar según la especie y también según la época de recolección. Los carbohidratos son generalmente azúcares simples como fructosa, sacarosa y glucosa, azúcares de fácil digestión y rápida absorción. En la fruta poco madura se encuentra almidón, sobre todo en el plátano que con la maduración se convierte en azúcares simples.

#### 2.1.4.3. Agua:

Más del 80% y hasta el 90% de la composición de la fruta es agua. Debido a este alto porcentaje de agua y a los aromas de su composición, la fruta es muy fresca.

#### 2.1.4.4. Fibra:

Aproximadamente el 2% de la fruta es fibra dietética. Los componentes de la fibra vegetal que se encuentran en las frutas son principalmente pectinas y hemicelulosa. La piel de la fruta es la que posee mayor concentración de fibra, pero también es donde se pueden encontrar algunos contaminantes como restos de insecticidas, que son difíciles de eliminar si no es con el pelado de la

fruta. La fibra soluble o gelificante como las pectinas forman con el agua mezclas viscosas. El grado de viscosidad depende de la fruta de la que proceda y del grado de maduración. Las pectinas desempeñan por lo tanto un papel muy importante en la consistencia de la fruta.

#### 2.1.4.5. Vitaminas:

Como los carotenos, vitamina C, vitaminas del grupo B, según el contenido en vitaminas podemos hacer dos grandes grupos de frutas:

- Ricas en vitamina C: contienen 50 mg/100; entre estas frutas se encuentran los cítricos, también el melón, las piñas y la papaya.
- Ricas en vitamina A: son ricas en carotenos, como los mangos y la mandarina.

#### 2.1.4.6. Minerales:

Al igual que las verduras, las frutas son ricas en potasio, magnesio, hierro y calcio. Las sales minerales son siempre importantes, pero sobre todo durante el crecimiento para la osificación. El mineral más importante es el potasio. Las que son más ricas en potasio son los plátanos.

#### 2.1.4.7. Bajos en proteína y grasas:

Los compuestos nitrogenados como las proteínas y los lípidos son escasos en la parte comestible de las frutas, aunque son importantes en las semillas de algunas de ellas. Así el contenido de grasa puede oscilar entre 0.1 y 1.5%.

#### 2.1.4.8. Aromas y pigmentos:

La fruta contiene ácidos y otras sustancias aromáticas que junto al gran contenido de agua de la fruta hace que ésta sea refrescante. El sabor de cada fruta vendrá determinado por su contenido en ácidos, azúcares y otras sustancias aromáticas. El ácido málico predomina en la manzana, el ácido cítrico en naranjas, limones y mandarinas y el ácido tartárico en las uvas. Por lo tanto, los colorantes, los aromas y los componentes fenólicos astringentes aunque se encuentran en muy bajas concentraciones, influyen de manera crucial en la aceptación organoléptica de las frutas.

## 2.2. MICROORGANISMOS INDICADORES:

Chávez y Reinoso (2011) exponen que, la presencia de determinados microorganismos en los alimentos puede ser de provecho para determinar la calidad microbiológica de los alimentos, ya que estos pueden y son utilizados como indicadores. Este tipo de microorganismos recibe la denominación común de microorganismos indicadores, y su investigación y cuantificación nos puede aportar información sobre la seguridad sanitaria del alimento, su grado de alteración, su nivel de envejecimiento y la calidad higiénica con que se ha desarrollado el proceso de elaboración. Los grupos microbianos indicadores de mayor aplicación en los alimentos son las Bacterias Mesófilas aerobias, los organismos Coliformes totales, los Coliformes fecales, *Escherichia coli*, los Mohos y Levaduras; además se puede incluir a los microorganismos patógenos. A continuación, se describen con detalle cada uno de ellos:

### 2.2.1. Bacterias mesófilas aerobias (BMA):

Las bacterias mesófilas aerobias son un grupo heterogéneo de microorganismos y se incluyen en él a todos aquellos que muestran capacidad para formar colonias visibles en las condiciones de ejecución de la prueba (medios de cultivo, tiempo y temperatura de incubación), y es de mucha utilidad para determinar la calidad microbiológica de los alimentos, existiendo criterios diferentes para cada alimento y límites de aceptabilidad: El recuento de BMA en el agua, alimentos y otros materiales relacionados puede tener según el caso aplicaciones de interés que pondrían de manifiesto lo siguiente:

A) La exposición a fuentes de contaminación tiene mucho significado debido a que la presencia de estos microorganismos en los alimentos en cantidades mayores a lo establecido; nos indica que posiblemente se haya violado la norma de trabajo, lo cual es considerado inaceptable, así como nos indica el tratamiento bajo el cual se preparó el alimento, si ha sido ineficiente.

B) Condiciones de almacenamiento: La presencia de BMA en los alimentos nos muestra la temperatura bajo la cual este se ha encontrado. Una temperatura entre 20-40°C favorecería el desarrollo de la microflora. De ahí que cifras elevadas de BMA, son sugestivas de productos conservados bajo condiciones

de abuso de temperatura. Un elevado número de BMA en alimentos admite las siguientes tres interpretaciones:

- Intensa exposición a la contaminación.
- Una discreta contaminación seguida de condiciones de conservación que favorezca la actividad microbiana.
- Intensa contaminación y almacenamiento inadecuado.

C) El nivel de frescura: la pérdida de frescura de un alimento implica la presencia de actividad microbiana, en algunos alimentos cifras mayores de  $10^6, 10^7$  ufc/g o ml se acompaña de signos de deterioro, en tanto que otras cifras y aún mayores son la regla bajo normas sanitarias inaceptables de comercialización.

Al realizar un tratamiento en un alimento, el objetivo es eliminar la mayoría o en su totalidad la carga microbiana y por lo tanto midiendo esta carga microbiana podemos evaluar el tratamiento realizado y su eficiencia. Al realizar un recuento de BMA en un alimento, tiene significado para estimar el tiempo, que bajo condiciones definidas de almacenamiento, habrá de transcurrir antes que se presenten signos de deterioro. De manera general, una elevada carga de BMA expresa una imagen negativa de su calidad microbiológica.

#### 2.2.2. Coliformes totales:

##### 2.2.2.1. Generalidades:

A este grupo pertenecen generalmente las bacterias con forma de bastoncillos. La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común y una importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y alimentos.

##### 2.2.2.2. Taxonomía:

- Reino: Bacteria.
- Filo: Proteobacteria
- Clase: Gammaproteobacteria

- Orden: Enterobacteriales
- Familia: Enterobacteriaceae

#### 2.2.2.3. Caracteres bioquímicos de los coliformes:

El grupo coliformes agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

- Ser aerobias o anaerobias facultativas.
- Ser bacilos gramnegativos.
- Ser oxidasa negativa.
- No ser esporógenas
- Fermentar la lactosa a 35°C en 48 horas aproximadamente, produciendo ácido láctico y gas.

#### 2.2.2.4. Hábitat del grupo Coliformes:

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente (homeotermos), pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza. El género *Escherichia coli* es el único que tiene al tracto intestinal de los seres humanos y animales como hábitat primario. Las otras bacterias pueden encontrarse en los vegetales y en el suelo donde son más resistentes que algunas bacterias patógenas de origen intestinal como *Salmonella spp.* y *Shigella spp.*

#### 2.2.2.5. Significado de los coliformes en los alimentos:

Las bacterias coliformes son indicadores de contaminación de la calidad higiénica de los alimentos, la prueba de coliformes y otros parámetros sirven para detectar microorganismos patógenos y no patógenos en alimentos; la presencia de coliformes totales no indica, necesariamente, contaminación fecal o la presencia de patógenos estrictos.

En la actualidad se utilizan los coliformes como indicadores de higiene o contaminación después de un proceso o de un estado sanitario poco satisfactorio.

#### 2.2.2.6. Propiedades de las bacterias Coliformes en las alteraciones que experimentan los alimentos:

Algunas de las propiedades que determinan que las bacterias Coliformes sean importantes en las alteraciones que experimentan los alimentos son:

1. Su capacidad para crecer en sustratos muy distintos.
2. Su capacidad para sintetizar la mayoría de las vitaminas que necesitan.
3. La capacidad de las bacterias de este grupo para crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10°C hasta una temperatura próxima a los 46°C.
4. Su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y gas a partir de azúcares.

#### 2.2.3. *Escherichia coli*:

##### 2.2.3.1. Generalidades:

Es huésped constante del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Por su especificidad está considerado como un buen índice de contaminación fecal. Tiene el inconveniente de vivir poco en el ambiente extra entérico, por lo que su presencia en los alimentos nos indica contaminación reciente. Se destruye a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, sobre todo en temperatura de congelación. Pascual *et. al.* (2000)

Conocido anteriormente como *Bacterium coli commune* fue identificado por el pediatra Theodoro Escherich en 1885. *Escherichia coli* es un indicador de sanidad que puede indicar contaminación fecal en el alimento. Si la presencia de *Escherichia coli* se detecta luego del procesamiento del alimento, esto es un indicativo que los procesos de saneamiento y control de temperatura son inadecuados.

##### 2.2.3.2. Características del género *Escherichia*:

*Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo reaccionando negativamente a la tinción de gram, es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo, móvil por flagelos peritricos, no forma esporas, la temperatura

mínima para su crecimiento es de 2.5°C y la máxima de 45°C, puede sobrevivir a temperaturas de refrigeración y de congelación, el rango de pH en el cual se ha observado crecimiento es de 4.4 a 9.0.

Es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y se utilizan una serie de características para su identificación las cuales son: la producción de Indol a partir del metabolismo del aminoácido triptófano, la producción de ácidos por la vía de fermentación ácido mixta sin la producción de acetilmetilcarbinol y la no utilización de citrato como única fuente de carbono, estas características se utilizan como conjunto de pruebas diferenciales denominado IMVIC, cerca del 95% de las cepas de *Escherichia coli* presentan el patrón IMVIC +++- y se clasifican como biotipo 1, mientras que el porcentaje restante presenta el patrón IMVIC -+-- y se denomina biotipo 2. Es uno de los géneros que integran el grupo Coliforme, dividiéndose en muchos biotipos y serotipos, algunos de los cuales son patógenos potenciales para el ser humano.

#### 2.2.3.3. Taxonomía:

- Reino: Bacteria.
- Filo: Proteobacteria.
- Clase: Gammaproteobacteria.
- Orden: Enterobacteriales.
- Familia: Enterobacteriaceae.
- Género: *Escherichia*.
- Especie: *E. coli*.
- Nombre binomial: *Escherichia coli*.

#### 2.2.3.4. Hábitat de la *Escherichia coli*:

En su hábitat natural, vive en la parte baja de los intestinos de la mayor parte de mamíferos sanos y por ende en las aguas negras. En individuos sanos, es decir, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes. En humanos, *Escherichia coli* coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a



las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida.

#### 2.2.3.5. Clasificación:

Según Pascual *et. al.* (2000) describe la existencia de cinco clases diferentes de *Escherichia coli* productoras de diarrea:

- Enteropatógenas (ECEP): Los síntomas se inician entre las 17 y 72 horas que siguen a la ingestión del germen. Se manifiesta con dolor abdominal, vómitos, fiebre, diarrea acuosa con abundante moco, pero sin sangre. Su enfermedad dura de 7 a 72 horas.
- Enterohemorrágicas (ECEH): Se identifica como causa de colitis hemorrágica que, con frecuencia, se asocia con la ingestión de carne picada vacuna poco cocinada, principalmente, aunque pueden tenerse en cuenta otras carnes de abasto (cerdo, ovino y aves).
- Enterotoxigénicas (ECET): Se inician entre las 8 y 44 horas que siguen a la ingestión del producto contaminado con el germen. La enfermedad se manifiesta con una diarrea acuosa, no sanguinolenta, a veces con mucosidad.
- Enterovirulentas (EVEC): Las enfermedades se dan a través de la transmisión de estas cepas por medio del agua de bebida, leche, ensaladas vegetales, queso de pasta blanda, etc.
- Enteroinvasivas (ECEI): Los síntomas aparecen entre las 8 y 24 horas posteriores a su ingestión. Se manifiesta con escalofríos, malestar, dolor de cabeza, mialgia, fiebre y diarrea profusa sanguinolenta.

La fuente de la mayoría de las diarreas por *Escherichia coli* son los casos asintomáticos infectados o los portadores y los alimentos o el agua contaminados con heces de humanos. La diarrea causada por *Escherichia coli* es más frecuente en zonas del mundo donde los suministros de agua se encuentran contaminados y donde las instalaciones sanitarias son deficientes.

#### 2.2.3.6. Enfermedades producidas por *Escherichia coli*:

*Escherichia coli* forma parte de la flora intestinal y solo unas cepas específicas de transmisión fecal – oral son las causantes de brotes infecciosos. Su periodo de incubación promedio es de 3 – 4 días; la enfermedad tiene una duración de

2 – 9 días; al inicio el cuadro se caracteriza por dolor abdominal repentino, vómito, fiebre ligera o ausencia y desarrollo de diarrea sin presencia de sangre.

Dentro de las siguientes 24 horas se presenta diarrea acuosa profusamente sanguinolenta y dolor abdominal sumamente intenso, a tal grado que pueden ser más agudos que el de un cuadro de apendicitis; este segundo periodo tiene una duración de 4 – 10 días y se conoce como colitis hemorrágica.

#### 2.2.4. *Salmonella spp.*:

##### 2.2.4.1. Generalidades:

El género *Salmonella spp.* Fue creado en 1900 por Lignieres y se le denominó así en honor al Doctor D. E. Salmon. La salmonelosis es la principal causa de enfermedades transmitidas por alimentos en la mayoría de los países desarrollados y subdesarrollados, siendo una de las más importantes causas de muertes.

##### 2.2.4.2. Características de la *Salmonella spp.*

*Salmonella* es un género bacteriano, perteneciente a las familias Enterobacteriaceae integrado por gérmenes de forma bacilar, no esporulados, habitualmente móvil mediante flagelos peritricos, inmóviles. Gramnegativos, aerobios-anaerobios facultativos, fermentan la glucosa con producción de gas. No fermentan lactosa. Reducen nitratos a nitritos. Son citocromo-oxidasa negativos. Pascual *et. al.* (2000)

Estos microorganismos crecen con facilidad en medios sencillos pueden crecer en los alimentos y producir infecciones alimentarias, normalmente solo son vehiculados por alimentos y sobreviven a la congelación en el agua durante períodos prolongados.

##### 2.2.4.3. Taxonomía:

- Reino: Bacteria.
- Filo: Proteobacteria.
- Clase: Gammaproteobacteria.
- Orden: Enterobacteriales.
- Familia: Enterobacteriaceae.

- Género: *Salmonella*.

#### 2.2.3.4. Hábitat de la *Salmonella spp.*

Se encuentra de forma parásita en el tracto gastrointestinal de animales y del hombre, siendo este solo un eslabón de la cadena contaminante. Esta se libera al medio ambiente a través de los desechos fecales de animales y del hombre, permanece activa en los materiales con los cuales tiene contacto e inclusive se puede multiplicar cuando existen las condiciones favorables como: pH, temperatura, actividad del agua ( $A_w$ ), potencial de óxido reducción, exposición a agentes germicidas, la composición del material en el que se encuentra y la humedad ambiental, tal es el caso de los alimentos como: carnes, verduras, algunas frutas y así una gran variedad de alimentos, en las cuales dichas condiciones se cumplen perfectamente.

No siempre la contaminación fecal es el antecedente único y directo de casos o brotes de salmonelosis humana, tal es el caso de huevos de aves puestos incluso en condiciones sanitarias que excluyen la presencia de materia fecal, siendo aun así portadores del patógeno.

#### 2.2.4.5. Enfermedades producidas por *Salmonella spp.*

La salmonelosis humana es una enfermedad infectocontagiosa, comprende un conjunto de cuadros clínicos, donde una de las principales manifestaciones es la gastroenteritis aguda, una de las intoxicaciones alimentarias más comunes causadas por agua y alimentos contaminados; su sintomatología depende de la cantidad de *Salmonella spp.* ingerida, del tipo de serovariedad que realizó la infección, ya que cada uno presenta manifestaciones propias de su comportamiento, virulencia, capacidad invasiva y de la sensibilidad de las personas afectadas. Entre las enfermedades más comunes están: salmonelosis, enteritis y enfermedad sistémica.

#### 2.2.4.6. Prevención y control de *Salmonella spp.*

Según Pascual *et. al.* (2000) puede afirmar que todos los productos crudos de origen animal y del ambiente en que se preparan, pueden estar contaminados

con *Salmonella*. De aquí que los alimentos que con más frecuencia dan lugar a casos de salmonelosis son carnes y productos cárnicos, carnes de aves y subproductos, huevos y ovoproductos, leche y productos derivados de leche.

Puesto que, a veces, un bajo número de *Salmonella* (por ejemplo, inferior a 100 gérmenes por gramo) puede ser causa de enfermedad, lo más importante es asegurar su ausencia en los alimentos listos para el consumo. El mayor control se requiere en los siguientes pasos:

- Etapa del sacrificio de los animales que proporcionan alimentos de consumo humano.
- Prevención para evitar que se contaminen los productos terminados.
- Almacenamiento de los alimentos a baja o alta temperatura, según los casos.

#### 2.2.5. *Staphylococcus aureus*:

##### 2.2.5.1. Generalidades:

Cuando en el siglo XIX, el Dr. Ignac Semmelweis, médico húngaro que ejerció en Viena (Suiza), observó que las parturientas atendidas por médicos y estudiantes de medicina tenían una mortalidad del 13-18%, mientras que entre las mujeres que daban a luz con comadronas era sólo de un 2%, decidió investigar y detectó que el problema con sus colegas y estudiantes radicaba en que atendían los partos luego de analizar cadáveres infectados, sin lavarse las manos, por lo cual impuso la técnica de lavado de manos con una solución clorada antes de atender a estas pacientes y así redujo la mortalidad en madres y recién nacidos al 1%.

##### 2.2.5.2. Características del *Staphylococcus aureus*:

El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo grampositivo, pero las células viejas y los microorganismos fagocitados se tiñen como gramnegativos. Crecen aisladamente, en parejas, en tétradas, o en agrupaciones irregulares parecidas a racimos de uva, su diámetro es de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, son microorganismos no móviles, no esporulan y unas pocas cepas producen una cápsula que incrementa la virulencia del microorganismo.

Para crecer necesita una fuente de nitrógeno orgánico y en cuanto a necesidades de oxígeno son aerobios y anaerobios facultativos. Muchas de las cepas betahemolíticas, coagulasa positiva, son patógenas y algunas elaboran una enterotoxina que produce intoxicaciones alimentarias. Su metabolismo es de tipo fermentativo, catalasa positiva y oxidasa negativa. Son capaces de fermentar la glucosa sin producción de gases y producen acetilmetilcarbinol. Fermentan el manitol con formación de ácidos y puede hacerlo en anaerobiosis. La temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40°C y el pH óptimo oscila entre 7.0 y 7.5 aunque soportan pH mucho más extremos, crecen con mayor rapidez a 37°C, pero forman mejor su pigmentación a temperatura ambiente, de 20 a 25°C; sus colonias son de color gris a amarillo dorado intenso, aunque a veces pueden ser blancas. Poseen una enzima, la coagulasa, que la diferencia del resto de las especies del género; esta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina. Poseen igualmente una desoxirribonucleasa (Dnasa) que es una nucleasa exocelular que depolimeriza el ADN. A esta enzima se le denomina termonucleasa por ser termoresistente en las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Su presencia en alimentos se interpreta como indicador de contaminación a partes de la piel, boca y fosas nasales de los manipuladores de alimentos, así como falta de higiene en materiales y equipos.

