

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

Determinación de microorganismos indicadores de higiene en manos de manipuladores de alimentos en sección comidas del mercado Américas de Abancay

Presentado por:

Brenda Alexandra Ramos Solis

Para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial

Abancay, Perú

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



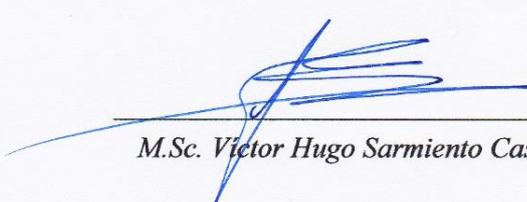
TESIS

**“DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE EN MANOS  
DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS EN SECCIÓN COMIDAS DEL MERCADO  
AMÉRICAS DE ABANCAY”**

Presentado por **Brenda Alexandra Ramos Solis**, para optar el Título de:  
**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Sustentado y aprobado el 30 de diciembre del 2022, ante el jurado evaluador:

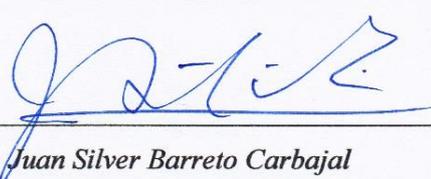
**Presidente:**

  
M.Sc. *Victor Hugo Sarmiento Casavilca*

**Primer Miembro:**

  
Mag. *Gladys Marilú Castro Pérez*

**Segundo Miembro:**

  
Dr. *Juan Silver Barreto Carbajal*

**Asesor:**

  
Ing. *Jorge Beltrán Mendoza Cáceres*



## **Agradecimientos**

*A mi asesor, por su apoyo constante durante todo el proceso de ejecución y finalización de la presente investigación.*

*A los miembros del jurado evaluador, por impartirme sus conocimientos y brindarme las facilidades para la culminación de mi proyecto.*

*A mi madre, por su amor incondicional y sus enseñanzas.*

“Determinación de Microorganismos Indicadores de Higiene en Manos de Manipuladores de Alimentos en Sección Comidas del Mercado Américas de Abancay”

Línea de Investigación: Caracterización, desarrollo de procesos e innovación en la agroindustria

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	3
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>CAPÍTULO I</b> .....	5
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	5
1.1 Descripción del problema .....	5
1.2 Enunciado del Problema .....	6
1.2.1 Problema general.....	6
1.2.2 Problemas específicos .....	6
1.3 Justificación de la Investigación .....	7
<b>CAPÍTULO II</b> .....	8
<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	8
2.1 Objetivos de la investigación .....	8
2.2.1 Objetivo general .....	8
2.2.2 Objetivos específicos.....	8
2.2 Hipótesis de la investigación .....	8
2.2.1 Hipótesis general .....	8
2.2.2 Hipótesis específicas .....	8
2.3 Operacionalización de variables .....	9
<b>CAPÍTULO III</b> .....	10
<b>MARCO TEÓRICO REFERENCIAL</b> .....	10
3.1 Antecedentes .....	10
3.2 Marco teórico .....	12
3.2.1 Mercados de Abasto .....	12
3.2.2 Condiciones sanitarias en la preparación de comidas .....	12
3.2.2.1 Adquisición.....	12
3.2.2.2 Limpieza .....	13
3.2.2.3 Preparación .....	13
3.2.3 Manipulador de Alimentos.....	13
3.2.3.1 Identificación de manipuladores.....	14
3.2.3.2 Higiene de los manipuladores de alimentos .....	14
3.2.3.3 Lavado de manos .....	15
3.2.3.4 Vestimenta de los manipuladores .....	15
3.2.3.5 Capacitación a los manipuladores de alimentos .....	15
3.2.4 Contaminación por manipulación directa .....	16



3.2.5	Enfermedades Transmitidas por los Alimentos .....	17
3.2.5.1	Infección alimentaria .....	17
3.2.5.2	Intoxicación Alimentaria .....	17
3.2.6	Microorganismos Indicadores en Manipulación .....	19
3.2.6.1	Coliformes Totales .....	19
3.2.6.2	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
3.2.6.3	<i>Salmonella sp.</i> .....	22
3.2.7	Muestreo de Superficies Vivas.....	26
3.2.7.1	Método del Enjuague.....	26
3.3	Marco conceptual.....	27
<b>CAPÍTULO IV.....</b>		<b>29</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>		<b>29</b>
4.1	Tipo y nivel de investigación .....	29
4.2	Diseño de la investigación .....	29
4.3	Población y muestra.....	30
4.4	Procedimientos.....	31
4.4.1	Procedimiento de toma de muestra .....	31
4.4.2	Procedimiento para recuento de Coliformes Totales .....	31
4.4.3	Procedimiento para numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
4.4.4	Procedimiento para análisis de <i>Salmonella sp.</i> .....	33
4.5	Técnica e instrumentos .....	35
4.6	Análisis estadístico .....	37
<b>CAPÍTULO V .....</b>		<b>38</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>		<b>38</b>
5.1	Análisis de resultados .....	38
5.2	Discusión .....	46
<b>CAPÍTULO VI.....</b>		<b>49</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>		<b>49</b>
6.1	Conclusiones .....	49
6.2	Recomendaciones .....	50
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>		<b>51</b>
<b>ANEXOS .....</b>		<b>56</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> — Pruebas Bioquímicas para confirmación de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
<b>Tabla 2</b> — Propiedades bioquímicas diferenciales de las subespecies de <i>Salmonella</i> sp. ....	25
<b>Tabla 3</b> — Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos .....	26
<b>Tabla 4</b> — Porcentaje de manipuladores con resultados inaceptables, en puestos de la sección comidas del mercado Américas .....	39
<b>Tabla 5</b> — Recuento de microorganismos indicadores de higiene y patógenos en las manos de los manipuladores de alimentos en el Mercado Américas de Abancay .....	40
<b>Tabla 6</b> — Resultados microbiológicos en manos de manipuladores que expenden en la sección comidas del Mercado Américas .....	45
<b>Tabla 7</b> — Formato de Vigilancia Sanitaria de Mercados de Abasto .....	57
<b>Tabla 8</b> — Ficha para Evaluación del Manipulador.....	58
<b>Tabla 9</b> — Cantidad de muestra necesaria, condiciones de conservación y tiempo de transporte para Ensayos Microbiológicos.....	59
<b>Tabla 10</b> — Selección del método de muestreo .....	68
<b>Tabla 11</b> — Selección de ensayos .....	72
<b>Tabla 12</b> — Interpretación de resultados para método del hisopo .....	74
<b>Tabla 13</b> — Interpretación de resultados para método de la esponja.....	75
<b>Tabla 14</b> — Interpretación de resultados para método de enjuague.....	76



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> — Porcentaje de cumplimiento según FEM por manipulador que expende en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay .....	38
<b>Figura 2</b> — Numeración de Coliformes Totales en manos de manipuladores de alimentos en la sección comidas del Mercado Américas de Abancay .....	42
<b>Figura 3</b> — Numeración de Staphylococcus aureus en manos de manipuladores de alimentos en la sección comidas del Mercado Américas de Abancay .....	44
<b>Figura 4</b> — Diagrama de secuencia para análisis de Coliformes Totales .....	60
<b>Figura 5</b> — Diagrama para análisis de Staphylococcus aureus Coagulasa Positivo.....	61
<b>Figura 6</b> — Diagrama de secuencia de análisis para detección de Salmonella sp. ....	62
<b>Figura 7</b> — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay .....	63
<b>Figura 8</b> — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay .....	64
<b>Figura 9</b> — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay .....	64
<b>Figura 10</b> — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay .....	64

## INTRODUCCIÓN

Los manipuladores de alimentos son responsables a menudo de la contaminación microbiana de los alimentos, estos son colonizados por agentes patógenos para luego ser traspasados a las materias primas y superficies que manipulan. La falta de conocimientos técnicos sobre las buenas prácticas de higiene, por parte de quienes preparan los alimentos, así como los escasos recursos de información práctica adicional, afecta negativamente en la manipulación y preparación de estos, donde se observan que principalmente los grupos sociales de bajos recursos son los más afectados; entre ellos la población vulnerable como niños, ancianos y personas inmunodeprimidas (KOPPER *et al.*, 2009).

La Organización Mundial de la Salud considera que cada 1 de cada 10 habitantes en el mundo padecen debido a la ingesta de alimentos y agua contaminados, los más afectados son los niños menores de 5 años. Así mismo, se estima que cada año las enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria se cobran la vida de 2,2 millones de personas, en su mayoría niños. Más del 70 % de los casos de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) se originan debido a una manipulación inadecuada, por ende, se recomienda utilizar las Buenas Prácticas de Manufactura como medida de prevención (OMS, 2015).

Las superficies de contacto son aquellas superficies que contactan directamente con los alimentos y aquellas desde las cuales existe un vertido sobre el alimento. Entre estas superficies se incluyen: utensilios, trapos, superficies de los equipos y manos de manipuladores. Por lo tanto, la higiene de las superficies de contacto afecta a la calidad y/o seguridad del producto alimenticio. Sumado a ello, las instituciones de salud o entidades fiscalizadoras no aplican en forma constante y oportuna una vigilancia sanitaria de los mismos (ARZU *et al.*, 2002).

La presencia excesiva de bacterias en los alimentos es indicativa de que algo no se realizó bien al momento de prepararlos, o sea, que se manipularon deficientemente, pero la higiene durante el manejo no depende solamente de la materia prima o del equipo utilizado; si no de quienes sirven estos alimentos, pues actúan directamente sobre ellos y salud de los consumidores. Según informes epidemiológicos, los brotes de ETA reflejaron que el mayor porcentaje se relacionó a la inadecuada manipulación de alimentos durante su comercialización o preparación doméstica, lo que indica la deficiente conservación de los alimentos y hábitos de consumo. Asimismo, los cambios en los hábitos alimentarios de la población, como el expendio y consumo de alimentos fuera del domicilio, así como también el consumo de alimentos procesados entre otros, son factores que contribuyen al incremento de las ETA (OLEA *et al.*, 2012).



Al respecto, en el Perú, el Ministerio de Salud, a través del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades, comunicó en los últimos 5 años a través del sistema de vigilancia epidemiológica, un promedio de 45 brotes de ETA, el 65 % de los cuales se concentran en los departamentos de Lima (20,3 %), Junín (10,1 %), Cajamarca (9,6 %), Cusco (8,6 %), Huánuco (6 %), Loreto (5,6 %) y Piura (4,7 %). El 2018, el 37,9 % (11/29) del total de brotes de ETA investigados, fueron causados por *Salmonella sp.* y el 24 % (7/29) por sustancia químicas. Asimismo, en tres brotes se encontraron infección entre *Salmonella sp.* con *Escherichia coli*, y 02 co-infección entre *Salmonella sp.* con *Staphylococcus*. Otros 06 brotes fueron causados por *Staphylococcus* (02), *Clostridium perfringens* (02), hepatitis A (01) y mohos y mesófilos (01) (VARGAS, 2019).

Del total de brotes de ETA notificados, en más del 90 % de ellos, no se llegó a determinar la naturaleza del brote, agente etiológico ni el vehículo de transmisión; solo se logró conocer que el 4 % estuvo relacionado a sustancias químicas y cerca de un 2 % fueron eventos de origen viral (hepatitis A). En el caso de las sustancias químicas, en su mayoría estuvieron involucrados los plaguicidas, ya sea por mezclar accidentalmente con los alimentos o de forma indirecta usando recipientes para preparar los alimentos, que contenían restos de plaguicida (CARUAJULCA, 2019).

La salud y la vida de las personas dependen en gran medida de la calidad nutricional de los alimentos que se consumen diariamente, la que a su vez obedece a la calidad sanitaria a la que son sometidos en toda la cadena productiva, desde el campo hasta la mesa del consumidor. Si bien la falta de higiene y de sanidad en el procesamiento y preparación de los alimentos es un problema que puede ocurrir en cualquier parte del mundo, la incidencia de enfermedades causadas por los alimentos mal preparados es un problema crítico (KOPPER *et al.*, 2009).

Aunque no se dispone de datos exactos sobre las incidencias de ETAS en la región Apurímac, los manipuladores siguen siendo un riesgo de salud pública, problemas como la falta de higiene del personal manipulador, el lavado inadecuado de manos dan origen a infecciones alimentarias. Por tales motivos en este estudio se plantea conocer la situación sanitaria de los manipuladores evaluando las características higiénicas y microbiológicas en las manos de los manipuladores en la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay, así mismo, proporcionar información que contribuya a los planes que realiza la autoridad municipal como capacitaciones a comerciantes e inspecciones sanitarias, para evitar transmisión de enfermedades a través del consumo de alimentos.



## RESUMEN

El correcto lavado de manos disminuye la presencia de bacterias acumuladas en la piel y por ende es la forma más sencilla de prevenir el contagio de enfermedades infecciosas. Los buenos hábitos higiénicos de los manipuladores que trabajan con alimentos afectan significativamente en la inocuidad de los productos alimenticios. La higiene personal cotidiana, como lavarse las manos con jabón desinfectante y secárselas correctamente, debe ser una práctica obligatoria que debe cumplir el manipulador de alimentos manteniendo una actitud de limpieza en las actividades que se lleven a cabo en los espacios de trabajo.

La presente investigación tuvo como objetivo conocer las características higiénicas y la calidad microbiológica en las manos (superficies vivas) de los manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas, de la ciudad Abancay, Apurímac, Perú. Se realizó la evaluación del manipulador en dos etapas i) se aplicó un cuestionario para conocer las características higiénicas del manipulador, y ii) se realizó el muestreo de superficies vivas (manos) del manipulador encargado de la preparación y servido de alimentos para su posterior análisis microbiológico. Se identificó la presencia de Coliformes Totales por encima del Límite Permisible en el 100 % de los manipuladores muestreados, y el 25 % de manipuladores muestreados superaron el Limite Permisible para *Staphylococcus aureus*.

El estudio revela que el nivel de higiene de los manipuladores es deficiente, en base a los resultados microbiológicos obtenidos. Por tanto, los alimentos producidos en dicho establecimiento representan un riesgo de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) para la población, el cual debe considerarse.

**Palabras clave:** *Enfermedades transmitidas por alimentos, higiene, manipulador, superficies.*



## ABSTRACT

Proper hand washing reduces the presence of bacteria accumulated on the skin and is therefore the easiest way to prevent the spread of infectious diseases. The good hygienic habits of food handlers significantly affect the safety of food products. Daily personal hygiene, such as washing hands with disinfectant soap and drying them correctly, must be a mandatory practice that food handlers must comply with while maintaining a clean attitude in activities carried out in work spaces.

The present research aimed to know the hygienic characteristics and microbiological quality in the hands (live surfaces) of the food handlers of the food section of the Americas market, in the city of Abancay, Apurímac, Perú. The evaluation of the handler was carried out in two stages: i) a questionnaire was applied to find out the hygienic characteristics of the handler, and ii) the sampling of live surfaces (hands) of the handler in charge of preparing and serving food was carried out for subsequent analysis. Microbiological. The presence of Total Coliforms above the Permissible Limit was identified in 100 % of the sampled handlers, and 25 % of the sampled handlers exceeded the Permissible Limit for *Staphylococcus aureus*.

The study reveals that the hygiene level of the handlers is deficient, based on the microbiological results obtained. Therefore, the food produced in said establishment represents a risk of Foodborne Diseases (ETA) for the population, which must be considered.

**Keywords:** *Foodborne diseases, Handlers, Hygiene, Surfaces.*

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción del problema

Una de las dificultades más frecuentes causada por los manipuladores es el insuficiente lavado de manos y el desconocimiento de temas como el tipo de jabón, calidad del agua, desinfectante y la técnica de secado (papel toalla, secador, etc.). La importancia de una buena higiene de las manos, radica en que estas son vehículos portadores de patógenos que originan enfermedades tan graves como la hepatitis de tipo A, la meningitis, y las infecciones diarreicas que son la segunda causa más común de muerte en niños menores de cinco años (SERJAN *et al.*, 2005). Si las ETA son transmitidas a través de los alimentos, la responsabilidad directa recae sobre las personas que los manipulan, procesan y distribuyen y sobre las condiciones higiénico-sanitarias en las cuales trabajan. (PEÑA *et al.*, 2016).

Los reportes del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades muestran los casos de Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA) en Apurímac para el año 2016, en la semana 35 y 37 mostraron episodios altos, alcanzando la Zona de Epidemia, donde la edad más afectada con 10855 episodios fueron niños y niñas mayores de 5 años, asimismo se observa la predominancia de diarrea acuosa con un 97.5 % sobre diarrea disintérica. Para el 2021 a la semana 41 del 2022, el comportamiento de las EDA en la región muestra un incremento de 4871 episodios a 10536 casos acumulados entre diarreas acuosas y diarreas disintéricas. (MINSA, 2017).

El Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades reportó al departamento de Apurímac con un 9.1 % de brotes de ETA, con un 6.9 % de enfermos y un 14,5 % de hospitalizados por ETA, si bien es cierto el porcentaje de personas afectadas es de bajo nivel, se debe resaltar que es una de las regiones con el mayor número de brotes por ETA. De igual forma, se menciona que a partir del año 2015 se reporta un incremento de brotes de ETA en el país, llegando a superar en el 2018 en un 30 % el número de brotes con respecto al año mencionado, esta situación debería reforzar los sistemas de vigilancia a nivel nacional (BORGONÓ, 2019).

La Dirección General de Epidemiología reportó la ocurrencia de un brote de enfermedad transmitida por alimentos (ETA) en la localidad de Sullana, en el distrito y provincia del mismo nombre en el departamento de Piura en el 2012, en un restaurante donde se



consumió pollo a la brasa con papa, mayonesa, etc. Se registraron 333 personas, de las cuales 293 cuentan con ficha clínica epidemiológica. Los síntomas más frecuentes fueron diarrea (96,5 %), cefalea (82,2 %), náuseas (64 %), fiebre (72 %), etc. De los casos investigados consumieron pollo (99,3 %), papa (93,2 %), ensalada con vinagreta (74,4 %), mayonesa (74,4 %). De estas muestras, 9 resultaron positivas a *Staphylococcus aureus* y 3 negativas. Se evidenciaron prácticas inadecuadas en la manipulación, preparación y falta de higiene en manipuladores y superficies inertes (CASTILLO, 2012).

La autoridad municipal dentro de sus planes desarrollados, con apoyo del SENASA, realizaron inspecciones a puestos de venta de alimentos agropecuarios primarios en los mercados de abastos, resaltando que, dentro de esta meta, no se incluyeron a los puestos de las secciones comidas, caldo, jugos, refrescos, ceviche. Para asegurar la sanidad de los alimentos es necesario conocer y estimar la situación actual de los manipuladores y sus conocimientos, en base a la información obtenida, se establecerán planes para fortalecer los conocimientos y prácticas de los manipuladores, ante esta situación se planteó el presente estudio.

## 1.2 Enunciado del Problema

### 1.2.1 Problema general

¿Cuál son las características higiénicas y la numeración bacteriana en manos de manipuladores de alimentos que expenden en sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay?

### 1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuáles son las características higiénicas de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay?
- ¿Cuál es el recuento de Coliformes Totales y *Staphylococcus aureus* en las manos del manipulador de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay?
- ¿Existe presencia de *Salmonella sp.* en las manos del manipulador de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay?

