

**UNIVERSIDAD NACIONAL SAN ANTONIO ABAD DEL
CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS, FISICAS, MATEMATICAS, FARMACIA E
INFORMATICA**

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



**DETERMINACION DEL CUMPLIMIENTO DE LAS NORMAS DE HIGIENE Y DE LA CALIDAD
SANITARIA EN ALIMENTOS PREPARADOS Y EXPENDIDOS EN KIOSCOS ESCOLARES DE
COLEGIOS NACIONALES DEL DISTRITO DE WANCHAQ - CUSCO**

**Proyecto presentado por:
BACH. EUFRACIO DAVID ALVAREZ LUZA**

**Para optar el título profesional de:
QUÍMICO FARMACEÚTICO**

**Asesora:
Q.F. TATIANA DEL CASTILLO YAÑEZ**

**Co- asesores:
DRA. DARIELA FLORES CALDERON
QCO. YANET GONZALES BELLIDO**

**TESIS AUSPICIADA POR EL CONSEJO DE INVESTIGACION DE LA UNSAAC
CUSCO-PERU**

2011

INDICE GENERAL

PRESENTACION	I
INTRODUCCION	II
RESUMEN	IV

CAPITULO I

1. GENERALIDADES	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA	4
1.3. OBJETIVO	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. HIPOTESIS	5
1.5. JUSTIFICACION	5
1.6. LIMITACIONES	6

CAPITULO II

2. MARCO TEORICO CONCEPTUAL	7
2.1. ANTECEDENTES	7
2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES	7
2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES	13
2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES	16
2.2. ESTADO DE LA CUESTIÓN	20
2.3. BASES TEORICO CIENTIFICAS	22
2.3.1. CALIDAD SANITARIA	24
2.3.2. HIGIENE DE LOS ALIMENTOS	24
2.3.3. ALIMENTOS SEGUROS	25
2.3.4. INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA	25
2.3.5. MICROORGANISMOS DE LOS ALIMENTOS	26
2.3.5.1. Tipos de bacterias de interés en los alimentos	27
2.3.5.2. Factores que influyen en el tipo y numero de microorganismos existentes en los alimentos	30
2.3.5.3. Factores que influyen en la multiplicación de los microorganismos en los Alimentos	31
2.3.5.4. Modificaciones químicas ocasionados por microorganismos	36
2.3.5.5. Posibilidades y fuentes de contaminación	37
2.4. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS	37
2.4.1. FACTORES DE PATOGENICIDAD	38
2.4.2. ALIMENTOS QUE ESTÁN ASOCIADOS MÁS FRECUENTEMENTE CON LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS.	40
2.5. DESCRIPCIÓN DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS	41
2.5.1. SALMONELOSIS	41
2.5.1.1. Fiebres tifoideas y paratifoidea	42
2.5.2. ENTERITIS POR <i>CAMPYLOBACTER</i>	43

2.5.3. SHIGELOSIS O DISENTERÍA BACILAR.	44
2.5.4. <i>ESCHERECHIA COLI ENTEROVIRULENTA</i>	45
2.5.5. <i>YERSINIA</i>	46
2.5.6. <i>VIBRIO</i>	46
2.5.7. <i>CLOSTRIDIUM</i>	47
2.5.8. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	48
2.5.9. <i>BACILUS CEREUS</i>	49
2.6. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS	50
2.7. REQUERIMIENTOS DIARIOS DE MACRONUTRIENTES EN NIÑOS Y ADOLESCENTES	59

CAPITULO III

3. MATERIALES Y METODOS	60
3.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	60
3.1.1. ANALISIS MICROBIOLÓGICO	60
3.1.2. ANALISIS FÍSICOQUÍMICO	62
3.2. DISEÑO METODOLÓGICO	63
3.2.1. TIPO DE ESTUDIO	63
3.2.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACION	63
3.2.3. POBLACION Y MUESTRA	64
3.2.3.1. Población	64
3.2.3.2. Muestra	64
3.3. VARIABLES	66
3.3.1. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	68
3.3.1.1. VARIABLES IMPLICADAS	68
3.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN	84
3.4.1. CRITERIOS DE INCLUSION	84
3.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSION	84
3.5. INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS	85
3.6. PROCEDIMIENTO	86
3.6.1. ANALISIS ORGANOLEPTICO DE ALIMENTOS	90
3.6.2. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS	90
3.6.3. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SUPERFICIE VIVAS E INERTES	95
3.6.4. ANALISIS FÍSICOQUÍMICO	96
3.6.5. EVALUACION DEL CUMPLIMIENTO DE LAS NORMAS DE HIGIENE	102
3.7. TECNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS	102

CAPITULO IV

4. RESULTADOS.	103
4.1. RELACION DE ALIMENTOS PREPARADOS MUESTREADOS QUE SON EXPENDIDOS EN KIOSKOS ESCOLARES DEL DISTRITO DE WANCHAQ-CUSCO.	103
4.2. ANALISIS ORGANOLEPTICO DE ALIMENTOS	104
4.3. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS	105
4.3.1. RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS VIABLES.	105

4.3.2. RECUENTO DE MICROORGANISMOS COLIFORMES.	107
4.3.3. DETERMINACIÓN DE <i>Escherichia coli</i>	110
4.3.4. DETERMINACION DE <i>Staphylococcus aureus</i>	111
4.3.5. AISLAMIENTO DE <i>Salmonella</i>	113
4.4. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES Y MANIPULADORES	115
4.5. ANALISIS FÍSICOQUÍMICO	116
4.6. ENCUESTAS REALIZADAS AL PERSONAL	120
4.6.1. Alimentos	120
4.6.2. Higiene	122
CONCLUSIONES	135
SUGERENCIAS	137
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	138
ANEXOS	144

PRESENTACIÓN

La higiene alimentaria reúne todas las medidas y condiciones que garanticen la inocuidad y aptitud de los alimentos sin que se alteren las características propias del alimento, en especial su valor nutricional. Pero en muchas ocasiones la falta de conocimiento sobre estas medidas conlleva a una mala manipulación de estos, provocando su contaminación.

El estado nutricional de los escolares está determinado por la disponibilidad, acceso, consumo y aprovechamiento de los alimentos, además podemos coincidir que existe asociación entre el bajo poder adquisitivo, limitado nivel educativo, malas condiciones de higiene y poca inocuidad de los alimentos, con las altas tasas de desnutrición, sin descontar la interacción que existe entre el estado nutricional y las enfermedades transmitidas por alimentos.

En la actualidad las enfermedades transmitidas por alimentos constituyen uno de los principales problemas de nuestra sociedad, debido a que son una de las primeras causas de mortalidad en la población.

Esta situación es la que me impulsa a realizar el presente trabajo de investigación, de esta manera poder determinar el grado de contaminación que presentan los alimentos que son expendidos en kioscos escolares, además sirva de referencia para estudios posteriores que profundicen en este campo ligado estrechamente a la profesión farmacéutica.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos representan una fuente indispensable para mantener la vida, aun así estos son responsables de una gran cantidad de enfermedades debido a que la mezcla de sustancias químicas que contienen no solo posee compuestos beneficiosos, sino también algunos potencialmente tóxicos, además de agentes exógenos perjudiciales tales como: microorganismos o sus toxinas.

La trascendencia de la inocuidad de los alimentos estriba en que el alimento puede ser causante de enfermedades que disminuyen la capacidad del individuo y sus alternativas de desarrollo, en afectar a su comunidad y desequilibrar el funcionamiento de las organizaciones en donde participa. Desde un enfoque económico y social, la calidad sanitaria de los alimentos (que sean aptos para consumo humano e inocuos) es un factor paulatinamente más importante para el desarrollo del país, influenciando con ello las expectativas de crecimiento del empleo, la entrada de divisas y disponibilidad de recursos para el desarrollo.

La calidad sanitaria de un alimento reúne el conjunto de requisitos microbiológicos, fisicoquímicos y organolépticos que permiten que un alimento sea considerado apto para el consumo humano.

Una de las principales consecuencias del mal manejo de alimentos es la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos, aunque difíciles de cuantificar, se estiman relevantes en la salud de las personas. Las enfermedades agudas de naturaleza infecciosas transmitidas por bacterias, parásitos y virus, en las que una de las vías de transmisión son los alimentos, son causa importante de morbilidad.

En la actualidad la forma de servir los alimentos para su consumo inmediato en establecimientos abiertos al público, plantea problemas característicos, tales como la prolongada exposición al aire, las operaciones antihigiénicas, los recipientes y utensilios mal lavados, las manos sucias; motivos por los cuales es necesario establecer técnicas de higiene alimentaria que puedan adaptarse a las condiciones más diversas además de sistemas de control que aseguren la calidad de los alimentos.

A pesar de que nuestro país posee una normativa que rige a diferentes categorías de alimentos, dando estándares para considerarlos aptos para el consumo humano, no se realizan los controles adecuados a centros de expendio públicos lo que los convierten a su vez en potenciales agentes de contaminación.

El presente estudio tiene por objetivo determinar el cumplimiento de la higiene y la calidad sanitaria de los alimentos preparados y expendidos en colegios nacionales del distrito de Wanchaq-Cusco así como también establecer si estos cumplen con las normativas nacionales e internacionales que permitan que sean aptos para el consumo humano.

El Autor.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue el de evaluar la calidad sanitaria de alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, así como también la calidad higiénica sanitaria de superficies vivas e inertes de estos establecimientos.

Se analizaron un total de ciento diecisiete muestras correspondientes a trece instituciones educativas públicas del distrito de Wanchaq-Cusco; realizándose el análisis organoléptico a través de la medición de características propias del alimento terminado.

La evaluación microbiológica se realizó de acuerdo a la Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas; así como también los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, en tanto la evaluación fisicoquímica se realizó de acuerdo a los estándares propuestos en las Ingestas Alimentarias de Referencia del Institute of Medicine – National Academy of Sciences.

En las determinaciones físico – químicas se determinó que el 100% de las muestras no aportan valores nutritivos significativos a la dieta de los escolares.

El análisis microbiológico de alimentos demostró que las muestras no cumplían con los requerimientos establecidos por la norma peruana vigente a excepción de *Escherichia coli* la cual estuvo ausente en el 100% de ellas.

El análisis microbiológico de superficies, manipuladores y alimentos preparados demostró que el 100% de las muestras se encontraban dentro de los criterios establecidos por la norma peruana vigente

Se determinó que los dependientes de los kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco no cumplen con las normas de higiene impuestas por organismos internacionales.

Por último se concluyó que los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco no cumplen con la normas de higienes ni parámetros de calidad sanitaria impuestas por las autoridades correspondientes.

Palabras clave: *Calidad sanitaria, Higiene, Kioscos escolares.*

SUMMARY

The aim of this study was to assess the sanitary quality of food prepared and sold on newsstands Wanchaq school district-Cusco, as well as the hygienic sanitary living and inert surfaces of these establishments.

We analyzed a total of one hundred and thirteen Seventeen samples for public educational institutions Wanchaq district-Cusco, sensory analysis carried out by measuring the characteristics of the finished food.

Microbiological evaluation was performed according to the Technical Guide for the microbiological analysis of food contact surfaces and beverage as well as Microbiological Criteria for Health Quality and Safety for food and beverages for human consumption, in both physical and chemical evaluation performed according to the standards proposed in the Dietary Reference Intakes, Institute of Medicine - National Academy of Sciences.

In physical measurements - chemical was determined that 100% of the samples do not provide significant nutritional value to the diet of school children.

The microbiological analysis of food samples showed that did not meet the standard requirements set by the current Peruvian except for *Escherichia coli* which was absent in 100% of them.

Microbiological testing of surfaces, food handlers and prepared showed that 100% of the samples were within the criteria established by the Peruvian current standard for It was determined that the dependents of school district kiosks Wanchaq-Cusco do not meet hygiene standards imposed by international organizations.

Finally it was concluded that food prepared and sold on newsstands school district-Cusco Wanchaq not meet the standards of hygiene and sanitary quality parameters imposed by the authorities.