#### 2.2.5.3. Taxonomía:

- Reino: Bacteria
- Filo: Firmicutes
- Clase: Bacillo
- Orden: Bacillales
- Familia: Staphylococcaceae
- Género: *Staphylococcus*
- Especie: *S. aureus*
- Nombre binomial: *Staphylococcus aureus*

#### 2.2.5.4. Hábitat del *Staphylococcus aureus*:

Se encuentra presente en la boca, en la mucosa, en la piel y en las heridas de los humanos y de otros mamíferos y aves. Se puede transmitir a la comida a

través de las manos o de gotas provenientes de la nariz y de la boca, y cuando permanece demasiado tiempo a temperatura ambiente.

#### 2.2.5.5. Clasificación:

Se han identificado varios tipos serológicos que se denominan: A, B, C, D, E, F, G y H. La intoxicación por *Staphylococcus aureus* se produce al encontrarse en los alimentos las toxinas que segrega, con el inconveniente de que no alteran el sabor, ni el olor del alimento. Estas toxinas son termoestables, soportando hasta una hora a 100°C; se ven poco afectadas por la deshidratación y las radiaciones gamma. En general, los tipos más resistentes son la A y la B. La enterotoxina A es la que se asocia más frecuentemente con brotes de intoxicación alimentaria, por lo que las toxinas pueden resistir, aunque la bacteria haya muerto durante el proceso de la preparación del alimento.

#### 2.2.5.6. Enfermedades producidas por *Staphylococcus aureus*:

El *Staphylococcus aureus* es un agente patogénico que actúa como un microorganismo saprófito, se encuentra en la piel del individuo sano, pero en ocasiones cuando las defensas de la piel caen puede causar enfermedad. El principal grupo de riesgo son pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos.

Entre las enfermedades producidas por este microorganismo se encuentran: Infección de piel y partes blandas, neumonía, sepsis con o sin metástasis (osteítis, artritis, endocarditis, abscesos localizados), orzuelos. Enfermedades por toxinas (síndrome de la piel escaldada, síndrome del shock tóxico y gastroenteritis).

## 2.3. REGLAMENTO SANITARIO DE FUNCIONAMIENTO DE MERCADOS DE ABASTO (RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 282-2003-SA/DM).MINSA (2003)

### 1. Título I Generalidades:

#### Artículo 1º.- Generalidades

El presente reglamento establece las condiciones y requisitos sanitarios a los que debe sujetarse el funcionamiento de los mercados de abasto sean públicos o privados, en las diferentes etapas de la cadena alimentaria, con la finalidad de asegurar la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas.

#### Artículo 2º.- Objetivos del presente reglamento sanitario

- a) Asegurar la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas de consumo humano en las diferentes etapas de la cadena alimentaria como son la adquisición, transporte, recepción, almacenamiento, preparación y comercialización en los mercados.
- b) Establecer los requisitos operativos y las buenas prácticas de manipulación que deben cumplir los responsables y los manipuladores de alimentos que laboran en los mercados.
- c) Establecer las condiciones higiénico-sanitarias y de infraestructura mínimas que deben cumplir los establecimientos que tengan la condición de mercados.

### 2. Título III de las Buenas Prácticas de Manipulación:

#### a) Capítulo I - De los Manipuladores de Alimentos

#### Artículo 18º.- Identificación de manipuladores:

El órgano responsable de los mercados registrará a las estables y temporales que comercializan y manipulan los alimentos. El registro debe incluir el nombre del titular de cada puesto, así como de los manipuladores que trabajen en él, consignando además el domicilio y documento de identidad de cada uno de ellos y el tipo de alimento que comercializan.

Los registros deberán estar actualizados y a disposición de la Autoridad de Salud Municipal competente cada vez que lo solicite; asimismo, es su obligación la exclusión de las actividades de manipulación de alimentos cuando

el estado de salud constituye un riesgo de contaminación para los mismos. El manipulador deberá comunicar al órgano responsable cuando presente síntomas de cualquier enfermedad.

Artículo 19º.- De la higiene de los manipuladores de alimentos:

Los manipuladores de alimentos deberán mantener un esmerado aseo personal y observar las siguientes prácticas higiénicas:

- a) Se lavarán las manos siempre antes de manipular los alimentos, inmediatamente después de utilizar los servicios higiénicos, toser o estornudar, rascarse cualquier parte del cuerpo, después de manipular material potencialmente contaminado (cajas, bultos, jabas, dinero, entre otros). Las manos estarán libres de anillos y de cualquier otro adorno; y las uñas se mantendrán cortas, limpias y sin esmalte.
- b) No utilizarán durante sus labores, sustancias o productos que puedan afectar los alimentos, transfiriéndoles olores o sabores extraños, tales como perfumes, maquillajes, cremas, entre otros.
- c) Están prohibidos de comer, fumar, masticar, tomar licor y realizar prácticas antihigiénicas como escupir, cuando manipulen alimentos.
- d) No realizarán simultáneamente labores de limpieza, las cuales deben efectuarse al inicio y al concluir sus actividades específicas de manipulación.

Artículo 20º.- De la vestimenta de los manipuladores

Los manipuladores de alimentos utilizarán ropa protectora blanca o de color claro, que constará de chaqueta o mandil guardapolvo y gorro que cubra completamente el cabello. Los comerciantes de carnes y menudencias de animales de abasto, pescados y mariscos, usarán, además, calzado de jebe y delantal de material impermeable. La vestimenta debe ser resistente al lavado continuo y deberá mantenerse en buen estado de conservación e higiene.

Los manipuladores de alimentos que usen guantes, deben conservarlos en buen estado, limpios y secos en el interior. El uso de guantes no exime al manipulador de la obligación de lavarse las manos cuidadosamente cada vez que sea necesario y secarse antes de colocárselos.



Artículo 21º.- De la capacitación a los manipuladores de alimentos:

La capacitación de los manipuladores de alimentos y su aplicación, es obligatoria para el ejercicio de la actividad. La capacitación podrá ser brindada por las municipalidades, por entidades públicas o privadas, o personas naturales especializadas. La capacitación se realizará con una frecuencia mínima de seis (6) meses y deberá tener una duración de por lo menos 10 horas, otorgándose al final de cada capacitación teórico-práctica una constancia que será colocada en el puesto en un lugar visible.

Los programas de capacitación a manipuladores de alimentos se realizarán por grupos de alimentos:

- a) Productos cárnicos: carnes y menudencias de animales de abasto, pescados y mariscos.
- b) Productos vegetales: frutas y hortalizas.
- c) Alimentos procesados, alimentos a granel y especerías, cereales y granos, especias secas y molidas, salsas, productos lácteos, embutidos y envasados.
- d) Comidas y bebidas
- e) Otros

Los temas de los programas de capacitación deberán contener como mínimo, aspectos referentes a: relaciones humanas, generalidades de composición de alimentos, propiedades y evaluación sensorial de los alimentos, contaminación de los alimentos y efectos en la salud, buenas prácticas de manipulación (BPM), principios de higiene personal y programa de higiene y saneamiento.

b) Capítulo IV - De la Comercialización según el tipo de Alimento:

Artículo 34º.- Comercialización de comidas y bebidas:

Las comidas y bebidas de consumo inmediato y para llevar se prepararán en condiciones higiénico-sanitarias y operativas adecuadas, observando las buenas prácticas de manipulación.

Las comidas preparadas deberán consumirse en un período no mayor de seis (6) horas. Asimismo, la comida no vendida en el día no deberá ser puesta a la venta en días posteriores, ni constituirá insumo para preparaciones nuevas.

Las comidas que requieran recalentamiento deberán ser sometidas a temperatura de ebullición. Las comidas frías deberán conservarse a temperatura de refrigeración (salsa a la huancaína, causa, sándwiches con mayonesa y otros). Asimismo, las salsas frías usadas en las comidas se prepararán a partir de insumos que reúnan calidad sanitaria e inocuidad (quesos pasteurizados, mayonesas comerciales, otros).

La preparación de jugos y bebidas se hará con agua hervida o tratada y frutas frescas en buen estado, lavadas, desinfectadas y manipuladas en forma higiénica. No se podrá utilizar fruta picada del día anterior.

Deberá protegerse los alimentos en exhibidores de refrigeración cerrados, campanas de malla o tapas acrílicas transparentes, según corresponda.

Artículo 35º.- Puestos de comidas y bebidas:

Las características y operaciones de los puestos de comercialización de comidas y bebidas serán las siguientes:

- a) Los puestos de preparación y expendio de comidas y bebidas se ubicarán en una sección separada de la zona de comercialización de alimentos crudos, de los servicios higiénicos, del colector de residuos sólidos y de cualquier otro punto de contaminación.
- b) Los puestos deberán contar con agua potable en cantidad suficiente para la preparación de alimentos y limpieza de materiales, utensilios, y del puesto.
- c) Los mostradores y mesas para el servicio deberán ser de material inocuo, de fácil limpieza, en buen estado de conservación e higiene.
- d) Se deberá disponer de un refrigerador en caso se expendan alimentos preparados de fácil alteración. El refrigerador deberá mantenerse limpio y en buen estado de conservación e higiene y tener una temperatura tal, que permita conservar los productos de alto riesgo a temperaturas no mayores a 5° C.

- e) Se utilizarán cucharas, tenedores, pinzas y otros utensilios para servir, cuidando de no contaminar con las manos las superficies que están en contacto con los alimentos.

### 3. Título V - Vigilancia Sanitaria de los Mercados de Abasto:

#### Artículo 47º.- De la evaluación higiénico-sanitaria

Las evaluaciones higiénico-sanitarias de los mercados serán realizadas por personal profesional o técnico calificado, con capacitación en temas referidos a criterios de observación y evaluación de riesgos, vigilancia sanitaria y a la normativa correspondiente.

Las evaluaciones higiénico-sanitarias serán inopinadas y permitirán evaluar las condiciones sanitarias de los puestos, de la comercialización de alimentos, y del mercado en general, así como el funcionamiento del Comité de Autocontrol Sanitario.

Se realizará una evaluación higiénico-sanitaria inicial o de diagnóstico previa a la capacitación. Las inspecciones de vigilancia y su verificación se realizarán con la frecuencia que sea necesaria para asegurar la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y el mantenimiento de la calificación.

#### Artículo 48º.- De los formatos para la vigilancia sanitaria:

Se utilizarán los formatos autoinstructivos para la vigilancia sanitaria y control de los diferentes alimentos, de acuerdo a los lineamientos establecidos en el presente reglamento.

#### Artículo 49º.- De la calificación sanitaria de los puestos de venta y los mercados de abasto:

Los puestos inspeccionados serán calificados por la Autoridad de Salud Municipal según los puntajes y colores indicados en las fichas de cada grupo de alimento.

De acuerdo al porcentaje de aspectos sanitarios cumplidos establecidos en las fichas de vigilancia sanitaria, la calificación será: ACEPTABLE, REGULAR o NO ACEPTABLE. Los puestos que obtengan la calificación ACEPTABLE y

mantengan dicha calificación durante un mínimo de 2 vigilancias consecutivas, serán distinguidos como PUESTOS SALUDABLES, haciéndose acreedores a una constancia, la misma que será retirada en caso de incumplimiento.

2. 4. NTS N° 071 – MINSA/ DIGESA-V.01. NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO. MINSA (2008)

i. Conformación de los criterios microbiológicos:

Los criterios microbiológicos están conformados por:

- a) El grupo de alimento al que se aplica el criterio.
- b) Los agentes microbiológicos a controlar en los distintos grupos de alimentos.
- c) El plan de muestreo que ha de aplicarse al lote o lotes de alimentos.
- d) Los límites microbiológicos establecidos para los grupos de alimentos.

ii. Aptitud microbiológica para el consumo humano:

Los alimentos y bebidas serán considerados microbiológicamente aptos para el consumo humano cuando cumplan en toda su extensión con los criterios microbiológicos establecidos en la presente norma sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece.

iii. Planes de muestreo:

Los planes de muestreo solo se aplican a lote o lotes de alimentos y bebidas; se sustentan en el riesgo para la salud y las condiciones normales de manipulación y consumo del alimento. Los planes de muestreo se expresan en términos de planes de muestreo de dos clases se usa cuando no se puede tolerar la presencia o ciertos niveles de un microorganismo en ninguna de las unidades de muestra. Un plan de muestreo de tres clases se usa cuando se puede tolerar cierta cantidad de microorganismos en algunas unidades de muestra.

Los símbolos usados en los planes de muestreo y su definición:

- Categoría: grado de riesgo que representan los microorganismos en relación a las condiciones previsibles de manipulación y consumo del alimento.

- “n” (minúscula): número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se analizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo.
- “c” número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprometidos entre “m” y “M” en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestras mayor a “c” se rechaza el lote.

**Tabla N° 01:** Planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación:

Grado de importancia en relación con la utilidad y el riesgo sanitario	Condiciones esperadas de manipulación y consumo del alimento o bebida luego del muestreo		
	Condiciones que reducen el riesgo	Condiciones que no modifican el riesgo	Condiciones que pueden aumentar el riesgo
Sin riesgo directo para la salud. Utilidad (ej. vida útil y alteración)	Aumento de vida útil Categoría 1 3 clases n=5, c=3	Sin modificación Categoría 2 3 clases N=5, c=2	Disminución de la vida útil Categoría 3 3 clases n=5, c=1
Riesgo para la salud bajo, indirecto (indicadores)	Disminución del riesgo Categoría 4 3 clases n=5, c=3	Sin modificación Categoría 5 3 clases n=5, c=2	Aumento del riesgo Categoría 6 3 clases n=5, c=1
Moderado, directo diseminación limitada	Categoría 7 3 clases n=5, c=2	Categoría 8 3 clases n=5, c=1	Categoría 9 3 clases n=10, c=1
Moderado, indirecto, diseminación potencialmente extensa	Categoría 10 2 clases n=5, c=0	Categoría 11 2 clases n=10, c=0	Categoría 12 2 clases n=20, c=0

	Categoría 13	Categoría 14	Categoría 15
Grave directo	2 clases	2 clases	2 clases
	n=15, c=0	n=30, c=0	n=60, c=0

Fuente: Minsa, 2008

iv. Grupos de microorganismos:

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

Microorganismos indicadores de alteración: las categorías 1, 2, 3 definen los microorganismos asociados con la vida útil y alteración del producto tales como microorganismos aerobios mesófilos, bacterias heterotróficas, aerobios mesófilos esporulados, mohos, levaduras, levaduras osmófilas, bacterias ácido lácticas, microorganismos lipolíticos.

Microorganismos indicadores de higiene: En las categorías 4, 5, 6 se encuentran los microorganismos no patógenos que suelen estar asociados a ellos, como coliformes (que para efectos de la presente norma sanitaria se refiere a coliformes totales), *Escherichia coli*, anaerobios sulfito reductores, *Enterobacteriaceas*, (a excepción de “Preparaciones en polvo o fórmulas para Lactantes” que se consideran en el grupo de microorganismos patógenos).

Microorganismos patógenos: son los que se hallan en las categorías 7 al 15. Las categorías 7, 8, 9 correspondiente a microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, cuya cantidad en los alimentos condiciona su peligrosidad para causar enfermedades alimentarias. A partir de la categoría 10 corresponde a microorganismos patógenos, tales como *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes*, (para el caso de alimentos que pueden favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes*), *Escherichia coli* O157:H7 y *Vibrio cholerae* entre otros patógenos, cuya sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud.

v. Grupos de Alimentos:

Para los efectos del siguiente proyecto se presenta a continuación el grupo XV Alimentos Elaborados.

**Tabla N° 02:** Alimentos Elaborados.

*Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa 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		Limite por g o mL
					m
Aerobios mesófilos(*)	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g

(\*) No procede para el caso de yogurt de fabricación casera.

Fuente: Minsa, 2008



2.5. REGLAMENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO  
(DS N° 031-2010-SA). DIGESA (2011)

TÍTULO IX

REQUISITOS DE CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO

Artículo 61°. - Parámetros de calidad organoléptica

El noventa por ciento (90%) de las muestras tomadas en la red de distribución en cada monitoreo establecido en el plan de control, correspondientes a los parámetros químicos que afectan la calidad estética y organoléptica del agua para consumo humano, no deben exceder las concentraciones o valores señalados en el Anexo II del presente Reglamento. Del diez por ciento (10%) restante, el proveedor evaluará las causas que originaron el incumplimiento y tomará medidas para cumplir con los valores establecidos en el presente Reglamento.

ANEXO II

**Tabla N° 03: LIMITES MAXIMO PERMISIBLES DE PARAMETROS DE CALIDAD ORGANOLEPTICA**

Parámetros	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1. Olor	---	Aceptable
2. Sabor	---	Aceptable
3. Color	UCV escala Pt/Co	15
4. Turbiedad	UNT	5
5. pH	Valor de pH	6.5 a 8.5
6. Conductividad (25 °C)	µmho/cm	1 500
7. Sólidos totales disueltos	mgL <sup>-1</sup>	1 000
8. Cloruros	mg Cl <sup>-</sup> L <sup>-1</sup>	250
9. Sulfatos	mg SO <sub>4</sub> <sup>=</sup> L <sup>-1</sup>	250
10. Dureza total	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	500
11. Amoniaco	mg N L <sup>-1</sup>	1.5
12. Hierro	mg Fe L <sup>-1</sup>	0.3
13. Manganeseo	mg Mn L <sup>-1</sup>	0.4
14. Aluminio	mg Al L <sup>-1</sup>	0.2
15. Cobre	mg Cu L <sup>-1</sup>	2.0
16. Zinc	mg Zn L <sup>-1</sup>	3.0
17. Sodio	mg Na L <sup>-1</sup>	200

UCV = Unidad de color verdadero

Fuente: DIGESA, 2010

UNT = Unidad nefelométrica de turbiedad

Artículo 66°. - Control de desinfectante:

Antes de la distribución del agua para consumo humano, el proveedor realizará la desinfección con un desinfectante eficaz para eliminar todo microorganismo y dejar un residual a fin de proteger el agua de posible contaminación microbiológica en la distribución. En caso de usar cloro o solución clorada como desinfectante, las muestras tomadas en cualquier punto de la red de distribución, no deberán contener menos de  $0.5 \text{ mgL}^{-1}$  de cloro residual libre en el noventa por ciento (90%) del total de muestras tomadas durante un mes. Del diez por ciento (10%) restante, ninguna debe contener menos de  $0.3 \text{ mgL}^{-1}$  y la turbiedad deberá ser menor de 5 unidad nefelométrica de turbiedad (UNT).

### 3. DESCRIPCION DE LOS MERCADOS

Mercado Belén:

El mercado de Belén es considerado con acierto el puerto mercado más grande y diverso de la Amazonia Peruana está ubicado entre las calles 16 de julio, 9 de diciembre y Ramírez Hurtado del distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto. Sus coordenadas son  $14^{\circ}5'42''\text{S}$  (latitud),  $87^{\circ}13'22''\text{W}$  (longitud). El mercado posee una extensión de casi  $1500 \text{ m}^2$  la parte del puerto está ubicada en la zona baja del mercado y las embarcaciones que allí llegan lo hacen por medio de la desembocadura del río Itaya, por el río Amazonas o surcando las corrientes del Ucayali y el Tigre hasta allí llegan algunas lanchas pero el tipo de embarcaciones que más llegan son las conocidas como llevo llevo (embarcaciones pequeñas cuyo centro de actividad son las comunidades aledañas a este puerto). IIAP (2015)

Mercado Central:

El mercado central gran construcción de hierro compuesta por un ambiente central de proporciones colosales, sostenido con columnas elevadas y decoradas con estrías, de los cuales hacen los tijerales del mismo material de hierro, que sostienen el techo principal. Es éste de cuatro aguas, coronado con una gran linterna central de figura rectangular.