### 1.3 Justificación de la Investigación

Las faltas de condiciones de salubridad, deficiencias en el suministro de agua, bajos conocimientos sobre manipulación por parte de los expendedores, son algunas de las carencias que presentan los mercados en nuestro país. Esta falta de salubridad a la hora de expendir los alimentos se considera como uno de los factores que más contribuyen a las ETA, sumado a ello el desconocimiento de aspectos de higiene por parte de los manipuladores, quienes no son conscientes del daño que pueden causar, afectando directamente a la salud de las personas.

Se debe resaltar que una de las medidas de control significativas que se debe tomar al momento de manipular alimentos es la higiene de manos. Por lo tanto, lavarse las manos es una forma indispensable de proteger los alimentos de una potencial contaminación microbiológica, ya que los manipuladores de alimentos se identifican como una fuente importante de contaminación debido a los malos hábitos higiénicos.

Por otro lado, en nuestra región no existe antecedentes de estudios sobre manipuladores de alimentos, y se desconoce la incidencia de enfermedades asociadas al consumo de alimentos contaminados con patógenos. Esta situación representa un riesgo para la salud, por las deficientes condiciones en la que se encuentran los mercados y al no haberse implementado programas de vigilancia.

Por estas razones, en la presente investigación, se proveerá de información actual sobre la condición microbiológica de las manos de manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay; y con los datos obtenidos proporcionar aportes para la mejora de los planes y programas emitidos por la Autoridad Municipal de dicha ciudad. El cual contribuirá a un mejor nivel de salud, reducir riesgos de intoxicaciones, evitar pérdidas económicas y fortalecer a los manipuladores para el ejercicio de buenas prácticas higiénicas.

Resaltando que los directos beneficiarios del estudio vienen a ser los comensales dentro de la cual se encuentra la población vulnerable (ancianos, niños, madres gestantes), los propietarios de los puestos de expendio de alimentos en los mercados; en quienes recaerá toda la responsabilidad si ocurre una intoxicación, por último, los proveedores locales y la población en general.



## CAPÍTULO II

### OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### 2.1 Objetivos de la investigación

##### 2.2.1 Objetivo general

Identificar las características higiénicas y calidad bacteriana en manos de manipuladores de alimentos que expenden en la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay.

##### 2.2.2 Objetivos específicos

- Identificar los conocimientos sobre higiene de los manipuladores que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay.
- Determinar el recuento de Coliformes Totales y *Staphylococcus aureus* en las manos de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay.
- Determinar la presencia de *Salmonella sp.* en las manos de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay.

#### 2.2 Hipótesis de la investigación

##### 2.2.1 Hipótesis general

Los manipuladores de alimentos que expenden en la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay, cumplen con las buenas prácticas de manipulación e higiene.

##### 2.2.2 Hipótesis específicas

- Los manipuladores de alimentos cumplen con las condiciones de higiene necesarias para expender alimentos en los puestos de la sección comidas del Mercado Américas de Abancay.



- El recuento bacteriano para Coliformes Totales y *Staphylococcus aureus* en manos de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del Mercado Américas, no exceden el Limite Permisible.
- No existe presencia de *Salmonella sp.* en las manos de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay.

## 2.3 Operacionalización de variables

### 2.3.1. Variables Descriptivas

#### a) Condiciones de higiene del manipulador de alimentos

Según el Reglamento Sanitario D.S. 282-2005/MINSA el manipulador de alimentos debe cumplir lo siguiente:

- Sin episodio actual de enfermedad, sin heridas ni infecciones en piel y mucosas
- Manos limpias y sin joyas,
- Uñas cortas, limpias y sin esmalte
- Cabello corto o recogido
- Sin maquillaje facial
- Uniforme completo, limpio, y de color claro
- Carnet Sanitario o Certificado Medico
- Tablas de picar en buen estado y limpia
- Paños, secadores limpios y desinfectados

#### b) Microorganismos indicadores en superficies vivas

Según la Guía Técnica R.M. 461-2007/MINSA los microorganismos indicadores de higiene en superficies vivas en manipuladores de alimentos son:

- Coliformes Totales
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella sp.*

## CAPÍTULO III

### MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 3.1 Antecedentes

##### Antecedentes Nacionales

- a) GUTIÉRREZ *et al.*, (2022). En su estudio denominado “Conocimiento sobre higiene en la manipulación de alimentos en Manipuladores de Mercados de abasto del distrito de El Tambo, Huancayo, Junín”, realizaron una revisión para evaluar el nivel de conocimiento sobre las buenas prácticas de higiene de los manipuladores de alimentos en mercados de abastos como un factor importante en la transmisión de enfermedades infecciosas. De los estudios que se realizaron en nuestro país y otros países existe un suficiente o marcado conocimiento de los manipuladores con respecto a las buenas prácticas de manipulación de alimentos (BPM) en los mercados de abasto, sin embargo, muchos no aplican o aplican en forma deficiente que conlleva a la contaminación de alimentos y al riesgo de contraer enfermedades infecciosas, otros hechos manifiestan, un uso incorrecto del uniforme y falta de aseo personal, muchos no cuentan con certificado de salud y/o carné sanitario.
- b) PEÑA y SALAS (2016). En su investigación denominada “Relación entre el nivel de conocimiento de manipuladores de alimentos y las condiciones higiénico-sanitarias en comedores populares de Huaycán (Ate, Lima)”, evaluaron 35 Comedores Populares y a un total de 242 socias. Encontraron que el nivel de conocimiento más bajo corresponde al tema de las enfermedades de transmisión alimentaria y el más alto corresponde a la preparación y distribución de alimentos. Respecto a las condiciones higiénico-sanitarias, el nivel de cumplimiento más bajo correspondió a la sección relacionada con ambiente y enseres y el más alto a la sección relacionada con el alimento. Encontró una relación entre el nivel de conocimiento y las condiciones higiénico-sanitarias en la sección correspondiente al alimento.
- c) TORRES (2015). En su tesis titulada “Conocimiento sobre higiene en la manipulación de alimentos en relación con la carga microbiológica en manos de las socias que manipulan alimentos en los Comedores Populares del distrito de Juliaca, Puno”, investigaron la relación en la carga microbiológica presente en las manos de las socias se evidencio que el 100 % de los comedores excede los límites permisibles, se



encontraron presencia de *Salmonella sp.* en cuatro comedores, siendo esto un indicador de alto riesgo para la salud de la población, existen diferencias significativas entre comedores y su localización en el distrito. Encontraron que de los 10 comedores populares encuestados se encontró que 7 de ellos conoce a cerca de la higiene en la manipulación de alimentos, 3 de ellos no cuentan con conocimientos básicos. De acuerdo a la medida del coeficiente correlación:  $r < 0$ , se determina que no existe una relación lineal entre el conocimiento y la carga microbiológica.

- d) CARRASCO *et al.*, (2014). En su investigación titulado “Conocimientos y buenas prácticas de manufactura en personas dedicadas a la elaboración y expendio de alimentos preparados, en el distrito de Los Olivos, Lima”, utilizaron un test post capacitación y dos meses después de la misma y se evaluó *in situ* la aplicación de las BPM. Se encontró que los cursos de manipulación de alimentos aumentan el nivel de conocimientos sobre prácticas de manipulación de alimentos, pero que no necesariamente éstos se aplican en la preparación de los mismos. Observaron importantes omisiones en la aplicación de la BPM durante la manipulación de alimentos en la actividad rutinaria. Concluyen que es necesario desarrollar capacitaciones constantes a fin de ampliar los conocimientos sobre BPM y supervisar de su aplicación por parte de los manipuladores de alimentos a fin de prevenir potenciales brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.
- e) HERRERA Y TORIBIO (2012). En su tesis titulada “Evaluación de la calidad higiénico sanitaria de superficies en los puestos dedicados al expendio de alimentos y bebidas de consumo inmediato del mercado San Pedro Cusco”, evaluaron la calidad higienica en base la guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas detectandose un 68.9 % de puestos con límites no permisibles ( $> 100$  UFC/manos) para coliformes totales en superficies vivas; 82,2 % de superficies inertes muestreadas, presentan límites no permisibles ( $> 0,1$  UFC/cm<sup>2</sup>) para coliformes totales; 4,4 % de puestos presentan microorganismos patógenos (*Salmonella sp.*) en superficies vivas y finalmente 37,8 % de puestos presentan límites no permisibles para el recuento de *Staphylococcus aureus* ( $> 100$  UFC/manos). Concluyen que la calidad higiénico sanitaria de superficies en los puestos es deficiente; por los altos porcentajes de puestos evaluados como deficientes (55,6 %) según la FES y altos porcentajes de coliformes en superficies vivas (68,9 %) e inertes (82,2 %).



## 3.2 Marco teórico

### 3.2.1 Mercados de Abasto

El funcionamiento del mercado de abastos “Serapio Tello Urbiola”, más conocido como mercado “ Américas” empezó desde el año de 1973, más adelante, debido al crecimiento poblacional y por ende aumento en la demanda de productos, comenzó una nueva construcción, estableciéndose como nueva fecha de inicio el año 2014, administrado por la Municipalidad Provincial de Abancay, convirtiéndose en un gran centro comercial de productos provenientes del interior y exterior del departamento de Apurímac; a la fecha cuenta con 444 puestos fijos y en funcionamiento, siendo uno de los mercados con mayor cantidad de puestos y afluencia. Así mismo tiene instalaciones por red pública para: alumbrado eléctrico, abastecimiento de agua y alcantarillado. Los mercados muestran la siguiente problemática (INEI, 2016):

- Deficientes prácticas de manipulación y salubridad, por parte de los manipuladores.
- Inadecuada gestión para el mantenimiento y operación de los mercados de abastos, en especial de la gestión de residuos sólidos, suministro de agua potable, etc.
- Limitado uso de tecnologías e innovación para la gestión, operación y mantenimiento de los mercados.

### 3.2.2 Condiciones sanitarias en la preparación de comidas

Las comidas 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. 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. Algunas de las condiciones sanitarias durante el proceso de preparación de comidas (MINSA/DIGESA, 2003).

#### 3.2.2.1 Adquisición

Los ingredientes para la preparación de las comidas deben ser adquiridos de ventas o tiendas formales y de procedencia conocida. Se evitará la compra de productos industrializados que no tengan Registro Sanitario y que no estén debidamente rotulados y con fecha vigente. Los granos deben



mostrarse secos, enteros, limpios de color y olor normales y sin presencia de insectos o parásitos (gorgojos, polillas, etc.) (DIGESA, 2000).

### **3.2.2.2 Limpieza**

La limpieza de los alimentos busca en esencia eliminar los contaminantes y, por otra parte, el control de la carga microbiana en las superficies que afectan la eficacia de los procesos y calidad de las comidas. Los microbios se depositan sobre todas las superficies y provocan contaminaciones cruzadas, que son aquellas transmitidas por un objeto o por las manos. Las normas de higiene en el área de cocina deben centrarse en lavar los paños de cocina con frecuencia, ya que siempre están más o menos húmedos y se suelen utilizar para secar las manos o la vajilla. Se recomienda tener un paño diferente para cada uso y utilizar el papel absorbente siempre que sea posible su adquisición (KOPPER *et al.*, 2009).

### **3.2.2.3 Preparación**

La preparación de cualquier comida o plato frío o caliente, deberá seguir un flujo en un solo sentido que va desde preparaciones previas, lavado y pelado de tubérculos, lavado de ingredientes crudos, deshojado y lavado de verduras, se distinguen tres etapas etapa sucia, etapa intermedia y finalmente la fase de preparación final y servido conocido como etapa limpia, además las manos deben lavarse cuidadosamente entre una etapa o fase (DIGESA, 2000).

## **3.2.3 Manipulador de Alimentos**

La verificación periódica de la salud del personal que elabora los alimentos debe ser una medida de control obligatoria y efectuada con frecuencia. Las personas con enfermedades infectocontagiosas como tuberculosis, tifoideas o enfermedades gastrointestinales, se vuelven vectores de alto riesgo; por lo tanto, a los expendedores de alimentos se les deben exigir los certificados de salud pertinentes. Los buenos hábitos higiénicos de los operarios que trabajan con alimentos repercuten significativamente en la inocuidad de los productos alimenticios. Es necesario tener presente que los alimentos son sensibles a la contaminación y, por lo tanto, se debe tener una actitud de pulcritud en las actividades (KOPPER *et al.*, 2009).

A continuación, se detallan requisitos relativos a los manipuladores de alimentos:



### 3.2.3.1 Identificación de manipuladores

Se debe registrar a las personas estables y temporales que comercializan y manipulan los alimentos. Es obligación del órgano responsable del mercado cautelar que todos los titulares y manipuladores que laboren en el establecimiento sean sometidos a exámenes médicos semestrales con el fin de descartar a los portadores de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) en concordancia con las patologías predominantes en la localidad; 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 (MINSA/DIGESA, 2003).

### 3.2.3.2 Higiene de los manipuladores de alimentos

Los manipuladores de alimentos deberán mantener un esmerado aseo personal y observar las siguientes prácticas higiénicas (ESCALANTE *et al.*, 2010):

- Las manos estarán libres de anillos y de cualquier otro adorno; y las uñas se mantendrán cortas, limpias y sin esmalte.
- 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.
- Están prohibidos de comer, fumar, masticar, tomar licor y realizar prácticas antihigiénicas como escupir, cuando manipulen alimentos.
- No realizarán simultáneamente labores de limpieza, las cuales deben efectuarse al inicio y al concluir sus actividades específicas de manipulación.
- Cuando va toser o a estornudar debe cubrirse la boca y la nariz con un pañuelo desechable o, en su defecto, el ángulo medial del codo.
- No usar el baño con la indumentaria de trabajo puesta. Resulta que la ropa se contamine y luego transportar los gérmenes al lugar de procesos.
- No hurgarse o rascarse la nariz, la boca, el cabello, las orejas descubiertas, o tocarse granitos, heridas, quemaduras o vendajes, por la facilidad de propagar bacterias a los alimentos en preparación.



### 3.2.3.3 Lavado de manos

El lavado de manos significa la aplicación de un jabón que, añadida a la fricción mecánica de las mismas por el tiempo de 20 segundos, luego de su enjuague, la remoción mecánica de los componentes orgánicos de la superficie de la piel. Debemos realizar el lavado de manos en todo momento, especialmente cuando las manos estén sudadas, sobre todo antes de empezar a preparar los alimentos, comer y después de: Tocar un alimento diferente (especialmente crudos), tocarse el cabello o la cara, toser o estornudar en sus manos o limpiarse la nariz, recoger algo del suelo o tocar implementos de limpieza como la escoba, tocar basura o superficies sucias. En los establecimientos de manipulación de alimentos, las manos también constituyen una superficie de contacto que también requiere desinfección. Para un buen lavado de manos es necesario seguir una serie de pasos (OPS, 2016):

- Moje sus manos con agua.
- Aplíquese el jabón y forme espuma esparciéndola hasta el codo
- Frótese las manos juntas y entre los espacios interdigitales por lo menos 20 segundos. Cubra toda la superficie de la mano, dedos muñeca, alrededor y debajo de las uñas, y cuanto más alto el brazo como sea posible. Si tiene material debajo de las uñas, límpielo con un cepillo.
- Enjuáguese exhaustivamente bajo el chorro de agua.
- Séquese preferiblemente con papel toalla o utilizar el secador de aire.

### 3.2.3.4 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 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 (MINSA/DIGESA, 2003).

### 3.2.3.5 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. Los temas de los programas de capacitación deberán contener como mínimo, aspectos referentes a: contaminación de los alimentos y efectos en la salud, buenas prácticas de manipulación, higiene personal y programa de higiene y saneamiento (MINSA/DIGESA, 2003).

### 3.2.4 Contaminación por manipulación directa

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ha identificado la falta de higiene y saneamiento por parte de los manipuladores de alimentos como uno de los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de una enfermedad transmitida por los alimentos. La investigación respalda que la falta de disponibilidad o inaccesibilidad de las estaciones de lavado de manos disminuye la adherencia a la higiene de las manos. Además, la educación o actividades de capacitación que aumentan el conocimiento, la percepción y la actitud de los manipuladores de alimentos hacia el lavado de manos es necesarios. Estudios realizados en los mercados han corroborado que algunas prácticas mal realizadas podrían aumentar los riesgos de enfermedades transmitidas por los alimentos, incluida la falta de lavado de manos, la falta de acceso a instalaciones sanitarias y de lavado de manos bien mantenidas, el uso de materiales que no se pueden limpiar y desinfectar adecuadamente, y la falta de control de temperatura para los alimentos que deben tener tiempo y temperatura controlados para su seguridad (HARRISON, 2017).

Los contaminantes llegan al alimento por medio de la persona que los manipula. El manipulador es el mayor factor de riesgo, debido a que está en contacto directo con los alimentos. Este tipo de contaminación posiblemente es la forma más simple y común de contaminación de los alimentos. Un típico ejemplo es cuando estornudamos sobre la comida o cuando los hábitos higiénicos del manipulador son deficientes (OPS, 2016).

La baja disponibilidad de instalaciones para lavarse las manos y la mala higiene de los manipuladores de alimentos indican un potencial de contaminación de los alimentos y las superficies de los alimentos en estos mercados. Las facilidades disponibles para los vendedores fueron similares a las reportadas en otros estudios de mercado (WORSFOLD *et al.*, 2004).



### 3.2.5 Enfermedades Transmitidas por los Alimentos

Un brote de ETA es definido como un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad. En la mayoría de casos de ETA; el patógeno debe estar presente en cantidad suficiente como para causar infección o producir toxinas, el alimento debe ser capaz de sustentar de los patógenos y el alimento debe permanecer en la zona de peligro de temperatura durante tiempo suficiente como para el microorganismo se multiplique y produzca toxinas, por último, se debe ingerir una cantidad (porción) suficiente del alimento conteniendo el agente. Las ETA se pueden clasificar en infecciones, intoxicaciones o infecciones mediadas por toxina (OPS, 2016):

#### 3.2.5.1 Infección alimentaria

La infección transmitida por alimentos es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos conteniendo microorganismos patógenos vivos, como *Salmonella sp.*, *Shigella*, el virus de la Hepatitis A, *Trichinella spirallis* y otros. Estas son producidas por virus, protozoarios; los síntomas son: fiebre y vómitos (OPS, 2016).

**a) Shigelosis o disentería bacilar:** Tiene un periodo de incubación relativamente corta, generalmente de unas 48 horas, pero que varía desde 7 hasta 66 horas. Lo mismo que la mayoría de las infecciones entéricas, es una enfermedad localizada, hallándose confinado el microorganismo responsable. *Shigella dysenteriae* y *Shigella frenera* con frecuencia originan una diarrea profusa y teñida de sangre. Además, la producción de toxina de *shiga* puede provocar trastornos sistémicos profundos. La shigelosis puede adoptar un curso crónico con una característica propia: la mayoría de los individuos infectados se convierten en portadores, es decir, la excreción del organismo en las heces puede persistir durante varios meses (MOSSEL *et al.*, 2003).