Keywords: *Quality health, hygiene, school kiosks.*

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 2.1

VALORES MÍNIMOS DE A_w QUE PERMITEN LA <u>MULTIPLICACIÓN</u> DE MICROORGANISMOS QUE ALTEREN LOS ALIMENTOS	33
---	----

TABLA N° 2.2

ECOVARIEDADES O BIOTIPOS DE <i>S. AUREUS</i> CON ESPECIFICIDAD DE HOSPEDADOR	49
--	----

TABLA N° 2.3

COMIDAS PREPARADAS SIN TRATAMIENTO TÉRMICO (ENSALADAS CRUDAS, MAYONESAS, SALSA DE PAPA HUANCAÍÑA, OCOPA, POSTRES, JUGOS, OTROS). COMIDAS PREPARADAS QUE LLEVAN INGREDIENTES CON Y SIN TRATAMIENTO TÉRMICO (ENSALADAS MIXTAS, PALTA RELLENA, SÁNDWICHES, CEBICHE, POSTRES, REFRESCOS, OTROS).	57
--	----

TABLA N° 2.4

COMIDAS PREPARADAS CON TRATAMIENTO TÉRMICO (ENSALADAS COCIDAS, GUIOSOS, ARROCES, POSTRES COCIDOS, ARROZ CON LECHE, MAZAMORRA, OTROS)	57
--	----

TABLA N° 2.5

GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 461-2007/MINSA, CONTROL MICROBIOLÓGICO CON APLICACIÓN DEL MÉTODO DEL HISOPO PARA SUPERFICIES INERTES.	58
---	----

TABLA N° 2.6

PROCEDIMIENTO PARA EL CONTROL MICROBIOLÓGICO CON APLICACIÓN DEL MÉTODO DEL ENJUAGUE PARA SUPERFICIES VIVAS.	58
---	----

TABLA N° 2.7

INGESTAS ALIMENTARIAS DE REFERENCIA (DRI) DE MACRONUTRIENTES	59
--	----

TABLA N° 3.1

NÚMERO TOTAL DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PREPARADOS CON TRATAMIENTO TÉRMICO O QUE CONTENGAN INGREDIENTES CON O SIN TRATAMIENTO TÉRMICO	65
---	----

TABLA N° 4.1

RELACION DE MUESTRAS DE ALIMENTOS POR INSTITUCION EDUCATIVA	103
---	-----

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 3.1	
FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO	86
FIGURA N° 3.2	
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS	87
FIGURA N° 3.3	
ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE ALIMENTOS	88
FIGURA N° 3.4	
ANÁLISIS DE SUPERFICIES INERTES	88
FIGURA N° 3.5	
ANÁLISIS DE SUPERFICIES VIVAS	89

INDICE DE GRAFICOS

GRÁFICO Nº 4.1	
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS ALIMENTOS	104
GRÁFICO Nº 4.2	
RECuento DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS VIABLES	105
GRÁFICO Nº 4.3	
RECuento DE MICROORGANISMOS COLIFORMES	107
GRÁFICO Nº 4.4	
DETERMINACIÓN DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	111
GRÁFICO Nº 4.5	
PORCENTAJE DE MUESTRAS AISLADAS CONTAMINADAS CON <i>SALMONELLA</i>	113
GRÁFICO Nº 4.8	
COMIDAS PREPARADAS SIN TRATAMIENTO TÉRMICO	120
GRÁFICO Nº 4.7	
COMIDAS PREPARADAS CON TRATAMIENTO TÉRMICO	121
GRÁFICO Nº 4.8	
BEBIDAS PREPARADAS EN KIOSCOS ESCOLARES	122
GRÁFICO Nº 4.9	
LUGARES DE COMPRAS DE LOS INSUMOS E INGREDIENTES UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE LOS ALIMENTOS	123
GRÁFICO Nº 4.10	
LUGARES DE CONSERVACIÓN DE LOS INSUMOS EN LOS PUESTOS DE VENTA EN LOS QUE SE REALIZA LA ADQUISICIÓN DE INSUMOS	123
GRÁFICO Nº 4.11	
CONDICIONES DE TRANSPORTE QUE EVITEN EL DETERIORO POR CALOR O CONTAMINACIÓN	124
GRÁFICO Nº 4.12	
SERVICIOS CON LOS QUE CUENTA EL ÁREA DONDE SE PREPARAN LOS ALIMENTOS.	125
GRÁFICO Nº 4.13	
TIPOS DE SUPERFICIE EN LA QUE SE PREPARAN LOS ALIMENTOS	126
GRÁFICO Nº 4.14	
INTERVALOS DE TIEMPO DE LIMPIEZA DEL LOCAL DE TRABAJO	126
GRÁFICO Nº 4.15	
INTERVALOS DE TIEMPO LIMPIEZA DE UTENSILIOS DE PREPARACIÓN	127
GRÁFICO Nº 4.16	
INTERVALOS DE TIEMPO LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE PREPARACIÓN	127
GRÁFICO Nº 4.17	
PROTECCIÓN DE LOS ALIMENTOS EXPENDIDOS	129

GRÁFICO N° 4.18**TIPO DE ENVASES UTILIZADOS EN LOS KIOSCOS ESCOLARES 130****GRÁFICO N° 4.19****INSTRUMENTOS UTILIZADOS PARA LA VENTA DE ALIMENTOS 130****GRÁFICO N° 4.20****INSTRUMENTOS UTILIZADOS PARA LA VENTA DE ALIMENTOS 132****GRÁFICO N° 4.21****CAPACITACIONES REALIZADAS POR LOS MANIPULADORES SOBRE HIGIENE 132****GRÁFICO N° 4.22****UBICACIÓN DE LOS RECIPIENTES DESTINADOS A LA ELIMINACIÓN DE RESIDUOS 134**

INDICE DE CUADROS

CUADRO N° 4.1	
ESTADÍSTICOS PARA UNA MUESTRA EN EL RECuento DE MESÓFILOS AEROBIOS VIABLES	106
CUADRO N° 4.2	
ESTADÍSTICOS PARA UNA MUESTRA EN EL RECuento DE COLIFORMES	108
CUADRO N° 4.3	
DETERMINACIÓN DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>	110
CUADRO N° 4.4	
ESTADÍSTICOS PARA UNA MUESTRA EN LA DETERMINACIÓN DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	112
CUADRO N° 4.6	
RESULTADO ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES Y MANIPULADORES	115
CUADRO N° 4.7	
RESULTADOS ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS DE ALIMENTOS	116

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS DE CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE ALIMENTOS PREPARADOS Y EXPENDIDOS EN KIOSCOS ESCOLARES DEL DISTRITO DE WANCHAQ-CUSCO 145

ANEXO N° 2

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA DETERMINACION DEL CUMPLIMIENTO DE LAS NORMAS DE HIGIENE EN LA PREPARACION DE ALIMENTOS Y LIMPIEZA DE SUPERFICIES E INSTALACIONES 146

ANEXO N° 3

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS 150

ANEXO N° 4

RELACION DE COLEGIOS NACIONALES DE EDUCACION PRIMARIA Y SECUNDARIA DEL DISTRITO DE WANCHAQ – CUSCO 151

ANEXO N° 5

ESQUEMA ORIENTATIVO PARA APUNTAR LAS REACCIONES EN LA PRUEBA DE LA COAGULASA 153

ANEXO N° 6

MÉTODOS DE ENRIQUECIMIENTO PREVIO PARA *SALMONELLAS* 154

ANEXO N° 7

NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO 155

(RM N° 615-2003 SA/DM)

ANEXO N°8

RESOLUCION MINISTERIAL N° 461-2007/MINSA

GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS 164

ANEXO N° 9

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO 176

DETERMINACIÓN DEL CUMPLIMIENTO DE LAS NORMAS DE HIGIENE Y DE LA CALIDAD SANITARIA EN ALIMENTOS PREPARADOS Y EXPENDIDOS EN KIOSCOS ESCOLARES DE COLEGIOS NACIONALES DEL DISTRITO DE WANCHAQ - CUSCO

CAPITULO I

1. GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad la alimentación humana se encuentra aquejada por una serie de problemas que afectan a grupos sociales diferentes, tales problemas reclaman soluciones rápidas que puedan asegurar una correcta contribución a la salud de la población. Con el alcance de los conocimientos sobre los componentes químicos de los alimentos y las funciones que estos desempeñan, aumentan las posibilidades de falsificaciones y fraudes alimentarios, debido a la facilidad con la que se es capaz de reemplazarse la materia prima necesaria por otros compuestos de menor precio que den las características organolépticas propias por el alimento pero que posean efectos nocivos para la salud del consumidor; por lo que se hace necesario la instauración de una legislación que controle que los productos expendidos sean realmente lo que se ofrece a la población.

Desde el punto de vista nutricional, un alimento se considera como todo producto que por sus componentes químicos y propiedades organolépticas pueden formar parte de la dieta del hombre con el fin de calmar el hambre y cubrir las necesidades del organismo. (BELLO GUTIÉRREZ: 2000)

Los alimentos; como se dijo anteriormente; representan una fuente indispensable para mantener la vida, aun así estos son responsables de una gran cantidad de enfermedades debido a que la mezcla de sustancias químicas que contienen no solo posee compuestos beneficiosos, sino también algunos potencialmente tóxicos, además de agentes exógenos perjudiciales tales como: microorganismos o sus toxinas. (ADAMS Y MOSS: 1995)

El aumento en el número y la gravedad de las enfermedades producidas por alimentos han provocado que la preocupación pública por la seguridad alimentaria se incremente notablemente. (FORSYTHE: 2000)

Según la OMS podemos definir a las enfermedades producidas por alimentos como "aquellas enfermedades de carácter infeccioso o tóxico causado por, o que se cree causado por, el consumo de alimentos o de agua"; donde se puede reconocer que la mayoría de ellos tiene un origen microbiano. Debido a que muchas veces los síntomas

de las enfermedades producidas por alimentos pueden ser leves, estas no son reportadas a las autoridades correspondientes, por lo que los casos que si son reportados constituyen la punta del iceberg del verdadero número de personas afectadas. (ADAMS Y MOSS: 1995; FORSYTHE: 2000)

Una de las causas más frecuentes que provoca tasas elevadas de mortalidad y morbilidad en países pobres como el nuestro, son las enfermedades de transmisión alimentaria, ya que todos los años se presentan alrededor de 10 millones de casos, de los cuales más de 5 millones mueren y el resto pueden presentar otras complicaciones tales como desnutrición. Generalmente estos brotes pueden ser consecuencia de la distribución de alimentos contaminados o de situaciones en las que se está elaborando comida para un gran número de personas como por ejemplo restaurantes, hoteles, cantinas y en el presente caso kioscos escolares donde la población afectada, en su mayoría, son niños de escasos recursos. (FORSYTHE: 2000)

La Dirección Regional de Salud Cusco, el año 2009 reportó un total de 26 167 casos de diarrea aguda, de los cuales 4 283 eran correspondientes a niños en edad escolar comprendidos entre 5 – 9 años. Todos los casos reportados recibieron tratamiento, de ellos 4 218 fueron curados, 61 mejoraron, 6 fracasaron y tan solo uno falleció. (DIRESA, 2009)

A través de un estudio exploratorio de elaboración propia aplicado a 40 padres de familia de colegios nacionales del Distrito de Wanchaq; (Anexo N°3 y N°4); se determinó que tan solo el 4,17% de ellos consideraban que las condiciones de elaboración eran higiénicas, mientras que el 87,5 % no lo consideraban así, un 8,33 % no sabía. Las razones que exponían los padres frente a este problema eran la falta de conocimientos sobre normas de higiene, un mayor interés económico, falta de infraestructura adecuada además de la falta de un control adecuado por las autoridades correspondientes, en un 33,4%; 25%; 25% y 8, 33% respectivamente, tan solo un 8, 33% no opinaba. En cuanto al cuestionamiento sobre la higiene de los manipuladores un 83,34% no creía que estos cumplieran normas de higiene adecuadas.

Por último un 66, 7% de los padres conocía el significado de una enfermedad alimentaria, y un 79,2% de ellos lo relacionaba con el consumo de alimentos expendidos en kioscos escolares.

De esto se resolvió que existe una gran desconfianza por parte de la población hacia este tipo de alimentos, pero que ellos encuentran responsables, además, de los

manipuladores, a las autoridades responsables del sector salud por no ejercer un control más severo y por no brindar condiciones adecuadas para la elaboración y expendio de los alimentos.

Pero como determinar si un alimento es seguro sabiendo que las definiciones cambian de acuerdo al tipo de población a la que se pregunte, así el público consumidor dirá que un alimento seguro es aquel que presenta un riesgo cero, mientras que la población encargada de la producción de dichos alimentos dirá que la seguridad de estos se basa en que presenten riesgos aceptables. Además se sabe que los alimentos que consumimos casi nunca son estériles, debido a que contienen asociaciones microbianas cuya composición depende de diferentes factores tales como la microflora propia del alimento o aquella que es adquirida en las operaciones que sufre el alimento: recolección, distribución, tratamiento entre otras.

Es a partir de estos conceptos que podemos asegurar que alcanzar un riesgo cero es imposible, pero que podemos reducir este a uno aceptable.

Para alcanzar el término de riesgo aceptable y de disminuir los casos de enfermedades provocadas por alimentos es necesaria la instauración de un sistema que determine y controle los microorganismos asociados tanto a los ingredientes como al producto terminado, de esta manera suministrar alimentos seguros, inocuos e inalterados. (ADAMS Y MOSS: 1995; FORSYTHE: 2000)

Al principio estos controles eran basados en el análisis del producto final, el cual falló debido a que, a diferencia de los análisis químicos, no existe una distribución homogénea de los microorganismos en las muestras que eran analizadas además de que el número de células viables de microorganismos aumentaba o disminuía según las condiciones en las que estaba expuesto el producto, por lo que la predicción de su crecimiento antes de la ingesta era muy difícil. Es por estas razones que se adopta una nueva filosofía de prevención asegurando que la inocuidad y la higiene se extiendan en toda la cadena de producción y no solo en el producto final. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

De esta manera podremos garantizar no solo la calidad microbiológica de los alimentos analizados, sino también sus propiedades organolépticas y bromatológicas, asegurando que los alimentos distribuidos a la población estudiantil cumplan los requisitos impuestos por las autoridades sanitarias correspondientes.