El techo central tiene, en sus cuatro flancos, ventanas dotadas de elementos metálicos que forman triángulos, y bajo éstos, otro techo, de una sola caída, y sujeto por grandes elementos triangulares con reminiscencias góticas, en hierro. Está ubicado entre las calles Sargento Lores, Moore, Tacna y Calvo de Araujo; en el distrito de Iquitos, provincia de Maynas, departamento de Loreto. Con una latitud de 3° 44' 56.1595" S y una longitud de 73° 14' 53.7295" W. En la actualidad es uno de los mercados muy concurrentes por estar ubicado en el centro de la ciudad, en él se encuentran ventas de comidas preparadas, abarrotos y plantas ornamentales. Schindler (2015)

#### 4. MARCO CONCEPTUAL:

MINSA (2010) nos describe algunas definiciones que presentamos a continuación:

a. ALIMENTO O BEBIDA:

Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas al consumo humano, incluyendo las bebidas alcohólicas.

b. CRITERIO MICROBIOLÓGICO:

Define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basado en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, superficie o lote.

c. INOCUIDAD:

Garantía de que los alimentos no causan daño al consumidor cuando se fabriquen, preparen y consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

d. MERCADO DE ABASTO:

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

e. PUESTO DE COMERCIALIZACIÓN:

Denomínese a los espacios interiores delimitados, con estructura física adecuada para la comercialización de alimentos y productos autorizados. Los puestos de comercialización deben estar dispuestos en bloques, ordenados en secciones y registrados en el padrón de comerciantes.

f. BUENAS PRACTICAS DE MANIPULACIÓN:

Buenas Prácticas de Manufactura o Manipulación (BPM): Conjunto de medidas aplicadas a la elaboración y expendio de productos de panificación, galletería y pastelería, destinadas a asegurar su calidad sanitaria e inocuidad. Los programas se formulan en forma escrita para su aplicación, seguimiento y evaluación.

g. CONTAMINACIÓN CRUZADA:

Es la transferencia de contaminantes, en forma directa o indirecta, desde una fuente de contaminación a un alimento. Es directa cuando hay contacto del alimento con la fuente contaminante, y es indirecta cuando la transferencia se da a través del contacto del alimento con vehículos o vectores contaminados como superficies vivas (manos), inertes (utensilios, equipos, etc.), exposición al medio ambiente, insectos y otros vectores, entre otros.

h. VIGILANCIA SANITARIA:

Conjunto de actividades de observación, evaluación y medición de parámetros de control, que realiza la autoridad sanitaria competente sobre las condiciones sanitarias de elaboración, distribución y expendio de productos de panadería y pastelería en protección de la salud de los consumidores.

i. CALIDAD SANITARIA:

Es el conjunto de requisitos microbiológicos y fisicoquímicos que debe reunir un alimento, que indican que no está alterado (indicadores de alteración) y que ha sido manipulado con higiene (indicadores de higiene) para ser considerado apto para el consumo humano.

j. AOAC INTERNACIONAL:

(En inglés: Association of Official Analytical Chemist) AOAC International, fundada en 1884, es una tercera parte independiente, asociación no gubernamental de las organizaciones internacionales de la industria, agencias gubernamentales, instituciones de investigación, y los científicos individuales. AOAC es una empresa líder en la prestación de los estándares internacionales de consenso voluntario, Métodos Oficiales de Análisis (OMA), Performance Tested Método<sup>SM</sup>(PTM) la certificación, los programas de ensayos de aptitud de laboratorio, los criterios de acreditación de laboratorios, e información científica y oportunidades. Métodos AOAC se utilizan a nivel mundial para promover el comercio y facilitar la salud pública y la seguridad pública. La OMA en línea proporciona un acceso rápido y fácil de AOAC Official Methods<sup>SM</sup>. AOAC (2015).

## CAPITULO II

### MATERIALES Y METODOS

---

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la facultad de Industrias Alimentarias (FIA), de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP), del distrito de Iquitos, así mismo los jugos se recolectaron de dos mercados de la ciudad de Iquitos, el primero que corresponde al mercado Central que se encuentra ubicado entre las calles Sargento Lores / Moore del distrito de Iquitos; y el segundo correspondiente al mercado Belén específicamente en la calle 9 de Diciembre del distrito de Belén, todos estos pertenecientes a la Provincia de Maynas, departamento Loreto.

#### 2.1. MATERIALES:

- Placas Petrifilm de Aerobios mesófilos, Coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*.(Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella*. (Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Enriquecimiento base para *Salmonella*.(Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Disco de confirmación Petrifilm SALX.(Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Disco Staph Express Petrifilm.(Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Brand asa de siembra aguja. (Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Placas Petri.
- Dispensor Petrifilm. (Marca: 3M™ Petrifilm™)
- Tubos de ensayo.
- Matraz de 500 ml.
- Probeta de 5 y 50 ml.
- Algodón.
- Alcohol 70°.
- Bolsas de polietileno.
- Papel de despacho.
- Papel aluminio.
- Cooler.
- Papel toalla.
- Una cajita de Fosforo.

- Ligas.
- Cuchillo
- Tijeras.
- Lapiceros indelebles de punta fina.
- Toallita.
- Mandil de laboratorio.
- Guantes.
- Gorro.
- Kit de pH y cloro.
- Gel Pack refrigerante.
- Cajetilla de fosforo.

## 2.2. EQUIPOS:

- Contador de colonias. (Marca: HELLIGE Incorporated)
- Autoclave. (Marca: P SELECTA)
- Estufa. (Marca: MEMMERT)
- Homogenizador. (Marca: BIONET S.A.)
- Mechero de bunsen. (Marca: DVGW)

## 2.3. MÉTODOS:

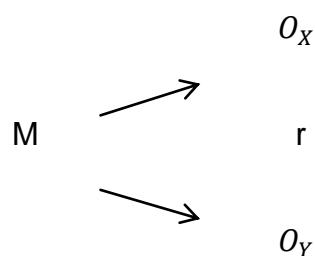
### a. Tipo de Investigación:

El presente proyecto es de tipo no experimental, ya que no se manipuló la variable independiente. NORDNESS (2006).

### b. Diseño de Investigación:

El presente estudio usó el diseño de investigación descriptivo, transversal y asociativo. Es descriptivo por que se observó las características higiénicas sanitarias en la preparación del jugo mixto y su calidad microbiológica. Es transversal porque proporciona una información de los mercados Belén y Central en un tiempo y espacio determinado. Además, es asociativa porque se buscó la relación entre las condiciones higiénicas sanitarias en la preparación del jugo de fruta surtido y la calidad microbiológica de los mismos.

El estudio presentó el siguiente diseño:



Dónde:

M = Muestra

O<sub>x</sub> = observaciones de las condiciones higiénicas sanitaria del jugo de fruta surtido en los puestos de venta.

O<sub>y</sub> = calidad microbiológica de los jugos.

r = relación entre O<sub>x</sub> y O<sub>y</sub>.

## 2.4. POBLACIÓN Y MUESTRA:

### 2.4.1. Población:

#### a) Mercado Belén (Calle 9 de diciembre):

- ❖ Todos los 23 puestos de venta de jugos de frutas surtidos.

#### b) Mercado Central:

- ❖ Todos los 16 puestos de venta de jugos de frutas surtidos.

### 2.4.2. Muestra:

#### a) Mercado Belén (Calle 9 de diciembre):

- ❖ 23 puestos de venta que expenden jugos de frutas surtidos.
- ❖ 1,380 litros de Jugos de frutas surtidos vendidos/día, con un promedio de 60 litros por cada puesto de venta. Recolectando 6 muestras de 250 ml cada uno.

#### b) Mercado Central:

- ❖ 16 puestos de venta que expenden jugos de frutas surtidos.



- ❖ 640 litros de Jugos de frutas surtidos vendidos/día, con un promedio de 40 litros por cada puesto de venta. Recolectando 6 muestras de 250 ml cada uno.

## 2.5. PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN:

### ***Para la inspección de la condición higiénica sanitaria:***

- a) Se emitió solicitudes a los alcaldes de las municipalidades de Maynas y Belén para la autorización a la investigación en los mercados de estudio (Belén y Central).
- b) Con el cargo correspondiente se informó y se entregó las solicitudes a los administradores de los dos mercados.
- c) Así mismo se coordinó con el representante del sindicato de trabajadores del mercado Belén (calle 9 de diciembre) y de la casona del mercado Central haciéndoles llegar sus respectivas solicitudes e informándoles sobre el presente proyecto de estudio.
- d) Con las coordinaciones necesarias y los pases respectivos(ver Anexo I) se procedió con la inspección de las condiciones higiénicas sanitarias de los dos mercados de estudio con el formato N° 06 (Vigilancia Sanitaria en Mercados de Abasto) establecidos en el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto.(ver Anexo II)
- e) Solo se realizó una inspección por cada puesto de venta de los dos mercados (39 puestos de venta de jugo mixto) teniendo en cuenta lo siguiente: alimento, buenas prácticas de manipulación (BPM), vendedor, ambientes y enseres; el cual cada uno de ellos nos dió un valor numérico que fue sumado para así obtener un puntaje de evaluación que nos permitió identificar las condiciones higiénicas sanitarias de cada puesto de venta.

Para el llenado del formato tuvimos en cuenta las condiciones de almacenamiento de frutas, así como el lugar donde se guarda los utensilios para la elaboración de esta bebida, analizamos el agua, el

secado de los vasos y utensilios y todo el puesto de venta en general mediante la observación directa.

La calificación se basó en lo siguiente:

**Tabla N° 04:** Calificación del formato de vigilancia sanitaria

<b>Puntaje y porcentaje de cumplimiento</b>	<b>Color</b>	<b>Calificación</b>
69 puntos a más (75 a 100%)	<b>Verde</b>	<b>Aceptable</b>
46 puntos a 68 puntos (50% a 75%)	<b>Amarillo</b>	<b>Regular</b>
0 a 46 puntos (menos del 50%)	<b>Rojo</b>	<b>No aceptable</b>

Fuente: Minsa, 2003

- f) La calificación obtenida nos mostró las condiciones higiénicas sanitarias de cada puesto de venta.

***Para el análisis de la calidad microbiológica:***

- i. Se realizó los pasos (a, b, c) establecidos anteriormente.
- ii. Con los trámites y pases correspondientes (ver Anexo II) se procedió a la recolección de las muestras en bolsas de polietileno de primer uso. La cantidad de jugo de frutas surtidos que se recolectó por cada puesto de venta de los dos mercados fue de 1.5 litros, divididos en 6 bolsas de 250 ml c/u en distintos momentos. Las 6 bolsas con las muestras fueron homogenizadas, y de ahí se sacó 200 ml para el análisis correspondiente.
- iii. La cantidad de repeticiones fue de  $n= 1$  (uno) amparada en la NTS N° 071 – MINS/DIGESA- V.01 (excepciones en que “n” es diferente de 5) el cual establece que, para vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas preparados provenientes de establecimientos de comercialización, preparación y expendio, se podrá tomar una muestra ( $n= 1$ ) por cada tipo de alimento preparado, que deberán ser calificada con los límites más exigentes (m) indicados en la presente disposición (ver Tabla N° 02: Alimentos Elaborados).

iv. Las muestras que se recolectó por día de cada puesto de venta de los dos mercados fueron llevadas al laboratorio de Microbiología de los Alimentos para su análisis correspondiente siguiendo los pasos establecidos en el Recuento de Microorganismos mediante Técnica Petrifilm según el Método Oficial AOAC 2011 correspondiente. (Ver Anexo VII)

➤ **Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 990.12.**

▪ Preparación de la muestra:

1. Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10. Pipetear la muestra en una probeta.
2. Añadir el diluyente apropiado (agua de peptona). No usar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.
3. Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales.

▪ Siembra:

4. Disponer la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.
5. Pipetear 1 ml de muestra al centro aproximadamente del film inferior. Mantener la pipeta en posición vertical. No tocar el film inferior mientras se pipetea.
6. Soltar el film superior y dejarlo caer. No deslizar el film hacia abajo.
7. Colocar el aplicador en el film superior bien centrado sobre el inóculo. Usar el aplicador con la cara rebajada hacia abajo (cara lisa hacia arriba).
8. Aplicar presión de manera suave sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular. No mover ni girar el aplicador.
9. Levantar el aplicador. Esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

- Incubación:

10. Incubar las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 20 placas. Incubar a 30 +/-1°C durante 72 +/-2 horas para cualquier tipo de alimento. Consultar otras condiciones particulares de incubación.

- Interpretación:

11. Leer las placas. Usar un lector de placas 3M Petrifilm, contador de colonias estándar Quebec u otros. No usar luz de fondo para la lectura de esta placa, usar luz directa. Consultar la Guía de Interpretación para leer los resultados.

➤ **Recuento de microorganismos Coliformes / *Escherichia coli* mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 991.14.**

- Preparación de la muestra:

1. Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10. Pipetear la muestra en una probeta.

2. Añadir el diluyente apropiado (agua de peptona). No usar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato. No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

3. Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

- Siembra:

4. Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.

5. Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

6. Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.

7. Con el lado plano hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.
8. Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire, ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.
9. Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

▪ Incubación:

10. Incube (Coliformes= 24 horas x 35°C y *E. coli*= 48 horas x 35°C) la placa cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

▪ Interpretación:

11. Las placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de interpretación para leer los resultados.
12. Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

➤ ***Recuento de microorganismos Staphylococcus aureus mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 2003.07.***

▪ Preparación:

1. Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10. Pipetear la muestra en una probeta.
2. Añadir el diluyente apropiado (agua de peptona). No usar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato. (No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento).

3. Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales. Para una recuperación y crecimiento óptimo de los microorganismos, ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5:

- Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
- Para productos básicos: use solución 1N de HCl

▪ Siembra:

4. Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior. Con la Pipeta Electrónica 3M o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la Placa.

5. Deslice cuidadosamente la película superior hacia abajo para evitar atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.

6. Aplique suavemente presión con el esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. Levante el esparcidor sin doblarlo o deslizarlo. Espere por lo menos un minuto para que se solidifique el gel. Nota: Esparza la muestra en cada Placa individual antes de inocular la siguiente. Esto es muy importante, puesto que en la Placa Petrifilm Staph Express el gel se forma rápidamente.

▪ Incubación:

7. Ponga a incubar las placas con el lado transparente hacia arriba en pilas hasta 20. Incube a 35°C por 24 horas.

▪ Interpretación:

8. Si no hay colonias presentes después de  $24 \pm 2$  horas de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada.

9. Cuente las colonias rojo-violetas como *S. aureus*. Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la guía de interpretación para leer los resultados.

- Utilización del disco:

10. Remueva el disco de su empaque individual tomándolo de la pestaña. Levante la película superior de la placa Petrifilm y coloque el disco en la cavidad de la placa. Baje la película superior.
11. Aplique presión gentilmente al área del disco, incluyendo sus bordes, deslizando un dedo firmemente a lo largo de la película superior. Esto garantizará un contacto uniforme del disco con el gel y eliminará cualquier burbuja de aire.
12. Incube las placas con los discos insertados cara arriba, en grupos de no más de 20 piezas, por 1 a 3 horas a  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  ó  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
13. Cuento todas las zonas rosadas, aunque no se encuentre presente una colonia.
14. Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

➤ **Recuento de microorganismos *Salmonella* mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 2003.09.**

- Suplemento para el Medio:

1. Pese asépticamente la cantidad apropiada del 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella.

- Procedimiento de enriquecimiento:

2. Agregue de manera aséptica el 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la cantidad apropiada de 3M Enriquecimiento Base para Salmonella, preparado y esterilizado en la autoclave.
3. Prepare la dilución del producto alimenticio. Pese o agregue con pipeta el producto alimenticio dentro de un contenedor estéril, tal como una bolsa para Homogenizador u otro contenedor.

4. Agregue una cantidad apropiada de la combinación de 3M Enriquecimiento Base para Salmonella más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la bolsa o el contenedor de la muestra.
5. Mezcle u homogenice la muestra según el procedimiento actual.
6. Incube las muestras enriquecidas a  $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$  durante de 18 a 24 horas.

▪ Procedimiento de hidratación:

7. Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2,0 mL de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.
8. Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.
9. Coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Distribuya el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa 3M Petrifilm SALX antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.
10. Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante al menos 1 hora a temperatura ambiente ( $20\text{--}25^{\circ} \text{C}$ ), protegida de la luz, para que se forme el gel.

▪ Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa:

11. Para las muestras con niveles bajos de contaminación microbiológica, use un asa estéril de 10  $\mu\text{L}$  y retire el volumen completo del asa. Utilice un asa suave (una que no tenga bordes dentados y que no esté deformada) para evitar que la superficie del gel se resquebraje.
12. Realice una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.
13. Baje la película superior para cerrar la Placa 3M Petrifilm SALX. Asegúrese de que usa guantes (emplear las buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminación cruzada o el contacto directo con la



placa), aplicar un movimiento suave de presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación.

14. Incube las placas a  $41,5^{\circ} \pm 1$  °C durante  $24 \pm 2$  horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.
15. En la película superior de la Placa 3M Petrifilm SALX, marque con círculos las colonias aisladas presuntivas positivas de Salmonella usando un marcador permanente de punta fina. Confirme bioquímicamente todos los resultados presuntivos positivos de Salmonella mediante el uso del Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.

▪ Confirmación Bioquímica:

16. Retire de su bolsa un Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX empacado individualmente y permita que llegue a temperatura ambiente. Abra el paquete para exponer la lengüeta del disco, júlela y retire el disco. Levante la película superior (con las colonias presuntivas de Salmonella ya marcadas) de la Placa 3M Petrifilm SALX e inserte el disco sobre el gel en forma tal que se evite atrapar burbujas de aire. Cierre la placa.
17. Asegúrese de que usa guantes y deslice suavemente sus dedos con un movimiento de barrido a una presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación, y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.
18. Incube el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express (placa y disco) a  $41,5^{\circ} \pm 1$  °C de 4 a 5 horas.
19. Retire el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express de la incubadora y proceda a leer los resultados. Mire solo las colonias marcadas con un círculo.

### CAPITULO III RESULTADOS

#### 3.1. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS JUGOS DE FRUTA

##### 3.1.1. RECUENTO DE AEROBIOS MESÓFILOS:

En la tabla N° 05 se muestra los resultados de los análisis efectuados en los mercados Belén y Central de la ciudad de Iquitos donde se observó la presencia de bacterias aerobios mesófilos en el 100% de los jugos analizados de los diferentes puestos de venta. El recuento de las BAM presentó valores que varían entre  $1.9 \times 10^5$  ufc/ml ( $\text{Log}_{10} = 5.28$ ) y  $5.6 \times 10^6$  ufc/ml ( $\text{Log}_{10} = 6.75$ ), pertenecientes al puesto 2 del Mercado Central y al puesto 7 del Mercado Belén respectivamente.

**Tabla N° 05:** Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos expresadas en ufc/ml y  $\text{Lg}_{10}$  de ufc/ml según mercado y puesto de venta.