#### 3.2.5.2 Intoxicación Alimentaria

La mayoría de los casos de intoxicaciones alimentarias son en realidad toxiinfecciones alimentarias, provocadas por bacterias patógenas, virus, priones o parásitos, y/o sus productos metabólicos. Estas contaminaciones



suelen surgir por manipulaciones, preparación o conservación inadecuadas de los alimentos (OPS, 2016). Entre los que destacan:

**a) La salmonelosis**

Toxiinfección alimentaria por *Salmonella sp.*, generalmente se define como el tipo menos grave de gastroenteritis febril producida por Salmonellas de las enteritis, es decir, no son ni *Salmonella typhi* ni *Salmonella paratyphi*. Los síntomas clínicos generalmente aparecen 18 a 36 horas después de la ingestión del alimento contaminado por salmonelas. La enfermedad se caracteriza por una diarrea grave acompañada de fiebre, y dolor de cabeza (MARTIN *et al.*, 2012).

**b) La intoxicación alimentaria estafilocócica (SPF)**

Resulta del consumo de alimentos en los que las bacterias se han multiplicado hasta niveles del orden de  $10^6$  UFC/g o ml y producido enterotoxinas. Este tipo de intoxicación alimentaria se caracteriza por vomito violento y diarrea profusa, que aparece en 2 - 8 horas después de la ingestión del alimento que contenía la enterotoxina. El origen de *Staphylococcus aureus* son las lesiones de la piel y la garganta del hombre y de los animales, si bien también son frecuentes los portadores nasales humanos. La mayoría de los brotes de toxiinfección alimentaria estafilocócica son causados por cepas de *Staphylococcus aureus* que producen enterotoxina A y/o D (MOSSEL *et al.*, 2003).

**c) *Bacillus cereus***

Causa intoxicaciones alimentarias, puede ocurrir cuando los alimentos son preparados y mantenidos sin la adecuada refrigeración durante horas antes de ser servidos. El consumo de alimentos que contienen  $10^5$  *Bacillus cereus*/g o más puede provocarla. *Bacillus cereus* produce dos enterotoxinas durante su crecimiento exponencial: la toxina diarreica y la toxina emética que dan lugar a dos formas clínicas distintas de intoxicación alimentaria. Se asocia frecuentemente con arroz frito contaminado, tiene un período de incubación corto, habitualmente de 1 a 6 horas y predominan los síntomas gastrointestinales altos manifestados por náuseas y vómitos (WORMSER *et al.*, 2008).

### 3.2.6 Microorganismos Indicadores en Manipulación

Para garantizar la inocuidad del alimento, se requiere la determinación de criterios para los microorganismos patógenos y/o toxinas. Este tipo de microorganismos recibe la denominación común de microorganismos indicadores y su investigación nos aporta información sobre la seguridad sanitaria del alimento, y de las superficies que se encuentran en contacto directo con los alimentos (KOPPER *et al.*, 2009).

Según la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria (2008); los microorganismos se agrupan en: Microorganismos indicadores de higiene (no patógenos) en las que se encuentran Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceas.* y los microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli O157:H7* y *Vibrio cholerae* cuya cantidad en los alimentos condiciona su peligrosidad para causar enfermedades alimentarias.

#### 3.2.6.1 Coliformes Totales

El grupo de coliformes totales comprende sólo Enterobacteriaceae capaces de fermentar lactosa con la producción de gas, en 24 a 48 horas a 35 °C. Se pueden encontrar no solo bacterias que se originan en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y otros animales de sangre caliente (*Escherichia coli*), pero también bacterias no entéricas (*Citrobacter*, *Enterobacter*, Especies de *Klebsiella* y *Serratia*, entre otras). Los coliformes fecales comúnmente llamados coliformes termotolerantes, es un subgrupo del grupo coliforme total e incluye solo miembros que son capaces de fermentación de lactosa en 24 horas a 44,5 °C - 45,5 °C, con la producción de gas. La capacidad de fermentar lactosa puede ser verificada por la formación de gas y/o ácido, en medios que contienen lactosa, estas características se utilizan en los métodos tradicionales para enumerar coliformes totales (DA SILVA *et al.*, 2019).

La detección de coliformes totales se utiliza como un indicador de la calidad sanitaria del agua o como un indicador general de la condición sanitaria en el entorno de procesamiento de alimentos. Casi todos los métodos utilizados para detectar *Escherichia coli*, coliformes totales o coliformes fecales son métodos de enumeración que se basan en la fermentación de lactosa (BURKHARDT *et al.*, 2020).



**Método de recuento de placa:** Para la enumeración de coliformes totales en los alimentos, recomiendan el método de recuento en placas que contienen agar bilis rojo violeta (VRBA), este contiene un indicador de pH rojo neutro, de modo que la fermentación de la lactosa da como resultado la formación de colonias rosadas. Este método se basa en el mismo conteo principal como el del recuento de placas de Enterobacteriaceae, descrito en un capítulo específico, pero usa lactosa en su lugar de glucosa, en el agar VRBA (DAVIDSON *et al.*, 2004).

**Confirmación:** Para confirmar que las colonias son coliformes, escoja al menos 10 colonias representativas y transfiera cada una a un tubo de caldo BGLB (Lactosado Verde Brillante Bilis). Incubar tubos a 35 °C. Examinar a las 24 y 48 horas para la producción de gas, sin película en la superficie. Si el tubo BGLB con gas positivo muestra una película, realice la tinción de Gram para asegurarse de que la producción de gas no se deba a bacilos Gram positivos que fermentan lactosa (BURKHARDT, *et al.*, 2020).

### 3.2.6.2 *Staphylococcus aureus*

Los estafilococos son cocos Gram positivos, catalasa positiva que necesitan una fuente de nitrógeno orgánico para crecer. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* producen un pigmento dorado, se destruye lentamente a 60 °C. Se encuentran en las fosas nasales, la piel y las lesiones (DA SILVA, *et al.*, 2019).

En general, los tipos más resistentes son la A y la B. La enterotoxina A es la que se asocia frecuentemente con brotes de intoxicación alimentaria, las toxinas pueden resistir, aunque la bacteria haya muerto durante el proceso de la preparación del alimento. Su presencia en alimentos se interpreta como indicador de contaminación, para su prevención tener en cuenta la higiene personal de los manipuladores de alimentos (RICHARDSON *et al.*, 2008).

#### **Características Metabólicas**

El *Staphylococcus aureus* tiene un metabolismo de tipo fermentativo y anaerobio facultativo, catalasa positiva y oxidasa negativa. Son capaces de fermentar la glucosa sin producción de gases y producen acetil metil carbinol. Fermentan el manitol con formación de ácidos y puede hacerlo en



anaerobiosis. No hidrolizan el almidón y son capaces de crecer en presencia de un 40 % de bilis. Su temperatura óptima de crecimiento va de 35 °C a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos (KOPPER *et al.*, 2009).

Soportan tasas elevadas de cloruro sódico, hasta un 15 %. Poseen una enzima, la coagulasa, que la diferencia del resto ésta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina. Poseen igualmente una desoxirribonucleasa o DNasa, una nucleasa exocelular que despolimeriza el ADN. A esta enzima se la denomina termonucleasa por ser termoresistente en las cepas de *S. aureus*. También presentan la proteína A, una proteína de unión inespecífica a anticuerpos que está relacionada con su virulencia. Un medio diferencial para *S. aureus* es el medio manitol-salino o Chapman (RICHARDSON *et al.*, 2008).

### **Confirmación**

Las pruebas o ensayos bioquímicos son aquellas que ponen en evidencia la existencia de una enzima o pasos metabólicos determinados. En la prueba de coagulasa, seleccione cinco colonias típicas para la prueba de coagulasa. Si hay menos de cinco colonias, seleccione todo. Si hay varios tipos de presuntas colonias de *S. aureus*, seleccione una o más colonias de cada tipo. Del cultivo de BHI transferir 0,2 ml a un tubo estéril vacío. Agregar 0,5 ml de plasma coagulasa reconstituido con EDTA y mezcla. Usar un tubo con 0,2 ml de IHB y 0,5 ml de plasma coagulasa reconstituido con EDTA como control negativo. Incubar los tubos de 35 °C a 37 °C en un baño de agua y examinar periódicamente durante seis horas período para la formación de coágulos (DA SILVA *et al.*, 2019).

*S. aureus* se subdivide en dos subespecies, *S. aureus* subsp. *aureus* y *S. aureus* subsp. *anaerobius*. Se distingue de *S. aureus* subsp. *aureus* por tres características; la falta de pigmento y factor de aglutinación, la incapacidad de fermentar manitol anaeróticamente, y la incapacidad de crecer a 45 °C. El aislamiento primario requiere un medio suplementado con suero, yema de huevo o sangre. Se muestran las características que diferencian las dos subespecies en la Tabla 1 (SCHLEIFER *et al.*, 2009).



Tabla 1 — Pruebas Bioquímicas para confirmación de *Staphylococcus aureus*

Características	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Coagulasa	+	-	-
Dnasa	+	-	-
Nucleasa Termoestable	+	-	-
Presencia de Proteína A	+	-	-
Susceptibilidad a la Novobiocina	R	R	S

Extraído de (SCHLEIFER *et al.*, 2009).

### 3.2.6.3 *Salmonella sp.*

El género *Salmonella* pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae, está integrada por bacilos Gram negativos de  $0,7 - 1,5 \times 2 - 5 \mu\text{m}$ . Usualmente móviles por flagelos peritricos, anaerobios facultativos, siendo su temperatura óptima de  $37^\circ\text{C}$ . La O-glucosas y otros carbohidratos son catabolizados con formación de ácido y gas (ICMSF, 2000).

La salmonela es una de las cuatro causas mundiales de enfermedades diarreicas. En su mayoría los casos son leves, pero algunos son potencialmente mortales. La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública mundial, y la *Salmonella* es uno de los microorganismos en los que han surgido algunos serotipos resistentes, que afectan a la cadena alimentaria. Los serovares más importantes involucrados en la transmisión de estas salmonelosis de animales a humanos son *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium (DA SILVA *et al.*, 2019).

Transmitida por la carne y huevos obtenidos de animales enfermos o portadores, entre las principales prácticas que facilitan la contaminación son el cocimiento insuficiente de las carnes (de aves) especialmente si están altamente contaminadas, y el empleo de superficies o tablas de picar mal lavadas en donde antes se trozó el ave o carne cruda (MARTIN *et al.*, 2012).

#### Características Metabólicas

Poseen metabolismo fermentativo y oxidativo; fermentan glucosa con producción de ácido y gas (excepto *S. typhi*), también fermentan L-arabinosa,



maltosa, D-manitol, D.manosa, L-rammosa, Dsorbitol, trehalosa, D-xilosa y D-dulcito. Son oxidasa negativa, catalasa positiva indol y Voges- Proskauer (VP) negativo, rojo de metilo y citrato de Simmons positivo, producen H<sub>2</sub>S, son urea negativo y descarboxilasa positivo (TERRAGNO *et al.*, 2003).

Para su crecimiento no requieren cloruro de sodio, pero pueden crecer en concentraciones que van desde 0,4 % al 4 %. Su crecimiento se inhibe completamente a temperaturas inferiores a 7 °C, pH < 3,8 y un aw < 0,94 (HYEON *et al.*, 2013). La mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura que va desde 5 °C a 47 °C, con una temperatura óptima de 35 °C a 37 °C, algunas pueden llegar a crecer de 2 °C o 4 °C y hasta 54 °C. Se caracterizan por ser de amplia distribución, altamente patógenos y de difícil aislamiento, con más de 2500 serotipos identificados en el actual sistema de Kauffmann-White, siendo *Salmonella enterica serovar typhimurium*, Enteritidis y Newport los serotipos más aislados en alimentos a nivel mundial (GRIMONT *et al.*, 2007).

### **Diagnóstico Microbiológico de *Salmonella sp***

Los métodos microbiológicos tradicionales para la detección de *Salmonella sp*, no van encaminados al conteo de esta bacteria, se considera una técnica cuyo resultado se expresa cualitativamente, determinando su presencia o ausencia en diferentes matrices. La detección está basada en el empleo de medios de cultivo selectivos y posterior caracterización de las colonias mediante pruebas bioquímicas y serológicas (URRUTIA *et al.*, 2006).

La Association of Official Analytical Chemist (AOAC), describe los pasos a seguir para obtener buenos resultados, los cuales pueden demorar entre 4 a 5 días. El aislamiento e identificación de *Salmonella* en una muestra requiere de cuatro etapas (PHILIP *et al.*, 2003):

#### **a) Etapa de pre-enriquecimiento**

Según la AOAC, el objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células de *Salmonella sp*. que se encuentren en determinada matriz para su perfecto desarrollo y todos los microorganismos compiten por los nutrientes. Se realiza a partir de medios de cultivo no selectivos como agua peptonada, caldo nutritivo, caldo lactosado o agua destilada estéril. Es



necesario una incubación a 37 °C durante 18 a 24 horas (PHILIP, *et al.*, 2003).

### **b) Etapa de enriquecimiento selectivo**

Esta etapa estimula y favorece el crecimiento de *Salmonella spp.* inhibiendo el crecimiento de la flora acompañante; los medios de cultivo utilizados son: Caldo Tetrionato-Bilis-Verde Brillante según Mueller-Kauffmann, Caldo Rappaport-Vasiliadis (RV) y Selenito Cistina (SC). En el medio selectivo caldo tetrionato Bilis-Verde Brillante: el tetrionato inhibe el crecimiento de coliformes y otras bacterias intestinales, la bilis estimula el crecimiento de *Salmonella sp* e inhibe la flora competitiva, el verde brillante impide el desarrollo de la flora Gram positiva y el carbonato cálcico actúa como tampón para mantener el pH. En el medio RV, la verde malaquita inhibe el crecimiento de la flora competitiva, los fosfatos monopotásico y dipotásico mantienen estable el pH del medio durante el almacenamiento y el cloruro magnésico enriquece el caldo favoreciendo el desarrollo de *Salmonella sp.* (WALLACE *et al.*, 2022).

### **c) Etapa de aislamiento en medios selectivos**

Esta etapa permite la diferenciación de colonias de *Salmonella* de otras bacterias, esta diferenciación radica en la composición de los distintos medios que permiten el crecimiento de las colonias con aspectos característicos. Para aislar y diferenciar las colonias de *Salmonella*, los medios de cultivo contienen sustancias inhibitorias tales como: antibióticos, sales biliares, desoxicolato, verde brillante, bismuto de sulfito (KONEMAN, 2006).

Los más utilizados son los medios que diferenciar la *Salmonella* a través de su incapacidad para fermentar la lactosa y la capacidad concomitante de producir H<sub>2</sub>S, como agar entérico Hektoen (HE), agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y Agar xilosa lisina Tergitol 4 (XLT4). Porque hay cepas de *Salmonella* que fermentan lactosa o no producen H<sub>2</sub>S, es importante que el segundo o tercer medio de recubrimiento no sea basado en cualquiera de estas dos características. Uno de estas opciones es agar verde brillante (BG), que se basa en la fermentación de la lactosa, pero no



en la producción de H<sub>2</sub>S, y agar sulfito de bismuto (BS), que se basa sobre la producción de H<sub>2</sub>S, pero no sobre la fermentación de lactosa (DA SILVA *et al.*, 2019).

#### d) Pruebas bioquímicas diferenciales

El objetivo de este paso es verificar si las colonias obtenidas en las placas son realmente colonias de salmonela, mediante ensayos bioquímicos y serológicos. La configuración bioquímica tiene por objeto verificar el perfil bioquímico característico de las cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica*. En general, las diferentes organizaciones o autoridades reguladoras también recomiendan el uso de kits miniaturizados comerciales, que permiten la realización de un mayor número de pruebas bioquímicas (DA SILVA *et al.*, 2019).

La identificación o confirmación de las colonias presuntivas de Salmonella, se lleva a cabo en dos medios diferenciales usados simultáneamente como el agar triple azúcar hierro (TSI) y el agar Lisina hierro (LIA), también se realizan pruebas bioquímicas complementarias como urea, fermentación del dulcitol, crecimiento en caldo etc. (KONEMAN, 2006).

**Tabla 2 — Propiedades bioquímicas diferenciales de las subespecies de *Salmonella sp.***

Características	<i>S. entérica</i> subsp. <i>entérica</i>	<i>S. entérica</i> subsp. <i>salamae</i>	<i>S. entérica</i> subsp. <i>arizonae</i>	<i>S. entérica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	<i>S. entérica</i> subsp. <i>houtenae</i>	<i>S. entérica</i> subsp. <i>indica</i>	<i>S. bongori</i>
Dulcitol	+	+	-	-	-	D	+
ONPG (2hrs)	-	-	+	+	-	D	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatina	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	-/+	-	+
KCN	-	-	-	-	+	-	+
D-tartrato	+	-	-	-	-	-	-
B-glucoronidasa	D	D	-	+	-	D	-
Mucato	+	+	+	-0.7	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Lactosa	-	-	-0.75	0.75	-	D	-

Extraído de (DA SILVA *et al.*, 2019).

### 3.2.7 Muestreo de Superficies Vivas

Para el muestreo se seleccionarán las manos de los manipuladores, con o sin guantes, que estén en contacto con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro tratamiento que disminuya la carga microbiana (R.M. 461-2007/MINSA).

#### 3.2.7.1 Método del Enjuague

Se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc. En establecimientos de elaboración y expendio, se seleccionarán las manos de los manipuladores, con o sin guantes, que estén en contacto con los alimentos destinados al consumo directo. Dependiendo de la muestra, el método consiste en realizar un enjuague o inmersión (manos, objetos pequeños) en una solución diluyente.

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa. En la tabla 3 se muestra la interpretación de los resultados (R.M. 461-2007/MINSA).

**Tabla 3 — Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos**

Superficies				
Método Enjuague	Vivas		Pequeñas o internas	
Ensayo	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de detección del Método	Limite Permisible (*)
Coliformes Totales	< 100 UFC/ manos	< 100 UFC/ manos	25 UFC/ superficie muestreada (**)	25 UFC/ superficie muestreada (**)
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 UFC /manos	< 100 UFC /manos	–	–
Patógeno ( <i>Salmonella sp.</i> )	Ausencia/ manos	Ausencia/ manos	Ausencia/ superficie muestreada	Ausencia/ superficie muestreada
(*)	En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia			
(**)	Para 4 utensilios			

Extraído de (R.M. 461-2007/MINSA)

### 3.3 Marco conceptual

- a) **Buenas Prácticas de Manipulación (BPM).** Conjunto de prácticas adecuadas, cuya observancia asegurará la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas.
- b) **Carga microbiológica.** Se refiere al número relativo de microorganismos reales o sospechosos que se pueden encontrar en un objeto determinado.
- c) **Contaminación Cruzada.** Presencia o introducción de un contaminante en los alimentos listos para consumo, generada por el contacto con alimentos sin procesar, superficies, equipos o utensilios contaminados, o falta de higiene por parte del manipulador de alimentos o por su condición de enfermo o portador.
- d) **Inocuidad de los alimentos.** Es la garantía de que los alimentos no causarán daños al consumidor cuando se preparen o consuman de acuerdo con el uso al que se han destinado.
- e) **Límite Crítico.** Criterio que diferencia la aceptabilidad o inaceptabilidad del proceso en una determinada fase o etapa.
- f) **Manipulador de alimentos.** En los mercados de abasto, se considera manipulador de alimentos a todas aquellas personas que en razón de su actividad laboral interviene en la venta de alimentos frescos y otros productos alimenticios procesados.
- g) **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 y bebidas, productos alimenticios y otros.
- h) **Pipetor.** Pipeta electrónica disponible en modelos de 1 ml o de 5 ml, se pre-programa para realizar las diluciones más comunes en la Placa de Petrifilm y proporciona alta exactitud y precisión en micro-volúmenes de líquidos.
- i) **Puesto de expendio.** 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.
- j) **Sección.** Son zonificaciones o áreas donde se localizan los puestos individuales de venta con características comunes para el expendio de alimentos relacionados al mismo rubro.
- k) **Toma de muestra.** Actividad mediante la cual se recolecta una cantidad de muestra, bajo un protocolo establecido que garantice su correcta manipulación y proceso.