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Cumplirán los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco, con las normas de higiene y parámetros de calidad sanitaria establecidos por la ley peruana vigente?

1.3. OBJETIVO

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el cumplimiento de las normas de higiene y parámetros de calidad sanitaria establecidos por la ley peruana vigente en alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco

1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar las características físico – químicas de los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco.
2. Realizar el recuento de microorganismos indicadores de alteración, indicadores de higiene y patógenos, presentes en alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco.
3. Realizar el recuento de microorganismos indicadores de alteración y patógenos, presentes en manipuladores (superficies vivas) e inertes presentes en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco
4. Describir el grado de contaminación según el tipo de muestra analizada, procedente de kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco.
5. Determinar si los resultados obtenidos en los análisis realizados a manipuladores, superficies y alimentos preparados, cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos por la norma peruana vigente.
6. Determinar si los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco cumplen con la normas de higienes impuestas por organismos internacionales.

1.4. HIPOTESIS

Los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco, no cumplen con las normas de higiene ni con los parámetros de calidad sanitaria establecidos por la ley peruana vigente

1.5. JUSTIFICACION

Los alimentos son todas las sustancias que ingerimos para satisfacer nuestras necesidades nutricionales, casi todas ellas nutren, pero su valor nutritivo varía considerablemente una de otra. Para ello es necesario saber exactamente el valor alimenticio de cada sustancia, ya que de esta manera podremos conocer también cuáles son sus ventajas y cuáles son sus deficiencias. Además no sólo es necesario conocer el valor energético de los alimentos sino también su inocuidad, ya que estos contienen una gran cantidad de microorganismos, los cuales pueden comportarse como agentes alterantes de la higiene, representando además agentes infecciosos causantes de enfermedades de origen alimentario para el sector de la población que lo consume.

Mediante el presente trabajo se desea determinar la calidad sanitaria de los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de colegios nacionales del distrito de Wanchaq, además de comprobar la calidad nutricional de los alimentos que son expendidos en los kioscos, así como establecer si los resultados obtenidos cumplen con la normativa peruana para alimentos, la cual exige límites microbiológicos de calidad para cada grupo de estos, obligando a entregar productos de calidad que no constituyan un peligro para el consumidor. De esta manera se podrá aportar información que permitan describir de mejor manera la realidad higiénico – sanitaria a la cual está expuesta la población estudiantil.

Nuestra región constituye un medio heterogéneo debido a las diferencias en los índices de pobreza que se presenta entre una localidad y otra, pero el distrito de Wanchaq constituye una población económica similar presentando solo un 4,8% de pobreza en toda su población, generando de esta manera un 95,2% de población no pobre; esto de datos del Instituto Nacional de Estadística e Informática del 2009; lo que a su vez nos permitirá la obtención de resultados afines entre las instituciones educativas.

La situación socio-económica que vive nuestro país en la actualidad, en donde la falta de conocimientos básicos de higiene por parte de la mayoría de la población así como los

elevados índices de pobreza, obliga a la realización de estudios para determinar si se cumplen los requisitos sanitarios que requieren los alimentos para ser expendidos, no solo en centros educativos sino también en lugares de venta al público tales como restaurantes, mercados y vendedores ambulantes, esto nos permitiría tener datos exactos de las condiciones higiénicas-sanitarias bajo las cuales se rigen estos negocios, permitiéndonos a su vez disminuir el riesgo a enfermedades.

En nuestro medio los kioscos escolares constituyen una fuente primaria de adquisición de alimentos para una población propensa como es la estudiantil, por lo que es necesario conocer el aporte nutricional de los alimentos que son ofrecidos en estos locales, de este modo poder determinar si existe un aporte calórico adecuado de estos en las dietas de los estudiantes; además como se dijo anteriormente, la falta de conocimiento sobre unas adecuadas prácticas para la elaboración y expendio, así como la falta de infraestructura y servicios con los que cuentan, hacen de esta un foco infeccioso causante de una gran variedad de enfermedades transmitidas por los alimentos, por lo que su detección, control y prevención se han convertido en una obligación para las diferentes organizaciones de salud del mundo y una necesidad para toda la población. Así como se estableció el estudio

1.6. LIMITACIONES

- No contar con datos estadísticos recientes de parte de organismos encargados del control de sanidad e higiene de alimentos (DISA) que corroboren la investigación.
- Falta de colaboración por parte de los responsables de los kioscos escolares de la instituciones educativas.
- Elevado costo de materiales e insumos para el desarrollo de la investigación.

CAPITULO II

2. MARCO TEORICO CONCEPTUAL

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- **Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia**

Astrid Carolina Flórez, Asociación Colombiana de Infectología, 2010

Se trabajó en cinco ciudades de Colombia encuestándose 300 establecimientos y 1.522 manipuladores de alimentos a quienes se les hizo control microbiológico de manos y, a 1.286, examen coprológico y coprocultivo.

Se obtuvieron los siguientes resultados: veinticinco establecimientos (8,3%) no tenían una ubicación adecuada, 113 (37,7%) no contaban con planes de saneamiento y sólo 26 (8,7%) realizaban prácticas apropiadas de almacenamiento. En los manipuladores se halló que 765 (50,3%) ingresaron con examen médico y 924 (60,7%) realizaron curso de manipulación de alimentos. En sus prácticas de trabajo se evidenció manejo simultáneo de dinero y alimentos (17%), uso de joyas (15,2%), uñas largas y con esmalte (8,9%), y 15,2% refirieron no lavarse las manos cuando manipulaban dinero y en los no capacitados se halló 1,3 veces más frecuente este hábito (RR=1,36 IC 95%=1,10 – 1,69). Se encontraron parásitos intestinales en 26,9%; 49 (3,8%) fueron positivos para parásitos patógenos, 6 (0,46%) para enterobacterias patógenas y 8 (0,52%) cultivos de manos, para *Staphylococcus aureus*. Se concluyó que existía un incumplimiento de las buenas prácticas de manufactura, prácticas inadecuadas y malos hábitos higiénicos en manipuladores de alimentos, factores influyentes en la aparición de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

- **Evaluación sanitaria de una cantina escolar**

Alvarado Rivas Carmen, Díaz- Rivero Cándida Gloria, Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Departamento de Microbiología y Parasitología, Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Mérida-Venezuela 2007.

Con el objeto de evaluar las características sanitarias en una cantina escolar ubicada en La Parroquia Santiago de la Punta, estado Mérida Venezuela, se utilizaron dos métodos:

Inspección sanitaria oficial mediante el formulario correspondiente y análisis microbiológico en superficies, utensilios, queso para elaboración de empanadas, empanadas, bebidas y manos de personal del establecimiento, determinando bacterias aerobias mesófilas (BAM), coliformes (CO), mohos (MO) y levaduras (LE) con metodología convencional, *Staphylococcus aureus* (Sa.) con metodología convencional y placas secas rehidratables (Petrifilm 3M) e identificación de *Escherichia coli* (Ec) con pruebas convencionales.

El porcentaje de efectividad sanitaria de la cantina obtenido con el método oficial fue aceptable (70-100%) sin embargo, el análisis microbiológico demostró fallas sanitarias en el queso blanco duro utilizado para la elaboración de empanadas con 10^6 UFC/g de Sa.; en utensilios BAM 10^3 UFC/utensilio y CO 10^2 UFC/utensilio; en jugo de guayaba (*Psidium guajava* L.) BAM 10^4 UFC/mL y MO 10^4 UFC/mL y en el personal por presencia de Ec en las manos de uno de los trabajadores. La metodología oficial no reveló el perfil sanitario real del establecimiento se recomienda su revisión y la inclusión del análisis microbiológico para disponer de herramientas efectivas en la prevención de ETA en las cantinas escolares.

- **Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad obregón, sonora, México.**

Anacleto Félix-Fuentes, Olga Nydia Campas-Baypoli y Mercedes Meza-Montenegro, Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora 2005.

El objetivo de este estudio fue determinar la calidad sanitaria de alimentos altamente consumidos por la población de ciudad Obregón, Sonora, México. Se realizó un estudio descriptivo considerando los resultados de muestreos de Febrero 1998 a Octubre de 2002.

Los parámetros microbiológicos investigados fueron mesofílicos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*. Se encontró que productos alimenticios de consumo fresco, para microorganismos mesofílicos aerobios el 32 % de las muestras analizadas (n =106) sobrepasaron la especificación microbiológica respectiva, y por arriba del 70% de las muestras analizadas sobrepasaron las especificaciones sanitarias para coliformes totales y fecales. En el caso de alimentos preparados sometidos al proceso de cocción (n =88), el 9 % de las muestras analizadas para mesofílicos aerobios sobrepasaron las

especificaciones microbiológicas, el 21 % para coliformes totales y el 18 % para coliformes fecales. La presencia de *Salmonella*, *Staphylococcus* y *Vibrio*, fue detectada en las muestras con rangos del 3 al 40%. Los resultados anteriores demuestran que es necesario mejorar el control sanitario de los productos alimenticios analizados para la protección de los consumidores, mediante la implementación de programas de verificación sanitaria y de capacitación del personal en el manejo higiénico de los alimentos, además de la aplicación de sistemas de buenas prácticas de manufactura durante el procesamiento de los alimentos.

- **Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Noreste Argentino**

Arzú, Oscar R. y col., Facultad de Ciencias Veterinarias – UNNE, Corrientes - Argentina

Se consideraron aquellas áreas correspondientes a la elaboración de alimentos, teniendo en cuenta las etapas de producción pre operacionales y operacionales, que al tratarse de superficies en contacto con productos terminados para consumo directo conllevan un alto riesgo sanitario.

Para la toma de muestras se aplicó la técnica de frotación con hisopo de algodón humedecido en caldo peptona al 0.1 %, sobre superficies de utensilios, mesadas, equipos y manos de operarios. Se realizó el aislamiento y tipificación de especies patógenas con especial referencia a *Salmonella* sp, Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

En los resultados se observó la presencia de Coliformes totales en el área de producción operacional (46 %) y en superficie de manos de operarios (43 %), es notoria una disminución de los aislamientos en el área de producción pre operacional (15 %), y llamativo el aislamiento de *Staphylococcus aureus* en manipuladores (21 %) que permanece luego de la limpieza (1 %), como asimismo el aislamiento de *Escherichia coli* en las manos de los operarios (11 %). Se determinó así una tendencia de aislamientos moderados a altos, que permitieron inferir falta de higiene y deficiencia en los procedimientos operacionales de limpieza.

- **Brote de gastroenteritis por *Salmonella Enteritidis* en la ciudad de Montevideo.**

Dpto. de Vigilancia Epidemiológica del M.S.P. y el Servicio de Regulación Alimentaria, Uruguay 2000.

Se realizó la inspección y extracción de muestras en el local comercial. Se controló el estado higiénico- sanitario y el flujo de elaboración, con el fin de detectar los posibles problemas tanto de manipulación como de producción, que podrían justificar el desarrollo del brote.

La investigación microbiológica determinó que el agente causante del brote fue *Salmonella entérica* subsp. *Entérica* ser. *Enteritidis*, identificada y tipificada serológicamente por el Centro Nacional de Salmonella, resultado que coincidió con los coprocultivos efectuados por el Ministerio de Salud Pública.

Se aisló *Salmonella* en las muestras provenientes del 71% de los eventos analizados, asimismo se aisló e identificó en los sándwiches olímpicos extraídos de la propia firma elaboradora por personal de Bromatología. En los huevos analizados extraídos del comercio, no se detectó la presencia de *Salmonella*. En el 60 % de las muestras analizadas provenientes de los distintos eventos fue detectada la presencia de *E.coli*. Los valores de coliformes totales en un 62% de las muestras estaban por encima de los permitidos para este tipo de productos ($> 1.0 \times 10^4$). *Staphylococcus aureus* no fue detectado en ninguna de las muestras analizadas lo cual era esperable ya que el cuadro del brote no hacía pensar en esta etiología. En la detección de proteína de huevo por el método inmunoenzimático, efectuada sobre las muestras de sándwiches se obtuvieron resultados positivos en el 100% de los casos (contaminación con huevo en proporción mayor a las 5 ppm).

- **Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica.**

María L. Arias-Echandi, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica 2000.

Se realizó un análisis completo de diez años alimentos, de evaluación de la calidad bacteriológica de alimentos consumidos por costarricenses, realizado en la Sección de Microbiología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica. Se presta especial interés a los alimentos de venta ambulante, a los expendidos en festejos populares y a los

obtenidos a partir de algunos servicios de alimentación pública. Se incluye el análisis de la presencia de algunas bacterias patógenas en ellos.

Los resultados obtenidos demuestran una importante contaminación fecal y la presencia de algunos patógenos en estos alimentos. Se concluye que se deben introducir mejoras en el procesamiento, transporte y almacenamiento de los alimentos, así realizar un control sanitario estricto y constante, de manera que no representen un riesgo para la salud pública.