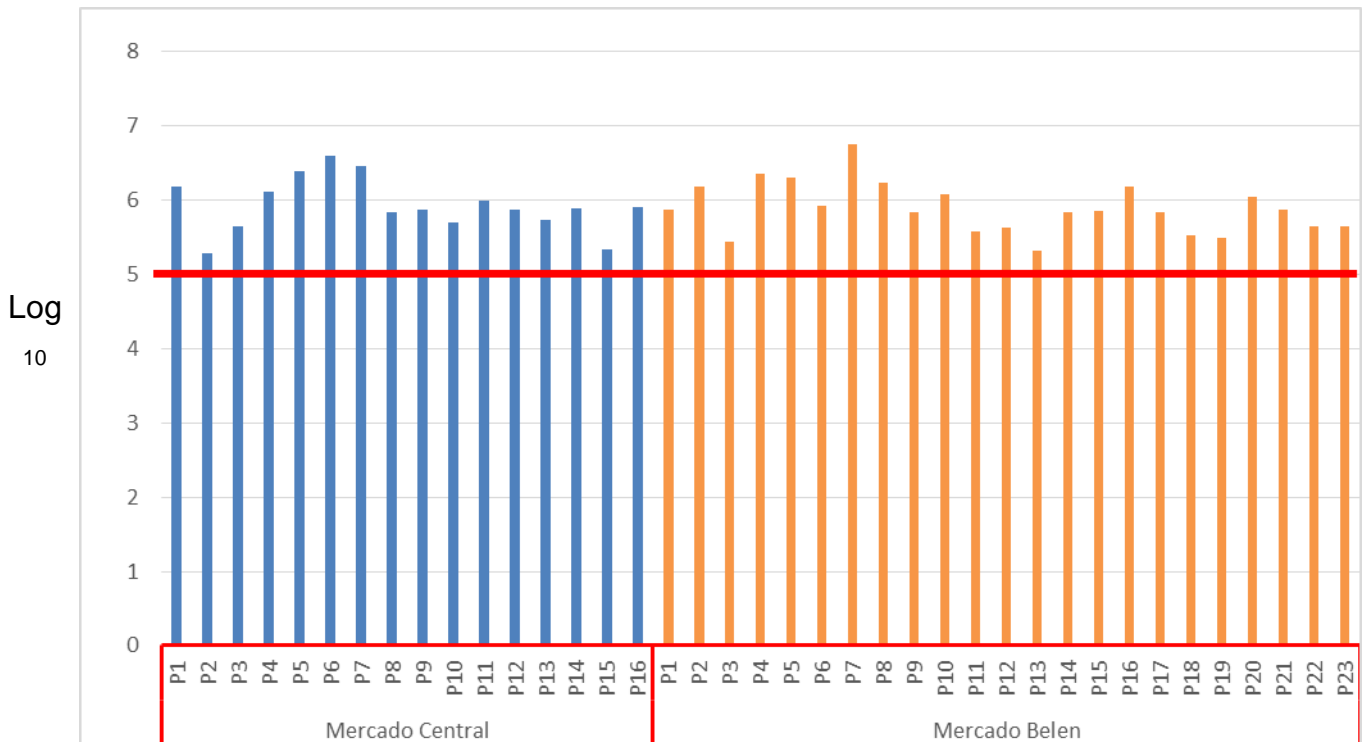
Mercado	Puesto	ufc/ml	$\text{Lg}_{10}$ ufc/ml	Mercado	Puesto	ufc/ml	$\text{Lg}_{10}$ ufc/ml
Belén	P1	$7.3 \times 10^5$	5.86	Central	P1	$1.5 \times 10^6$	6.18
	P2	$1.5 \times 10^6$	6.17		P2	$1.9 \times 10^5$	5.28
	P3	$2.7 \times 10^5$	5.43		P3	$4.4 \times 10^5$	5.64
	P4	$2.3 \times 10^6$	6.36		P4	$1.3 \times 10^6$	6.11
	P5	$2.0 \times 10^6$	6.30		P5	$2.5 \times 10^6$	6.39
	P6	$8.4 \times 10^5$	5.92		P6	$4.0 \times 10^6$	6.60
	P7	$5.6 \times 10^6$	6.75		P7	$2.9 \times 10^6$	6.46
	P8	$1.7 \times 10^6$	6.23		P8	$6.8 \times 10^5$	5.83
	P9	$6.8 \times 10^5$	5.83		P9	$7.4 \times 10^5$	5.87
	P10	$1.2 \times 10^6$	6.08		P10	$5.0 \times 10^5$	5.69
	P11	$3.8 \times 10^5$	5.58		P11	$1.0 \times 10^6$	6.00
	P12	$4.2 \times 10^5$	5.62		P12	$7.5 \times 10^5$	5.88
	P13	$2.1 \times 10^5$	5.32		P13	$5.5 \times 10^5$	5.74
	P14	$6.9 \times 10^5$	5.84		P14	$7.8 \times 10^5$	5.89
	P15	$7.2 \times 10^5$	5.86		P15	$2.2 \times 10^5$	5.34
	P16	$1.5 \times 10^6$	6.18		P16	$7.9 \times 10^5$	5.89
	P17	$6.8 \times 10^5$	5.83				
	P18	$3.4 \times 10^5$	5.53				
	P19	$3.1 \times 10^5$	5.49				
	P20	$1.1 \times 10^6$	6.04				
	P21	$7.3 \times 10^5$	5.86				
	P22	$4.4 \times 10^5$	5.64				
	P23	$4.4 \times 10^5$	5.64				

**Fuente: Autores (2015)**

Según la figura N ° 01 observamos que el 100% de las muestras analizadas en ambos mercados, sobrepasan el límite aceptable inferior

(ufc/ml > a  $10^5$ , corresponde a 5 en  $\text{Log}_{10}$  de ufc/ml). Por lo que podemos decir que no cumple con los límites más exigentes (m) según la NTS ° 071 de bebida para el consumo humano.

Figura N° 01: Recuento de Bacterias Aerobias mesófilas expresado en  $\text{Log}_{10}$  según procedencia y puesto de venta.



Límite permitido de recuento de mesófilos según NTS N° 071 ( $m=10^5$ )

### 3.1.2. RECUENTO DE COLIFORMES

En la tabla N° 06 se muestra los resultados de los análisis efectuados en los mercados Belén y Central de la ciudad de Iquitos donde se observó la presencia de bacterias coliformes en el 94.9% (37/39) de las muestras analizadas de los diferentes puestos de venta. Las muestras analizadas de los puestos 9 y 10 del mercado Belén, resultaron negativas a la presencia de bacterias coliformes. El recuento de los coliformes presentó valores que varían entre 5800 ufc/ml ( $\text{Log}_{10} = 3.76$ ) y 570000 ufc/ml ( $\text{Log}_{10} = 5.76$ ), pertenecientes a al puesto 3 y puesto 11 del mercado Central.

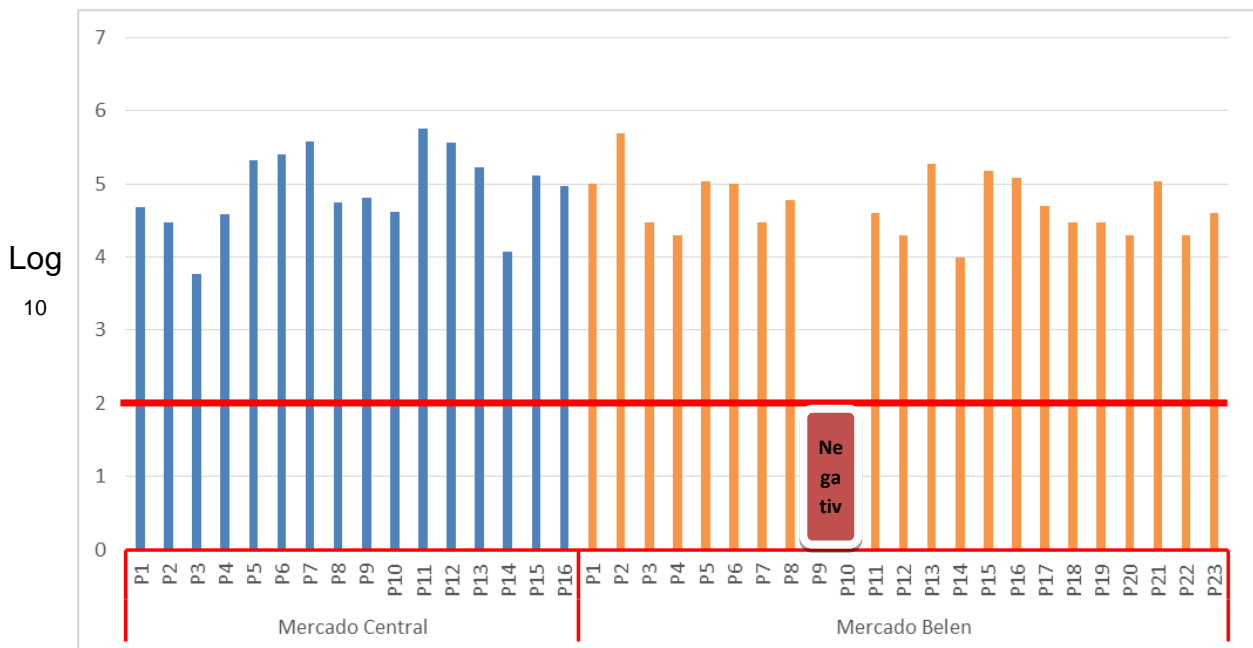
**Tabla N° 06:** Recuento de coliformes expresadas en ufc/ml y  $Lg_{10}$  de ufc/ml según mercado y puesto de venta.

Mercado	Puesto	ufc/ml	$Lg_{10}$ ufc/ml	Mercado	Puesto	ufc/ml	$Lg_{10}$ ufc/ml
Belén	P1	$1.0 \times 10^5$	5.00	Central	P1	$4.8 \times 10^4$	4.68
	P2	$4.9 \times 10^5$	5.69		P2	$3.0 \times 10^4$	4.48
	P3	$3.0 \times 10^4$	4.48		P3	$5.8 \times 10^3$	3.76
	P4	$2.0 \times 10^4$	4.30		P4	$3.9 \times 10^4$	4.59
	P5	$1.1 \times 10^5$	5.04		P5	$2.1 \times 10^5$	5.32
	P6	$1.0 \times 10^5$	5.00		P6	$2.5 \times 10^5$	5.40
	P7	$3.0 \times 10^4$	4.48		P7	$3.8 \times 10^5$	5.58
	P8	$6.0 \times 10^4$	4.78		P8	$5.5 \times 10^4$	4.74
	P9	0			P9	$6.4 \times 10^4$	4.81
	P10	0			P10	$4.1 \times 10^4$	4.61
	P11	$4.0 \times 10^4$	4.60		P11	$5.7 \times 10^5$	5.76
	P12	$2.0 \times 10^4$	4.30		P12	$3.7 \times 10^5$	5.57
	P13	$1.9 \times 10^5$	5.28		P13	$1.7 \times 10^5$	5.23
	P14	$1.0 \times 10^4$	4.00		P14	$1.2 \times 10^4$	4.08
	P15	$1.5 \times 10^5$	5.18		P15	$1.3 \times 10^5$	5.11
	P16	$1.2 \times 10^5$	5.08		P16	$9.3 \times 10^4$	4.97
	P17	$5.0 \times 10^4$	4.69				
	P18	$3.0 \times 10^4$	4.48				
	P19	$3.0 \times 10^4$	4.48				
	P20	$2.0 \times 10^4$	4.30				
	P21	$1.1 \times 10^5$	5.04				
	P22	$2.0 \times 10^4$	4.30				
	P23	$4.0 \times 10^4$	4.60				

Fuente: Autores (2015)

Según la figura N° 02 observamos que el 100% (16) de las muestras del mercado central y el 91.3% (21) de las muestras analizadas del mercado belén, sobrepasan el límite aceptable inferior (ufc/ml > a  $10^2$ , corresponde a 2 en  $Lg_{10}$  de ufc/ml). Por lo que podemos decir que no cumple con los límites más exigentes (m) según la NTS ° 071 de bebida para el consumo humano.

Figura N° 02: Recuento de Coliformes expresado en Log<sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta.

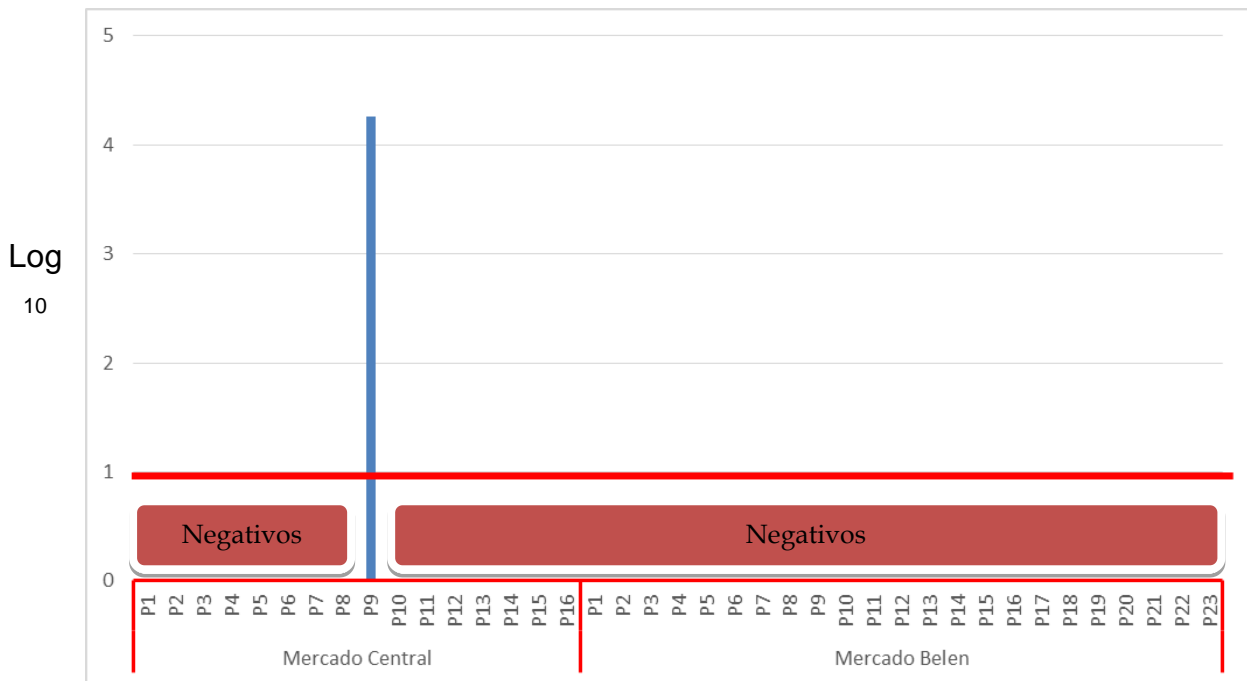


Límite permitido de recuento de coliformes según NTS N° 071 (m=10<sup>2</sup>)

### 3.1.3. RECUENTO DE *Escherichia coli*

Según la figura N° 03 se muestra los resultados de los análisis efectuados en los mercados Belén y Central de la ciudad de Iquitos donde se observó que el 97.4% (38/39) de las muestras analizadas de los dos mercados no presentaron crecimiento de colonias de *E. coli*, cumpliendo con los criterios microbiológicos establecidos en la NTS N° 071 (m= 10). Solo el 2.6% (1/39) de las muestras analizadas, perteneciente al puesto 9 del mercado central presentó un recuento de 18000 ufc/ml (Log<sub>10</sub> = 4.25), la cual sobrepasa el límite aceptable inferior (ufc/ml > a 10, corresponde a 1 en Log<sub>10</sub> de ufc/ml).

Figura N° 03: Recuento de *E. coli* expresado en Log<sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta.

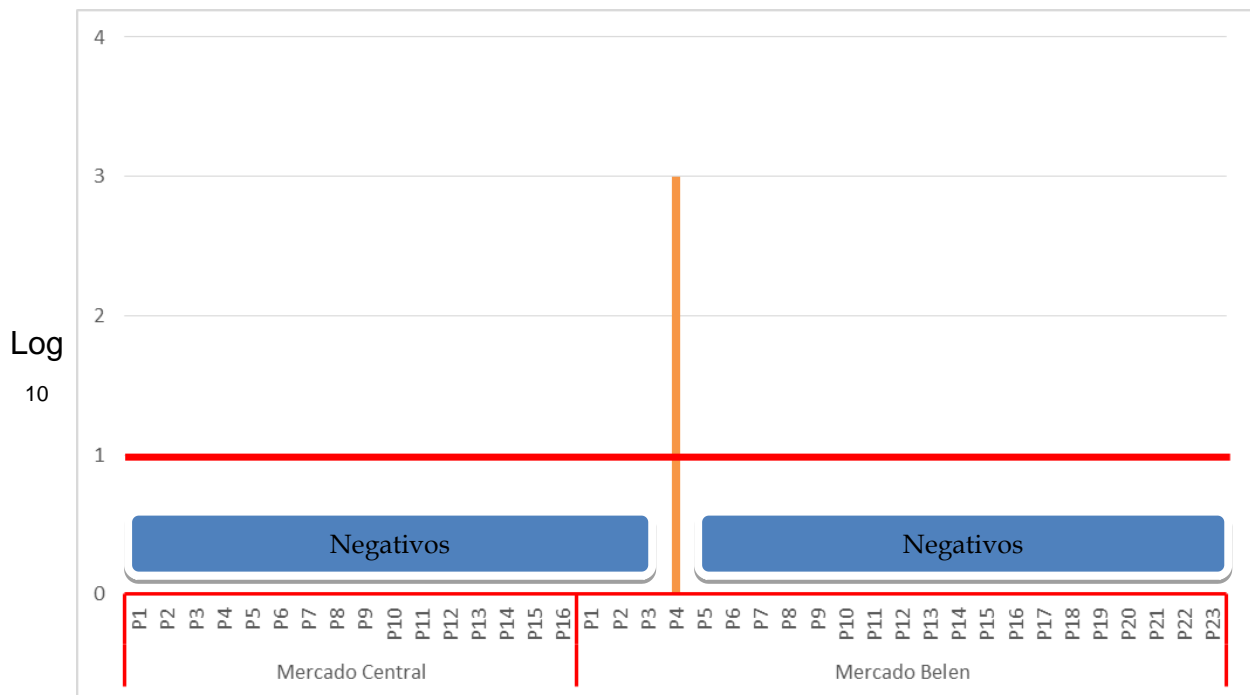


Límite permitido de recuento de *E. coli* según NTS N° 071 (m=10)

### 3.1.4. RECUENTO DE *Staphylococcus aureus*

Según la figura N° 04 se muestra los resultados de los análisis efectuados en los mercados Belén y Central de la ciudad de Iquitos donde se observa que el 97.4% (38/39) de las muestras analizadas de los dos mercados no presentaron crecimiento de colonias de *Staphylococcus aureus*, cumpliendo con los criterios microbiológicos establecidos en la NTS N° 071 (m= 10). Solo el 2.6% (1/39) de las muestras analizadas, perteneciente al puesto 4 del mercado Belén presentó un recuento de 1000 ufc/ml (Log<sub>10</sub> = 3), la cual sobrepasa el límite aceptable inferior (ufc/ml > a 10, corresponde a 1 en Log<sub>10</sub> de ufc/ml).