- 1) **Vigilancia Sanitaria.** Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad de Salud Municipal competente sobre las condiciones sanitarias de los alimentos y bebidas en protección de la salud.



## CAPÍTULO IV

### METODOLOGÍA

#### 4.1 Tipo y nivel de investigación

El presente trabajo es una investigación descriptiva no experimental y transversal, porque no se realizará la manipulación de las variables, únicamente se evaluarán los conocimientos en higiene, en su área de trabajo, y la carga microbiana presente en las manos de los manipuladores que expenden en la sección comidas en el Mercado Américas de Abancay. Según la naturaleza de los datos es del tipo **cuantitativo**, porque se recogerán datos y se analizarán.

Según el diseño de la investigación es del tipo **no experimental**, porque no se manipula ninguna variable, se observó el fenómeno en estado natural.

Según el factor de tiempo es del tipo **transversal** por que se recolectan los datos en un solo momento.

#### 4.2 Diseño de la investigación

Para obtener información sobre los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas en el Mercado Américas se utilizaron las siguientes estrategias:

##### a) Evaluación del manipulador

Para evaluar el cumplimiento y conocimiento sobre condiciones higiénico-sanitarias del manipulador de alimentos que expenden en la sección comidas en el mercado Américas, se emplearon dos técnicas de recolección de datos: La observación que consiste registrar el comportamiento que manifiesta el manipulador, y la encuesta que es un conjunto de preguntas dirigidas al manipulador con el fin de conocer hechos específicos como su conocimiento, documentos, según recomendación de (HAMMERSLEY *et al.*, 1994).

En base a las normativas vigentes se elaboró la Ficha para Evaluación del Manipulador (FEM) la que se muestra en el Anexo 02, en la que se recolecto información sobre su conocimiento y si cumplen con los requisitos que la norma exige, las FEM fueron llenadas en la zona de trabajo del manipulador de alimentos para verificar la información brindada, se registraron, posteriormente los datos se organizaron con el programa estadístico SPSS Statistics 25.



## b) Muestreo de superficies vivas (manos) para análisis microbiológico

Para conocer la situación higiénica de las manos del manipulador, se realizó la toma de muestra a manos de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas en el mercado Américas. Para la realización del análisis microbiológico se utilizaron los laboratorios de la E.A.P. Ingeniería Agroindustrial de la UNAMBA.

Los métodos para la numeración de los microorganismos indicadores son (FDA, 2020):

- Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. 8th Edition, Revisión 2020.
- Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 12: *Staphylococcus aureus*. 8th Edition, Revisión 2016.
- ICMSF Microorganismos de los alimentos. Su significado y Métodos de enumeración. 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000.

### 4.3 Población y muestra

#### Población

La población de estudio está constituida por los manipuladores de alimentos de los puestos que expenden en la sección comidas en los mercados de Abancay, los que se encuentran inscritos en el padrón del Mercado Américas.

Las muestras se obtuvieron de las manos de manipuladores de alimentos que expenden en la sección comidas del mercado Américas de Abancay, siendo la población de 25 puestos.

#### Muestra

En la presente investigación se determinó la muestra por el Método de Muestreo Probabilístico, las manos de manipuladores a muestrear fueron elegidos por muestreo aleatorio simple, el tamaño de la muestra se obtuvo mediante la fórmula estadística para poblaciones finitas, obteniéndose 12 manipuladores.

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot q}{d^2 \cdot (N - 1) + Z^2 \cdot p \cdot q}$$

Donde

- N Total de la población = 25 puestos
- Z $\alpha$  1,96 al cuadrado (si la seguridad es del 95 %)
- p proporción esperada (en este caso 5 % = 0,05)
- q 1 - p (en este caso 1 - 0,05 = 0,95)
- d precisión (en su investigación use un 5 %)

## 4.4 Procedimientos

### 4.4.1 Procedimiento de toma de muestra

Se utilizó el método de enjuague. Se realizó lo siguiente:

- El muestreador debidamente protegido, coloca el cooler sobre una superficie limpia y desinfecta la superficie donde se tomará la muestra
- Desinfectar ambas manos y colocarse los guantes de látex
- Vaciar el diluyente del frasco (100 ml) en una bolsa ziplop de primer uso, y solicitar al manipulador que introduzca las manos en la bolsa hasta la altura de la muñeca, indicar que realice un frotado de los dedos y alrededor de las uñas, adicionalmente el muestreador realiza la misma operación por un (1) minuto aprox.
- Luego de retirar las manos del manipulador se regresa el líquido al frasco, se cierra y se coloca en una bolsa estéril para asegurar y seguidamente se rotula.
- Según el MINSA, (2011) mediante el D.S. 032-MINSA/DIGESA-2011, menciona que las muestras se colocaron en un cooler con gel refrigerante, para asegurar que la temperatura no sea mayor de 4 °C, el tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio, no debe exceder las 24 horas

### 4.4.2 Procedimiento para recuento de Coliformes Totales

Para el recuento de Coliformes Totales en las manos de los manipuladores se utilizó la técnica de recuento placa.

#### Preparación de medios de cultivo

- Para la preparación de la muestra; disolver 1 gramo de peptona en un litro de agua destilada, distribuir en cantidades de 90 ml en frascos y 9 ml en 2 tubos de ensayo con tapa, esterilizar en autoclave (15 min a 121 °C)
- Transferir 10 ml de la muestra al frasco con 90 ml de agua peptonada estéril, esta mezcla constituye la solución madre ( $10^{-1}$ ), de esta primera dilución transferir 1 ml a un tubo que contenga 9 ml de agua peptonada estéril, forma la dilución  $10^{-2}$  y así sucesivamente.
- Disolver 39.5 g/l de Agar Rojo Violeta Bilis (VRBA) y esterilizar con cuidado por 30 min (Baño María de 44 °C a 46 °C). No esterilizar en autoclave. El medio de cultivo preparado es claro y rojizo parduzco (BURKHARDT *et al.*, 2020).

### **Procedimiento**

- Transferir 1 ml de cada dilución con ayuda de un pipetor de la muestra a una placa Petri estéril.
- Adicionar a cada placa Petri, de 10 a 15 ml de agar Violeta Rojo Bilis (VRBA) temperado de 44 °C a 46 °C.
- Mezclar el contenido de las placas mediante movimientos de vaivén y rotación, cada placa. Dejar solidificar la mezcla (5 - 10 min) luego distribuir un adicional de 5 - 10 ml de medio de plaqueado como doble capa, cubriendo completamente la superficie del medio solidificado el que inhibirá la formación de colonias en la superficie.
- Ya solidificado, invertir e incubar las placas durante 24 horas de 35 °C a 37 °C.
- Las colonias rojo oscuro que miden 0,5 mm o más de diámetro, en placas, que contengan entre 20 a 200 colonias, se consideraran como bacterias coliformes
- Para el cálculo de unidades formadoras de colonias UFC/manos, se multiplico el número de colonias en placa por el factor de dilución (BURKHARDT, *et al.*, 2020)

#### **4.4.3 Procedimiento para numeración de *Staphylococcus aureus***

Para el recuento de *Staphylococcus aureus* en las manos de los manipuladores se utilizó la técnica de recuento en placa.

#### **Preparación del medio de cultivo**

- Disolver 63 g en 0,95 litros de Agar Baird-Parker y esterilizar en autoclave (15 min a 121 °C), enfriar de 45 °C a 50 °C, y añadir mezclando 50 ml de emulsión de yema de huevo telurito.
- Luego verter en placas de 10 a 15 ml y dejar enfriar. El vertido en placas ha de ser utilizado dentro de las 24 horas siguientes a su preparación (HAIT, 2012).

#### **Día 1**

- Transferir 0,1 ml del homogenizado y de sus diluciones, con ayuda de un pipetor, a la superficie del medio de Agar Baird Parker en placas, y extender el inculo con ayuda de las varillas de vidrio hasta que sea absorbido por el medio. Incubar las placas en posición invertida de 45 a 48 horas a 35 °C - 37 °C (HAIT, 2012).

### Día 3

- Elegir las placas que contengan un máximo de 200 colonias aisladas y contar todas las colonias negras y brillantes de margen estrecho y blanco rodeadas de áreas claras que se extienden en el medio opaco. Así mismo, contar también en aquellas colonias cuyo color sea negro brillante con o sin margen estrecho de blanco y que no presenten el área de aclaramiento (HAIT, 2012).

### Prueba de la coagulasa

- Disolver 8 g de Caldo nutritivo en 1 litro de agua destilada. Calentar con agitación frecuente, llevando a ebullición para disolución total. Distribuir 9 ml en tubos de ensayo con tapa y esterilizar en autoclave (15 min a 121 °C).
- Sembrar directamente en el caldo nutritivo las colonias sospechosas de *S. aureus*.
- Incubar de 35 °C a 37 °C durante 18 a 24 horas. Examinar los tubos para evaluar el crecimiento por turbiedad.
- Con ayuda de un pipetor de transfirió 0,1 ml a tubos que contenían 0,3 ml de plasma. Estos se incubaron a 37 °C por 4 - 6 horas y con un máximo de 24 horas.
- Luego se examinaron los tubos para detectar si hubo o no presencia de coagulo y se registró la información. La aparición de un coagulo bien definido es indicativo de la actividad de la coagulasa.
- Calcular el número de unidades formadoras de colonias UFC/manos, multiplicando el número de colonias en placa por el factor de dilución (HAIT, 2012).

#### 4.4.4 Procedimiento para análisis de *Salmonella sp.*

##### Preparación de medios

- Agua peptonada tamponada 2,25 g de peptona y 1,125 g de sal, añadir y disolver en 225 ml de agua destilada en un frasco, luego esterilizar en autoclave (15 min a 121 °C). El caldo preparado es claro e incoloro.
- Agar SS (Salmonella - Shigella), pesar 60 g en 1 litro de agua destilada, no autoclavar.
- Caldo Rappaport Vasiliadis, pesar 42,5 g luego preparar en un litro de agua y mezclar hasta uniformar. Autoclavar a 115 °C por 15 min (WALLACE *et al.*, 2022).



### Pre enriquecimiento no selectivo

- Se tomaron 25 ml de la muestra obtenida de las manos, y se añadieron a 225 ml de agua esteril peptonada tamponada y se incubaron a 35 °C por 24 horas (WALLACE *et al.*, 2022)

### Enriquecimiento selectivo

- Transfiera 0,1 ml de mezcla a 10 ml de medio Rappaport-Vassiliadis (RV) y otra mezcla de 1 ml a 10 ml de caldo de tetrionato (TT).
- Incubar el medio RV de  $24 \pm 2$  horas a  $42 \text{ °C} \pm 0,2 \text{ °C}$  (baño maría). Incubar el caldo TT de  $24 \pm 2$  horas a  $43 \text{ °C} \pm 0,2 \text{ °C}$  (circulante, baño maría) (WALLACE *et al.*, 2022).

### Siembra en medio selectivo

- Mezclar (vórtice, si es tubo) y rayar caldo TT incubado en bucle de 3 mm (10 µl) en agar sulfito de bismuto (BS), agar desoxicolato de lisina xilosa (XLD) y agar Hektoen entérico (HE). Prepare las placas BS el día antes del rayado y guárdelas a temperatura ambiente hasta que estén rayadas.
- Repita con un bucle de 3 mm (10 µl) de medio VD (para muestras de alimentos de alta y baja carga microbiana)
- Incubar las placas de  $24 \pm 2$  horas a 35 °C. Posteriormente examine las placas para detectar la presencia de colonias que pueden ser *Salmonella sp.* (WALLACE *et al.*, 2022).

### Pruebas bioquímicas

- Recoger 2 o más colonias de *Salmonella sp.* de cada placa selectiva de agar después de  $24 \pm 2$  horas de incubación. Las colonias típicas de *Salmonella sp.* son las siguientes:
- Si las colonias típicas están presentes en el agar BS después de  $24 \pm 2$  horas de incubación, entonces elija 2 o más colonias. Independientemente de si las placas de agar BS se recogen o no a las  $24 \pm 2$  horas, reincubar las placas de agar BS  $24 \pm 2$  horas adicionales. Después de  $48 \pm 2$  horas de incubación, recoger 2 o más colonias típicas, si están presentes, de las placas de agar BS, sólo si las colonias recogidas de las placas de agar BS incubadas durante  $24 \pm 2$  horas dan reacciones atípicas en agar hierro triple azúcar (TSI) y agar lisina hierro (LIA) que dan lugar



a que el cultivo se descarte como no *ser Salmonella sp.*, continuar con los procedimientos que se indican en el Chapter 5: Salmonella (FDA, 2020).

- La salmonella en LIA, produce típicamente una reacción alcalina (púrpura) en la columna del medio en el tubo, lo que esto indica presencia de *Salmonella sp.* La mayoría de cultivos de Salmonella producen H<sub>2</sub>S en agar LIA. Algunos cultivos que no son, producen una reacción rojo ladrillo en el agar LIA. Las colonias identificadas bioquímicamente como Salmonella enfrentadas a diversos sueros de confirmación serológica (WALLACE *et al.*, 2022).

#### 4.5 Técnica e instrumentos

Los instrumentos utilizados durante el estudio se detallan a continuación.

##### a) Normas y Reglamentos

- Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas
- Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA. Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos bebidas de consumo humano
- Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM. Reglamento sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto
- Resolución Ministerial N° 156-2010/MINSA. Procedimiento para la recepción de muestras de Alimentos y Bebidas de Consumo Humano en el laboratorio de Control. N° 032-MINSA/DIGESA-V.0.
- Manual de análisis microbiológico de alimentos. Dirección General de Salud Ambiental – DIGESA. Lima, 2001.
- Guía para la aplicación del Sistema HACCP en mercado de abastos. Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Lima Perú. 2000.

##### b) Toma de muestra

- Bolsas ziplop de primer uso
- Bolsa de plástico de primer uso
- Bolsa de plástico para desechos
- Frascos con tapa hermética de boca ancha con 100 ml de solución diluyente estéril.
- Algodón embebido en alcohol en un frasco con tapa hermética
- Plumón marcador indeleble (para plástico)
- Cooler de plástico (caja térmica)

- Gel refrigerante, que permitan conservar la cadena de frío de 0 °C a 4 °C.
- Mandil blanco, protector de cabello, mascarillas y guantes descartables de primer uso.

**c) Equipos**

- Autoclave
- Balanza de Precisión
- Micropipeta Automática de Rango 0,5 - 10 ml
- Estufa
- Incubadora
- Centrifuga digital
- Mechero Bunsen
- Mechero de alcohol
- Refrigeradora

**d) Material de vidrio y otros**

- Placas Petri de vidrio 100 x 15 mm
- Placas Petri descartables estéril 90 x 15 mm
- Tubos de ensayo con tapa 150 x 16 mm, 125 x 16 mm
- Frascos de vidrio con tapa hermética de boca ancha de 250 ml y 500 ml
- Pipetas de 5 y 10 ml con graduación marcada
- Pinzas estériles
- Puntas para pipetor esterilizadas de 5ml
- Probetas de 50 y 100 ml
- Espátula de Drigalski de vidrio
- Campanas Durham 6 x 35 mm
- Asa bacteriológica
- Espátulas de metal
- Alcohol 98 %
- Paquete de algodón
- Gradillas para tubos

#### e) Medios de Cultivo y reactivos

- Peptona
- Cloruro de sodio
- Agar rojo violeta bilis (VRBA)
- Agar verde brillante bilis
- Agar Baird Parker.
- Emulsión yema de huevo con telurito
- Caldo nutritivo
- Plasma con EDTA
- Agar SS (Salmonella-Shiguela)
- Caldo de enriquecimiento Rappaport -Vassiliadis
- Agar triple azúcar hierro (TSI)
- Agar lisina hierro (LIA)
- Caldo de tetrionato (TT)
- Caldo de selenita cistina (SC)
- Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV)
- Agarto xilosa lisina desoxicolato (XLD)
- Agar hektoen entérico (HE)
- Agar sulfito de bismuto (BS)

#### 4.6 Análisis estadístico

No se realizó análisis estadístico. Para el procesamiento de las variables descriptivas se utilizó IBM SPSS 25 y Excel 16, los resultados se resumieron en tablas y se construyeron gráficos.

Los resultados de la identificación del manipulador y el análisis microbiológico de las muestras de superficies vivas, se expresaron en porcentajes, se utilizaron grafico de barras y tablas cruzadas.

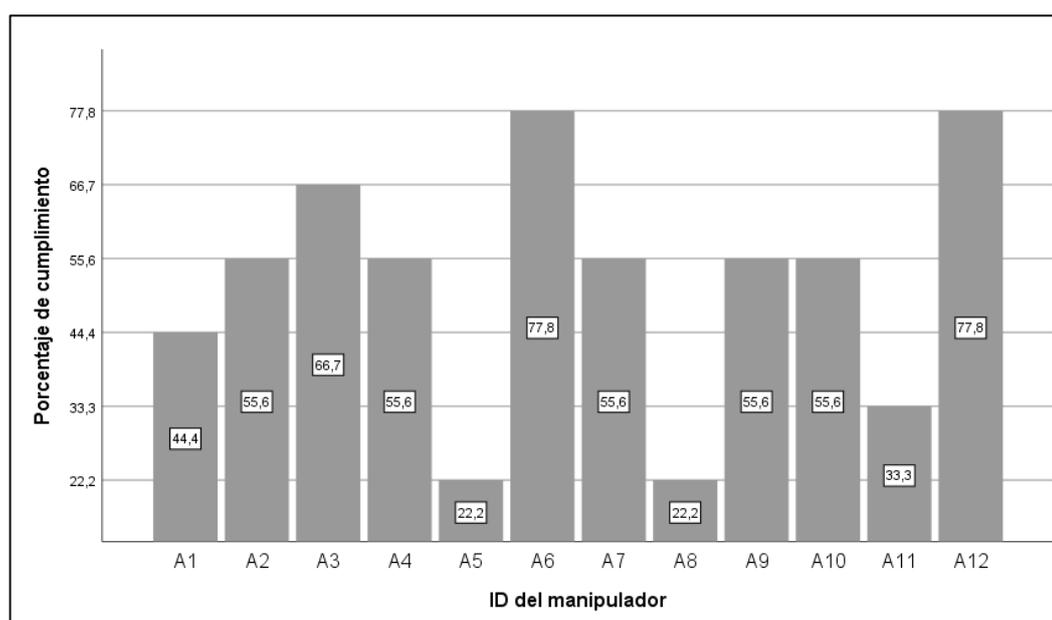


## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 5.1 Análisis de resultados

Realizada la visita inopinada a la sección comidas del establecimiento en compañía de los representantes del área de Salud Ambiental de la Municipalidad Provincial de Abancay en la que se logró recolectar un total de 12 muestras de superficies vivas (manos) y evaluar las características a un manipulador por puesto de preparación seleccionado.