- **Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas**

María Luisa de Curtis y col., Universidad Central de Venezuela. Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología y Parasitología, Caracas 2000.

Se determinó la calidad microbiológica de los alimentos servidos en comedores de empresas privadas. Se analizó un total de 620 muestras de alimentos en los que se determinó recuento de aerobios mesófilos (AM), mohos y levaduras, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* e investigación de *Salmonella*; se realizó el análisis microbiológico del agua, de los equipos, utensilios, ambientes, superficies, y personal. Se dan los resultados de los análisis realizados; en general se observa una elevada contaminación por *E. coli*. En vegetales crudos 76,2%, en cocidos 15,2%, en carnes de res y cerdo 15,9%, en aves 16,7%, en pescados 11,8%, en postres 27,3%, en equipos y utensilios 57,9%, en superficies y ambientes 53,6% y en operarios 21,9%. Estos resultados se evaluaron de acuerdo a criterios o límites de aceptación fijados. Los resultados obtenidos permitió concluir que estos alimentos deben estar sujetos a controles microbiológicos continuos y se considera que siguen siendo un factor de riesgo tanto el personal como las superficies y equipos.

- Salmonelosis por consumo de huevo de sándwiches con huevo duro.

Silvia Michanie, Silvia Benvenaste. Revista DIAETA, Buenos Aires Argentina 1996.

Se describió un brote infeccioso a *Salmonella enteritidis* provocado por el consumo de sándwiches de miga. *Salmonella enteritidis* se aisló de tres muestras pool de sándwiches de diversas variedades y de heces de paciente que debió ser internado en terapia intensiva. Los sándwiches de huevo duro fueron la variedad presuntamente involucrada en el brote. Esta hipótesis se basa en la serovariedad aislada de los sándwiches y un

enfermo, y en la elevada asociación entre alimentos con huevo y brotes desde 1986. Los sándwiches fueron adquiridos en una confitería como parte de los alimentos a consumir para los festejos de fin de año.

La mayonesa de las tres muestras de sándwiches fue pre enriquecidas en caldo lactosa a razón de 25 g por 225 cc de caldo, utilizando procedimientos normalizados. Como enriquecimiento selectivo se utilizó caldo Rappaport – vassiliadis y caldo selenito. Estos fueron sembrados con alícuotas de 0.1 y 1 cc e incubados una noche a 43°C y 35°C, respectivamente. Los aislamientos se hicieron en agar de Hektoen y agar Xilosa Lisina Desoxicolato. Tres colonias presuntivas de *Salmonella* fueron caracterizadas bioquímica y serológicamente por medio de agar de triple azúcar hierro, agar de hierro lisina, una batería de 10 pruebas adicionales y antisueros somáticos polivalentes.

Se aisló *Salmonella enteritidis* de las 3 muestras pool de sándwiches analizadas. No se detectó *Salmonella spp.* En la mayonesa, pero se observaron formas levaduriformes en la coloración Gram y el pH resulto 5,3.

- **Calidad microbiológica de alimentos vendidos en las fiestas populares**

**Rafael Monge, María Laura Arias, Universidad de Costa Rica, Costa Rica
1991**

Se investigó la presencia de *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Staphylococcus aureus*, así como de coliformes totales y fecales, en los alimentos que con mayor frecuencia se expenden en tales fiestas: arroz chino, chop suey, churros, galletas suiza, gallos de picadillo de papa con carne molida, gallos de salchichón y tortas de carne. Se analizó 15 muestras de cada uno, según la técnica del Número Más Probable.

Los resultados indican que más de 40 por ciento de las muestras de la mayoría de los alimentos analizados presentan altos recuentos de coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Así mismo, muestran la presencia *S. aureus* coagulaba positiva en el 86 por ciento de los alimentos estudiados, pero no en la concentración requerida para conseguirlos niveles de entero toxina capaces de generar intoxicación. En ninguno de los alimentos se alcanzó el aislamiento de *Salmonella spp* ni *Shigella spp*, posiblemente debido a las características intrínsecas de cada producto. La contaminación encontrada en los alimentos analizados se atribuye a la deficiente calidad de la materia prima utilizada en la preparación de algunos de ellos, así como a la inadecuada manipulación de los alimentos cocinados.

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

- **Condiciones higiénicas en los kioscos de las playas del Cono Sur – verano Gamboa E. y col., Área de bromatología, Laboratorio de la DISA II, Lima – Sur 2001**

Se determinó las condiciones higiénicas de kioscos de las playas del cono sur de Lima. Para ello se trabajó en 18 playas del cono sur, en visitas semanales, recogiendo muestras de alimentos (20g) de 172 puestos de venta. 10 g de la muestra fue diluida en 90 mL de agua peptonada (10^{-1}), se continuaron las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} en tubos con 9 mL de agua peptonada. Utilizando la técnica del número más probable (NMP) para tres series de tres tubos, se tomaron 3 mL de cada dilución para colocar 1 mL en los tubos con 5 mL de Brilla – MUG. Se incubaron a 37°C por 48 horas.

Se consideraron positivos para *Escherichia coli* los tubos que bajo luz UV (366nm) mostraban fluorescencia de color azul. La lectura se realizó con la tabla NMP correspondiente.

En los resultados se pudo observar que de las 172 muestras analizadas, 35 (20,4%) presentaron valores de 100 NMP/g, considerándose no apto para el consumo humano.

Se concluyó que la irregular provisión de agua potable y el incumplimiento de las buenas prácticas de manipulación, permiten el expendio de alimentos de baja calidad higiénica.

- **Contaminación fecal en carne molida del mercado “Ciudad de Dios” de San Juan de Miraflores.**

Gamboa E, Cama I, Área de Bromatología, Laboratorio de la DISA II – Lima Sur, Salud Ambiental, C.S. “Leonor Saavedra” de San Juan de Miraflores 2001.

Se evaluó el grado de contaminación de la carne molida que se expende en el mercado “Ciudad de Dios” de San Juan de Miraflores, Lima Perú. se analizaron 35 muestras (25 g c/u) de carne molida de los lugares de expendio.

Se tomó 20 g de cada muestra: 10 g se colocaron en 90 mL (10^{-1}) de agua peptonada para realizar la numeración de *Escherichia coli* y 10 g se enriquecieron en 90 mL de caldo GN a 37°C x 24 horas. La placa donde se observó colonias azules rodeadas por gas, se tomó cuenta para la numeración de *E. coli*/g. para enteropatógenos, del caldo

GN se pasó a Agar Mac Conkey y se incubó a 37°C x 24 horas. Las colonias rojas y transparentes se confirmaron con pruebas de oxidasa, TSI, LIA, citrato, SIM y MIO.

En los resultados se observó que de las 35 muestras analizadas 20 (57,2%) fueron consideradas como no aptas para el consumo humano. En una muestra se identificó *Pseudomonas sp.*

Se concluyó que existe un alto grado de contaminación de carne molida expandida en el Mercado de Ciudad de Dios.

- **Vigilancia sanitaria de leche cruda de expendio ambulatorio en los centros de abasto de la ciudad de Tacna.**

Machaca V, Laboratorio de Referencia Regional de Tacna 2001.

Se determinó la calidad microbiológica y las características físico – químicas de la leche cruda y evaluar las características higiénico – sanitarias de los puestos ambulatorios que la expenden, en la ciudad de Tacna. Se visitó la totalidad de puestos de venta ambulatorios de leche cruda durante los meses de Enero a Junio del 2001 en 13 centros de abastos ubicados en las zonas urbanas y periurbana de la ciudad de Tacna.

En los resultados se pudo observar que del total de muestras analizadas un 89,6% (43) muestras presentaron una deficiente calidad microbiológica, no cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos. Un 72,9% superó el número permitido de microorganismos aerobios mesófilos viables y 87,5% superó el número permitido de coliformes. 75% de las muestras no cumplieron con los requisitos establecidos para densidad higiénico – sanitarios en las que se expendieron estos alimentos no fueron aceptables.

En conclusión tanto la calidad microbiológica, las características físico –químicas de la leche cruda, como las malas condiciones de sus puestos de venta, hacen que el consumo de ésta no sea apto para el hombre.

- **Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima - Perú**

Juan J. Quispe M; Víctor Sánchez, Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 2001

Se evaluó la calidad microbiológica y sanitaria de los puestos de venta ambulatoria de alimentos (PVAA) del distrito de Comas.

Para la parte microbiológica se analizaron el número de coliformes fecales y la presencia de *Salmonella spp* en muestras de alimentos, agua, superficies inertes y superficies vivas; y para la evaluación sanitaria se empleó una encuesta de factores de riesgo (20 características).

Se obtuvieron los siguientes resultados: 60.7% de PVAA superaron los límites aceptables de coliformes fecales en una o más muestras analizadas. Por tipo de muestra de alimentos, 41.0% de PVAA tuvieron un alimento no apto para el consumo humano (NAPCH) y 19.7% ambos alimentos NAPCH (coliformes fecales > 100 NMP/g), y respecto a las muestras de agua, superficies inertes y superficies vivas, se encontraron resultados microbiológicos inaceptables (coliformes fecales > 100 NMP/g) en 32.8%, 42.6% y 49.2% de los PVAA, respectivamente. No se encontró *Salmonella spp* en ninguna de las muestras evaluadas. Sobre la evaluación sanitaria, 90.2% de los PVAA tuvieron "Riesgo Sanitario Alto", observándose deficiencias estructurales y culturales de manipulación e higiene de alimentos. Finalmente, se encontró relación entre los resultados microbiológicos; y las características de evaluación sanitaria. Conclusiones: La calidad microbiológica y sanitaria de los PVAA del distrito de Comas presentó deficiencias, constituyéndose en un problema potencial de salud para nuestro medio.

2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES

- **Determinación de la adulteración, contaminación microbiana y presencia de residuos de antibióticos en la leche fresca comercializada en mercados y tiendas del Cusco.**

Luís A. Luna Ballón, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco 2008.

Se trabajó con 42 muestras de leche fresca entre agosto y diciembre del año 2008 obteniéndose los siguientes resultados:

Mercados, de las 30 muestras de leche fresca resultaron que 58,6% tenían una densidad inferior a la establecida por la Norma Técnica peruana, el 62,1% presentó una acidez titulable superior a los estándares establecidos, no se encontraron sustancias químicas extrañas, el 93,1 % presentó crecimiento bacteriano por encima de los valores mínimos, en cuanto a la determinación de la presencia de antibióticos un 96,6% dio positivo.

Tiendas, de las 8 muestras el 37% presentó una densidad inferior a la requerida, 25% presentó una acidez titulable mayor a la de los valores permitidos, no se encontraron sustancias químicas extrañas, 37% presentó crecimiento bacteriano, en cuanto a la determinación de la presencia de antibióticos un 75% dio positivo.

Ambulantes, de las 4 muestras analizadas el 60% presentó una densidad inferior a la requerida, el 50% presentó una acidez titulable superior a los valores permitidos no se encontraron sustancias químicas extrañas, el 80% presentó crecimiento bacteriano.

- **Control de calidad de alimentos de venta ambulante de la Margen Derecha del río Huatanay – Cusco.**

Mabel Y. Contreras Zaravia, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco 1996

Se evaluó el grado de contaminación de las comidas de venta ambulante en la margen derecha del río Huatanay, para ello se tomaron 48 muestras de 12 lugares de expendio, tomándose 4 muestras en cada lugar de expendio.

Se obtuvieron los siguientes resultados: Los coliformes fecales se encuentran en un total de 66,67% y *Salmonella* está presente en un 25% con respecto al número total de muestras recolectadas. Los alimentos que presentan mayor contaminación son el pescado frito con ensalada y la sopa.

Los lugares de Tiopampa, puente Huancaro A y paradero final de la empresa Wimpillay – Chocco, son los que presentan mayor contaminación. Mientras que en los puntos Morro y puente Huancaro B la contaminación es baja.

- **Evaluación bromatológica y nutricional de la dieta ofrecida en el comedor universitario de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.**

**Juana G. Torres Polanco, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
1996**

Se determinó la calidad bromatológica y nutricional de las dietas ofrecidas en el comedor de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, para ello se hicieron los exámenes bromatológicos y nutricionales correspondientes. Se obtuvieron los siguientes resultados:

El valor energético proporcionado en el comedor de la UNSAAC, no satisface las recomendaciones energéticas establecidas para el almuerzo para varones además de sobrepasar las recomendaciones energéticas para proteínas, P, Fe, Ca, Mg.

En el análisis bromatológico se obtuvo los siguientes resultados, energía 38,59%, proteínas 61,82%, calcio 80%, fósforo 56,42%, magnesio 88,05% y para el hierro 100% de las recomendaciones.

- **Calidad higiénica de chocolate elaborado en la ciudad del Cusco.**

**María del Pilar Rodríguez Grajeda, Universidad Nacional San Antonio Abad
del Cusco 1995**

Se determinó las calidades microbiológicas en chocolates para taza y chocolates de fantasía producidas en la ciudad del Cusco, a través de la determinación de coliformes totales y fecales, prueba de presencia o ausencia de enterobacterias, determinación de *Salmonella*. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Los chocolates de fantasía cumplen con las normas técnicas por lo que se les puede considerar como aptas para el consumo humano.