Figura N° 04: Recuento de *Staphylococcus aureus* expresado en Log<sub>10</sub> según procedencia y puesto de venta.



Límite permitido de recuento de *Staphylococcus aureus* según NTS N° 071 (m=10)

### 3.1.5. RECUENTO DE *Salmonella*

El 100% (39) de las muestras analizadas de los dos mercados no presentaron crecimiento de bacterias del género *Salmonella*, cumpliendo con los parámetros de aceptación microbiológica establecida en la NTS N° 071 (Ausencia/25ml).

### 3.2. CONDICIONES HIGIENICAS SANITARIAS DE LOS PUESTOS DE VENTA DE JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS DE LOS MERCADOS CENTRAL Y BELEN

En la tabla N° 07 y 08 se muestra que el 28% (11/39) de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos inspeccionados en el estudio fueron calificados como no aceptable según los criterios establecidos en el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto. Sin embargo, el 72% (28/39) de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos fueron calificados como regula según el Reglamento Sanitario antes mencionado.

**Tabla N° 07:** Puntaje de las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos del mercado Central

N° PUESTO DE VENTA	PUNTAJE	CALIFICACION
1	51	Regular
2	51	Regular
3	48	Regular
4	48	Regular
5	60	Regular
6	51	Regular
7	56	Regular
8	51	Regular
9	46	Regular
10	38	No aceptable
11	45	No aceptable
12	53	Regular
13	47	Regular
14	47	Regular
15	38	No aceptable
16	51	Regular
<b>Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto</b>	-69 puntos a más -46 puntos a 68 puntos -0 a 45 puntos	Acceptable Regular No aceptable

Fuente: Autores (2015)



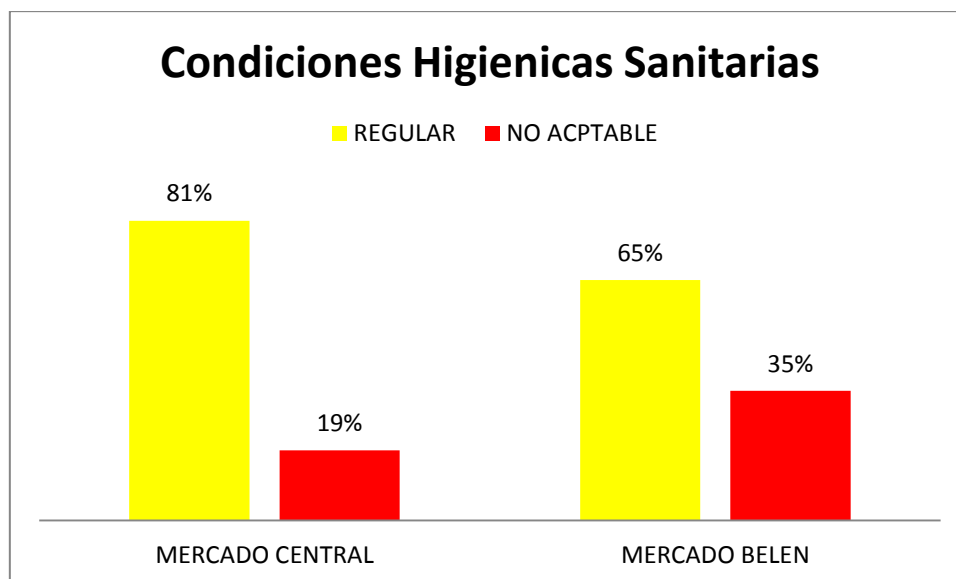
**Tabla N° 08:** Puntaje de las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos del mercado Belén

N° PUESTO DE VENTA	PUNTAJE	CALIFICACION
1	44	No aceptable
2	46	Regular
3	46	Regular
4	42	No aceptable
5	42	No aceptable
6	45	No aceptable
7	38	No aceptable
8	36	No aceptable
9	38	No aceptable
10	50	Regular
11	46	Regular
12	44	No aceptable
13	48	Regular
14	51	Regular
15	49	Regular
16	48	Regular
17	48	Regular
18	51	Regular
19	54	Regular
20	49	Regular
21	56	Regular
22	53	Regular
23	53	Regular
<b>Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto</b>	-69 puntos a más -46 puntos a 68 puntos -0 a 45 puntos	Acceptable Regular No aceptable

Fuente: Autores (2015)

Según la figura N° 05 se observa que en el Mercado Central el 19% (3/16) de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos fueron calificados como no aptos; así mismo, en el Mercado Belén el 35% (8/23) de los puestos de venta de jugo de frutas surtidos fueron calificados como no aptos según el Reglamento Sanitario de Mercados de Abasto.

Figura N° 05: Condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos



### 3.2.1. ALIMENTO:

El 94.9% (37) de los puestos de venta empleó fruta adecuada, con condiciones organolépticas normales (textura, color, olor) para la preparación de los jugos. Solo el 5.1% (2) de los puestos de venta, se observaron frutas en regulares condiciones organolépticas, ya que las frutas fueron compradas cortadas y previamente manipuladas por terceras personas.

### 3.2.2. AGUA:

El 51.3% (20) de los puestos de venta no utilizan agua con los límites máximos permisibles DIGESA (2011) ( $\text{pH} < 6.5$  ó  $> 8.5$  y cloro residual  $< 0.05$  ppm ó  $0.5 \text{ mgL}^{-1}$ ) para la preparación de los jugos de fruta, el 48.7% (19) de los puestos de venta emplearon agua con los límites máximos permisibles ( $\text{pH} = 6.5-8.5$  y cloro residual =  $0.5 \text{ mgL}^{-1}$ ).

### 3.2.3. HIELO:

El 84.6% (33) de los puestos de venta adquieren hielo para la conservación de la mezcla de frutas, por lo que se desconoce la procedencia del agua empleada para la preparación del hielo, y solo el 15.4% (6) de los puestos de venta ubicados en el mercado central emplean una congeladora para conservación de la mezcla de frutas.

#### 3.2.4. VENDEDOR:

Se encontró que el 87.2% (34) de las personas que elaboran los jugos de frutas no presentaron heridas en las manos o mucosas y el 53.8% (21) de las personas elaboró los jugos con las manos sin previo lavado o desinfección, algunas personas tenían las uñas pintadas y usaban anillos o pulseras durante el proceso de elaboración. Así mismo, el 100% (39) de las personas que elaboran los jugos de frutas surtidos no emplean la vestimenta reglamentaria completa (algunos llevan gorros, pero no mandil adecuado) y llevaban maquillaje facial durante el proceso de elaboración y expendio de los jugos.

#### 3.2.5. BUENAS PRACTICAS DE MANIPULACIÓN

La encuesta permitió establecer que el 71.8% (28) de las personas que elaboran los jugos de frutas surtidos en los dos mercados, no aplican las buenas prácticas de manipulación (BPM) antes, durante y después del proceso de elaboración de los jugos, ya que ésta capacitación de las BPM no se realiza con frecuencia por parte del órgano responsable (Municipios).

#### 3.2.6. AMBIENTES Y ENSERES

El ambiente exterior e interior del 58.9% (23) de los puestos de venta estaban limpios, ordenados y las superficies para cortar en buen estado. Así mismo, el 69.2% (27) de los puestos de venta no presentaron desagüe y el 30,8% (12) presentaron desagüe, los cuales no estaban en buenas condiciones o no presentaban rejilla de seguridad, y el 80.1%(31) de los puestos de venta tienen tachos de basura que no presentan tapa o botan la basura solo en una bolsa plástica.

### **3.3. RELACION ENTRE LAS CONDICIONES HIGIENICAS SANITARIAS DE LOS PUESTOS DE VENTA Y LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS JUGOS.**

Luego de realizar la prueba estadística ANOVA, con un alfa de 0.05 se estableció que existe diferencia estadísticamente significativa entre las condiciones higiénicas sanitaria de los puestos de venta de jugo de frutas surtidos y la calidad microbiológica de los jugos de frutas surtidos, teniendo en

cuenta que el análisis estadístico arroja un F observado igual a 7.776 y un F tabulado igual a 2.193; indicando que el recuento de bacterias (BAM y coliformes) en los puestos de venta de jugos surtidos del mercado Belén y Central son diferentes. (Ver Anexo III)

#### A) COMPARACIONES MÚLTIPLES: PRUEBA DE TUKEY

- Comparaciones múltiples de la media en  $\text{LOG}_{10}$ .

En la Tabla N° 09, se muestra el resultado obtenido del test de Tukey. Se observa que la media del recuento bacteriano del grupo A (6.25) y D (6.12) difieren estadísticamente de la media del recuento bacteriano de los grupos E (4.74), F (4.95) y H (5.12); la media del recuento bacteriano de los grupos E (4.74) y F (4.95) difieren de la media del recuento de los grupos A (6.25), B (5.85) y D (6.12)

La media del recuento bacteriano del grupo B (5.85) difieren de la media del recuento bacteriano de los grupos E (4.74) y F (4.95); así mismo, la media del recuento bacteriano del grupo H (5.12) difiere de la media del recuento bacteriano de los grupos A (6.25) y D (6.12).

Por otra parte, se puede observar que la media del recuento de bacterias de los grupos C (5.76) y G (5.39) no difiere del recuento bacteriano de los demás grupos. (Sig. > 0.05).

Estos 3 subconjuntos que se acaban de mencionar, tienen a su vez las mismas comparaciones múltiples (Sig. < 0.05) según la media de cada uno de ellas.

**Tabla N° 09:** Comparaciones múltiples de la media en LOG<sub>10</sub> del recuento bacteriano según mercado y condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta.

GRUPOS		MEDIA (LOG <sub>10</sub> )	COMPARACIONES MULTIPLES (Sig. < 0.05)							
			A	B	C	D	E	F	G	H
BAM / M. Belén –No Aceptable	A	6.25					X	X		X
BAM / M. Belén –Regulares	B	5.85					X	X		
BAM / M. Central - No Aceptable	C	5.76								
BAM / M. Central – Regulares	D	6.12					X	X		X
Coliformes / M. Belén –No Aceptable	E	4.74	X	X		X				
Coliformes / M. Belén – Regulares	F	4.95	X	X		X				
Coliformes / M. Central - No Aceptable	G	5.39								
Coliformes / M. Central – Regulares	H	5.12	X			X				

Fuente: Autores (2015)

- Comparaciones múltiples de la media según Subgrupos homogéneos.

En la Tabla N° 10, se muestra el resumen del resultado obtenido de las comparaciones múltiples basadas en la prueba de Tukey, observamos que los grupos cuyas medias no difieren entre sí, están agrupados en el mismo subconjunto y los grupos cuyas medias difieren forman parte de subconjuntos diferentes. Así mismo, se observa la formación de tres subconjuntos:

El primer (01) subconjunto de grupos homogéneos formado por el grupo del recuento de Coliformes de los puestos de venta del mercado Belén en condiciones no aceptables, recuento de Coliformes de los puestos de venta del mercado Belén en condiciones regulares, el recuento de Coliformes del mercado Central en condiciones regulares y el recuento de Coliformes del mercado Central en condiciones no aceptables.

El segundo (02) subconjunto de grupos homogéneos formado por el Recuento de Coliformes de los puestos de venta del mercado Belén en condiciones regulares, el recuento de Coliformes del mercado Central en condiciones regulares, el recuento de Coliformes del mercado Central en condiciones no

aceptables, el recuento de BAM del mercado Central en condiciones no aceptables y el recuento de BAM del mercado Belén en condiciones regulares.

El tercer (03) subconjunto de grupos homogéneos formado por el recuento de Coliformes del mercado Central en condiciones regulares, el recuento de Coliformes del mercado Central en condiciones no aceptables, el recuento de BAM del mercado Central en condiciones no aceptables, el recuento de BAM del mercado Belén en condiciones regulares, el recuento de BAM del mercado Central en condiciones regulares y el recuento de BAM del mercado Belén en condiciones no aceptables.

**Tabla N° 10:** Comparaciones múltiples de medias según Subgrupos homogéneos

Grupo de recuento bacteriano según condición higiénico –sanitario y mercado	N	Subgrupos		
		1	2	3
Coliformes / M. Belén – No Aceptable	8	4.1123		
Coliformes / M. Belén – Regulares	15	4.4135	4.4135	
Coliformes / M. Central – Regulares	13	4.8620	4.8620	4.8620
Coliformes / M. Central – No Aceptable	3	5.1609	5.1609	5.1609
BAM / M. Central – No Aceptable	3		5.6805	5.6805
BAM / M. Belén –Regulares	15		5.7672	5.7672
BAM / M. Central – Regulares	13			5.9832
BAM / M. Belén – No Aceptable	8			6.1106
<b>Sig.</b>		0.352	0.095	0.157

Fuente: Autores (2015)

En la Tabla N° 10 se observa los subconjuntos homogéneos el cual cada una de ellas no se relacionan entre sí por tener la significancia distinta entre las mismas.

## CAPITULO IV DISCUSION

---

En la investigación se encontró el crecimiento por encima de los límites permisibles de Aerobios mesófilos (100%) coliformes (94.9%), la presencia de estas bacterias se debe a la utilización de agua no segura (pH menor y mayor del rango permitido 6.5-8.5 y cloro residual < de 0.5 mgL<sup>-1</sup>) el cual es un vehículo importante de transmisión de microorganismos, sobre todo aquellas asociadas al grupo coliformes; así como a la mala manipulación de las frutas, las manos de los manipuladores con aros, relojes, uñas con esmalte y sin la utilización de la vestimenta adecuada, y que explican por sí mismos, fallas en los procesos de higiene y desinfección, como se observa en los resultados de las condiciones higiénicas sanitarias. La OMS (2015), corrobora con esta acepción, asegurando que la mayoría de las ETAs, son a causa de la mala manipulación de los alimentos y que no todos los manipuladores entienden la importancia de adoptar prácticas higiénicas básicas al momento de preparar cualquier alimento, así también lo explica el MINSA (2003) en el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de abasto.

El crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* que representa el 2.6% del total de muestras, una proporción baja en comparación con mesófilos y coliformes; el primero se relaciona específicamente con una contaminación fecal reciente proveniente del agua o el manipulador especialmente, y el segundo es contaminación de parte del manipulador por mala higiene o como portador de la bacteria. Respecto a esto, Kishimoto et al. (2004) expone que la presencia de *S. aureus* se encuentra en las manos de los manipuladores de los alimentos y el INS (2011) que la presencia de esta bacteria se debe a la contaminación cruzada y a los manipuladores de los alimentos.

Referente a *Salmonella* no se encontró en ninguna muestra analizada, posiblemente porque las frutas utilizadas en el jugo de fruta surtido han sido limpiadas y desinfectadas correctamente y no tiene entre sus ingredientes huevo crudo, alimento muy asociado a los brotes de salmonelosis; sin embargo, otra explicación sería que esta bacteria ha demostrado dificultad de

detectarse en alimentos, debido a que se encuentra en cantidades muy pequeñas y en presencia de una gran cantidad de organismos competitivos (Arrendo et al., 1998), que lo inhiben y no permiten su crecimiento adecuado aun cuando el método tiene la fase de enriquecimiento no selectivo y selectivo que permite su recuperación y multiplicación. Por otra parte, la OMS (2013) explica que *Salmonella* se encuentra mayormente en carnes crudas de animales comestibles y domésticos, motivo por el cual la presencia de este microorganismo no es significativa en el jugo de fruta surtido.

Con respecto a las condiciones higiénicas sanitarias, en ninguno de los dos mercados los puestos de ventas son aceptables, encontrándose entre regular y no aceptable, y la prueba de anova demuestra que hay una diferencia significativa entre las condiciones higiénicas y la carga microbiana, esto nos permiten generalizar que los jugos de frutas surtidos no cumplirán con la calidad microbiológica establecida, es decir, que, si las condiciones higiénicas son malas, el producto también lo será.

El agua utilizada en la preparación del alimento representa un importante factor de contaminación microbiana ya que más del 50% de los puestos de ventas no utilizan agua segura, y esto difiere con lo establecido en el Artículo 34 del reglamento de funcionamiento de mercados y afines donde establece que la preparación de jugos y bebidas se hará con agua hervida o tratada y las frutas deben estar en buen estado, lavadas, desinfectadas y manipuladas en forma adecuada, así mismo en el artículo 63°- Parámetros de Control Obligatorio (PCO) Y artículo 66°- Control de Desinfectante del Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano DIGESA (2011) explica que el agua deberá estar en un pH de 6.5 a 8.5 y que el agua deberá tener cloro residual mínimo  $0.5 \text{ mgL}^{-1}$ , si no se cumple con esto, la eliminación de los microorganismos, especialmente bacterias mesófilas, coliformes y E. coli no estará garantizada, y los patógenos presentes pueden ser causa de enfermedades gastrointestinales.

Con respecto a las BPM, el 84.6 % de los puestos de venta de jugos de frutas surtidos utilizan hielo para conservar la fruta, porque la mayoría de los puestos de venta no cuentan con una congeladora, resultado que difiere al



Artículo 34 del presente reglamento que establece que se debe disponer de un refrigerador en caso se expendan alimentos preparados de fácil alteración. A parte de incumplir el reglamento, el peligro de ésta práctica es que no se conoce la calidad microbiológica del hielo y por su contacto directo con las frutas el peligro es similar a no usar agua segura.

Con respecto al vendedor, se encontró que el 53.8% de las personas que elaboran los jugos de frutas surtidos tienen las uñas pintadas, utiliza, pulseras y no se lavan correctamente las manos y el 100% no emplean la vestimenta reglamentaria completa, lo que contradice lo establecido en los artículos 19 y 20 del Reglamento Sanitario De Funcionamiento De Mercados De Abasto (Resolución Ministerial N° 282-2003-Sa/Dm).Minsa (2003) que indica que todo personal que manipula los alimentos debe portar indumentaria de color blanco o claros y que debe estar libre de cualquier accesorios en las manos. Así mismo en cuanto a los ambientes, enseres e implementación el 69.2% de los puestos de venta no presentan desagüe con rejillas y el 80.1% tienen tachos de basura sin tapa, datos contradictorios a lo establecido en el artículo 41 del reglamento antes mencionado; el mismo que menciona que los residuos se deberán depositar en recipientes de fácil limpieza y con una bolsa de plástico en el interior.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

---

#### 5.1. CONCLUSIONES:

- El total de las muestras analizadas de los jugos de frutas surtidos de los mercados Belén y Central no son aptas para el consumo humano debido a que superó el límite permisible (m) en el recuento de bacterias Aerobias mesófilas y Coliformes, microorganismos indicadores asociados a condiciones higiénicas inadecuadas y a la utilización de agua no segura.
- La presencia de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* no fue significativa en las muestras de jugos de frutas surtidas.
- Las condiciones higiénicas del 54% de los puestos de ventas de jugo de frutas surtidas estudiadas se calificaron como no aceptables. Siendo el Mercado Belén el que mayor porcentaje de puestos no aceptables (35%) presentó en comparación con el Mercado Central (19%). El 46% restante de los puestos se calificaron como regulares, no existiendo ninguno que sea aceptable.
- El 51.3% de los puestos de venta no utilizaron agua segura para la preparación de los jugos, ni para el lavado de los utensilios y superficies, mostrando un pH menor de 6.5 y cloro residual por debajo de 0.5mg/L. Así mismo, se desconoce la calidad del agua con que se preparó el hielo utilizado en la conservación de la mezcla de frutas, considerándose también no segura; ambos son vehículo importante de transmisión de agentes patógenos.
- El 71.8% de las personas no aplicaron las buenas prácticas de manipulación, antes, durante y después de la elaboración del jugo de frutas surtido. Y el 100% no utilizó la vestimenta reglamentaria completa.<sup>27</sup> de los puestos de venta no presentaron desagüe en buenas condiciones y 31 contaron con tachos de basura sin tapa y bolsa plástica.