ID: código que se le asignó a cada manipulador/puesto de preparación.

**Figura 1 — Porcentaje de cumplimiento según FEM por manipulador que expende en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay**

En la Figura 1, se muestra el porcentaje de cumplimiento a las características evaluadas al manipulador de alimentos de la sección comidas del mercado Américas, según la R.M. N.º 282-2003-SA/DM, donde los mercados de abastos deben cumplir con ciertos criterios para su calificación sanitaria.

Se observa que el 33.3 % de los manipuladores muestran una calificación como No aceptable (Menos de 50 %) según la R.M. N.º 282-2003-SA/DM, asimismo se muestra el 50 % de los manipuladores, muestran una calificación como Regular (50 % -75 %) y el 16.7 % muestra una calificación Aceptable (75 % - 100 %).

Según el reglamento antes mencionado, nos indica que las evaluaciones higiénico-sanitarias de los mercados serán inopinadas y permitirán evaluar las condiciones sanitarias de los puestos, y se deben realizar con la frecuencia que sea necesaria para asegurar la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y el mantenimiento de la calificación.



**Tabla 4 — Porcentaje de manipuladores con resultados inaceptables, en puestos de la sección comidas del mercado Américas**

N.º	Características	Respuestas		Resultados inaceptables
		N	Porcentaje	
1	Sin episodio actual de enfermedad, heridas, afecciones en piel y mucosas	2	3,8 %	16,7 %
2	Manos limpias y sin joyas	8	15,4 %	66,7 %
3	Uñas cortas, limpias, sin esmalte	4	7,7 %	33,3 %
4	Cabello corto o recogido, protegido	7	13,5 %	58,3 %
5	Sin maquillaje facial	3	5,8 %	25,0 %
6	Uniforme completo, limpio y de color claro	6	11,5 %	50,0 %
7	Carnet sanitario o certificado medico	9	17,3 %	75,0 %
8	Tabla de picar en buen estado y limpia	5	9,6 %	41,7 %
9	Paños, secadores limpios y Desinfectados	8	15,4 %	66,7 %
<b>Total</b>		52	<b>100,0 %</b>	

En la Tabla 4, se observan los porcentajes de resultados inaceptables que muestran los manipuladores de alimentos. Las características que presentaron mayor frecuencia de incumplimiento durante la evaluación del manipulador son: “paños”, “secadores limpios” “carnet sanitario”. Observando la característica 2 con 66,7 % y la característica 3 con un 33,3 % de manipuladores con resultados inaceptables, se evaluaron por separado, debido a que muchos de los manipuladores tenían uñas limpias, pero tenían objetos en la mano como pulsera o anillos, debido a eso es la diferencia en su porcentaje.

Durante la Reunión de la Comisión Panamericana de Inocuidad de los Alimentos, menciona que dentro de los requisitos y condiciones básicas que se evalúan y que los mercados deben cumplir para optar a una certificación como saludable; son las condiciones de salud e higiene personal del vendedor o manipulador. Dentro de estas condiciones las que más resaltan es si porta el carnet de manipulador que otorga la autoridad competente, los manipuladores que son sospechosos de ser portadoras de enfermedades, deben ser alejadas de las áreas de manipulación de alimentos y los empleados que presenten heridas, cortes o lesiones abiertas en la piel, resfríos u otras enfermedades, no deben manipular

alimentos, ni superficies que entren en contacto directo con los alimentos, a menos que la herida/lesión esté protegida, con guantes a prueba de agua o de otra forma (OPS, 2016).

El 75 % de los manipuladores evaluados no cumplen con la característica “Carnet sanitario o certificado médico”, ya que durante la evaluación no mostraron dicho documento aludiendo que no lo llevan consigo o están vencidos. Adicional a ello se consultó si contaban con algún certificado de capacitación en BPM, al que respondieron con negativas. Asimismo, el 66,7 % de los expendedores de alimentos no cumplen con el requisito “Manos limpias y sin joyas”, durante la evaluación se observó accesorios alrededor de la muñeca y algunos casos anillos. Al respecto, sugieren como parte de los controles de salud del manipulador, exigir los exámenes médicos, y a su vez recibir capacitación permanente en Programas de Higiene. Igualmente resalta que no debe usarse ninguna prenda de joyería (reloj, pulseras, anillos, aretes, collares) de manera de facilitar el correcto lavado de manos o evitar que caigan sobre los alimentos (OPS, 2016).

Los buenos hábitos higiénicos de los operarios que trabajan con alimentos repercuten significativamente en la inocuidad de los productos alimenticios. Es necesario tener presente que los alimentos son sensibles a la contaminación y, por lo tanto, se debe tener una actitud de pulcritud en las actividades que se lleven a cabo (KOPPER *et al.*, 2009).

**Tabla 5 — Recuento de microorganismos indicadores de higiene y patógenos en las manos de los manipuladores de alimentos en el Mercado Américas de Abancay**

<b>ID.</b>	<b>Coliformes Totales</b> (L.P. <100 UFC/manos)	<b><i>Staphylococcus Aureus</i></b> <b><i>Coagulasa positivo</i></b> (L.P. <100 UFC/manos)	<b>Condición</b>
A1	1,2x10 <sup>4</sup>	<100	NO APTO
A2	8,5x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>2</sup>	NO APTO
A3	8,5x10 <sup>3</sup>	<100	NO APTO
A4	10x10 <sup>3</sup>	<100	NO APTO
A5	7,2x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>3</sup>	NO APTO
A6	8x10 <sup>2</sup>	<100	NO APTO
A7	2,4x10 <sup>4</sup>	<100	NO APTO
A8	7,8x10 <sup>3</sup>	<100	NO APTO
A9	4,6x10 <sup>3</sup>	<100	NO APTO
A10	1,1x10 <sup>3</sup>	<100	NO APTO
A11	6,4x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>2</sup>	NO APTO
A12	7x10 <sup>2</sup>	<100	NO APTO

En la Tabla 5 se observa que los recuentos para Coliformes Totales hallados en las manos de los manipuladores de alimentos, exceden los límites permisibles en el total de



manipuladores muestreados, por lo tanto, las muestras analizadas no cumplen con los límites exigidos en la RM N 461-2007/MINSA.

La figura 2 nos muestra los recuentos de Coliformes Totales en las manos de manipuladores que expenden en la sección comida del mercado Américas, se observa que el 100 % de manipuladores superaron el Límite Permisible (<100 UFC/manos) establecido en la R.M. 461-2007/MINSA.

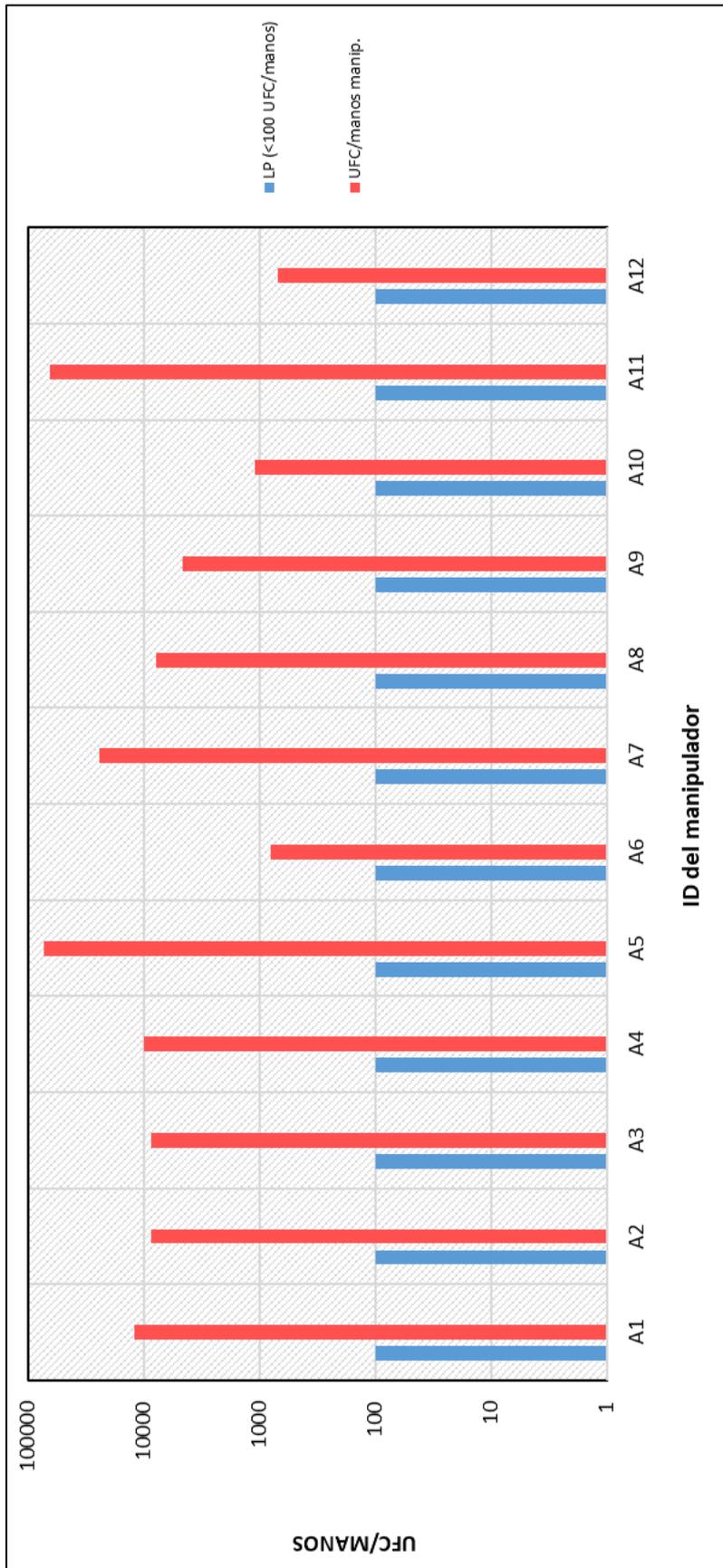
Se observó diferencias importantes en los resultados de Coliformes Totales entre cada muestra y lo que resalta es el recuento elevado de este microorganismo en las manos de los manipuladores que expenden en la sección comidas este mercado. Un estudio similar realizado en la ciudad del cusco en el mercado San Pedro, en base al R.M. 461-2007/MINSA, nos muestra que los manipuladores que presentan mayor contaminación se encuentran en el área de comidas, presentando recuento de hasta  $5 \times 10^4$  UFC/manos (HERRERA y TORIBIO, 2012).

Coliformes Totales tradicionalmente se ha considerado como indicador de contaminación fecal, son bacterias más peligrosas que proceden de los excrementos de los animales y los seres humanos, por lo general, a través de sistemas sépticos mal mantenidos o construidos, de grietas en las tuberías de aguas negras o de excrementos de animales en la proximidad de una fuente de agua (DA SILVA *et al.*, 2019).

La presencia de los coliformes totales en las manos, después de haber realizado el proceso de lavado, puede tener los siguientes orígenes entre ellas la inadecuada remoción de la materia orgánica adherida a las manos, espacios interdigitales y uñas del manipulador, emplear insuficiente cantidad de agua al momento de retirar el jabón de manos, y por ende no eliminar la totalidad de los residuos y la calidad del agua potable con la que se realiza el lavado de las manos, ya que las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo (CASTRO, 2020).

Los coliformes totales no se consideran patógenos, sin embargo, altos niveles de estos microorganismos pueden, en determinadas circunstancias, estar relacionado o asociado con una mayor probabilidad de la presencia de patógenos, pero esto no es un caso frecuente. Del mismo modo, su ausencia no significa necesariamente que los productos están libres de entéricas bacterias patógenas (DA SILVA *et al.*, 2019).





Nota:

■ LP (<100 UFC/manos)	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
■ UFC/manos manip.	12000	8500	8500	10000	72000	800	24000	7800	4600	1100	64000	700	70x10
■ UFC/manos	12x10 <sup>3</sup>	85x10 <sup>2</sup>	85x10 <sup>2</sup>	10x10 <sup>3</sup>	72x10 <sup>3</sup>	80x10	24x10 <sup>3</sup>	78x10 <sup>2</sup>	46x10 <sup>2</sup>	11x10 <sup>2</sup>	64x10 <sup>3</sup>	70x10	70x10

**Figura 2 — Numeración de Coliformes Totales en manos de manipuladores de alimentos en la sección comidas del Mercado Américas de Abancay**

En la figura 3 se muestra los recuentos de *Staphylococcus aureus* en manos de los manipuladores que expenden en la sección comidas del Mercado Las Américas, se observa que el 25 % del total de las muestras analizadas no cumplen con los límites permisibles exigidos en la normativa R.M. 461-2007/MINSA.

Según FDA (2022), este microorganismo es muy vulnerable a tratamientos térmicos y a la mayoría de productos desinfectantes. La presencia de esta bacteria en los alimentos procesados y superficies es indicativo de una higiene deficiente.

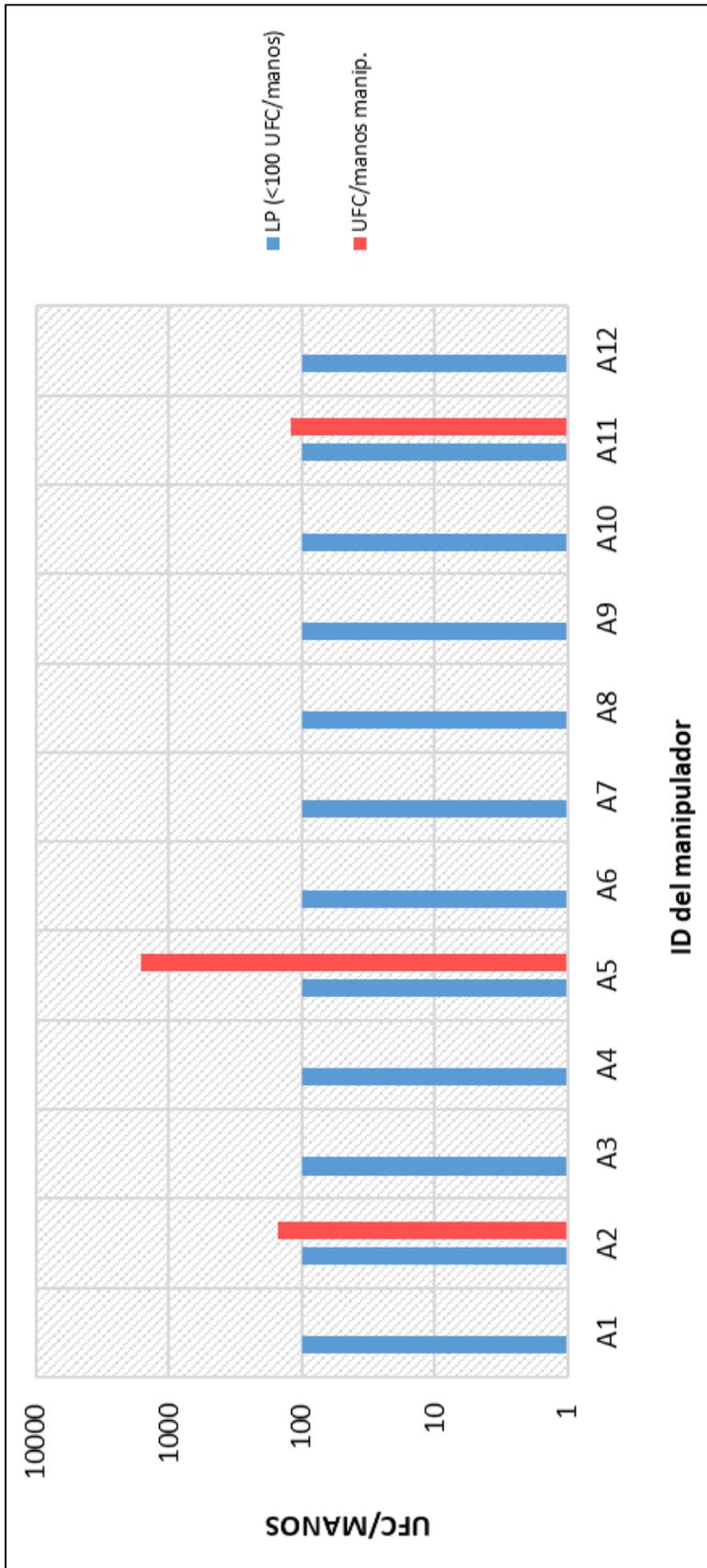
Estos resultados nos indican que existe relación entre las condiciones higiénicas del manipulador, las que fueron evaluadas durante la toma de muestra, y los resultados microbiológicos. En otro estudio se menciona que las fosas nasales son el principal hábitat de este microorganismo, encontrándose también presente en heridas infectadas, quemaduras, tracto gastrointestinal y resalta que las manos de los manipuladores son las principales vías de contaminación (ACHÓN, *et al.*, 2012).

En este aspecto, el personal manipulador debe tener un nivel de conocimiento suficiente acerca de las prácticas preventivas para evitar la contaminación de la comida, el cual conviene empezar en el mismo establecimiento donde el trabajador va a prestar su servicio y reforzarlo mediante capacitación constante; ya que, si los manipuladores que tienen bajo su responsabilidad la elaboración de los alimentos no comprenden la responsabilidad como productores de alimento, entonces ponen en riesgo el establecimiento para el que trabajan y, sobre todo, la salud de las personas (ANAYA *et al.*, 2009).

Respecto de la intoxicación provocada por *S. aureus*, se sabe que la mayoría de los brotes son originados por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, ya que muy pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas (intoxicación alimentaria estafilocócica, IAE) (PERDOMO *et al.*, 2004).

Según FDA (2016), este microorganismo es muy vulnerable a tratamientos térmicos y a la mayoría de productos desinfectantes. La presencia de esta bacteria en los alimentos procesados y superficies es indicativo de una higiene deficiente. Así mismo, un gran número de *S. aureus* en un alimento puede indicar una mala manipulación o saneamiento; sin embargo, no es evidencia suficiente para incriminar a un alimento como causa de intoxicación alimentaria.





Nota:

■ LP (<100 UFC/manos)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
■ UFC/manos manip.	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
■ UFC/manos	0	15x10	0	0	16x10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0	12x10	0	0

Figura 3 — Numeración de *Staphylococcus aureus* en manos de manipuladores de alimentos en la sección comidas del Mercado Américas de Abancay

**Tabla 6 — Resultados microbiológicos en manos de manipuladores que expenden en la sección comidas del Mercado Américas**

Ensayos	Resultados Microbiológicos de Manipuladores				Total
	Apto		No Apto		
	Recuento	%	Recuento	%	
<b>Coliformes Totales</b> L.P. <100 FC/manos	0	0,0	12	100,0	12 (100,0 %)
<i>Staphylococcus aureus</i> L.P. <100 FC/manos	9	75,0	3	25,0	12 (100,0 %)
<b>Salmonella</b> (Ausencia/manos)	12	100,0	0	0,0	12 (100,0 %)
<b>TOTAL</b>	21	58,3 %	15	41,7 %	<b>36 (100,0 %)</b>

Los resultados del análisis microbiológico nos indican la efectividad de la higiene y si hay conocimiento de parte de la persona que realiza el proceso. En general, el estudio revela que el nivel de higiene en los manipuladores es deficiente, como consecuencia los alimentos producidos en estos puestos representan un riesgo para la población, el cual debe considerarse.