Los chocolates para taza presentaron un 40% de contaminación para una de las fábricas estudiadas.

Tanto el chocolate para taza como el de fantasía no presentan contaminación por *Salmonella*.

- **Calidad microbiológica del producto enriquecido lácteo de consumo en 6 centros educativos iniciales de la ciudad del Cusco.**

Concepción Gonzales Yapo, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco 1994.

Se determinó la calidad microbiana del producto enriquecido lácteo, mediante los parámetros de numeración de coliformes totales, fecales, mohos y levaduras, de los análisis realizados se concluyó que las muestras del producto lácteo enriquecido de los 6 centros educativos iniciales no cumplían con las normas técnicas correspondientes lo que las hace no aptas para el consumo humano.

- **Control microbiológico preliminar del Yogur elaborado en la ciudad del Cusco.**

Ricardo Froilán Medina, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco 1993

Se determinó la calidad microbiológica del Yogur elaborado en la ciudad del Cusco, a través de la determinación de coliformes totales, hongos y levaduras. Para ello se realizó un muestreo no representativo obteniéndose los siguientes resultados:

En las muestras de Yogur Sirlac hubo recuento negativo en la numeración de hongos y levaduras, pero al realizar la numeración de coliformes fecales dio positivo en aquellas muestras próximas a caducar.

En el caso del Yogur elaborado por la Facultad de Ingeniería Química dio un resultado negativo al recuento de hongos y levaduras así como también para el recuento de coliformes fecales.

El Yogur elaborado en la facultad de Química presentaba recuentos fuera de los valores establecidos para hongos y levaduras, mientras que el conteo de coliformes totales dio negativo.

El recuento de en diferentes sitios de producción de Yogur en el Cusco dio conteos positivos tanto para el recuento de hongos y levaduras como para el recuento de coliformes totales.

- **Investigación de *Salmonella* en embutidos fabricados en la ciudad del Cusco.**

**Zandra E. Rojas Corrales, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
1990**

Se determinó la presencia de *Salmonella* en embutidos fabricados en nuestra en la ciudad del Cusco, para ello se tomaron 40 muestras que incluían: 10 muestras de salchicha, 10 muestras de queso de chancho, 10 muestras de jamón, 20 muestras de mortadela.

De los resultados obtenidos se concluyó lo siguiente, los embutidos de 5 fábricas debidamente registradas en la ciudad del Cusco, reúnen los requisitos mínimos para *Salmonella* establecidos por el Instituto de Investigación Tecnológica e Industrial, ya que se observó la ausencia de *Salmonella* en el total de muestras analizadas.

- **Control de calidad higiénica de la vajilla del comedor universitario de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.**

**Maritza Valverde Alosilla, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
1989**

Se determinó la calidad higiénica de la vajilla del comedor universitario de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, para lo cual se tomaron 70 muestras que incluían: pailas, porta-rationes, soperos, tazas, cucharas, tenedores, cucharones. Se obtuvo los siguientes resultados: Respecto al recuento de microorganismos mesófilos aerobios viables, se observó un 100% de crecimiento en las muestras analizadas. Para el recuento de mohos y levaduras, se observó el crecimiento en un 30% de las muestras analizadas, mientras que hay ausencia total de enterobacterias, estafilococos y estreptococos.

Se concluyó que la vajilla del comedor universitario de la Universidad Nacional San Antonio del Cusco, reunía las condiciones de calidad higiénica.

- **Tecnología en la elaboración de embutidos de carne de alpaca y su control de calidad.**

María Pérez Ruibal Rodríguez, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco 1988

Se realizó la determinación de las cualidades y valor nutricional de la carne de camélidos, obtener embutidos de carne de alpaca con un balance óptimo de los constituyentes y

evaluar la validez higiénica y nutricional de los embutidos de carne de camélidos sudamericanos, Se obtuvieron los siguientes resultados:

Se determinó el alto valor nutritivo de la carne camélido, debido al mayor contenido en proteínas con que cuenta, el contenido de grasa en la carne de los camélidos es menor que en otras especies por lo que no pueden ser utilizadas para la fabricación de embutidos. El control de calidad de los productos obtenidos, determinó que el contenido de carne era mayor que el de agua, además de presentar menos cantidad de grasa, el contenido de proteínas llegó a un 15% determinándose que era una fuente rica de este nutriente.

- **Control de calidad higiénica de los alimentos del comedor Universitario San Antonio Abad del Cusco**
Wilbert Valdeiglesias Jara, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco 1988

Se determinó la calidad higiénica de los alimentos del comedor Universitario San Antonio Abad del Cusco, empleando para tal fin: el recuento de microorganismos aeróbicos mesófilos viables y la determinación de coliformes totales y fecales.

Para ello se tomaron 25 muestras de alimentos tanto crudas como cocidas, determinándose que estas no cumplían con los requisitos sanitarios exigidos, por lo que no son aptos para el consumo.

2.2. ESTADO DE LA CUESTIÓN

Todas las personas tienen derecho a esperar que los alimentos que consumen sean inocuos y que no representen un peligro para su salud, en la actualidad estos juegan un rol importante en la transmisión de enfermedades, debido a que son una de las mayores causas de morbilidad y mortalidad, provocan síntomas que pueden ser desde desagradables hasta fatales, tanto en países industrializados como en aquellos en vías de desarrollo. Además son responsables de pérdidas económicas, desempleo y sobre todo desconfianza en los consumidores hacia los productos afectados. (CODEX ALIMENTARIUS: 2003; ARIAS-ECHANDI: 2000)

Los kioscos escolares representan para la población estudiantil una fuente de alimentos que entre otras facilidades dan una atención rápida y sobre todo alimentos con una

aparición apetitosa, que en muchos de los casos no poseen el contenido nutricional necesario para favorecer el desarrollo físico y mental de los estudiantes y aún más no reúnen los parámetros microbiológicos impuestos por los organismos de salud correspondientes.

En base a los estudios revisados, se observa que a nivel de nuestra nación no se han realizado estudios que comprueben la calidad sanitaria e higiene de los alimentos que son expendidos en kioscos escolares, tan sólo se pudo encontrar un estudio realizado en la ciudad de Mérida, Venezuela, el cual mostró la deficiente calidad microbiológica que presentaban las muestras analizadas.

El control sanitario que se propone no sólo dará una idea del problema actual que se vive en las instituciones educativas nacionales de nuestra región, sirviendo como fuente de información para futuras investigaciones que profundicen en estos aspectos, sino que se espera a que identifique y disminuya los factores de riesgo que influyen en la transmisión de enfermedades por alimentos protegiendo así la salud de la población estudiantil.

2.3. BASES TEORICO CIENTIFICAS

ALIMENTOS: DEFINICIÓN

Se denomina como alimento a toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluidas las bebidas, el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de alimentos, pero estos solo serán considerados como aptos para el consumo humano cuando cumplan con los criterios de calidad sanitaria e inocuidad establecidos por la norma sanitaria, cuyo consumo no causará daño a la salud del consumidor. (MINSA: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

La importancia de la alimentación como necesidad vital es un hecho incuestionable conocido por todos. Si bien es importante comprender esta verdad, también es necesario conocer como nos alimentamos, es decir cuál es la calidad de los alimentos que ingerimos, sobre todo por la gran relación que se ha demostrado que tiene la alimentación con la salud. La alimentación por ser un acto reiterado, a largo plazo y vital, constituye el factor ambiental que más influye en la etiología de numerosas enfermedades.

Los alimentos no son compuestos estáticos, sino dinámicos y consecuentemente las ciencias alimentarias deben estudiar la composición de los alimentos y los efectos que sus componentes provocan en el curso de los diferentes procesos a que están sujetos los alimentos, investigando y descubriendo las conexiones que existen entre la estructura de los diferentes compuestos y sus propiedades organolépticas así como su capacidad de deterioro en función de su composición química.

La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos a que puede someterseles utilizando diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que persigan y los principios en que se fundamentan. Así, la evaluación de los alimentos involucra tres tipos de análisis: análisis físico-químico, análisis microbiológico y análisis sensorial.

- *Análisis físico-químico*: Implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico-químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en qué cantidades estos compuestos se encuentran. El análisis físico-químico brinda poderosas

herramientas que permiten caracterizar un alimento desde el punto de vista nutricional y toxicológico.

- *Análisis microbiológico:* Los alimentos son sistemas complejos de gran riqueza nutritiva y por tanto son sensibles al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos los alimentos hay siempre una determinada carga microbiana, pero esta debe ser controlada y no debe sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo. Por otra parte, existen microorganismos patógenos que producen enfermedades y cuya presencia es por tanto indeseable y hace extraordinariamente peligroso su consumo. El análisis microbiológico se realiza entonces con vistas a identificar y cuantificar los microorganismos presentes en un producto así como también constituye una poderosa herramienta en la determinación de la calidad higiénica de un proceso de elaboración de alimentos, lo que permite identificar aquellas etapas del proceso que puedan favorecer la contaminación del producto.
- *Análisis sensorial u organoléptico:* Constituye una disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. A pesar de que la evaluación sensorial es el análisis más subjetivo, pues el instrumento de medición es el ser humano, muchas veces define el grado de aceptación o rechazo de un producto. Está claro que un alimento que no resulte grato al paladar, a la vista o al olfato, no será aceptado aunque contenga todos los constituyentes nutritivos necesarios y esté apto desde el punto de vista microbiológico.

Todos los métodos señalados tienen igual importancia debido a que desempeñan un gran papel en la determinación del valor de los alimentos. Solo la aplicación articulada y consecuente de los métodos físico-químicos, microbiológicos y organolépticos puede ofrecer evidencia objetiva de la calidad integral de un alimento. (ZUMBADO: 2002)

2.3.1. CALIDAD SANITARIA

La calidad sanitaria asegura productos aptos e inocuos para el consumo humano. La inocuidad se aplica a productos alimenticios, cosméticos, farmacéuticos y fito farmacéuticos, los cuales deben cumplir con sus funciones específicas para los cuales fueron creados, libres de contaminación de cualquier tipo.

La calidad sanitaria se consigue a través de la implementación de sistemas tales como: Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Prácticas de Higiene (BPG), Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP), normas ISO.

La calidad sanitaria constituye una de las prioridades de todos los gobiernos, para lo cual establecen un conjunto de medidas y especificaciones y parámetros a cumplir por todos los proveedores. (www.conquito.org.ec)

2.3.2. HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

La higiene de los alimentos comprende las prevenciones y medidas necesarias en la preparación, manipulación, almacenado y venta de alimentos para garantizar productos intachables, sanos y adecuados para el consumo humano. La higiene de los alimentos tiene como principal objetivo, por consiguiente, la inocuidad sanitaria de aquellos y la disminución o exclusión de influencias que perjudiquen la calidad de dichos alimentos. Para que resulte eficaz debe abarcar todas las fases de la producción, desde la obtención de la materia prima, pasando por los diferentes estadios de tratamiento y entrega del artículo preparado, hasta llegar al consumidor.

Por lo tanto, los dos temas principales con los que la higiene de los alimentos protege al consumidor son tanto el aseguramiento de la calidad como el evitar las alteraciones sanitarias.

Las alteraciones provocadas por los alimentos, se denominan frecuentemente como intoxicaciones alimentarias. Este término comprende sin embargo una gran cantidad de causas de diversa índole, que consideradas con algún detalle pueden agruparse en dos amplios complejos.

- Causas de alteración biológica y microbiológica.
- Aditivos no permitidos, así como residuos y sustancias químicas procedentes del entorno y productos nocivos generados en el tratamiento tecnológico de los alimentos.(SINELL: 1981)

2.3.3. ALIMENTOS SEGUROS

El número creciente y la gravedad de las enfermedades por alimentos han determinado que la preocupación de la población por la seguridad alimentaria haya aumentado considerablemente en los últimos años.

Hoy en día no existe un consenso para definir un alimento seguro, pero lo determinaremos como aquel que presenta un riesgo aceptable, mas no uno que presente un riesgo cero.

Las suspicacias sobre alimentos da lugar a protestas que se traducen en una mala reputación para la industria alimentaria, pero la mayoría de estas se han ganado una buena reputación de seguridad alimentaria, pensando más que todo en un incremento en la confianza de los consumidores que traerá como consecuencia un aumento en sus ganancias.

Pero existe un medio de elaborar alimentos seguros que además sean nutritivos y apetecibles, para ello es necesario la participación de todos los miembros de la empresa y el seguimiento de ciertas normas de producción tales como:

- Control de la materia prima.
- Control del diseño y procesado del producto.
- Buenas prácticas higiénicas durante la producción, procesado, manipulación, distribución, almacenamiento, venta, preparación y utilización.