- Se llegó a la conclusión que las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de venta de jugo de frutas surtido de los mercados Belén y Central están relacionadas significativamente con la carga microbiana de los jugos de frutas, de tal forma que, a mayor deficiencia en las condiciones higiénicas menor la calidad microbiológica de los jugos.

## 5.2. RECOMENDACIONES:

Se recomienda a los municipios locales a través de sus autoridades y funcionarios, DIGESA y otros, realizar la vigilancia higiénica sanitaria para garantizar la calidad de los productos que se expenden de forma ambulatoria, ya que actualmente no cumplen con esta normativa. Comprobar la calidad microbiológica de los productos listos para su consumo como los jugos de frutas y otros que se expenden en los mercados para evitar enfermedades gastrointestinales.

A instituciones como el Gorel, MINSA, Municipios y profesionales de la salud, se invita a continuar con las investigaciones de los alimentos que se expenden en mercados de abasto, para conocer la calidad microbiológica, condiciones higiénicas y otros aspectos como la calidad fisicoquímica y los valores nutricionales. Para contribuir a incrementar y aplicar el conocimiento sobre el tema en bien de la salud pública.

El estudio de la calidad de agua que se emplean en la elaboración de comidas y bebidas para el consumo humano en los mercados es también muy importante, debido a que son un vehículo de transmisión de microorganismos patógenos muy importante.

Solicitar a las autoridades municipales que se planifiquen y realicen programas de capacitación constante a los vendedores y manipuladores de alimentos sobre las buenas prácticas de manipulación y su importancia en la salud de los consumidores. Aunque las condiciones de infraestructura del mercado sean inadecuadas.

## CAPITULO VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

---

Arrendo A., J. Bellido, M.R. Pac, J. Criado, M.A. Usera, I. Mesanza, F. González, R. Pérez y J.M. Cortés 1998. Brotes epidémico de salmonelosis por consumo de huevos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Vol. 16 No. 9:408-412.

3M Microbiology. Guía de Interpretación – Petrifilm Placas para Recuento de E. coli y Coliformes Totales. 1-6 pág. Recuperado: [www.sag.cl/OpenDocs/asp/pagVerRegistro.asp?argInstanciald=56](http://www.sag.cl/OpenDocs/asp/pagVerRegistro.asp?argInstanciald=56)

3 M Microbiology. Guía de Interpretación – Petrifilm Placas Staph Express para Recuento de Staphylococcus aureus. 1-6 pág. Recuperado: [www.biocheck.cl/.../bajando.php?...Guia\\_de\\_interpretacion\\_staph\\_expre](http://www.biocheck.cl/.../bajando.php?...Guia_de_interpretacion_staph_expre).

3 M Microbiology. Guía de Interpretación – Petrifilm Placas para Recuento de Aerobios. 1-6 pág. Recuperado: [depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount\\_19100.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount_19100.pdf)

3 M Microbiology. Guía de Interpretación – Petrifilm Placas para Recuento de Salmonella. 1-6 pág. Recuperado: [www.anmat.gov.ar/.../Guia\\_de\\_interpretacion\\_resultados\\_microbiologico](http://www.anmat.gov.ar/.../Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologico).

AOAC INTERNATIONAL (Acceso 02 de Noviembre del 2015) Recuperado: [http://www.aoac.org/imis15\\_prod/AOAC/Publications/Official\\_Methods\\_of\\_Analysis/AOAC\\_Member/Pubs/OMA/AOAC\\_Official\\_Methods\\_of\\_Analysis.aspx?hk ey=5142c478-ab50-4856-8939-a7a491756f48](http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC/Publications/Official_Methods_of_Analysis/AOAC_Member/Pubs/OMA/AOAC_Official_Methods_of_Analysis.aspx?hk ey=5142c478-ab50-4856-8939-a7a491756f48)

AVILA PINEDA G; FONSECA MORENO M. Calidad Microbiológica de los Jugos preparados en Hogares de Bienestar Familiar en la Zona Norte de Cundinamarca (Microbiólogo Industrial). Bogotá, D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, 2008. 07 pág. Recuperado: [www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis105.pdf](http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis105.pdf)

BARRON FIGUEROA J; CHAVEZ CASTILLO M; SAUCEDA AMAYA E. Listeria Monocytogenes en Jugos de Frutas Frescas como Vehículos de Transmisión de Listeriosis Humana (Magister en Ciencia y Tecnología). Trujillo, Perú. Universidad Nacional de Trujillo. 2012. 1-2 pág. Recuperado:<http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/267/268>

CONTRERAS CONTRERAS. Evaluación de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Preparación de Alimentos en Hogares Comunitarios Tradicionales del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar de Floridablanca, Colombia (Máster en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos). Bucaramanga, Santander. Colombia. Universidad para la Cooperación Internacional, 2013. 13-15 pág. Recuperado: [uci.ac.cr/Biblioteca/Tesis/PFGMIA137.pdf](http://uci.ac.cr/Biblioteca/Tesis/PFGMIA137.pdf)

CODEX ALIMENTARIUS. Norma General del CODEX para Zumos (Jugos) y Néctares de Frutas (CODEX STAN 247-2005). 01 pág. Recuperado: [ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/TFFJ/ccfvj1/cl00\\_01s.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/TFFJ/ccfvj1/cl00_01s.pdf)

CASTELLON MORALES K; TORRES M. Determinación de la Inocuidad Microbiológica de Refrescos Artesanales a Base de Frutas Comercializados en los Diferentes Mercados del Centro Histórico de San Salvador (Licenciatura en Química y Farmacia). San Salvador, El Salvador, Centro América: Universidad de El Salvador, 2009. 15-16 pág. Recuperado: <http://ri.ues.edu.sv/2558/1/16101508.pdf>

CHAVEZ ALAS P; REINOZA MENDOZA K. Análisis Microbiológico de Alimentos que se Preparan y Consumen en el Centro de Atención a Ancianos "Sara Zaldivar". (Licenciatura en Química y Farmacia). San Salvador, El Salvador, Centroamérica. Universidad de El Salvador, 2011. 96-105 pág. Recuperado: [ri.ues.edu.sv/608/1/10137149.pdf](http://ri.ues.edu.sv/608/1/10137149.pdf)

Dirección General de Salud Ambiental – Unidad de Higiene Alimentaria. Muestreo de Alimentos a Expendedores de Jugos Surtidos en los Exteriores de la “Casona del Mercado Belén. Informe-2012-GRL-DRS-Loreto/30.09.04. Iquitos.

Dirección General de Salud Ambiental. Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano (DS N° 031-2010-SA). Lima – Perú 2011. 29-30 pág.

Recuperado:

[http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/reglamento\\_calidad\\_agua.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/reglamento_calidad_agua.pdf)

FERREL QUISPE, M. Determinación de etanol en bebidas refrescantes por método enzimático (Químico Farmacéutico). Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2011. 18-31 pág.

Recuperado:

[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2321/1/Ferrel\\_qm.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2321/1/Ferrel_qm.pdf)

INDECOPI. Norma Técnica Peruana: NTP 203.111. REFRESCOS. Requisitos. 1ª Edición. 2010.

INDECOPI. Norma Técnica Peruana: NTP 203.110. JUGOS, NECTARES Y BEBIDAS DE FRUTA. Requisitos. 1ª Edición. 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD (INS). Tablas Peruanas de Composición de los Alimentos. Lima, 2009. 24-30 pág.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD (INS). Evaluación de Riesgos de Staphylococcus Aureus Enterotoxigenico en Alimentos Preparados no Industriales en Colombia. Bogotá, 2011. 31, 49 pág.

Recuperado:

<http://www.ins.gov.co/lineasdeaccion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20STAPHYLOCOCCUS.pdf>

Kishimoto M, Hioki Y, Okano T, Konuma H, Takamizawa K, Kashio H, Kasuga F. Ribotyping and a study of transmission of Staphylococcus aureus collected from food preparation facilities. J Food Prot. 2004.

Recuperado:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15222536>

LAZO SAAVEDRA O; VASQUEZ PETTÍ E. Evaluación de la Calidad Microbiológica del “paté” que se Comercializa en el Mercado Belén de la Ciudad de Iquitos (Biólogo). Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 2004. 46 pág.

López, S. Nutrijugos. Cómo preparar jugos para tener una familia sana. Lima: Soluciones Prácticas, 2010. 20 pág.

Recuperado: <http://www.solucionespracticas.org.pe/Descargar/286/2549>

Ministerio de Salud (MINSa). Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto. Diario El Peruano. 27 de Junio del 2003. Normas Legales (ANEXO – RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 282-2003-SA/DM). 246762–246778 pág.

Recuperado:

[ftp://ftp.minsa.gob.pe/intranet/pre\\_publicaciones/norma\\_mercados\\_abasto.pdf](ftp://ftp.minsa.gob.pe/intranet/pre_publicaciones/norma_mercados_abasto.pdf)

Ministerio de Salud (MINSa). Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano (NTS N° 071 – MINSa/ DIGESA – V.01). 27 de agosto del 2008. 2-6; 20 pág.

Recuperado: [http://www.digesa.sld.pe/norma\\_consulta/RM%20615-2003MINSa.pdf](http://www.digesa.sld.pe/norma_consulta/RM%20615-2003MINSa.pdf)

Ministerio de Salud (MINSa), Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería (RM N° 1020-2010/MINSa). Marzo del 2010. 1ra Edición, 2010. 10-12 pág.

Recuperado: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1408.pdf>

Mercado Belén de Iquitos. Acceso (15 de febrero del 2016).

Recuperado:

<http://www.iiap.org.pe/bionegocios/IDetalleMercado.aspx?Mercadold=3>

NORDNESS R. Epidemiología y Bioestadística. España, SA: Elsevier; 2006.

ÑAUPAS H. Metodología de la Investigación Científica y Elaboración de Tesis. 2da edición. Fondo Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Lima: 2011.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Manual de Bioseguridad en el Laboratorio: Ginebra. Tercera Edición. 2005. Recuperado: [http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS\\_CSR\\_LYO\\_2004\\_11SP.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf)

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Inocuidad de los Alimentos. Nota descriptiva N° 399. Noviembre de 2015. Acceso (20 de febrero del 2016). Recuperado: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). *Salmonella* (No tifoidea). Nota descriptiva N° 139. Agosto de 2013. Acceso (20 de febrero del 2016). Recuperado: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>

PASCUAL A; M DEL ROSARIO; CALDERON V; PASCUAL. Microbiología Alimentaria – Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas 2da Edición. Madrid (España). Editorial Díaz de Santos. 2000.

PEREZ OCHOA T. Presencia de Mohos en Jugos de Frutas al Natural que se Expenden en la Ciudad de Iquitos (Biólogo). Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 1985. 68 pág.

PROGRAMA DESARROLLO ECONÓMICO SOSTENIBLE EN CENTROAMÉRICA (DESCA). Jugos de Frutas (Ficha N° 20/UE). 1° Edición. Abril 2010. 02 pág. Recuperado: <https://es.scribd.com/doc/35238176/20-Jugos-de-frutas>.



RUIZ SANCHEZ E. Determinación de 40 cepas de Levaduras Aisladas de Jugos de Jugos de Frutas al Natural (Biólogo). Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 1984. 47-48 pág.

RODRIGUEZ RICO I; URBANO RIVAS M. Determinación de la Calidad Microbiológica de Bebidas Refrescantes Dispensadas en Maquinas de Restaurantes de Comida Rápida del Distrito 1 de la Zona Metropolitana de San Salvador (Licenciatura en Química y Farmacia). San Salvador, El Salvador, Centro América: Universidad de El Salvador, 2012. 17-18 pág.

Recuperado: <http://ri.ues.edu.sv/2762/>  
<http://ri.ues.edu.sv/2762/1/Tesis.pdf>

SCHINDLER A. Compiladora. Iquitos, su Memorial Arquitectónico. Primera edición. Mayo 2015. 47 pág.

SHIRAI K. Microbiología de Frutas y Hortalizas. 2005. 2-22 pág. Recuperado: [https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&cad=rja&uact=8&ved=0CDcQFjAE&url=http%3A%2F%2Fdocencia.izt.uam.mx%2Fsmk%2F233208%2Fmaterial\\_adicional%2FMicrobiologiafrutasyhortares.ppt](https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&cad=rja&uact=8&ved=0CDcQFjAE&url=http%3A%2F%2Fdocencia.izt.uam.mx%2Fsmk%2F233208%2Fmaterial_adicional%2FMicrobiologiafrutasyhortares.ppt)

# **CAPITULO VII**

## **ANEXOS**

## ANEXO I: Permisos de los Municipios de Belén y Central para la recolección de las muestras.



GERENCIA DE SERVICIOS PÚBLICOS, GESTIÓN  
AMBIENTAL Y DESARROLLO EMPRESARIAL

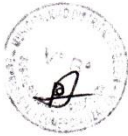
"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

**AUTORIZACIÓN N° 023-2015-MDB-GSPGAYDE**

La Gerencia de Servicios Públicos, Gestión Ambiental y Desarrollo Empresarial de la Municipalidad Distrital de Belén,

**AUTORIZA**

- **A** : Miguel Ángel Flores Flores y Sara Inés Morey Lancha.
- **PARA** : USO DE LA UTILIZACION DE LA VIA PÚBLICA, para realizar un trabajo de Investigación entre las Vendedoras de Jugos de Frutas, ubicadas en la calle 09 de Diciembre cdra 0, y desarrollar el proyecto de tesis titulado "Relación entre la Condición Higiénica Sanitaria y la Calidad Microbiológica en Jugos de Frutas Surtidos de dos Mercados de la Ciudad de Iquitos 2015".
- **UBICACIÓN** : 09 DE DICIEMBRE CUADRA 01
- **VIGENCIA** : 16 DE MAYO AL 16 DE JULIO 2015
- **HORA** : DE 06:00 AM HASTA 07:30 AM



**CLAUSULA 1<sup>ra</sup>:** Es responsabilidad del solicitante la seguridad y el orden en el lugar a desarrollarse la actividad, bajo el fiel cumplimiento de las disposiciones municipales vigentes.

**CLAUSULA 2<sup>da</sup>:** Deberá emitir sonidos moderados a fin de respetar la tranquilidad de la ciudadanía en general.

**CLAUSULA 3<sup>ra</sup>:** Al culminar la actividad deberá dejar limpio la zona que venía ocupando y juntar la basura en bolsas, al mismo tiempo dejarlas en los centros de acopio.

**CLAUSULA 4<sup>ta</sup>:** Los organizadores de la actividad deberán respetar el lugar asignado.

**CLAUSULA 5<sup>ta</sup>:** Por el incumplimiento de alguna de las **CLAUSULAS** anteriores se procederá a anular automáticamente la **AUTORIZACION** sin trámite alguno y será sancionado de acuerdo a lo establecido en el Régimen de Aplicación de Sanciones Administrativas (R.A.S.A.)

Se expide el presente documento, para los fines pertinentes.

Belén, 05 de Mayo del 2015

Atentamente.

Ramírez Hurtado / 9 de Diciembre – Mercado Belén 2do piso.

[www.munibelen.gob.pe](http://www.munibelen.gob.pe)



Municipalidad Provincial  
**MAYNAS**  
*Construyendo nuestro futuro*

COORDINACION MERCADO CENTRAL

"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

### AUTORIZACION

LA QUE SUSCRIBE, ELIZABETH MORI RAMIREZ COORDINADORA DEL MERCADO CENTRAL.- AUTORIZA A LOS SEÑORES MIGUEL FLORES FLORES, CON DNI Nº 72621396 Y SARA INES MOREY LANCHA, CON DNI Nº 40063398, ESTUDIANTES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, PARA REALIZAR SUS PRACTICAS EN LAS INSTALACIONES DEL MERCADO. APARTIR DEL DIA 08/05 AL 31/05/15.

SOLICITANDO A LOS CONDUCTORES Y DEMAS MIEMBROS, A BRINDARLES LAS FACILIDADES QUE EL CASO AMERITE.

ATENTAMENTE,

  
*Elizabeth Mori Ramirez*  
COORDINADORA - MERCADO CENTRAL

ANEXO II: Formato N° 06 (Vigilancia Sanitaria en Mercados de Abasto) establecidos en el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto.

FORMATO 6

VIGILANCIA SANITARIA EN MERCADOS DE ABASTO  
JUGOS Y REFRESCOS

IDENTIFICACIÓN DEL MERCADO Y DEL PUESTO						
1. Nombre del mercado:						
2. Razón social:						
3. N° de puesto:						
4. Alimento que comercializa:						
5. Proveedores:						
IDENTIFICACIÓN DE VENEDORES				IDENTIFICACIÓN DE LA INSPECCIÓN		
Vendedor 1 o titular				Insp. 1	Inspector	Fecha
Vendedor 2				Insp. 2		
Vendedor 3				Insp. 3		
				Insp. 4		
1. ALIMENTO	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 3	Insp. 4	
1.1 Aspecto normal de los insumos	4					
1.2 Agua segura (0,05 ppm) para preparar (*)	4					
1.3 Hielo de agua segura para bebidas (*)	4					
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>					
2. BUENAS PRÁCTICAS DE MANIPULACIÓN (BPM)	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 3	Insp. 4	
2.1 Aplica temperatura de frío en la conservación (5 °C o menos)	4					
2.2 Protege alimentos exhibidos	4					
2.3 No prueba los alimentos con los utensilios de preparación	4					
2.4 Usa agua segura (0,05 ppm)	4					
2.5 Lava y desinfecta equipos, utensilios, superficies y secadores	4					
2.6 Sirve en vasos en buen estado, limpios y desinfectados o en vasos descartables de primer uso.	4					
2.7 Seca utensilios por escurrimiento o con secador limpio	4					
<b>TOTAL</b>	<b>28</b>					
3. VENDEDOR	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 3	Insp. 4	
3.1 Sin episodio actual de enfermedad y sin heridas ni infecciones en piel y mucosas	4					
3.2 Manos limpias y sin joyas, con uñas cortas, limpias y sin esmalte	4					
3.3 Cabello corto o recogido, sin maquillaje facial	2					
3.4 Uniforme completo, limpio, y de color claro	2					
3.5 Aplica capacitación en BPM	4					
<b>TOTAL</b>	<b>16</b>					
4. AMBIENTE Y ENSERES	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 3	Insp. 4	
4.1 Exterior e interior del puesto limpio y ordenado	4					
4.2 Superficie para cortar en buen estado y limpia	4					
4.3 Utensilios en buen estado, limpios y protegidos	4					
4.4 Mostrador de exhibición en buen estado y limpio	4					
4.5 Paños y secadores limpios y desinfectados	4					
4.6 Basura bien dispuesta (tacho c/bolsa interior y tapa)	4					
4.7 Desagüe con sumidero, rejilla y trampa en buena condición	4					
4.8 Ausencia de vectores, roedores u otros animales, o signos de su presencia (excrementos u otros)	4					
4.9 Guarda el material de limpieza y desinfección separados de los alimentos	4					
<b>TOTAL</b>	<b>36</b>					
5. CALIFICACIÓN DEL PUESTO	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 3	Insp. 4	
5.1 PUNTAJE TOTAL DEL PUESTO (1+2+3+4)	92					
5.2 PORCENTAJE DE CUMPLIMIENTO	100					
5.3 COLOR (pinte el recuadro según la referencia)						
6. OBSERVACIONES	7. REFERENCIA					
Inspección 1	Puntaje y porcentaje de cumplimiento	Color	Calificación			
Inspección 2	69 puntos a más (75% a 100%)	Verde	Aceptable			
Inspección 3	48 puntos a 68 puntos (50% a 75%)	Amarillo	Regular			
Inspección 4	0 a 45 puntos (menos del 50%)	Rojo	No aceptable			

(\*) Criterios de evaluación excluyentes, es decir que su desaprobación se traduce en una calificación de "no aceptable" (color rojo)  
(\*\*) El valor del puntaje es binario: si no cumple el requisito se otorga el total; en caso contrario el puntaje es cero.