En la investigación no se encontraron patógenos (*Salmonella sp.*) en las manos de manipuladores que expenden alimentos en la sección comidas del Mercado Américas, cumplen con parte de lo especificado en la Guía Técnica, caso de *Salmonella sp.* Sin embargo, al hallarse otros contaminantes microbianos como Coliformes totales excediendo los límites; todas las muestras obtenidas de las manos de los manipuladores, se encuentran fuera de los límites que exige la R.M. 461-2007/MINSA, representando un riesgo para la salud del consumidor.

Diversos estudios realizados a nivel mundial han demostrado la gran variedad de serotipos y serovariedades de *Salmonella sp.* presentes en manipuladores de alimentos. En una investigación se encontró que, de las 4 cepas aisladas, 1(25 %) fue *S. agona*, 1 (25 %) *S. paratyphi*, 1(25 %) resultó *S. uganda* y 1(25 %) fue catalogada como *Salmonella sp.* (FLOREZ *et al.*, 2007).

## 5.2 Discusión

El incremento de brotes de ETA, fundamentó el estudio y la recolección de los datos para su análisis, donde se debe resaltar que el departamento de Apurímac muestra un 9.1 % de brotes y 14,5 % de hospitalizados por ETA. En relación al agente causal, hasta la semana 15 de septiembre del 2019, el 22,7 % (5/22) de los brotes fueron ocasionados por *Salmonella sp.* con *Escherichia coli*, el 9,1 % (2/22) por *Salmonella* y el 9,1 % (2/22) aún se encuentran en investigación (BORGONÑO, 2019).

En referencia a las características higiénicas del manipulador, se observó que el 100 % de los manipuladores encuestados en la sección comidas eran mujeres, las que a su vez realizaban las tareas de preparación del alimento, servido y recojo del dinero, solo el 17 % de los puestos contaban con personal de apoyo no permanente. Asimismo, debemos resaltar el alto porcentaje de personas sin carnet sanitario o certificado médico, el correcto uso de la vestimenta e higiene personal por parte del manipulador de alimentos es notable.

Al respecto el estudio de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) realizada en El Salvador detalla un riesgo que ocurre durante la manipulación de los alimentos haciendo referencia a las malas prácticas de manipulación en la que se observa a menudo una situación común, el manipulador que realiza la tarea de preparación y servido del alimento es el mismo que recoge el dinero de la venta, representando esta acción un peligro de contaminar los alimentos, al mismo tiempo refiere que no podrán manipular alimentos aquellas personas que padezcan de enfermedades infectocontagiosas como tuberculosis, tifoidea o enfermedades gastrointestinales, infecciones dérmicas (KOPPER, *et al.*, 2009).

Al respecto, se aplicó encuestas a las socias de los comedores en relación a la higiene personal, en el cual encontró que el 75 % de las madres aún no están seguras del uso adecuado del mandil durante todo el proceso de la manipulación de los alimentos. Así mismo, en el indicador sobre la utilización de joyas, el 90 % de las encuestadas reflejan un conocimiento acerca de las características del uso de joyas (TORRES, 2015),

En el estudio DA SILVA *et al.*, (2018), entrevistaron a 30 manipuladores, de los cuales el 80% respondió que no había realizado ningún curso de higiene alimentaria. En cuanto a la higiene de manos durante el manejo de las meriendas y el pago, el 43,33 % de los entrevistados respondió no lavarse las manos después de este procedimiento; de estos, el 77 % justificó la falta de local para este procedimiento. Del 56,67 % que respondieron lavarse las manos, realizan este proceso de limpieza con agua y detergente (47,06 %), solo con agua (23,53 %), agua y jabón (17,65 %), y agua con detergente más alcohol en gel (5,88 %).

Debemos resaltar que la limpieza y desinfección de manos es fundamental durante la manipulación y transformación de los alimentos, donde los manipuladores deben tener claras las normas de higiene que deberán seguir durante la elaboración de los platos. Es por eso que después del procedimiento de lavado de manos se recomienda secar las manos con toalla o papel desechable, pero uno de los puntos críticos que a menudo se observa es que luego del lavado el manipulador termina secándose las manos en el uniforme o con un secador que no se encuentra desinfectado. Lo que se recomienda es que el uso de los paños sea exclusivo para superficies, equipos como cocina y en caso no se cuente con papel desechable para secado de manos disponer de secadores exclusivo para las manos. Con respecto a Coliformes Totales donde la totalidad de muestras sobrepasaron el Limite Permisible, se observó diferencias importantes y lo que más resalta es el recuento elevado de este microorganismo en las manos de los manipuladores, resultado que representa un peligro importante al tratarse de personas que manipulan alimentos y que a diario expenden dichos productos en uno de los mercados más concurridos de nuestra ciudad.

Un estudio similar realizado en el mercado San Pedro, muestra resultados de coliformes según el tipo de puesto de venta; donde la sección comidas con el 72,2 %, sección escabeche con el 75 % y sección desayunos con el 80 % se encuentran entre las secciones con más altos porcentajes de Limites No Permisibles, presentando recuento de  $5 \times 10^4$  UFC/manos (HERRERA *et al.*, 2012).

La presencia de este microorganismo nos indica malas prácticas de higiene y manipulación por parte de los manipuladores, podría estar relacionado con muchos factores entre ellos la ausencia de jabón para manos y posterior uso de un desinfectante de gran eficacia para eliminar los microorganismos. Otro factor que se le asocia es el correcto secado de las manos y con los materiales adecuados por ejemplo el papel toalla. El destinar un secador de tela de uso exclusivo para las manos, podría reducir en nivel de contaminación ya que en la mayoría de casos se observa que utilizan el mismo secador para secar los utensilios o superficies lisas o aún peor utilizar su indumentaria para realizar este procedimiento.

El suministro de agua es un elemento importante para reducir el nivel de carga microbiana de las manos, sin embargo, como se observa en los resultados del estudio, el agua pudo ser otro factor contaminación, ya que se evidencio que hubo manipuladores que se lavaron las manos y aun así presentaron recuentos muy elevados de coliformes. La calidad del agua asociada a los procedimientos de lavado de manos es un factor cooperante a la hora de evaluar esta operación. Mujeres que lavaban sus manos con agua no clorada mostraron niveles de contaminación mayor que aquellas que lo hacían con agua tratada (LUBY *et al.*, 2001).



Uno de los microorganismos más recurrentes en las intoxicaciones de origen alimentario es *S. aureus*, en donde generalmente los manipuladores son quienes introducen estos microorganismos a la cadena de procesamiento de los alimentos. Se puede encontrar en las vías respiratorias nasales, garganta, piel y cabello del 50 % o más de individuos humanos sanos. Los manipuladores de alimentos son una fuente común de contaminación, aunque el equipo y la manipulación de alimentos las superficies en entornos de procesamiento también pueden contaminar los alimentos, siendo los de mayor riesgo los que se manipulan intensamente durante su preparación (HAIT, 2012).

En el hallazgo de *Staphylococcus aureus* en las manos de los manipuladores, debemos resaltar que los manipuladores realizan múltiples tareas (preparación, servido y cobro) lo que hace que el riesgo de los brotes de ETA sea mayor y difícil de determinar el origen de la contaminación. En un estudio en la ciudad de Tacna realizado a las manos de los manipuladores de 20 comedores encontraron que el 15 % de las muestras sobrepasaron los Límites Permisibles para *Staphylococcus aureus*, donde indican que dichos resultados se deberían principalmente por la escasez y/o mala calidad del agua utilizada, la deficiente higiene de los 87 manipuladores (vendedores) y el empleo de secadores sucios (GARCIA, 2015).

Herrera y Toribio, (2012) realizaron un estudio en el mercado San Pedro, donde se analizó *Staphylococcus aureus* en las superficies vivas de los manipuladores según el tipo de puesto de venta obteniéndose que la sección comidas y desayunos muestran resultados de Límites No permisibles con un 50 % y 40 % respectivamente. De la evaluación a la condición higiénica sanitaria a los manipuladores, se encontró que 40 % de manipuladores no contaban con uniforme completo y limpio, y el 51,1 % muestran deficiente higiene personal. Se detectó Límites no Permisibles al 68,9 % de puestos para coliformes totales en superficies vivas y al 37,8 % de puestos para *Staphylococcus aureus*. Así mismo se identificó la presencia de *Salmonella sp.*, en superficies vivas en el 4,4 % de puestos.

No se determinó si el agua es uno de los factores que contribuyó negativamente a la presencia de coliformes totales en las manos (superficies vivas) de los manipuladores. Sin embargo, las medidas de control para la calidad del agua, disposición de residuos y la capacitación continua a las personas que trabajan en preparación de los alimentos, debe ser una obligatoriedad para generar conocimiento y conciencia sobre la inocuidad alimentaria (KOPPER *et al.*, 2009).



## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1 Conclusiones

Los resultados del estudio con respecto a las condiciones higiénico sanitarias del manipulador nos indican deficiencias en cuanto a hábitos saludables y conocimientos para la manipulación de los alimentos. Se encontraron que el 75 % del total muestreado manifestaron no tener su carnet sanitario, el 66,7 % no cumplieron la característica manos limpias y sin joyas, 58,3 % de ellos no cumplieron con la característica cabello corto o recogido, protegido, entre otras características que aumentan el riesgo de ETA y la salud de los consumidores.

Se encontró que, el 100 % exceden los Límites Permisibles para Coliformes Totales de las muestras de superficies vivas (manos) obtenidas de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay

Se encontró que, el 25 % exceden los Límites Permisibles para *Staphylococcus aureus* de las muestras de superficies vivas (manos) obtenidas de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay.

No existe presencia de *Salmonella sp.* en las manos (superficies vivas) de los manipuladores de alimentos que expenden en los puestos de la sección comidas del mercado Américas de la ciudad de Abancay

## 6.2 Recomendaciones

Transmitir los resultados obtenidos a los responsables del área de Sanidad Ambiental de la Autoridad Municipalidad, quienes son los responsables de la administración del Mercado Américas, para que tomen las medidas de control necesarias.

Implementar programas que incluyan capacitaciones y talleres sobre Buenas Prácticas de Higiene, enfocado en un diagnóstico inicial, además resaltando temas como el Lavado correcto de manos y gestionar estrategias participativas para prevenir posibles contaminaciones.

Realizar planes de monitoreo para el control de calidad del agua, control microbiológico periódico para alimentos y bebidas, así como gestión de residuos, para poder establecer políticas de prevención para reducir los brotes de ETA, en los mercados de abastos de la ciudad de Abancay.

Realizar otros estudios sobre inocuidad en los principales mercados que abarquen otras variables como refrescos, jugos, comidas frías etc., de esta manera obtener información para elaborar planes de capacitación y monitoreo.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHÓN, F., CABRAL, P. y WALDE, L. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del Mercado N° 4 de Asunción, Paraguay. *Rev. ANACEM [en línea]*. Imbiomed. Mayo 2012, **6**(1), 14-17 [consultado el 2022-04-11]. Disponible en: [imbiomed.com.mx](http://imbiomed.com.mx)

ANAYA, V.E., et al. Nivel de conocimiento de los trabajadores de la salud sobre infecciones nosocomiales y su prevención. *Enf. Infecc. Microbiol. [en línea]*. Marzo 2009, **29**(1), 20-28 [consultado el 2021-07-12]. Disponible en: [medigraphic.com](http://medigraphic.com)

ARZU, Oscar, et al. Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Nordeste Argentino. *Fac. de Cs. Vet.- UNNE [en línea]*. 2002, **17**(1), 6-10 [consultado el 2022-01-22]. Disponible en: [xdoc.mx](http://xdoc.mx)

BORGÑO, N. Reporte de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en el Perú. *Boletín Epidemiológico del Perú [en línea]*. Abril 2019, **28**(15), 381-383 [consultado el 2022-09-17]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/publicaciones/boletines-epidemiologicos/>

BURKHARDT, W., et al. Manual Analítico Bacteriológico. Capítulo 4: Enumeración de *Escherichia coli* y la bacteria coliforme. Rev. Manual Analítico Bacteriológico, 8a ed. 1998. FDA [en línea]. 2020. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>

CARRASCO, M., GUEVARA, B. y FALCON, N. Conocimientos y buenas prácticas de manufactura en personas dedicadas a la elaboración y expendio de alimentos preparados, en el distrito de Los Olivos, Lima. *Salud y Tecnología Veterinaria [en línea]*. Rev. UPCH. 2014, **1**(1), 7-13 [consultado el 2022-01-18]. Disponible en: <https://doi.org/10.20453/stv.v1i1.104>

CARUAJULCA, F. Enfermedades transmitidas por los alimentos: necesidad de fortalecer la investigación epidemiológica de los brotes en el Perú. *Boletín Epidemiológico del Perú [en línea]*. MINSA. Junio 2019, **28**(24), 583-584 [consultado el 2022-05-07]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/publicaciones/boletines-epidemiologicos/>

CASTILLO, C. Brote de enfermedad transmitida por alimentos en la localidad Sullana del distrito y provincia Sullana, departamento de Piura. *Boletín Epidemiológico del Perú [en línea]*. MINSA/DGE. 2012, **21**(36), 593 [consultado el 2021-12-27]. Disponible en: [https://www.dge.gob.pe/Boletin\\_sem/2012/SE36/se36-04.pdf](https://www.dge.gob.pe/Boletin_sem/2012/SE36/se36-04.pdf)

CASTRO, B. Contaminación por coliformes en manos. *Studylib [en línea]*. ALS Life Sciences Colombia. 2020, [consultado el 2022-03-20]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/9019711/asesoria-contaminacion-por-coliformes-en-manosuperficies>.

DA SILVA, L., DA SILVA, W. y SILVA, M. Análisis microbiológico de las manos de los manipuladores de alimentos. *Revista de Epidemiología y Control de Infecciones [en línea]*. Redalyc. Enero 2020, **10**(1), 15-20 [consultado el 2022-02-02]. ISSN 2238-3360. Disponible en: <https://doi.org/10.17058/jeic.v1i1.12905>



DA SILVA, N., et al. Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual. Translation to English: Paul van Dender. *Taylor & Francis Group*. 2019, **2**(1), 10-300. ISBN 9781138091887.

DAVIDSON, P., ROTH, L. y GAMBRE, S. Chapter 7: Coliform and other indicator bacteria In: Wehr, H.M. & Frank, J.F (eds). *Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association [en línea]*. 2004, **17**(1), 187-226 [consultado el 2022-01-23]. Disponible en: <https://doi.org/10.2105/9780875530024ch07>

DIGESA. Guía para la aplicación del Sistema HACCP en mercados de abastos. *Dirección General de Salud Ambiental [en línea]*. MINSA. 2000, [consultado el 2022-04-13]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/353358-guia-para-la-aplicacion-del-sistema-haccp-en-mercados-de-abasto>

ESCALANTE, LG y ORTIZ, RM. Evaluación de la calidad microbiológica de refrescos naturales no pasteurizados comercializados en el interior de la Universidad de El Salvador. *Sistema Bibliotecario [en línea]*. 2010 [consultado el 2022-03-19]. Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2504>

FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Laboratory Methods (Food). Fuente: Manual Analítico Bacteriológico, 8ª Edición, Revisión A, 1998 [En línea]. FDA. 2020, [consultado el 2022-05-02]. Disponible en: [www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam](http://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam)

FLOREZ, A., et al. Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia. *Asociacion Colombiana de Infectologia [En línea]*. Scielo. 2007, **12**(4), 255-266 [consultado el 2022-06-15]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-3922008000400004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-3922008000400004&lng=en&nrm=iso)

GARCIA, F. Calidad microbiológica de superficies vivas e inertes en contacto con los alimentos de los comedores populares del distrito de Ciudad Nueva, Tacna. *Repositorio Institucional-UNJBG [En línea]*. 2015 [consultado el 2022-05-02]. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1921>

GRIMONT, P. y WEILL, F. Antigenic formulae of the salmonella serovars. Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. *Institute Pasteur [En línea]*. WHO. 2007, **1**(9), 1-166 [consultado el 2022-06-12]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/283428414\\_Antigenic\\_Formulae\\_of\\_the\\_Salmonella\\_serovars\\_9th\\_ed\\_Paris\\_WHO\\_Collaborating\\_Centre\\_for\\_Reference\\_and\\_Research\\_on\\_Salmonella](https://www.researchgate.net/publication/283428414_Antigenic_Formulae_of_the_Salmonella_serovars_9th_ed_Paris_WHO_Collaborating_Centre_for_Reference_and_Research_on_Salmonella)

GUTIERREZ, M., et al. Conocimiento sobre higiene en la manipulación de alimentos en manipuladores de mercados de abasto del distrito de El Tambo, Huancayo, Junín. *Journal of Agri-Food Science [En línea]*. Abril 2022, **3** (1), 77-84 [consultado el 2022-03-28]. Disponible en: <https://revistas.uncp.edu.pe/index.php/jafs/article/view/1445>



HAIT, J. *Staphylococcus aureus*. [ed.] K.A., Al-Khaldi, S. & Cahill, S.M. (eds) Bad Bug Book – Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. In: Lampel. *American Public Health Association [En línea]*. FDA. 2012, **1**(2), 86-91 [consultado el 2022-02-11]. Disponible en: <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.044>

HAMMERSLEY, M. and ATHINSON, P. *Métodos de Investigación. Editorial Paidós*. 1994. 2da edición. ISBN 8449309808.

HARRISON, J. Food Safety for Farmers Markets: A Guide to Enhancing Safety of Local Foods. *Food Microbiology and Food Safety [En línea]*. Springer International Publishing. 2017, 23–37 [consultado el 2022-03-17]. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-66689-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-66689-1_3)

HERRERA, A. y TORIBIO, J. Evaluación de la calidad higiénico sanitaria de superficies en los puestos dedicados al expendio de alimentos y bebidas de consumo inmediato del mercado "San Pedro", y propuesta de un manual de normas y procedimientos. microbiologicos. *Repositorio-UNSAAC [En línea]*. 2012 [consultado el 2021-11-12]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12918/841>

HYEON, J., et al. Una comparación de los métodos de subtipificación para diferenciar los aislados de *Salmonella enterica* Serovar *enteritidis* obtenidos de fuentes alimentarias y humanas. *Perspectivas de salud pública e investg. de Osong [En línea]*. Elsevier. 2013, **4**(1), 27-33 [consultado el 2022-02-27]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phrp.2012.12.005>

ICMSF. Microorganismos de los alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos. *Acribia*. 2000. **1**(2). 439. ISBN 8420009083.

INEI. Censo nacional de mercados de abastos y directorio nacional de mercados. *Instituto Nacional de Estadística e Informática [En línea]*. Biblioteca Nacional del Perú. Julio 2017 [consultado el 2022-05-02]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/4201813/Resultados%20del%20Censo%20Nacional%20=1677614542>

KONEMAN, A. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. *Lippincott Williams and Wilkins*. 2006, 5ta edición. ISBN 0397515294.

KOPPER, G., et al. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. FAO. 2009. ISBN 9789253061532.

LUBY, S., et al. Microbiologic effectiveness of hand washing with soap in a urban squatter settlement, Karachi, Pakistan. *Epidemiol. Inf.* 2001, **127**(1), 237-244.