La elaboración de alimentos seguros forma parte del control de calidad y del aseguramiento de la calidad a pesar de esto existen ciertos alimentos cuya producción es difícil sin un riesgo significativo de toxico infecciones alimentarias. (FORSYTHE: 2000)

2.3.4. INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA

El control microbiológico de la producción de alimentos nos dará productos seguros, inocuos con una vida comercial adecuada y un coste razonable.

Pero aún hoy; a pesar de la gran cantidad de información existente; la garantía de inocuidad aún es muy lejana. En países del tercer mundo un aseguramiento adecuado de la calidad microbiológica lograría salvar hasta un 30% de la producción, incluso en países industrializados evitaría pérdidas cuantiosas de alimentos debido a alteraciones además de reclamaciones legales como consecuencia de enfermedades transmitidas por alimentos.

El primer indicio de aseguramiento de calidad microbiológicas se dio en la década de los años 20, donde se tomó como modelo el sistema que se venía utilizando para asegurar la adecuada composición química e integridad de los alimentos, por desgracia esta estrategia falló debido a las diferencias entre la química de los alimentos y la microbiología, así por ejemplo en los alimentos la distribución de los microorganismos es irregular, además el crecimiento bacteriano de halla influenciado por diferentes factores lo que hace muy difícil la predicción del estado microbiológico de los alimentos antes de la ingestión, lo que determinó que el uso de un sistema de intervención retrospectivo, es decir un análisis del producto final, fuese descontinuada.

Fue a principios de la década de los años 30 que se instaura una filosofía de intervención preventiva, que se basa en el análisis de todos los pasos de la producción asegurando la calidad a lo largo de toda la cadena alimentaria, lográndose de esta manera determinar la predicción de probables problemas que estén asociados con el producto e identificar los puntos posibles de contaminación o crecimiento bacteriano.

A pesar de que muchas veces los alimentos son procesados de manera adecuada para conseguir su inocuidad y que mantienen sus propiedades organolépticas, la integridad de estos no estimula la confianza en la población.

“La propiedad de los alimentos de que son seguros para el consumidor, nutritivos en todas sus potencialidades intrínsecas y organolépticamente atractivos, se denomina a menudo integridad”

Muchas de las personas perciben que estos productos han sido despojados de sus características de genuino, por lo que la ciencia de los alimentos debe poner un mayor énfasis en el concepto de aceptabilidad, tratando que los alimentos que sean producidos conserven el valor nutritivo y las características organolépticas propias del alimento además de asegurar la calidad de este. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.3.5. MICROORGANISMOS DE LOS ALIMENTOS

Los microorganismos se hallan difundidos por toda la tierra. Viven, se alimentan y multiplican en las más diversas condiciones ambientales e inclusive en circunstancias adversas para la vida de seres superiores. Estos son heterótrofos con escasas excepciones, es decir no son capaces de asimilar el CO₂ para efectuar la fotosíntesis, por lo que utilizan carbono y nitrógeno presente en sustancias orgánicas muertas.

Pero los animales vivos también poseen microorganismos, muchos de ellos penetran en los tejidos profundos, donde se multiplican y provocan reacciones de defensa que se reconocen como manifestaciones patológicas en el organismo afectado. A este proceso se llama infección y los microorganismos que lo motivan reciben el calificativo de patógenos.

En el inmenso repertorio de especies microbianas, la fracción de gérmenes patógenos es extraordinariamente reducida. La mayoría de microbios carecen de propiedades patógenas, llamándose saprofitos, en virtud de sus acciones metabólicas participan decisivamente en la descomposición de los alimentos, donde no siempre son indeseables estas actividades metabólicas, ya que muchos alimentos deben sus características peculiares a la acción de determinados microorganismos.

Los microorganismos que señalizan los riesgos u otras anomalías higiénicas se llaman gérmenes indicadores. (HAYE: 1993)

2.3.5.1. TIPOS DE BACTERIAS DE INTERES EN LOS ALIMENTOS

En la clasificación de los organismos vivos, los muy parecidos se agrupan conjuntamente y se consideran como especie. Cuando especies distintas presentan muchos caracteres en común se agrupan, a su vez, constituyendo géneros.

➤ Bacterias Gram negativas

Bacterias espirales y curvadas

Solo el género *Campylobacter* tiene interés en los alimentos por ser una causa importante de toxoinfección alimentaria. Se caracteriza por la formación de bastones rígidos, curvados helicoidalmente, con menos de una vuelta a varias vueltas por célula.

Bacilos y cocos aeróbicos

El género más importante del grupo es *Pseudomonas*. Casi todas sus especies son aerobias obligadas y móviles con uno o más flagelos polares. Muchas especies crecen a bajas alterando los alimentos. Entre estas cabe destacar a las que producen pigmentos verdes difusibles e hidrosolubles (*Pseudomona fluorescens*); también *Pseudomonas* no fluorescentes tienen interés en la alteración de alimentos.

Los géneros *Halobacterium* y *Halococcus* se distinguen porque necesitan para crecer una gran concentración de sal (> 12%). Por ello están implicados en la alteración del pescado muy salado en el que originan manchas rojas o rosadas.

Los tres géneros restantes de interés *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Brucella*, los cuales están como géneros de afiliación incierta. Los *Acetobacter* se encuentran en las bebidas alcohólicas en donde convierten en etanol en ácido acético produciendo el avinagrado. Las especies de *Alcaligenes* son peritricas, presentando formas normalmentecocáceas y bacilares; se encuentran en los productos lácteos y huevos a los que alteran. Las especies de *Brucella* son bacilos ovoides o cocobacilos pequeños e inmóviles, son patógenos de mamíferos. Las enfermedades transmitidas por los alimentos; por ejemplo la brucelosis; se deben al contacto con los animales o típicamente, al consumo de leche sin pasteurizar. (HAYE: 1993)

Bacilos anaerobios facultativos

Son bacilos Gram negativos de forma bacilar que crecen bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas. Se conocen dos familias distintas; la primera *Enterobacteriaceae* comprende ocho géneros de interés: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Yersinia* y *Erwinia*. La segunda, *Vibrionaceae* solo tiene dos géneros de interés: *Vibrio* y *Aeromonas*.

Todos los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son, o móviles con flagelos peritricos, o inmóviles. En el género *Escherichia* solo hay una especie *E. coli*, esta aparece exclusivamente y en gran número en las heces, por lo que se ha descrito como coliforme fecal. Es importante como un indicador de contaminación fecal. Géneros como *Enterobacter* se describen como coliformes debido a que presentan propiedades comunes con *Escherichia coli*.

Salmonella comprende casi 2000 serotipos distintos, siendo un agente importante de toxiinfecciones alimentarias, las especies de *Shigella* son muy parecidas a las de *Salmonella*, con la única diferencia que las primeras son inmóviles y las segundas predominantemente móviles. Las shigelas también provocan enfermedades en el hombre. Las especies de *Yersinia* no tienen están relacionados con enfermedades alimentarias, a excepción de una especie *Yersinia enterocolitica* que se origina toxico infecciones alimentarias.

Los géneros *Serratia*, *Proteus* y *Erwinia* están a veces implicados en toxiinfecciones alimentarias.

Los dos géneros de la familia *Vibrionacea* comprenden especies típicamente móviles con flagelos polares. Las especies de *Vibrio* pueden, a menudo, identificarse presuntamente

basándose en su aspecto al microscopios mientras que las especies de *Aeromonas* presentan una forma bacilar recta más convencional. Los vibrios tienen interés en los alimentos ya que son varias las especies que originan toxiinfecciones alimentarias, infecciones transmitidas por alimentos y deterioro alimenticio; las *Aeromonas* en ocasiones están implicadas en la alteración de los alimentos.

Cocos y cocobacilos

Todos los microorganismos de este grupo son aerobios inmóviles y su forma varía de bacilos gruesos a cocos; se disponen preferentemente en parejas. El género *Acinetobacter* es un alterante de la carne de aves y mariscos, pero se aíslan de una gran variedad de alimentos crudos. (HAYE: 1993)

➤ **Bacterias Gram positivas**

Cocos

La familia *Micrococcaceae* comprende dos géneros importantes: *Micrococcus* y *Staphylococcus*. Los micrococos son aerobios inmóviles que crecen mejor entre 25 y 30 °C, mientras que los estafilococos son anaerobios facultativos y cuando mejor crecen es entre 35 y 40 °C. Ambos géneros se aíslan de una gran variedad de alimentos, pero mientras los micrococos alteran principalmente a los alimentos salados, el género *Staphylococcus* tiene una especie, *S. aureus* que es un importante agente toxiinfectivo.

La familia *Streptococcaceae* son anaerobios facultativos y están constituidas por cocos inmóviles que se presentan típicamente en cadenas o tétradas, dependiendo de la forma en que se dividen. Hay tres géneros: *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*, que junto con *Lactobacillus*, forman bacterias ácido lácticas. Los tres géneros están implicados en el deterioro de alimentos como carnes envasadas al vacío y leche, pero las especies de *Streptococcus* se emplean como microorganismos iniciadores en la elaboración de quesos y yogurt.

Bacilos productores de endosporas

El género *Bacillus* lo componen especies aeróbicas o anaeróbicas facultativas, pueden ser Gram positivas y Gram negativas. La posición, tamaño y forma de las esporas varían, lo que ayuda a diferenciar las distintas especies. Las especies de *Bacillus* se aíslan corrientemente tanto de alimentos crudos como cocinados. Existe una especie de *Bacillus cereus* que produce toxiinfección en el hombre.

Los otros géneros esporulados son *Clostridium* y *Desulfotomaculum* que son anaerobios. La principal diferencia entre estos dos géneros se basa en que el último reduce el sulfato a sulfuro, pero hasta hace relativamente poco tiempo todos los anaerobios esporulados incluían al género *Clostridium*. Las especies de ambos géneros, procedentes de cultivos viejos, dan reacción Gram negativa y ambos están implicados en la alteración de alimentos enlatados. Hay dos especies de *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens* productoras de toxiinfecciones alimentarias.

Bacilos no esporulados

Lactobacillus es el género restante de las bacterias ácidoslácticas. Los lactobacilos son bacilos inmóviles que se presentan a menudo en cadenas y son anaerobias, anaerobios facultativos o microaerófilos. Los lactobacilos alteran muchos alimentos (carnes enlatadas al vacío, bebidas alcohólicas), pero al igual que los estreptococos son utilizados en la industria alimentaria como iniciadores. (HAYE: 1993)

2.3.5.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TIPO Y NUMERO DE MICROORGANISMOS EXISTENTES EN LOS ALIMENTOS

Casi todos los alimentos frescos tienen una carga microbiana diferente, la cual varía de acuerdo a su procedencia. Debido a las características propias de cada medio solo un número reducido de bacterias es capaz de multiplicarse rápidamente y producir alteraciones en el alimento, aun si esta no existiese en gran cantidad en el alimento original.

El tipo y número de microorganismo varía de acuerdo a:

- Contaminación: que puede aumentar e incluso incorporar nuevas especies al alimento, pudiendo provocar una más fácil alteración.
- Multiplicación: la cual aumenta la carga biológica que incrementa las posibilidades de alteración.
- Tratamientos previos: los cuales pueden eliminar o destruir determinados microorganismos, añadirlos o modificar la proporción de los existentes.(FRAZIER: 1983)

2.3.5.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MULTIPLICACION DE LOS MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS

FACTORES ASOCIADOS CON EL MEDIO EXTERNO

- Asociación de microorganismos

Estas intervienen tanto en la fermentación o alteración de los alimentos. La competencia entre ellas determina cual se multiplica más rápidamente que otras, ocasionando un tipo de alteración característica.

Las bacterias se desarrollan más rápidamente que las levaduras y hongos, el crecimiento de estas últimas se ve favorecido si su número es mayor en el alimento original o las condiciones de crecimiento son las más adecuadas.

Las diferentes especies bacterianas existente en los alimentos compiten en entre sí tratando de aventajarse. Pero no todos los microorganismos poseen una actividad antagónica entre ellas, muchas veces actúan de manera simbiótica (útiles mutuamente) o pueden tener un efecto sinérgico, ya que ocasionan transformaciones de manera conjunta.

- Influencia de las condiciones del medio

Las condiciones del medio determinan el tipo de microorganismo que crece con mayor rapidez. Los principales factores son:

Estado físico y estructura del alimento

El estado físico del alimento, su carácter coloidal, su congelamiento, calentamiento, etc., dan la posibilidad de alterar el alimento:

Agua, factor importante que influye el crecimiento bacteriano, es probable que muchos microorganismos sean capaces de modificar el porcentaje de humedad para mejorar sus condiciones de crecimiento.

Congelación, evita la multiplicación de los microorganismos, también es probable que dañe tejido que permiten a su vez la formación de jugos que se liberen en el descongelamiento favoreciendo el crecimiento bacteriano.

Tratamiento térmico, modifica la composición química del alimento, también la estructura por ablandamiento de los tejidos, liberación de agua, modificación de la permeabilidad, etc.