11984

ANEXO III: Tabla ANOVA de la diferencia significativa de la condición higiénica sanitaria y la calidad microbiológica.



**Tabla N° 11:** Prueba Estadística de ANOVA para el Recuento de Bacterias de los puestos de venta del Mercado Belén y Central.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	40,285 <sup>a</sup>	7	5,755	7,776	,000
Intercept	1471,597	1	1471,597	1988,413	,000
<b>Recuento</b>	<b>40,285</b>	<b>7</b>	<b>5,755</b>	<b>7,776</b>	<b>,000</b>
Error	51,806	70	,740		
Total	2226,294	78			
Corrected Total	92,091	77			

Fuente: Autores (2015)

## ANEXO IV: Prueba de Tukey.

**Tabla N° 12: PRUEBA DE TUKEY HSD – COMPARACIONES MULTIPLES**

GRUPOS		Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
BAM / M. Belén – No Aceptable	BAM / M. Belén _Regulares	.3434	.37663	.984	-.8334	1.5202
	BAM / M. Central – No Aceptable	.4301	.58241	.995	-1.3896	2.2499
	BAM / M. Central – Regulares	.1274	.38658	1.000	-1.0804	1.3352
	Coliformes/ M. Belén – No Aceptable	1.9983	.43014	.000	.6543	3.3422
	Coliformes_ M. Belén _Regulares	1.6971	.37663	.001	.5204	2.8739
	Coliformes / M. Central – No Aceptable	.9497	.58241	.730	-.8700	2.7694
	Coliformes /M. Central – Regulares	1.2486	.38658	.038	.0408	2.4565
<b>BAM / M. Belén – Regulares</b>	A. Mesofilas_B_NA	-.3434	.37663	.984	-1.5202	.8334
	A. Mesofilas_C_NA	.0867	.54409	1.000	-1.6133	1.7867
	A. Mesofilas_C_R	-.2160	.32599	.998	-1.2345	.8025
	Coliformes_B_NA	1.6549	.37663	.001	.4781	2.8316
	Coliformes_B_R	1.3537	.31413	.001	.3722	2.3352
	Coliformes_C_NA	.6063	.54409	.952	-1.0937	2.3063
	Coliformes_C_R	.9052	.32599	.118	-.1133	1.9238
<b>BAM / M. Central – No Aceptable</b>	A. Mesofilas_B_NA	-.4301	.58241	.995	-2.2499	1.3896
	A. Mesofilas_B_R	-.0867	.54409	1.000	-1.7867	1.6133
	A. Mesofilas_C_R	-.3027	.55102	.999	-2.0244	1.4189
	Coliformes_B_NA	1.5681	.58241	.142	-.2516	3.3878
	Coliformes_B_R	1.2670	.54409	.293	-.4330	2.9670
	Coliformes_C_NA	.5196	.70242	.995	-1.6751	2.7143
	Coliformes_C_R	.8185	.55102	.813	-.9031	2.5401
A. Mesofilas_C_R	A. Mesofilas_B_NA	-.1274	.38658	1.000	-1.3352	1.0804
	A. Mesofilas_B_R	.2160	.32599	.998	-.8025	1.2345
	A. Mesofilas_C_NA	.3027	.55102	.999	-1.4189	2.0244
	Coliformes_B_NA	1.8709	.38658	.000	.6630	3.0787
	Coliformes_B_R	1.5697	.32599	.000	.5512	2.5883
	Coliformes_C_NA	.8223	.55102	.809	-.8993	2.5440
	Coliformes_C_R	1.1212	.33743	.029	.0669	2.1755
Coliformes_B_NA	A. Mesofilas_B_NA	-1.9983	.43014	.000	-3.3422	-.6543
	A. Mesofilas_B_R	-1.6549	.37663	.001	-2.8316	-.4781
	A. Mesofilas_C_NA	-1.5681	.58241	.142	-3.3878	.2516
	A. Mesofilas_C_R	-1.8709	.38658	.000	-3.0787	-.6630
	Coliformes_B_R	-.3011	.37663	.993	-1.4779	.8756
	Coliformes_C_NA	-1.0485	.58241	.622	-2.8682	.7712
	Coliformes_C_R	-.7496	.38658	.529	-1.9575	.4582
Coliformes_B_R	A. Mesofilas_B_NA	-1.6971	.37663	.001	-2.8739	-.5204
	A. Mesofilas_B_R	-1.3537	.31413	.001	-2.3352	-.3722
	A. Mesofilas_C_NA	-1.2670	.54409	.293	-2.9670	.4330

	A. Mesofilas_C_R	-1.5697	.32599	.000	-2.5883	-.5512
	Coliformes_B_NA	.3011	.37663	.993	-.8756	1.4779
	Coliformes_C_NA	-.7474	.54409	.866	-2.4474	.9526
	Coliformes_C_R	-.4485	.32599	.865	-1.4670	.5700
Coliformes_C_N A	A. Mesofilas_B_NA	-.9497	.58241	.730	-2.7694	.8700
	A. Mesofilas_B_R	-.6063	.54409	.952	-2.3063	1.0937
	A. Mesofilas_C_NA	-.5196	.70242	.995	-2.7143	1.6751
	A. Mesofilas_C_R	-.8223	.55102	.809	-2.5440	.8993
	Coliformes_B_NA	1.0485	.58241	.622	-.7712	2.8682
	Coliformes_B_R	.7474	.54409	.866	-.9526	2.4474
	Coliformes_C_R	.2989	.55102	.999	-1.4227	2.0205
Coliformes_C_R	A. Mesofilas_B_NA	-1.2486	.38658	.038	-2.4565	-.0408
	A. Mesofilas_B_R	-.9052	.32599	.118	-1.9238	.1133
	A. Mesofilas_C_NA	-.8185	.55102	.813	-2.5401	.9031
	A. Mesofilas_C_R	-1.1212	.33743	.029	-2.1755	-.0669
	Coliformes_B_NA	.7496	.38658	.529	-.4582	1.9575
	Coliformes_B_R	.4485	.32599	.865	-.5700	1.4670
	Coliformes_C_NA	-.2989	.55102	.999	-2.0205	1.4227

Fuente: Autores (2015)

ANEXO V: Recolección de las muestras de jugo de frutas surtidos y prueba de pH y Cloro del agua.

Figura N° 06: Puestos de venta de jugo de frutas surtidos del mercado Central (interior).



Figura N° 07: Muestra de Jugo de frutas surtidos en bolsas de polietileno.



Figura N° 08: Puestos de venta de jugo de frutas surtidos del mercado Central (exterior).



Figura N° 09: Kit de pH y Cloro para el análisis del agua.



ANEXO VI: Análisis de las muestras de jugos  
de frutas surtidos en el laboratorio de  
Microbiología de los Alimentos.



Figura N° 10: Recuento de Bacterias Aerobio mesófilos en placas Petrifilm

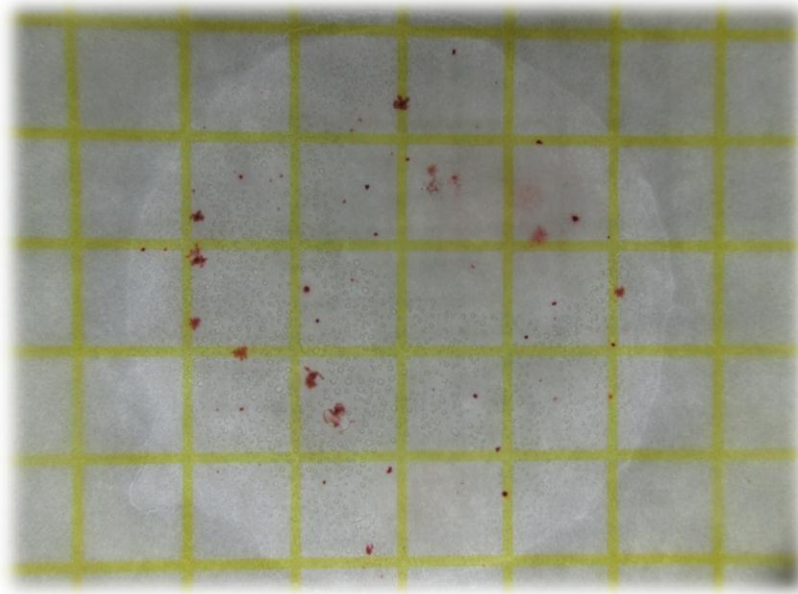


Figura N° 11: Recuento de Coliformes/ *Escherichia coli* en placas Petrifilm

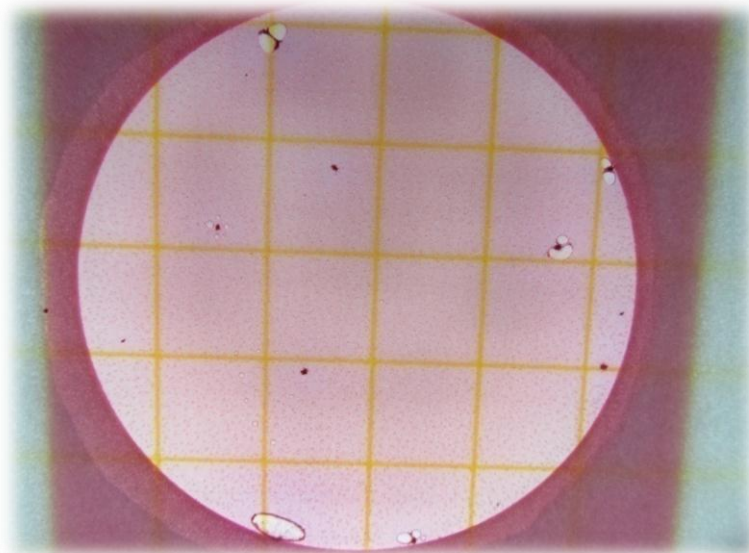


Figura N° 12: Recuento de *Staphylococcus aureus* en placa Petrifilm

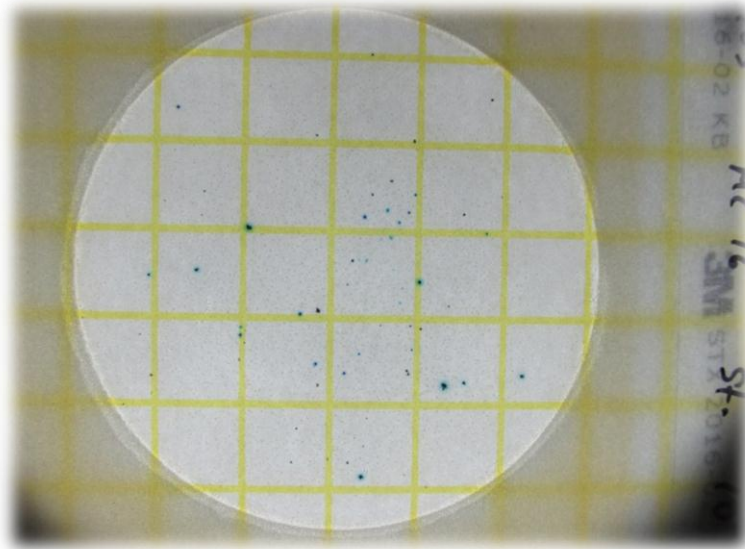
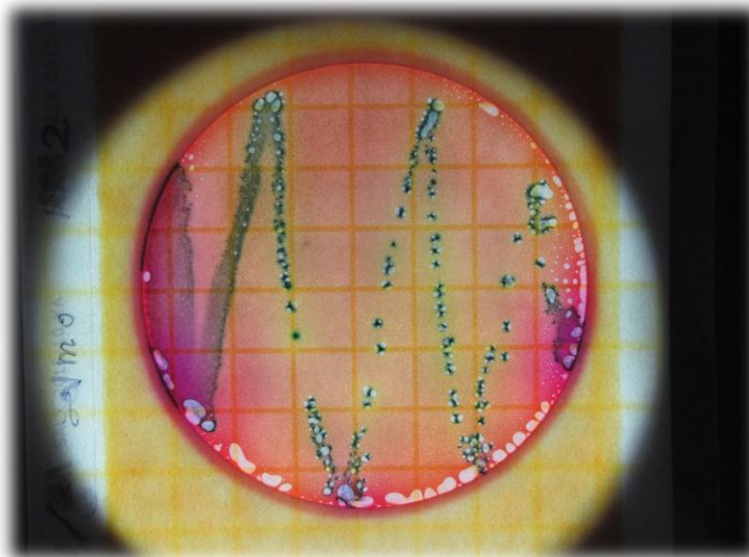


Figura N° 13: Recuento de *Salmonella* en placa Petrifilm

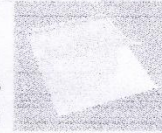


## ANEXO VII: Procedimientos realizados en el análisis de la calidad microbiológica de jugos de frutas.

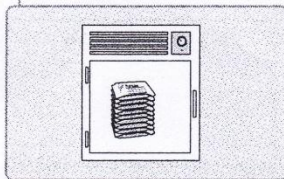
## 3M™ Petrifilm™. Placas para Recuento de Aerobios

Para información detallada acerca de PRECAUCIONES, GARANTÍAS, LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, así como INSTRUCCIONES DE USO ver folleto de producto en las cajas.

### Instrucciones de uso



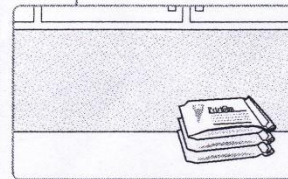
#### Almacenamiento



1 Refrigerar las bolsas originales sin abrir de las placas Petrifilm. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje.

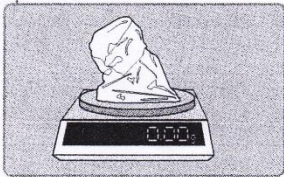


2 Abrir las bolsas con unas tijeras o cúter por el lado que aparece indicado. Retirar de la bolsa únicamente las placas que vayan a usarse. Volver a cerrar la bolsa doblando el lado abierto y asegurando el cierre con una pinza o cinta adhesiva.

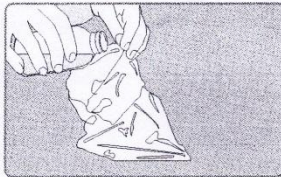


3 Mantener las bolsas que se han abierto y vuelto a cerrar a  $\leq 21^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 70^{\circ}\text{F}$ ). **No refrigerar las bolsas que han sido abiertas.** En este caso, usar las placas Petrifilm no más tarde de 1 mes desde su apertura.

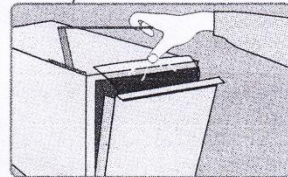
#### Preparación de Muestra



4 Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro recipiente estéril apropiado.

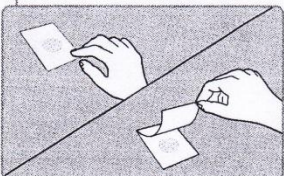


5 Añadir el diluyente apropiado. Usar diluyentes estándar tales como tampón fosfato, agua de peptona, tampón de Butterfield, solución Ringer, peptona-sal, agua destilada y otros. No usar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

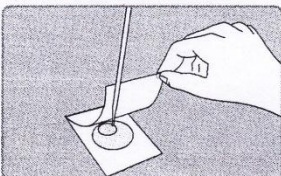


6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales

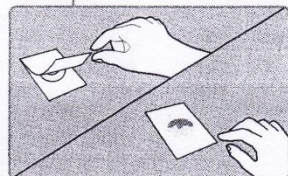
#### Siembra



7 Disponer la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.



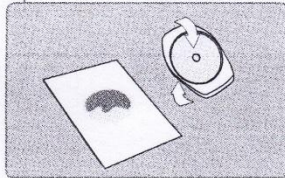
8 Pipetear 1 ml de muestra al centro aproximadamente del film inferior. Mantener la pipeta en posición vertical. No tocar el film inferior mientras se pipetea.



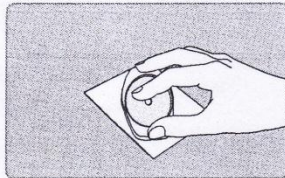
9 Soltar el film superior y dejarlo caer. No deslizar el film hacia abajo.



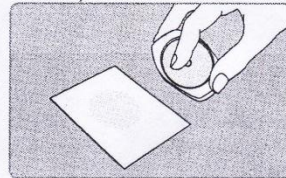
### Siembra



10 Colocar el aplicador en el film superior bien centrado sobre el inóculo. Usar el aplicador con la cara rebajada hacia abajo (cara lisa hacia arriba).

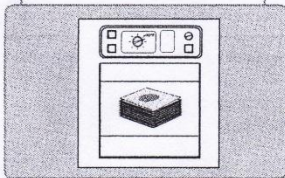


11 Aplicar presión de **manera suave** sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular. **No mover ni girar el aplicador.**



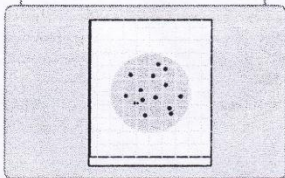
12 Levantar el aplicador. Esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

### Incubación



13 Incubar las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 20 placas. Incubar a 30 +/-1°C durante 72 +/-2 horas para cualquier tipo de alimento. Consultar otras condiciones particulares de incubación.

### Interpretación



14 Leer las placas. Usar un lector de placas 3M™ Petrifilm™ contador de colonias estándar Quebec u otros. No usar luz de fondo para la lectura de esta placa, usar luz directa. Consultar la Guía de Interpretación para leer los resultados.

### Comentarios Adicionales

- Los pasos 9 y 10 son específicos de las placas Petrifilm para recuento de aerobios.
- Nota: Sembrar e inmediatamente poner el aplicador con cada placa antes de sembrar la siguiente placa.



3M España, S.A.  
3M Seguridad Alimentaria  
C/ Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25  
28027 Madrid  
www.3M.com/microbiology

Llamada Gratuita  
**900 210 584**  
3M Centro de Información al Cliente

Por favor recicle. Impreso en España  
©3M 2009. Todos los derechos reservados. Ref. 1354-101-EU

3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M

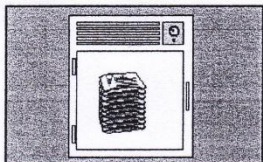


# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

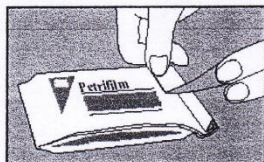
Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

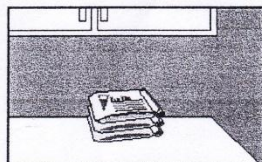
## ALMACENAMIENTO



**1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq$  a 8°C (46°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de expiración. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se temperen a la temperatura del lugar de trabajo antes de abrirlos.