MARTIN, A. y BAYONA, R. Prevalencia de Salmonella y Enteroparasitos en alimentos y manipuladores de alimentos de ventas ambulantes. *Revista UDCA [En línea]*. 2012, **931**(1), 12-19 [consultado el 2022-07-15]. Disponible en: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/824>



MINSA. Enfermedades diarreicas agudas en Apurimac. *Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades [En línea]*. 2017, **47**(1) [consultado el 2021-10-05]. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2017/SE22/edas.pdf>

MINSA/DIGESA. Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto. R.M. N° 282-2003-SA/DM. Marzo 2003. 240905.

MOSSEL, A, MORENO, B. y STRUIJK, C. Microbiología de los alimentos. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la integridad (Inocuidad y Calidad) Microbiológica de los Alimentos. Editorial Acribia. 2003, 2da ed. ISBN 8420009989.

OLEA, A, et al. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Rev. chil. infectol. [En línea]*. 2012, **29**(5), 504-510 [consultado el 2022-10-22]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182012000600004>

OMS. Estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. Design by Paprika-Annecey. WHO. 2015. ISBN 9789241565165.

OPS. Manual para Manipuladores de Alimentos. Instructor. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. 2016. ISBN: 9789275319024; 9789253093205 (FAO). Disponible en: [www.paho.org](http://www.paho.org)

PADILLA, J. Validación Secundaria del método de recuento en placa en superficie de *Bacillus Cereus* y *Staphylococcus aureus* en muestras de alimentos en un laboratorio de referencia. *Repositorio Institucional - Pontificia Universidad Javeriana [En línea]*. 2007 [consultado el 2022-10-12]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/8666>

PEÑA, B. y SALAS, R. 2016. Relación entre el nivel de conocimiento de manipuladores de alimentos y las condiciones higiénico-sanitarias en comedores populares de Huaycán (Ate, Lima). *Catedra Villareal [En línea]*. Diciembre 2016, **1**(2), 191-206 [consultado el 2022-02-15]. ISSN 2311-2212. Disponible en: <https://doi.org/10.24039/cv20164273>

PERDOMO, I y MELÉNDEZ, P. Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigenicos a partir de alimentos. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas [En línea]*. Enero 2004, **33**(1), 59-69 [consultado el 2021-06-21]. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/1663>

PHILIP, F., et al. Detección de Salmonella en queso fresco, productos avícolas y ovoproductos secos mediante el procedimiento de cultivo de Salmonella ISO 6579 y el método oficial AOAC: estudio colaborativo. *JAOAC Int. [En línea]*. 2003, **86**(2), 275-295 [consultado el 2022-01-22]. Disponible en: PubMed (nih.gov)

RICHARDSON, A., LIBBY, S. y FANG, F. Una lactato deshidrogenasa inducible por óxido nítrico permite que *Staphylococcus aureus* resista la inmunidad innata. *Ciencia (Nueva York, N.Y.) [En línea]*. 2008, **319**(5870), 1672-1676 [consultado el 2021-10-19]. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/science.1155207>



SCHLEIFER, K. y BELL, J. Genus I Staphylococcus Rosenbach 1884. In: DeVos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A. Schleifer, K. & Whitman, W.B. (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer. 2009. **3**(2), 392-421.

SERJAN, M. y SARACENI, L. Higiene de manos. *Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá [En línea]*. 2005, **24**(4), 158-163 [consultado el 2021-12-16]. ISSN 1514-9838. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91204104>

TERRAGNO, R., et al. Manual de procedimientos. Salmonella: Parte I. Aislamiento, Identificación y Serotipificación. *Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Global Salm - Surv y CDC*. 2003.

TORRES, K. Conocimiento sobre higiene en la manipulación de alimentos en relación con la carga microbiológica en manos de las socias que manipulan alimentos en los comedores populares del distrito de Juliaca, Puno. *Repositorio Institucional UNAP*. 2015. Disponible en: [<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2194>

URRUTIA, M., et al. Estandarización de una técnica para la detección de Salmonella spp. útil en Manipuladores de Alimentos mediante Técnica de Amplificación Molecular. *Ciencia y Trabajo [En línea]*. Diciembre 2006, **8**(22), 164-166 [consultado el 2022-10-09]. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/gim/resource/en/lil-471382>

VARGAS, E. Las enfermedades transmitidas por alimentos. *Boletín Epidemiológico del Perú [En línea]*. MINSA. Febrero 2019, **28**(08), 191-192 [consultado el 2022-03-21]. Disponible en <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/publicaciones/boletines-epidemiologicos/>

WALLACE, A., et al. Manual Analítico Bacteriológico (BAM ). Capítulo 5: *Salmonella*. FDA [En línea]. 2022, 8ª ed. [consultado el 2021-12-07]. Disponible en <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-5-salmonella>

WORMSER, G. y STRATTON, C. Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. Editado por Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Marie Louise Landry y Michael A. Pfaller. ASM Press, 2007. 2488. *Clinical Infectious Diseases [En línea]*. Enero 2008, **46**(1), 153 [consultado el 2022-09-07]. Disponible en: <https://doi.org/10.1086/524076>

WORSFOLD, D., WORSFOLD, P. y GRIFFITH, C. Una evaluación de la higiene y seguridad alimentaria en los mercados de agricultores. *Revista Internacional de Investigación en Salud Ambiental [En línea]*. Abril 2004, **14**(2), 109-119 [consultado el 2021-11-27]. ISSN 13691619. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/0960312042000209507>



# ANEXOS



## Anexo 1

Tabla 7 — Formato de Vigilancia Sanitaria de Mercados de Abasto

Identificación del Mercado y del Puesto				
1. Nombre del mercado:				
2. Razón social:				
3. N° de puesto:				
4. Alimento que comercializa:				
Identificación De Vendedores		Identificación de la Inspección		
Vendedor 1 o titular		Inspección	Inspect or	Fecha
Vendedor 2				
<b>1. Alimento</b>	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	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			
1.4 Carnes, aves, pescados y mariscos totalmente cocidos	4			
TOTAL	16			
<b>2. Buenas Prácticas de Manipulación (BPM)</b>	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 4
2.1 Aplica temperatura de frío en la conservación (5 °C o menos)	4			
2.2 Protege alimentos exhibidos	4			
2.3 Recalienta porción a temperatura de seguridad (60 °C a mayor)	4			
2.4 Prueba los alimentos en forma adecuada	4			
2.5 Usa agua segura (0,05 ppm)	4			
2.6 Desinfecta utensilios, vajilla, superficies y secadores	4			
2.7 Seca utensilios por escurrimiento o con secador limpio	2			
2.8 Sirve o despacha en vajilla limpia y desinfectada o descartable de primer uso	4			
TOTAL	30			
<b>3. Vendedor</b>	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	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			
TOTAL	16			
<b>4. Ambiente y Enseres</b>	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	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 y limpios	4			
4.4 Mostrador de exhibición en buen estado y limpio	4			
4.5 Paños, 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			
TOTAL	36			
<b>5. Calificación del Puesto</b>	Valor (**)	Insp. 1	Insp. 2	Insp. 4
5.1 PUNTAJE TOTAL DEL PUESTO (1+2+3+4)	98			
5.2 PORCENTAJE DE CUMPLIMIENTO	100			
5.3 COLOR (pinte el recuadro según la referencia)				
<b>6. Observaciones</b>	<b>7. Referencia</b>			
Inspección 1	Puntaje y porcentaje de cumplimiento		Color	Calificación
Inspección 2	74 puntos a más (75 % a 100 %)		Verde	Aceptable
Inspección 3	49 puntos a 73 puntos (50 % a 75 %)		Amarillo	Regular
Inspección 4	0 a 48 puntos (menos del 50 %)		Rojo	No aceptable

Extraído de (R.M. N° 282-2003-SA/DM)



Anexo 2

Tabla 8 — Ficha para Evaluación del Manipulador

CONOCIMIENTOS SOBRE HIGIENE DEL MANIPULADOR DE ALIMENTOS QUE EXPENDEN EN LOS PUESTOS DE LA SECCIÓN COMIDAS EN EL MERCADO AMÉRICAS		
1. Nombre del mercado:		
2. Razón social:		
3. N° de puesto:		
4. Alimento que comercializa:		
Identificación de Manipulador		
1. Nombre:		
2. Edad:		
3. Sexo:		
Características	Cumple	No cumple
1. Sin episodio actual de enfermedad, sin heridas ni infecciones en piel y mucosas		
2. Manos limpias y sin joyas		
3. Uñas cortas, limpias y sin esmalte		
4. Cabello corto o recogido,		
5. Sin maquillaje facial		
6. Uniforme completo, limpio y de color claro		
7. Carnet Sanitario o Certificado Médico		
8. Tablas de picar en buen estado y limpia		
9. Paños, secadores limpios y desinfectados		
Puntaje		
Observaciones	Referencia	
CUMPLE: 1 NO CUMPLE: 0	Puntaje y porcentaje de cumplimiento	Calificación
	(75 % a 100 %) (50 % a 75 %) (menos del 50 %)	Acceptable Regular No Acept.

Extraído de (R.M. N° 282-2003-SA/DM)



## Anexo 3

**Tabla 9 — Cantidad de muestra necesaria, condiciones de conservación y tiempo de transporte para Ensayos Microbiológicos**

Tipo de ensayo	Tipo de Muestra	Tipo de envase	Cantidad de muestra (a)	Conservación	Tiempo máximo para el transporte al laboratorio (d)
Microbiológico	Alimentos preparados (Sólidos).	Bolsa de plástico primer uso.	200 g (b)	Refrigeración (0 a 4 °C).	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Alimentos preparados (Líquidos).	Bolsa de plástico primer uso.	200 ml (b)	Refrigeración (0 a 4 °C).	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Superficies inertes.	Frasco de vidrio (Proporcionado por el Laboratorio).	100 ml Solución diluyente.	Refrigeración (0 a 4 °C).	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Superficies vivas.	Frasco de vidrio (Proporcionado por el Laboratorio).	100 ml Solución diluyente.	Refrigeración (0 a 4 °C).	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.
Microbiológico	Alimentos y bebidas envasadas.	Envase original.	200 g o ml (c)	Temperatura ambiente.	Tan rápido como sea posible y antes de su fecha de vencimiento.
Prueba de esterilidad.	Conservas	Envase original.	3 envases (b)	Temperatura ambiente.	Tan rápido como sea posible y antes de su fecha de vencimiento.
Microbiológico	Hortalizas y frutas.	Bolsa de plástico primer uso.	500 g (b)	Refrigeración (0 a 4 °C).	Dentro de las 24 horas.
Microbiológico	Productos congelados (Ej. productos cárnicos)	Envase original o bolsa de plástico de primer uso.	200 g (b)	Refrigeración (0 a 4 °C).	Dentro de las 24 horas.

Extraído de (D.S. N° 032-MINSA-DIGESA - ANEXO 01)

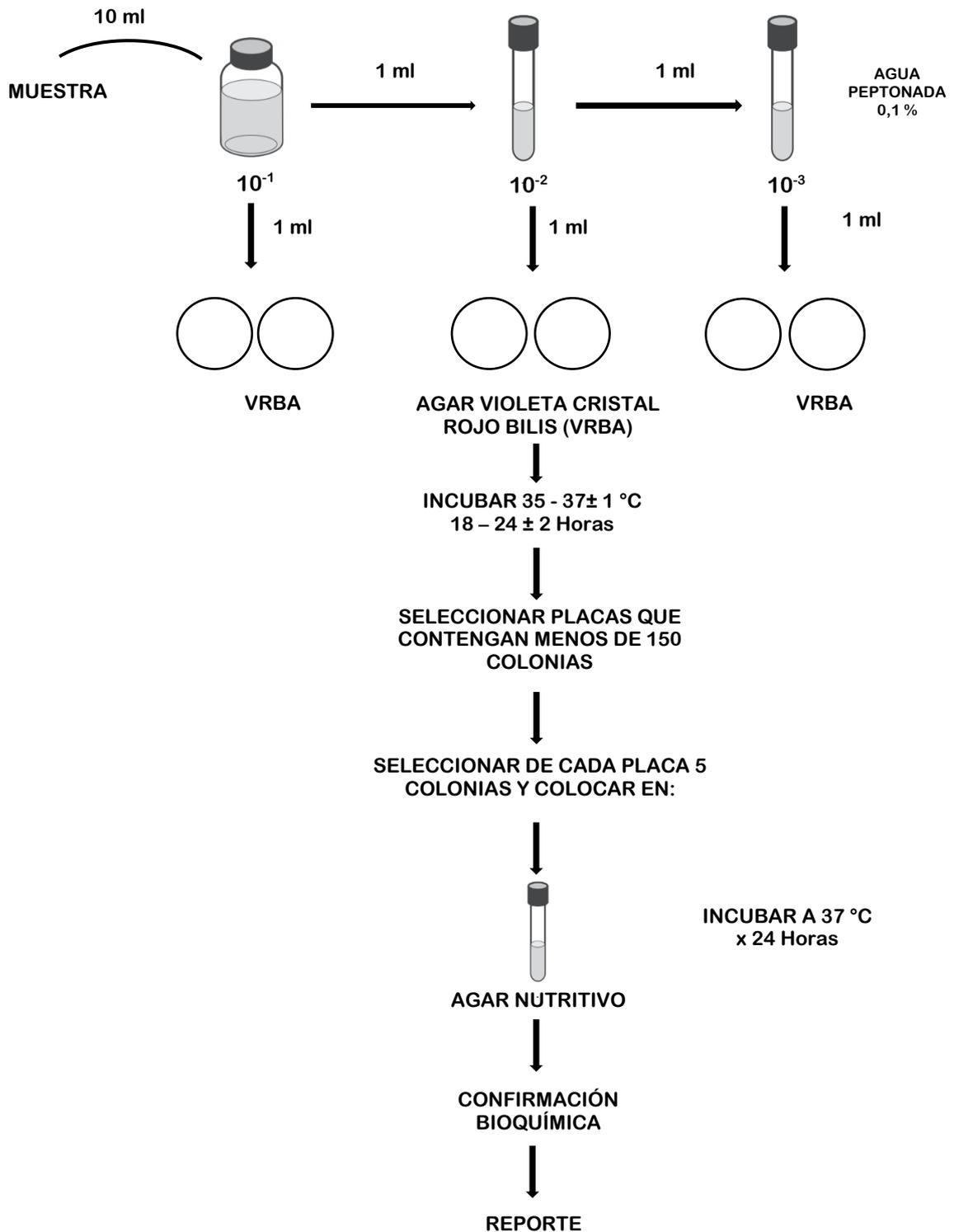
(a) Cantidad de muestra mínima correspondiente para cada unidad de muestra.

(b) La cantidad de muestra podría ser menor solo en el caso de alimentos que se sospeche estén involucrados en un brote de intoxicación alimentaria.

(c) Para alimentos envasados cuya presentación sea menor a la cantidad de muestra indicada, deberán coleccionar tantas unidades como sea necesaria para alcanzar la cantidad de muestra requerida.

(d) Dado que toda manipulación de las muestras puede determinar cambios en mayor o menor medida de su condición microbiológica, físico-química o sensorial, es necesario que su transporte al Laboratorio sea realizado lo más rápido posible y en condiciones adecuadas de mantenimiento.

### Anexo 4



**Figura 4 — Diagrama de secuencia para análisis de Coliformes Totales**

Extraído de (BAM/FDA Chapter 4. Rev. 2022)

### Anexo 5

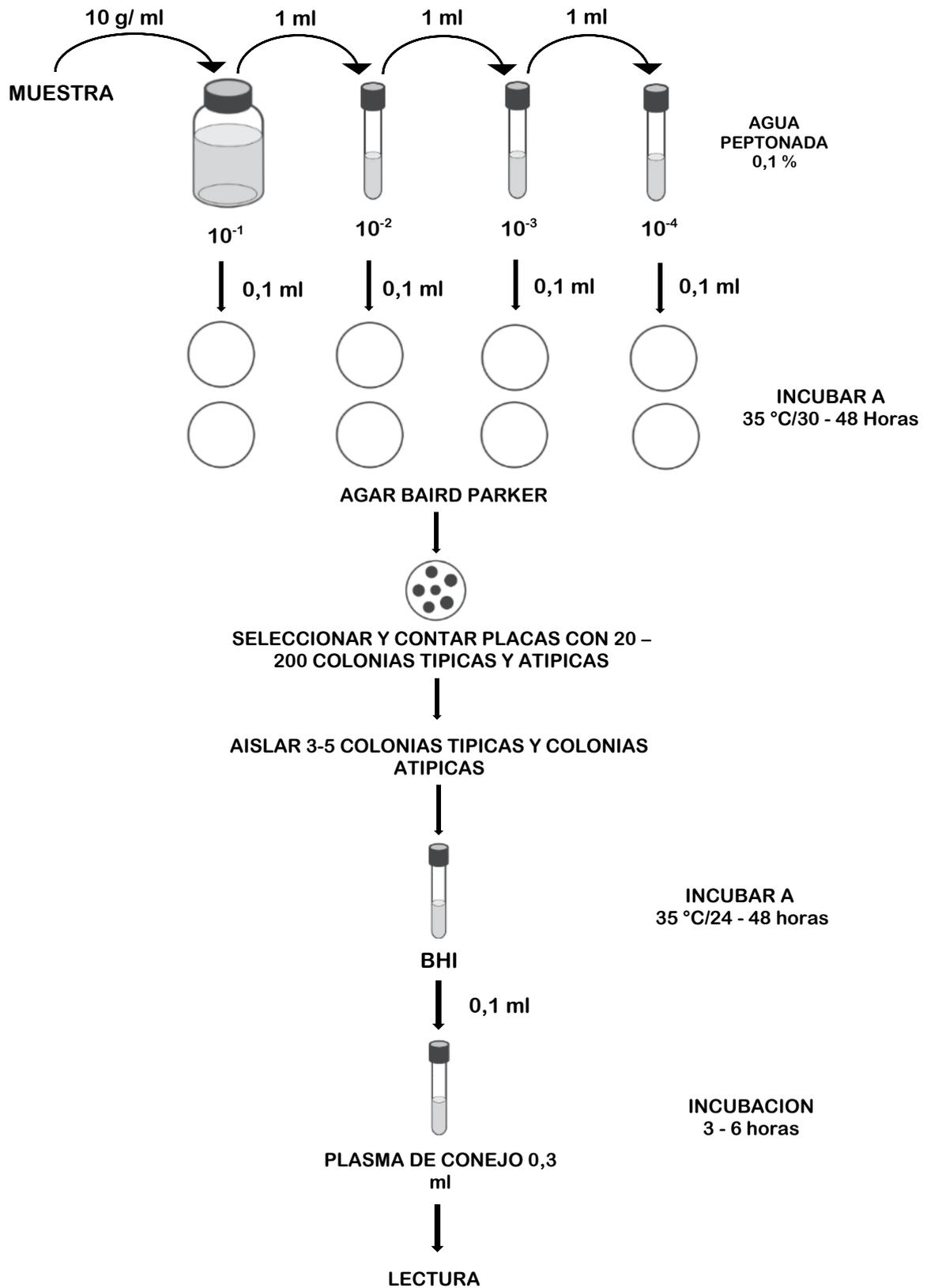
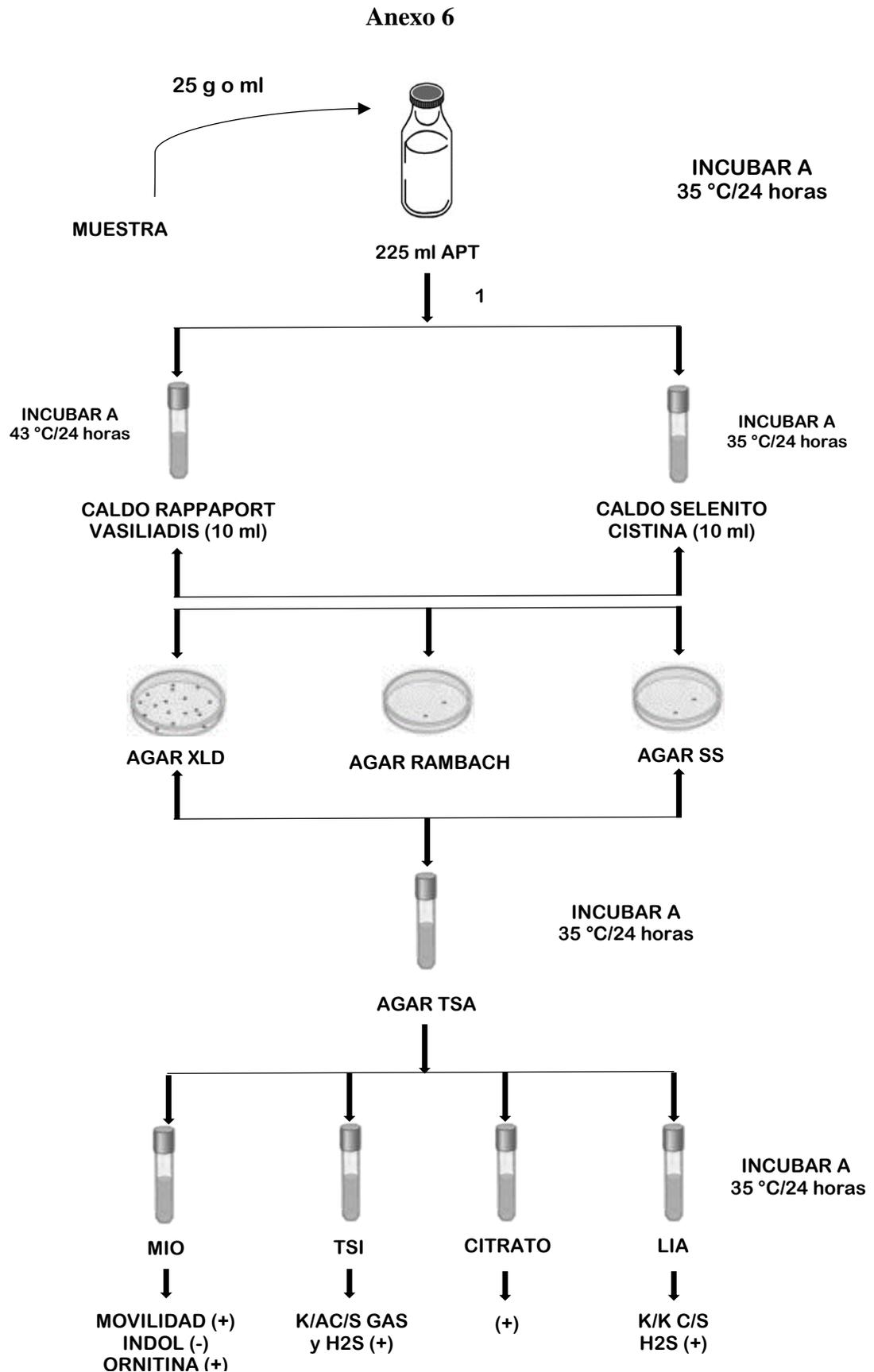