- Temperatura

Debido a que cada bacteria tiene una diferente temperatura óptima de crecimiento, la temperatura de conservación de un determinado alimento influirá en su crecimiento. (FRAZIER: 1983)

FACTORES INTRISECOS ASOCIADOS AL CRECIMIENTO BACTERIANO EN ALIMENTOS

- pH

Cada microorganismo posee un pH óptimo, un mínimo y un máximo que le permite su desarrollo. Las células bacterianas con afectadas por el pH de los alimentos ya que no poseen un mecanismo que regule su pH interno.

Los valores de pH óptimos de los microorganismos varían en relación de otros factores como la a_w , contenido de nutrientes, etc.; lo que no permite que se le dé un valor exacto. (JAY: 2000)

En general los mohos y levaduras poseen una mayor resistencia frente a los medios ácidos que las bacterias. Así los mohos crecen en valores de pH mucho más amplios que las levaduras y bacterias. Las levaduras crecen también a pH ácido, no pudiendo desarrollarse a pH básico. El crecimiento de las bacterias se da por lo general a pHs próximos la neutro a excepción de bacterias acidificantes (pH bajo) y las proteolíticas (pH elevado). (FRAZIER: 1983)

El pH no solo influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos en los alimentos, sino también en la cantidad que existen durante el almacenamiento, tratamiento térmico, desecación, etc. Un pH desfavorable afectara por lo menos dos aspectos importantes de la célula microbiana: función de sus enzimas y transporte de nutrientes al interior de la célula. Todo alimento con pH bajo inhibirá el crecimiento bacteriano en contraste con uno neutro. (JAY: 2000; FRAZIER: 1983)

- Humedad: actividad del agua (a_w)

Los microorganismos necesitan de agua para sobrevivir, la cantidad varía de acuerdo al microorganismo. A este requerimiento se denomina actividad del agua, que se define como: "la presión de vapor de la solución (sustancias disueltas en agua en la mayoría de

los alimentos) entre la presión de vapor del disolvente (generalmente agua) a la misma temperatura.

La mayoría de las bacterias crece a un valor de actividad del agua aproximadamente de 1, para ser más exactos valores comprendidos entre 0,995 y 0,998, además de contar con medios con concentraciones bajas de NaCl y azúcares. (FRAZIER: 1983,)

El examen de las necesidades de humedad de los microorganismos permite llegar a algunas conclusiones:

- Cada microorganismo tiene su propio valor de a_w óptimo de crecimiento y un intervalo de a_w mínimo dentro del cual es capaz de crecer bajo la influencia de ciertos factores tales como: pH, sustancias inhibitorias, O_2 libre, temperatura, propiedades nutritivas. (Tabla 2.1)
- La a_w desfavorable provocara disminución de la velocidad de crecimiento y de la producción de células.
- La reducción de a_w por debajo de su valor óptimo aumenta el periodo de latencia, disminuye la velocidad de crecimiento y el tamaño de la población final. (JAY: 2000; FRAZIER: 1983)

Se ha demostrado que existe relación entre la temperatura, nutrición y la a_w :

- A cualquier temperatura la capacidad de crecer se reduce cuando disminuye la a_w .
- A una temperatura óptima el intervalo de a_w donde se da el crecimiento bacteriano es máximo.
- La presencia de nutrientes aumenta el intervalo de a_w en el cual los microorganismos son capaces de sobrevivir. (JAY: 2000)

TABLA N° 2.1

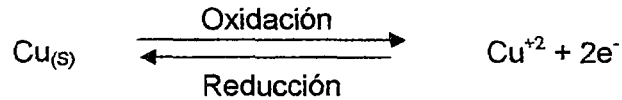
Valores mínimos de a_w que permiten la multiplicación de microorganismos que alteren los alimentos

Grupo de microorganismos	Valor de a_w
Muchas bacterias	0.91
Muchas levaduras	0.88
Muchos mohos	0.80
Bacterias halófilas	0.75
Hongos xerófilos	0.65
Levaduras osmófilas	0.60

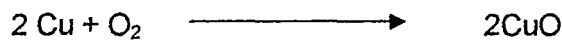
Fuente: Mossel e Engramas, 1955

- Potencial de óxido reducción

El potencial de óxido reducción de un sustrato, generalmente se puede definir como la facilidad con la cual el sustrato gana o pierde electrones. Cuando un elemento o compuesto pierde electrones, se dice que el sustrato se oxida mientras que un sustrato que gana se reduce:



La oxidación también se puede conseguir mediante la adición de oxígeno, así:



Cuando los electrones se traspan de un compuesto a otro, se crea una diferencia de potencial entre los dos compuestos. Esta diferencia de potencial puede ser medida mediante el uso de un instrumento apropiado, y expresada en mili voltios (Mb). Cuanto más oxidada esta una sustancia, tanto más positivo será su potencial eléctrico; cuanto más reducida esta una sustancia, tanto más negativo será su potencial eléctrico. El potencial de óxido reducción de un sistema es expresado mediante el símbolo Eh. (JAY: 2000)

Desde el punto de vista de su capacidad de utilizar el O₂ libre los microorganismos se clasifican en aerobios cuando utilizan el O₂ libre, anaerobios cuando crecen sin O₂ y facultativos cuando pueden adaptarse a ambas condiciones. (FRAZIER: 1983)

El potencial de óxido reducción dependiendo si este es elevado favorece el crecimiento de microorganismos aerobios y facultativos, es decir necesitan valores positivos (oxidados), mientras que potenciales de óxido reducción bajos favorecen el crecimiento de anaerobios y facultativos, necesitan valores negativos (reducidos). (JAY: 2000; FRAZIER: 1983)

Algunas de las bacterias son capaces de modificar el potencial de óxido reducción de su medio, impidiendo el crecimiento de otras bacterias. Los alimentos frescos de origen vegetal y animal, tienen un potencial de óxido reducción bajo y bien equilibrado. (FRAZIER: 1983)

- **Contenido de nutrientes**

Con el fin de crecer y actuar normalmente, los microorganismos de importancia en los alimentos necesitan lo siguiente:

- Agua
- Fuente de energía
- Fuente de nitrógeno
- Vitaminas y factores de crecimiento afines
- Minerales

La importancia del agua para el crecimiento y bienestar de los microorganismos fue precisado con anterioridad, llegándose a la conclusión de que esta era vital para el desarrollo bacteriano.

Como fuente de energía, los microorganismos transmitidos por alimento pueden utilizar azúcares, alcoholes, y aminoácidos. Unos pocos son capaces de utilizar carbohidratos complejos tales como el almidón y la celulosa como fuente de energía, degradándolos en compuestos más sencillos. También pueden utilizar las grasas como fuente de energía.

Las principales fuentes utilizadas por los microorganismos heterótrofos son los aminoácidos, además estos pueden utilizar también vitaminas del grupo B en pocas cantidades, y casi todos los alimentos naturales tienden a tener una abundante cantidad para aquellos organismos que son incapaces de sintetizar sus necesidades esenciales. (FRAZIER: 1983)

- **Sustancias inhibidoras**

La estabilidad de algunos alimentos es debida a la presencia de determinadas sustancias naturales en las que se ha demostrado actividad antimicrobiana, estas pueden ser propias del alimento o añadidas a través de tratamiento posterior las cuales pueden impedir el crecimiento bacteriano de todas o algunas especies; por ejemplo eugenol en los clavillos, la alicina en el ajo, el aldehído cinámico y el eugenol en la canela, el timol de la salvia, y el carvacrol y timol en el orégano. La leche de vaca contiene varias sustancias antimicrobianas que incluyen a la lactoferrina, y el sistema lactoperoxidasa; el cuales un sistema inhibidor que existe de modo natural, consta de tres componentes: lactato peroxidasa, tiocianato y H_2O_2 ; también podemos mencionar a la lisozima de la clara de huevo, ácido benzoico de los arándanos. (JAY: 2000; FRAZIER: 1983)

- Estructura biológica

La cubierta natural de algunos alimentos proporciona una excelente protección contra la entrada y el daño subsiguiente por los organismos de la alteración. En esta clase se encuentran estructuras tales como la testa de las semillas, la cubierta de las frutas, la piel de los animales, y las cáscaras de los huevos. (FRAZIER: 1983)

2.3.5.4. MODIFICACIONES QUIMICAS OCASIONADOS POR MICROORGANISMOS

Un alimento es apto para el consumo, si un consumidor entendido, que conozca los antecedentes de su producción y a la vista del propio alimento, está dispuesto a comérselo, y, viceversa, este mismo alimento esta alterado cuando este mismo inspector lo rechaza como alimento.

Por este concepto cada persona determina que alimento es apto para el consumo, pero se llega al consenso de que existen ciertas características que deben cumplir:

- Conveniente estado de madurez
- Ausencia de contaminación en cualquiera de las fases de producción o manipulación
- Ausencia de modificaciones molestas debido a la invasión de microorganismos o a la actividad de enzimas en el alimento.

Causas de alteración

- Multiplicación y acción de microorganismos
- Insectos
- Actividad de enzimas de origen vegetal o animal
- Reacciones químicas no catalizadas por enzimas microbianas u otras.
- Modificaciones físicas (congelación, presión, combustión, etc.)

Clasificación de los alimentos por la facilidad en su alteración

- Estables: no se alteran, solo por mala manipulación; harinas, azúcar, etc.
- Semiperecederos: tras manipulación y conservación adecuada duran bastante tiempo (papa, etc.)
- Perecederos: fácil alteración, son alimentos importantes para el consumo tales como; carnes, pescado, aves de corral, frutas, hortaliza, leche, huevo, frutas.(FRAZIER: 1983)

2.3.5.5. POSIBILIDADES Y FUENTES DE CONTAMINACIÓN

La higiene de los alimentos debe contribuir a evitar las contaminaciones microbianas de aquellas.

Los animales enfermos de zoonosis amenazan la salud del hombre en dos aspectos: por contacto inmediato y de forma mediata a través de los alimentos obtenidos a partir de dichos animales. Pero lo normal es la contaminación primaria de los animales con microorganismos responsables de descomposición. Se hallan siempre en los diversos tramos del canal digestivo y ocasionalmente también en el hígado y vesícula biliar.

Una fuente alta de contaminación también se da durante la obtención del alimento, donde la contaminación en los animales de carnicería, por ejemplo, son los residuos de heces existentes en pieles y pellejos, pezuñas y cascos, y también contenido intestinal.

La tierra del suelo constituye otra fuente de contaminación inicial, el contenido de humus y otras sustancias orgánicas pueden contener millones de microorganismos por gramo que al contrario con la flora fecal prevalecen en estos microorganismos esporulados aerobios y anaerobios, hongos.

Otras fuentes de contaminación son las aguas de enfriado y enjuagado, así como los charquitos y gotas de agua que quedan en los objetos insuficientemente secos. Con el agua por lo general se transmiten microorganismos Gram negativos.

Por último, deben citarse los vectores vivos, insectos, roedores y otros parásitos, animales domésticos y salvajes que tengan acceso a los alimentos y puedan vehicular toda clase de microorganismos, con los cuales ellos mismos se contagian o entran en contacto, por lo que el riesgo de contaminación es altamente elevado.

El propio hombre y sus utensilios, objetos y enseres son una esencial fuente de contaminación. (SINELL: 1981)

2.4. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Las enfermedades microbianas fueron conocidas por el hombre desde épocas muy antiguas, pero debido a la falta de conocimiento sobre su etiología, inmunidad, características y tratamiento, impidió que se le diera el lugar que hoy tienen. La gran cantidad de conocimientos que hoy tenemos nos permite que muchas de ellas sean controladas satisfactoriamente. (RODRÍGUEZ: 1998)

La enfermedad transmitida por los alimentos es ocasionada al consumir alimentos o bebidas contaminados. Muchos microbios diferentes causantes de enfermedad, o patógenos, pueden contaminar los alimentos, por lo que hay muchas infecciones diferentes transmitidas por los alimentos. Además, productos químicos, venenosos u otras sustancias nocivas pueden causar enfermedades transmitidas por los alimentos si se hallan presentes en ellos. La enfermedad microbiana es el resultado de dos fuerzas que actúan en sentido contrario: la virulencia del microorganismo y la resistencia del hospedero, donde si existe un desequilibrio es posible el desarrollo de la enfermedad. (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION:2005; RODRÍGUEZ: 1998)

La capacidad de un microorganismo para producir una enfermedad se denomina patogenicidad, podemos decir que las bacterias son de dos tipos: las patógenas o virulentas y las apatógenas o a virulentas; debiendo diferenciarse a aquellas bacterias que perdieron su capacidad de producir enfermedades de aquellas que no las producen. (RODRÍGUEZ: 1998)

2.4.1. FACTORES DE PATOGENICIDAD

Los microorganismos patógenos pueden poseer varios, los cuales incrementa su acción sobre el hospedero, pueden actuar de forma diferente y son los que determinan si el microorganismo posee una mayor o menor virulencia.