**2** Para cerrar un paquete abierto, doble el envoltorio y colóquelo una cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto alteración de las placas.

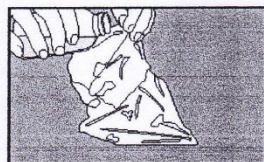


**3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperaturas  $\leq$  a 25°C (77°F) y una humedad relativa  $\leq$  50%. No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos. Utilice las placas Petrifilm<sup>MR</sup> máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelo en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelo en congelación, para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde en las mismas condiciones antes descritas.

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

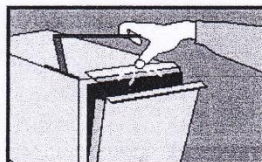


**4** Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual.



**5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (Tampón IDP fosfato, 0.0425 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), Buffer de agua de peptona ( método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

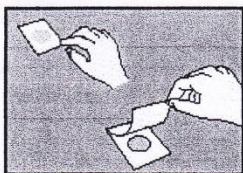


**6** Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.

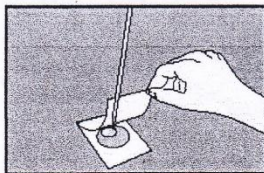
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:

Para productos ácidos: use solución 1N de Na OH  
Para productos básicos: use solución 1N de HCl

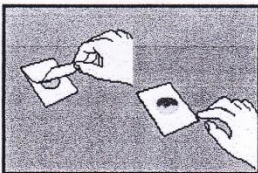
## INOCULACIÓN



**7** Coloque la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



**8** Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrada inferior.

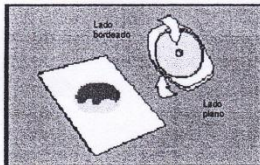


**9** Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.

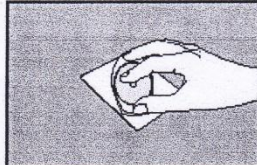
# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

## para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

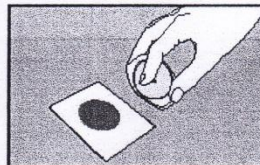
Recomendaciones de uso



**10** Con el lado plano hacia abajo coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.



**11** Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir el inóculo sobre la área circular. No gire, ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.



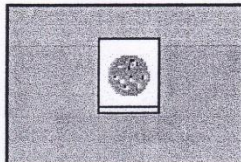
**12** Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

### INCUBACIÓN

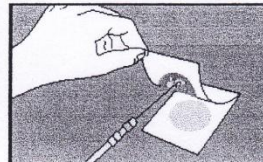


**13** Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### INTERPRETACIÓN



**14** Las placas Petrifilm<sup>MR</sup> pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos comúnmente aprobados son:

- **AOAC método oficial 991.14**  
Para Coliformes:  
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)  
Para *E. coli*:  
Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)
- **AOAC método oficial 998.08**  
Para *E. coli* (carnes aves y mariscos)  
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)
- **NMK método 147.1993**  
Para Coliformes:  
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 37°C (+/- 1°C)  
Para *E. coli*:  
Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

### Comentarios adicionales:

Si tiene preguntas llame al 1-851-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted

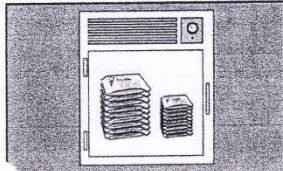
3M Microbiology  
3M center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
[microbiology@mmm.com](mailto:microbiology@mmm.com)  
[www.3m.com/microbiology](http://www.3m.com/microbiology)

Petrifilm es una marca registrada de 3M  
Impreso en:  
Revisión: 2003-04  
Referencia: 70-2008-81053  
© 3M

## 3M™ Petrifilm™ Placas y Discos Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus* Recordatorios para su Uso

Para PRECAUCIONES detalladas, LIBERACION DE RESPONSABILIDAD POR GARANTIAS/COMPENSACIONES LIMITADAS, LIMITACION DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO E INFORMACION PARA SU DESECHO E INSTRUCCIONES PARA SU USO, vea el inserto que está dentro del empaque del Producto.

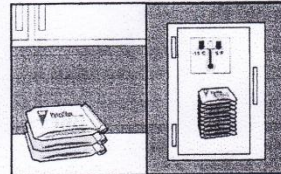
### Almacenamiento



1 Almacene las bolsas de aluminio sin abrir que contienen las placas y discos a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Utilícelas antes de la fecha de expiración indicada en el empaque. Antes de utilizarlas es recomendable que las bolsas sin abrir que contienen las placas se dejen reposar hasta que lleguen a temperatura ambiente con el objeto de evitar la condensación.



2 Para sellar las bolsas de aluminio abiertas, doble el extremo y coloque una cinta para que quede cerrado.

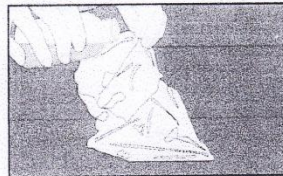


3 **Placas:** Almacene los paquetes abiertos de placas empacados en aluminio a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) y a una humedad relativa de  $< 50\%$ . **No refrigere los paquetes abiertos de placas.** Utilícelos dentro del mes siguiente a su apertura.  
**Discos:** Almacene los paquetes de discos empacados en aluminio a  $\leq 15^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 5^{\circ}\text{F}$ ). **No almacene paquetes abiertos de discos a temperatura ambiente.** Utilícelos dentro de los 6 meses siguientes a su apertura.

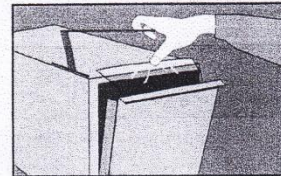
### Preparación de la Muestra



4 Preparar una dilución del alimento a 1:10 o superior. Pese o coloque en una pipeta el alimento para ponerlo en un recipiente apropiado tal como una bolsa, una botella de dilución u otro recipiente estéril.



5 Añada una cantidad apropiada de un diluyente **estéril**, por ejemplo: agua de dilución con tampón de fosfato Butterfield (tampón de fosfato IDF 122C), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal de peptona (ISO 6887-1), agua con tampón de peptona (ISO 6887-1), solución salina (0.85-0.90%), caldo de letheen libre de bisulfato o agua destilada.



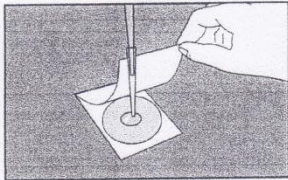
6 Mezcle u homogenice la muestra de acuerdo con el procedimiento acostumbrado.

Para productos ácidos ajuste el pH de la muestra diluida a 6-8 con una solución 1 N NaOH. Para productos alcalinos ajuste el pH con una solución 1 N HCl.

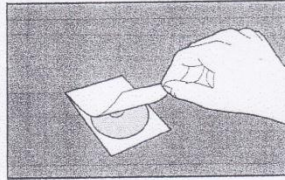
No utilice tampónes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato porque éstos pueden inhibir el crecimiento.



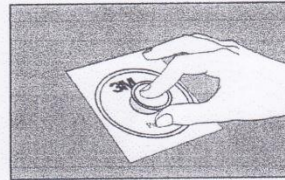
## Inoculación



7 Coloque la placa de Petrifilm en una superficie **nivelada**. Levante la película superior. Con una pipeta **perpendicular** a la placa Petrifilm coloque 1 mL de muestra en el centro de la placa

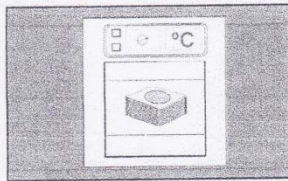


8 **Deslice** cuidadosamente la película superior hacia abajo para evitar atrapar burbujas de aire. **No** deje caer la película superior



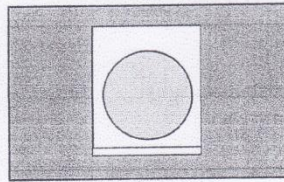
9 Aplique **suavemente** presión en el esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. Levante el esparcidor sin doblarlo o deslizarlo. Espere por lo menos un minuto para que se solidifique el gel. **Nota:** Esparza la muestra en cada placa individual antes de inocular la siguiente. Esto es importante puesto que el gel en la placa Staph Express Petrifilm se forma rápidamente.

## Incubación

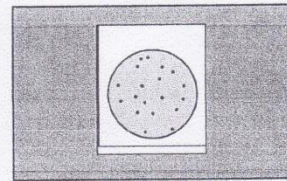


10 Ponga a incubar las placas con el lado transparente hacia arriba en pilas hasta de 20. Incube a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ó a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por  $24 \pm 2$  horas.

## Interpretación



11 Si no hay colonias presentes después de  $24 \pm 2$  horas de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada.



12 Cuento las colonias rojo-violeta como *S. aureus*. Las placas Petrifilm se pueden contar en un contador de colonias corriente o con una lupa iluminada. Consulte la sección de la Guía de Interpretación al leer los resultados.

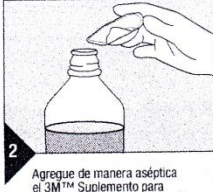
## 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express System

### Suplemento para el Medio



1 Pese aseptícamente la cantidad apropiada del 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella*

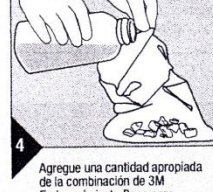
### Procedimiento de Enriquecimiento



2 Agregue de manera aseptica el 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella* a la cantidad apropiada de 3M Enriquecimiento Base para *Salmonella*, preparado y esterilizado en el autoclave.

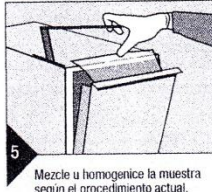


3 Prepare la dilución del producto alimenticio. Pese o agregue con pipeta el producto alimenticio dentro de un contenedor estéril, tal como una bolsa para homogeneizador u otro contenedor.

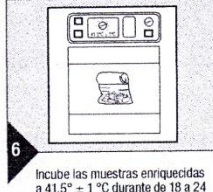


4 Agregue una cantidad apropiada de la combinación de 3M Enriquecimiento Base para *Salmonella* más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella* a la bolsa o el contenedor de la muestra.

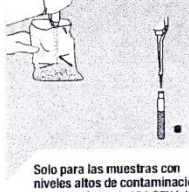
### Procedimiento de Enriquecimiento cont.



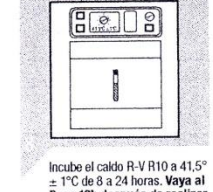
5 Mezcle u homogenice la muestra según el procedimiento actual.



6 Incube las muestras enriquecidas a  $41.5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante de 18 a 24 horas. Para las muestras con niveles bajos de contaminación microbiológica ( $<104$  CFU/g), vaya al Paso 13a después de realizar primero los Pasos 9 a 12.

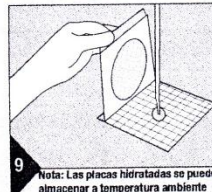


Solo para las muestras con niveles altos de contaminación microbiológica ( $>104$  CFU/g). Después de la incubación del enriquecimiento, transfiera 0,1 mL a 10 mL de R-VR10.



Incube el caldo R-VR10 a  $41.5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  de 8 a 24 horas. Vaya al Paso 13b después de realizar primero los Pasos 9 a 12.

### Procedimiento de Hidratación

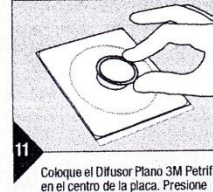


9 Nota: Las placas hidratadas se pueden almacenar a temperatura ambiente ( $20-25^{\circ}\text{C}$ ), protegidas de la luz, hasta 8 horas antes de su uso. Si las placas hidratadas no se van a usar dentro de las 8 horas, consulte las "Instrucciones de uso" para obtener información sobre las condiciones de almacenamiento.

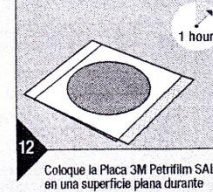
Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2,0 mL de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.



10 Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.



11 Coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Distribuya el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa 3M Petrifilm SALX antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.



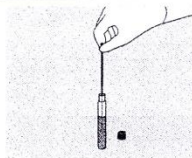
12 Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante al menos 1 hora a temperatura ambiente ( $20-25^{\circ}\text{C}$ ), protegida de la luz, para que se forme el gel.

## Sistema 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express

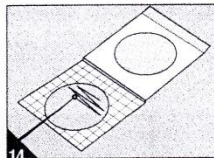
### Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa.



**13a** Para las muestras con niveles bajos de contaminación microbiológica, use un asa estéril de 10 µL y retire el volumen completo del asa. Utilice una asa suave (una que no tenga bordes dentados y que no esté deformada) para evitar que la superficie del gel se resquebraje.



Para las muestras con niveles altos de contaminación microbiológica, use un asa estéril de 10 µL y retire un volumen completo de muestra a fin de sembrar por estrado en la placa.

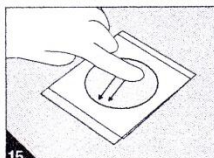


**14** Realice una sola siembra por estrado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.

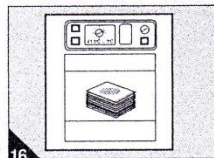
**Ejemplo**  
Asa de 10µL (3mm de diámetro)



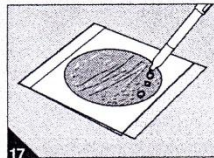
### Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa cont.



**15** Baje la película superior para cerrar la Placa 3M Petrifilm SALX. Asegúrese de que usa guantes (emplear las buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminación cruzada o el contacto directo con la placa), aplicar un movimiento suave de presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación.

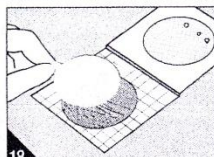


**16** Incube las placas a  $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24 \pm 2$  horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.

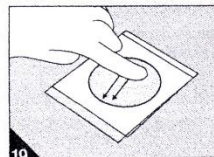


**17** En la película superior de la Placa 3M Petrifilm SALX, marque con círculos las colonias aisladas presuntivas positivas de Salmonella usando un marcador permanente de punta fina. Confirme bioquímicamente todos los resultados presuntivos positivos de Salmonella mediante el uso del Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.

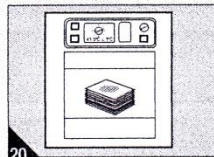
### Confirmación Bioquímica



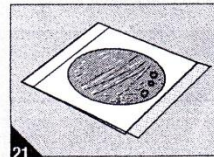
**18** Retire de su bolsa un Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX empaquetado individualmente y permita que llegue a temperatura ambiente. Abra el paquete para exponer la lengüeta del disco, jálela y retire el disco. Levante la película superior (con las colonias presuntivas de Salmonella ya marcadas) de la Placa 3M Petrifilm SALX e inserte el disco sobre el gel en forma tal que se evite atrapar burbujas de aire. Cierre la placa.



**19** Asegúrese de que usa guantes y deslice suavemente sus dedos con un movimiento de barrido a una presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación, y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.



**20** Incube el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express (placa y disco) a  $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  de 4 a 5 horas. Ejemplo



**21** Retire el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express de la incubadora y proceda a leer los resultados. **Mire sólo las colonias marcadas con un círculo.**

## ANEXO VIII: Resultados de los análisis de la calidad microbiológica.

**Tabla N° 13: RESULTADOS DE MICROORGANISMOS EN JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS EN EL MERCADO CENTRAL**

<b>N° PUESTO DE VENTA</b>	<b>AEROBIO MESOFILOS (ufc/ml)</b>	<b>COLIFORMES (ufc/ml)</b>	<b>ESCHERICHIA COLI (ufc/ml)</b>	<b>STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ufc/ml)</b>	<b>SALMONELLA (ufc/ml)</b>
1	1.5x10 <sup>6</sup>	4.8x10 <sup>4</sup>	0	0	0
2	1.9x10 <sup>5</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
3	4.4x10 <sup>5</sup>	5.8x10 <sup>3</sup>	0	0	0
4	1.3x10 <sup>6</sup>	3.9x10 <sup>4</sup>	0	0	0
5	2.5x10 <sup>6</sup>	2.1x10 <sup>5</sup>	0	0	0
6	4.0x10 <sup>6</sup>	2.5x10 <sup>5</sup>	0	0	0
7	2.9x10 <sup>6</sup>	3.8x10 <sup>5</sup>	0	0	0
8	6.8x10 <sup>5</sup>	5.5x10 <sup>4</sup>	0	0	0
9	7.4x10 <sup>5</sup>	6.4x10 <sup>4</sup>	1.8x10 <sup>4</sup>	0	0
10	5.0x10 <sup>5</sup>	4.1x10 <sup>4</sup>	0	0	0
11	1.0x10 <sup>6</sup>	5.7x10 <sup>5</sup>	0	0	0
12	7.5x10 <sup>5</sup>	3.7x10 <sup>5</sup>	0	0	0
13	5.5x10 <sup>5</sup>	1.7x10 <sup>5</sup>	0	0	0
14	7.8x10 <sup>5</sup>	1.2x10 <sup>4</sup>	0	0	0
15	2.2x10 <sup>5</sup>	1.3x10 <sup>5</sup>	0	0	0
16	7.9x10 <sup>5</sup>	9.3x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>NTS N° 071 - Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano</b>	m=10 <sup>5</sup>	m=10 <sup>2</sup>	m=10	m=10	Ausencia/25g

Fuente: Autores (2015)

**Tabla N° 14:** RESULTADOS DE MICROORGANISMOS EN JUGOS DE FRUTAS SURTIDOS EN EL MERCADO BELEN

<b>N° PUESTO DE VENTA</b>	<b>AEROBIO MESOFILOS (ufc/ml)</b>	<b>COLIFORMES (ufc/ml)</b>	<b>ESCHERICHIA COLI (ufc/ml)</b>	<b>STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ufc/ml)</b>	<b>SALMONELLA (ufc/ml)</b>
<b>1</b>	7.3x10 <sup>5</sup>	1.0x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>2</b>	1.5x10 <sup>6</sup>	4.9x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>3</b>	2.7x10 <sup>5</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>4</b>	2.3x10 <sup>6</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	0	1.0x10 <sup>3</sup>	0
<b>5</b>	2.0x10 <sup>6</sup>	1.1x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>6</b>	8.4x10 <sup>5</sup>	1.0x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>7</b>	5.6x10 <sup>6</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>8</b>	1.7x10 <sup>6</sup>	6.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>9</b>	6.8x10 <sup>5</sup>	0	0	0	0
<b>10</b>	1.2x10 <sup>6</sup>	0	0	0	0
<b>11</b>	3.8x10 <sup>5</sup>	4.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>12</b>	4.2x10 <sup>5</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>13</b>	2.1x10 <sup>5</sup>	1.9x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>14</b>	6.9x10 <sup>5</sup>	1.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>15</b>	7.2x10 <sup>5</sup>	1.5x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>16</b>	1.5x10 <sup>6</sup>	1.2x10 <sup>5</sup>	0	0	0
<b>17</b>	6.8x10 <sup>5</sup>	5.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>18</b>	3.4x10 <sup>5</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>19</b>	3.1x10 <sup>5</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>20</b>	1.1x10 <sup>6</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0

21	7.3x10 <sup>5</sup>	1.1x10 <sup>5</sup>	0	0	0
22	4.4x10 <sup>5</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
23	4.4x10 <sup>5</sup>	4.0x10 <sup>4</sup>	0	0	0
<b>NTS N° 071 - Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano</b>	m=10 <sup>5</sup>	m=10 <sup>2</sup>	m=10	m=10	Ausencia/25g

Fuente: Autores (2015)