Figura 5 — Diagrama de secuencia para análisis de *Staphylococcus aureus* Coagulasa Positivo

Extraído de (BAM/FDA Chapter 12. Rev. 2016)





**Figura 6 — Diagrama de secuencia de análisis para detección de *Salmonella* sp.**

Extraído de (ICMSF Vol. 1. Reimpresión, 2000)

**Anexo 7**  
**Fotografías**

**Figura 7 — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay**

**Figura 8 — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay**

**Figura 9 — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay**

**Figura 10 — Toma de muestra de las manos de manipuladores de alimentos de la sección comidas del mercado Américas de Abancay**

## Anexo 8

### **Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. R.M. N° 461-2007/MINSA**

#### **1. Finalidad**

La presente Guía Técnica tiene por finalidad contribuir a asegurar la calidad sanitaria indispensable en la fabricación, elaboración y expendio de alimentos y bebidas destinados al consumo humano y a la implementación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points).

#### **2. Objetivos**

- 2.1. Uniformizar los procedimientos que se deben aplicar en la selección, toma de muestras y para los análisis microbiológicos de superficies vivas e inertes.
- 2.2. Establecer los límites microbiológicos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas.
- 2.3. Proporcionar a la Autoridad Sanitaria un instrumento para evaluar la efectividad de los Programas de Higiene y Saneamiento (PHS) y de Buenas Prácticas de Higiene en la manipulación de los alimentos.

#### **3. Ámbito de aplicación**

La presente Guía Técnica es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de vigilancia y control sanitario por parte de la Autoridad Sanitaria, según el ámbito de su competencia. Asimismo, la presente Guía Técnica podrá ser utilizada referencialmente por personas naturales o personas jurídicas en las operaciones de control sanitario que realicen.

#### **4. Procedimientos a estandarizar**

La presente Guía Técnica estandariza los procedimientos para la selección, toma de muestras y análisis microbiológicos; y establece los límites microbiológicos para superficies que están en contacto o relación directa con los alimentos.

#### **5. Definiciones Operativas**

**Análisis microbiológico:** Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.



**Calidad sanitaria:** Es el conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe cumplir un alimento para ser considerado inocuo y apto para el consumo humano.

**Límites microbiológicos:** Son los valores permisibles de microorganismos presentes en una muestra, que indican la aceptabilidad higiénico sanitaria de una superficie.

**Gel refrigerante:** Producto acumulador de frío, de descongelamiento retardado, no tóxico, no comestible y reutilizable que se emplea para mantener la cadena de frío.

**Hisopo:** Instrumento que tiene un extremo recubierto de algodón o de rayón estéril que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.

**Manipulador de alimentos:** Toda persona que a través de sus manos toma contacto directo con alimentos envasados o no envasados, equipos y utensilios utilizados para su elaboración y preparación o con superficies que están en contacto con los alimentos.

**Peligro:** Agente biológico, químico o físico presente en un alimento o superficie que está en contacto con los alimentos y que pueden ocasionar un efecto nocivo para la salud.

**Riesgo:** Probabilidad de que ocurra un efecto nocivo para la salud y la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos, ocasionado por el contacto con superficies vivas (manipulación) o inertes contaminadas.

**Superficies inertes:** Son todas las partes externas y/o internas de los utensilios que están en contacto con los alimentos, por ejemplo, equipos, mobiliario, vajilla, cubiertos, tabla de picar, etc.

**Superficies vivas:** Las partes externas del cuerpo humano que entran en contacto con el equipo, utensilios y alimentos durante su preparación y consumo. Para efectos de la presente Guía se considera a las manos con o sin guantes del manipulador de alimentos.

**Vigilancia sanitaria:** Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad Sanitaria sobre las condiciones sanitarias de las superficies que están en contacto con los alimentos y bebidas, en protección de la salud de los consumidores.

## 6. Conceptos Básicos

### 6.1. Operaciones en campo

Las operaciones en campo son aquellas que se realizan en el establecimiento donde se procesan, elaboran, almacenan, fraccionan o expendan alimentos y bebidas, sea fábrica, almacén, servicios de alimentos, quiosco, puesto, comedor, u otro.

Comprende las siguientes operaciones consecutivas, realizadas por personal capacitado en la materia:



- a. Procedimiento para la selección de la muestra.
- b. Selección del método de muestreo.
- c. Procedimiento para la toma de muestra.

## 6.2. Operaciones analíticas

Las operaciones analíticas son aquellas que se realizan en un laboratorio destinado y acondicionado para el control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas.

Comprende las siguientes operaciones consecutivas, realizadas por personal capacitado en la materia:

- a. Determinación de los ensayos microbiológicos.
- b. Procedimiento de análisis microbiológicos.
- c. Cálculo y expresión de resultados.
- d. Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos.

## 7. Consideraciones específicas: Operaciones en Campo

### 7.1. Procedimiento para la selección de la muestra

El procedimiento para seleccionar las muestras, debe estar en función de los riesgos sanitarios relacionados a las diferentes etapas de la cadena alimentaria, sea la de fabricación, la de elaboración y/o expendio.

#### En fábricas de alimentos y bebidas

**a) Superficies inertes** Se seleccionarán aquellas que están o tendrán contacto directo con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro que disminuya la carga microbiana.

**b) Superficies vivas** Se seleccionarán a los manipuladores de alimentos, con o sin guantes, que estén en contacto directo con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro tratamiento que disminuya la carga microbiana.

#### En establecimientos de elaboración y expendio

**a) Superficies inertes:** Se seleccionarán aquellas superficies que están en contacto con los alimentos destinados al consumo directo, como utensilios, vajilla, superficies de corte, menaje, equipos, entre otros.

**b) Superficies vivas:** Se seleccionarán las manos de los manipuladores, con o sin guantes, que estén en contacto con los alimentos destinados al consumo directo.



## 7.2. Selección del método de muestreo

La selección del método de muestreo debe estar en función de las características de la superficie a muestrear.

**Tabla 10 — Selección del método de muestreo**

<b>Método de Muestreo</b>	<b>Superficies a muestrear</b>
Método del Hisopo	Se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes y otros.
Método de la Esponja	El método de la esponja se utiliza preferentemente para muestrear superficies de mayor área.
Método del Enjuague	Se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.

## 7.3. Procedimiento para la toma de muestra

### 7.3.1. Método del hisopo

**a) Descripción:** Consiste en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo.

**b) Materiales:**

- Hisopos de algodón u otro material equivalente, de largo aproximado de 12 cm.
- Tubo de ensayo con tapa hermética conteniendo 10 ml de solución diluyente estéril. Se agregará una solución diluyente con neutralizante como alternativa. (Ver Anexo 1).
- Plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 100 cm<sup>2</sup> (10 cm x 10 cm) o alternativamente, plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 25 cm<sup>2</sup> (5 cm x 5 cm).
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes

**c) Procedimiento:**

1. Colocar la plantilla (10 cm x 10 cm) sobre la superficie a muestrear.
2. Humedecer el hisopo en la solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
3. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior. Asegurar el hisopado en toda la superficie.
4. En el caso de utilizar la plantilla de 5 cm x 5 cm, repetir esta operación 3 veces más, en lugares diferentes de la misma superficie, para obtener 100 cm<sup>2</sup>.
5. Colocar el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual debe ser eliminada.
6. Para superficies irregulares, en el caso de utensilios, se repetirá la operación con 3 utensilios más (total 4 como máximo), con el mismo hisopo, considerando el área que está en contacto con el alimento o con la boca.
7. Si no se toman las 4 muestras, se debe anotar en la Ficha de Toma de Muestra.

**d) Conservación y Transporte de la muestra**

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10 °C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10 °C invalidan la muestra para su análisis.

**7.3.2. Método de la esponja**

**a) Descripción:**

Consiste en frotar con una esponja estéril, previamente humedecida en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo.

**b) Materiales:**

- Esponja estéril de poliuretano o de celulosa, de 5 cm x 5 cm.
- Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm<sup>2</sup> (10 cm x 10 cm).



- Frascos con tapa rosca de 250 ml de capacidad, con 100 ml de solución diluyente estéril.
- Pinzas estériles.
- Bolsas de polietileno de primer uso. o Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes.

**c) Procedimiento:**

1. Retirar la esponja de su envoltura con la pinza estéril o con guantes descartables o bien usar una bolsa de primer uso, invertida a manera de guante.
2. Humedecer la esponja con la solución diluyente estéril (aproximadamente 10 ml).
3. En condiciones asépticas frotar vigorosamente el área a muestrear. En el caso de superficies regulares, frotar el área delimitada por la plantilla y en las superficies irregulares (cuchillas, equipos, utensilios, etc), frotar abarcando la mayor cantidad de superficie.
4. Colocar la esponja en el frasco con el resto de la solución diluyente o alternativamente colocar la esponja con la muestra en una bolsa de plástico de primer uso.
5. Para el caso específico de utensilios se deberá repetir la operación con 3 utensilios más (total 4 como máximo), con la misma esponja, considerando el área que está en contacto con el alimento o con la boca.
6. Las tazas, copas o vasos se muestrearán 2 a 3 cm alrededor del borde por dentro y por fuera.

**d) Conservación y Transporte de la muestra**

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10 °C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10 °C invalidan la muestra para su análisis.



### 7.3.3. Método del enjuague

#### a) Descripción:

Dependiendo de la muestra, el método consiste en realizar un enjuague (botellas, frascos, utensilios, similares) o inmersión (manos, objetos pequeños) en una solución diluyente.

#### b) Materiales:

- Frascos con tapa hermética de boca ancha de 250 ml de capacidad, con 100 ml de solución diluyente estéril.
- Bolsas de polietileno de primer uso.
- Pinzas estériles. o Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes.

#### c) Procedimiento:

##### Para manos

- Vaciar el diluyente del frasco (100 ml) en una bolsa plástica de primer uso
- Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.
- Solicitar al manipulador que realice un frotado de los dedos y particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, adicionalmente el muestreador deberá realizar la misma operación a través de las paredes de la bolsa, durante un (01) minuto aproximadamente.
- Luego de retirar las manos se regresa el líquido al frasco o se anuda la bolsa y ésta se coloca en otra bolsa para que esté segura; en este caso, la bolsa que se utilice debe ser estéril.

##### Para recipientes (frascos, jarras, otros)

1. Vaciar en el recipiente a muestrear una parte de la solución estéril (frasco con 100 ml) y agitar vigorosamente.
2. Regresar la solución a su frasco original.
3. Cerrar herméticamente el frasco para su traslado.

### Para objetos pequeños (piezas de equipos, otros)

1. Se introduce individualmente cada objeto en el frasco o bolsa con la solución estéril y agitar vigorosamente.
2. Luego con una pinza estéril, retirar el objeto pequeño del frasco o bolsa.
3. Si se muestrea más de un objeto pequeño de igual naturaleza, se debe considerar esto en el cálculo de resultados a fin de evitar reportes inexactos.

### d) Conservación y Transporte de la muestra

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10 °C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10 °C invalidan la muestra para su análisis.

## 8. Consideraciones Específicas: Operaciones Analíticas

### 8.1. Selección de ensayos

Los ensayos a realizar serán según el tipo de superficie que ha sido muestreada

**Tabla 11 — Selección de ensayos**

Ensayos	Superficies vivas	Superficies inertes
Indicadores de Higiene	Coliformes totales	Coliformes totales
	<i>Staphylococcus aureus</i> (*)	-

(\*) En el caso de superficies el *S. aureus* es considerado un indicador de higiene ya que la toxina es generada en el alimento.

Se considerará la búsqueda de patógenos tales como: *Salmonella sp.*, *Listeria sp.*, *Vibrio cholerae*, en caso signifiquen un peligro para el proceso. Para la detección de patógenos se deberá tomar una muestra diferente (de la misma superficie) a la muestreada para indicadores de higiene.

## 8.2. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del hisopo

Procedimiento de análisis microbiológicos Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la Organización Internacional para la Estandarización (ISO: Internacional Organization for Standardization), Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Internacional de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International), Administración de Alimentos y Drogas/Manual Analítico Bacteriológico (FDA/BAM: Food and Drug Administration/Bacteriological Analytical Manual), Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF: Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods), Asociación Americana para la Salud Pública / Compendio de Métodos para el Análisis Microbiológico de Alimentos (APHA/CMMEF: American Public Health Association / Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods), entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

### Cálculo y expresión de resultados

#### a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 mL) y se dividirá entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm<sup>2</sup>).

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usada.

#### b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

-Para superficies regulares en:  $ufc / cm^2$ :

-Para superficies irregulares en:  $ufc / superficie\ muestreada$  (ej. cuchilla de licuadora, cuchara, etc.). Se deberá expresar la cantidad de superficies muestreadas. (ej.  $ufc / 4\ cucharas$ ).

## c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

Tabla 12 — Interpretación de resultados para método del hisopo

Superficies				
Método Esponja	Superficie Regular		Superficie irregular	
Ensayo	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (* )	Límite de detección del Método	Limite Permisible (* )
Coliformes Totales	< 0,1 ufc/cm <sup>2</sup>	< 1 ufc/cm <sup>2</sup>	< 10 ufc/ superficie muestreada	< 10 ufc/ superficie muestreada
Patógeno	Ausencia/ superficie muestreada en cm <sup>2</sup> (**)	Ausencia/ superficie muestreada en cm <sup>2</sup> (**)	Ausencia/ superficie muestreada	Ausencia/ superficie muestreada

(\* ) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(\*\*) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm<sup>2</sup>

## 8.3. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método de la esponja

**Procedimiento de análisis microbiológico**

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

**Cálculo y expresión de resultados****a) Cálculo**

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 ml) y se dividirá entre el área de la superficie muestreada (100 cm<sup>2</sup>).

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 ml) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. cuchillas de licuadoras, utensilios como cucharas, vasos, etc.).

**b) Expresión de resultados**

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares: ufc/ cm<sup>2</sup>

- Para superficies irregulares: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, etc).

### c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

**Tabla 13 — Interpretación de resultados para método de la esponja**

Método Esponja	Superficies			
	Superficie Regular		Superficie irregular	
Ensayo	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (* )	Límite de detección del Método	Limite Permisible (* )
Coliformes Totales	< 1 ufc/cm <sup>2</sup>	< 1 ufc/cm <sup>2</sup>	< 25 ufc/ superficie muestreada	< 25 ufc/ superficie muestreada
Patógeno	Ausencia/ superficie muestreada en cm <sup>2</sup> (**)	Ausencia/ superficie muestreada en cm <sup>2</sup> (**)	Ausencia/ superficie muestreada	Ausencia/ superficie muestreada

(\* ) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(\* ) Para 4 utensilios

(\*\*) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm<sup>2</sup>

### 8.4. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del enjuague

Procedimiento de análisis microbiológico Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

#### Cálculo y expresión de resultados

##### a) Cálculo

Para superficies vivas: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 ml).

Para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, entre otros, el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 ml) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. envases, bolsas de plástico).

**b) Expresión de resultados**

Los resultados se expresarán:

- Para superficies vivas: ufc/manos.
- Para superficies internas: ufc/superficie muestreada (ej. envases, bolsas de plástico, etc).

**c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos**

**Tabla 14 — Interpretación de resultados para método de enjuague**

Superficies				
Método Enjuague	Vivas		Pequeñas o internas	
Ensayo	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de detección del Método	Limite Permisible (*)
Coliformes Totales	<100 UFC/ manos	< 100 UFC/ manos	25 UFC/ superficie muestreada (**)	25 UFC/ superficie muestreada (**)
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 UFC /manos	< 100 UFC /manos	–	–
Patógeno ( <i>Salmonella sp.</i> )	Ausencia/ manos	Ausencia/ manos	Ausencia/ superficie muestreada	Ausencia/ superficie muestreada

(\*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia

(\*\*) Para 4 utensilios