Estos factores son:

- *Penetrabilidad*, capacidad de un microorganismo de colonizar el tejido de un hospedante causando daño. Una condición para el desarrollo de la enfermedad es que el microorganismo entre en contacto con las células a nivel superficial o interno de órganos susceptibles, claro que existen excepciones como es el caso de alimentos que liberan un agente toxico a través de un vehículo al órgano sensible.
- *Toxicidad*, es la capacidad de causar daño en un determinado tejido de u hospedador mediante sustancias toxicas, bloquea procesos bioquímicas o alteran estructuras de células sensibles, produciendo su muerte o interrumpiendo su función. Estas pueden ser exotoxinas y endotoxinas.

De acuerdo a nuevos estudios se han podido clasificar en:

a) Proteínas tóxicas, que a su vez se clasifican en:

- Intracitoplasmáticas, presentes en bacilos Gram negativos, posee tres factores: A1, A2, B, los cuales provocan alteración en el transporte de agua y electrolitos.

- exotoxinas, presentes en Gram positivos y gérmenes esporulados anaerobios del género Clostridium.

- toxinas de tipo intermediario, aquellas que se excretan en la fase de crecimiento bajo la forma de protoxinas inactivas que se activan a nivel celular.

b) Endotoxinas, son complejos moleculares, corresponden a un lipopolisacárido con 3 regiones: I, cadenas laterales de unidades de oligosacáridos que le dan especificidad inmunológica; II y III.

- *Factores Auxiliares*, factores enzimáticos y factores inmunológicos. (RODRÍGUEZ: 1998)

Se han descrito más de 250 enfermedades diferentes transmitidas por los alimentos. La mayoría de estas enfermedades son infecciones, ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos que pueden ser transmitidos por los alimentos. Otras enfermedades son envenenamientos, ocasionados por toxinas o productos químicos nocivos que han contaminado los alimentos, por ejemplo, hongos venenosos. Estas diferentes enfermedades tienen muchos síntomas diferentes, por lo que no hay un "síndrome" que sea una enfermedad transmitida por los alimentos. Sin embargo, el microbio o toxina se introduce en el cuerpo a través del conducto gastrointestinal, y a menudo ocasiona los primeros síntomas tales como náusea, vómitos, calambres abdominales y diarrea, síntomas comunes en muchas enfermedades transmitidas por los alimentos. (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: 2005)

En la mayoría de los casos no son reportadas a las autoridades correspondientes, esto a causa de la leve sintomatología que producen, por lo que no necesitan la atención médica. Es por ello que los casos denunciados solo constituyen una pequeña fracción del número real de enfermedades transmitidas por alimentos. (FORSYTHE: 2000)

Las enfermedades microbianas se dividen en dos clases principales:

- Aquellas que se producen por la ingesta de microorganismos patógenos, capaces de causar la enfermedad por invasión del huésped o también por la liberación en el organismo de sustancias tóxicas, a este tipo de enfermedades se les conoce como infecciones alimentarias.

- La otra clase de enfermedades es aquella que se transmiten por la absorción de toxinas que ya estaban presentes en los alimentos antes de su ingestión, esto como consecuencia de la presencia de algunos microorganismos en los alimentos; a estas enfermedades se les denominan intoxicaciones transmitidas por alimentos.
(MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.4.2. ALIMENTOS QUE ESTÁN ASOCIADOS MÁS FRECUENTEMENTE CON LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS.

Los alimentos crudos de origen animal son los que tienen más probabilidad de estar contaminados; es decir, la carne cruda y el pollo, los huevos sin cocinar, la leche no pasteurizada y el marisco crudo. Debido a que el marisco, que se alimenta por filtración, filtra los microbios del mar a través de muchos meses, y hay mucha probabilidad de que estén contaminados si hay patógenos en el agua de mar. Los alimentos que se mezclan con los productos de muchos animales individuales, tales como la leche cruda al por mayor, los huevos crudos combinados o la carne de vacuno molida son especialmente peligrosos porque un patógeno presente en uno de los animales puede contaminar a todo el lote. Una sola hamburguesa puede contener carne de cientos de animales. Una sola tortilla preparada en un restaurante puede contener huevos de cientos de gallinas. Un vaso de leche cruda puede contener leche de cientos de vacas. Una canal de pollo de asar puede hallarse expuesta al goteo y jugos de muchos miles de otras aves que pasaron a través del mismo tanque de agua fría después del sacrificio.

Las frutas y legumbres que se consumen crudas son de especial preocupación. Al lavarlas se puede reducir el riesgo de contaminación, pero no eliminarlo, por lo que los consumidores pueden hacer poco para protegerse. Recientemente, cierto número de brotes se han debido a frutas y legumbres frescas que fueron elaboradas en condiciones menos que sanitarias. Estos brotes muestran que la calidad del agua utilizada para lavar y enfriar el producto después de su recolección es vital. Utilizar agua que no está limpia puede contaminar muchas cajas de productos. El estiércol fresco utilizado para abonar las legumbres también puede contaminarlas. Los brotes de alfalfa y otros brotes crudos presentan un reto especial ya que las condiciones en las que se producen son ideales para el crecimiento de los microbios así como el de los brotes y debido a que se comen sin cocinarlos adicionalmente. Esto significa que unas cuantas bacterias presentes en la semilla pueden crecer hasta alcanzar un elevado número de patógenos en los brotes. El jugo de fruta no pasteurizado también puede contaminarse si hay patógenos en la fruta o

dentro de ella que se utiliza para fabricar el jugo. (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: 2005)

2.5. DESCRIPCIÓN DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS

2.5.1. Salmonelosis

Características de generales

Salmonella es un género de la familia Enterobacteriaceae. Los representantes de esta familia se caracterizan como bacterias Gram negativas, aerobias facultativas, asporógenas, de forma bacilar. Las formas móviles poseen flagelos peritricos. Producen ácido, y a veces gas, de la glucosa, suelen ser catalasa- positivas y oxidasa negativas u reducen los nitratos a nitritos. La mayoría de los representantes de la familia se encuentran en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales, bien como patógenos, bien como comensales.

Las principales características fenotípicas del género son las siguientes: Las salmonelas suelen ser móviles a excepción de *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum* y algunas variantes de otras serovariedades inmóviles. La mayoría de las cepas, con la excepción de *S. Typhi*, son aerógenas, utilizan citrato como única fuente de carbono, descarboxilan la lisina, arginina y la ornitina y producen sulfuro de hidrogeno. (ICMSF: 1996)

Patogenia, cuadro clínico.

La salmonelosis- toxiinfección alimentaria por *Salmonella* – generalmente se define como el tipo menos grave de gastroenteritis febril producida por *Salmonellas* de las enteritis, es decir, por la que nos son ni *Salmonella typhi* ni *Salmonella paratyphi*. Las salmonelosis fueron identificadas en 1880 como una enfermedad transmitida especialmente en carnes.

Los síntomas clínicos generalmente aparecen 18 a 36 horas después de la ingestión del alimento contaminado por salmoneras. La enfermedad se caracteriza por una diarrea grave acompañada de fiebre, y con frecuencia de dolor de cabeza y malestar general. Su duración varía desde unos pocos días a algunas semanas. La mayoría de cepas colonizan el íleon, se fijan o adhieren al epitelio y producen enterotoxinas. Algunas son citopatógenas y causan diarrea sanguinolenta.

La bacteriemia es causada por la presencia de salmonelas en la sangre. Esta puede aparecer por metástasis cuando el sitio inicial de la infección es el tracto intestinal u otros focos. El resultado es una fiebre alta y persistente, dolor en el dorso, en el abdomen y en el tórax, escalofríos, sudoración, malestar, anorexia, y pérdida de peso. El estado puede ser pasajero o crónico. Las cepas de *Salmonella typhimurium*, *Salmonella cholerae – suis* y *Salmonella dublín* son propensas a invadir la corriente sanguínea y pueden sobrevenir infecciones focales de varios tejidos. Aunque infrecuentes, las secuelas identificadas incluyen apendicitis, artritis, colecistitis, endocarditis, abscesos locales, meningitis, osteomielitis, osteoartritis, pericarditis, peritonitis, pleuritis, neumonía e infección de las vías urinarias. (ICMSF: 1996; MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

Aunque en la salmonelosis está implicada una larga lista de alimentos, la mayoría de los casos son consecuencia del consumo de:

- Carne de mamíferos y de aves y alimentos marinos.
- Otros productos de origen animal como ovoproductos no pasteurizados, leche no pasteurizada y productos lácteos no pasteurizados.
- Otros alimentos que inicialmente están libres de salmonelas, pero que fueron contaminados.

2.5.1.1. Fiebres tifoideas y paratifoidea

La etiología y la transmisión de las fiebres entéricas clásicas, es decir, de la fiebre tifoidea y paratifoidea, producidas por *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphic* A, B, C, son diferentes con respecto a la enfermedad relativamente benigna causada por la mayoría de las demás salmonelas de la enteritis. En efecto la fiebre tifoidea y paratifoidea, generalmente se transmiten por medio del agua y solo accidentalmente por los alimentos.

Estas enfermedades son consecuencia de infecciones sistémicas, en la que los organismos, después de una multiplicación breve en el tracto intestinal, invaden la corriente sanguínea, se establecen en diversos órganos y origina fiebre elevada y otros síntomas característicos. El periodo de incubación antes de que los síntomas clínicos sean patentes puede ser solo de una semana o tener incluso una duración de tres semanas; el porcentaje de muertes es mucho más elevado que en el caso de infecciones debidas al resto de salmonelas.

Con la excepción de *Salmonella paratyphi B*, las salmonelas productoras de fiebre tifoidea y paratifoidea siempre son de origen humano y muy rara vez se aíslan de animales. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.5.2. Enteritis por *Campylobacter*

Características de generales

Son células de tamaño pequeño, microaerófilas, Gram negativas, de forma vibroide o espiral con movilidad oscilatoria y recorrido de ida y vuelta. Reducen el nitrato y son incapaces de oxidar o fermentar carbohidratos. Los campylobacter estaban incluidos en el género *Vibrio* pero en 1963 Sebald y Veron propusieron el género *Campylobacter*. (ICMSF: 1996)

Patogenia, cuadro clínico

Campylobacter jejuni produce enteritis y otras, a veces graves, afecciones y complicaciones en el hombre. Algunas especies de *Campylobacter* también son agentes etiológicos de varias enfermedades contagiosas en animales, ciertamente muy mal caracterizadas, y, además, han sido aisladas del contenido intestinal del ganado vacuno, ovino, de los perros, de las aves de corral sanos y también de las heces humanas. No todas las cepas de *Campylobacter* aisladas son patógenos, pero *Campylobacter jejuni* ha sido responsable de brotes importantes de diarrea producidos por carne de pollo y leche. En la actualidad, la campylobacteriosis es una de las infecciones entéricas transmitidas por alimentos más predominantes en muchos países, con la misma frecuencia con la que se observa la salmonelosis. Otras especies de campylobacter pueden producir cuadros clínicos.

Los síntomas de la infección entérica por *Campylobacter jejuni* son dolor abdominal intenso y diarrea explosiva. La infección puede afectar al intestino delgado o al intestino grueso, o ambos a la vez, y es frecuente en los niños de corta edad. El periodo de incubación varía desde dos hasta once días y los síntomas pueden durar incluso tres semanas. Una vez que ha remitido la enteritis se observan varias complicaciones, entre ellas podemos mencionar:

Colecistitis, colitis, endocarditis, meningitis, artritis, carditis, eritema nodoso, síndrome hemolítico – urémico, pancreatitis, hepatitis, síndrome de Guillain – Barre, polineuritis febril aguda, púrpura trombocitopénica, aborto, sepsis perinatal, encefalopatía, entre otras.

Los mecanismo mediante los cuales *Campilobacter jejuni* y *Campilobacter coli* causan diarrea han sido sugeridos por los síntomas clínicos. La diarrea secretora o acuosa puede ser causada por organismos que se adhieren a la mucosa intestinal del intestino delgado proximal y que elaboran una enterotoxina. La diarrea en la que las heces contiene sangre reciente y células inflamatorias indica la invasión y la inflamación coloproctal. *Campylobacter* ha sido detectado en el tramo proximal del intestino delgado y en los enfermos se han observado lesiones del yeyuno y edemas mucosos, hiperemia y ulceración del colon.

Es una enfermedad zoonótica. La dosis necesaria para desencadenar una infección es muy pequeña, probablemente no más de unos pocos centenares de unidades formadoras de colonias. (ICMSF: 199; MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.5.3. Shigelosis o disentería bacilar.

Características de generales

El género *Shigella* está constituido por bacterias inmóviles que se ajustan a las definiciones de la familia Enterobacteriaceae. Están emparentadas íntimamente con *Escherichia coli* en cuanto a la homología de ADN y en cuanto a algunas características bioquímica, y comparten algunos antígenos comunes.

En medios artificiales, las *Shiguellas* crecen menos abundantemente que las bacterias coliformes, en cuanto a la utilización de carbohidratos son menos activas que *Escherichiacoli* y no producen gas visible a partir de estos compuestos.

El género *Shigella* está constituido por cuatro grupos principales, que se diferencian mediante una combinación de caracteres bioquímicas y serológicos. Se designan subgrupo A (*Shigella dysenteriae*) (bacilo de shiga), subgrupo B (*Shigella flexneri*), subgrupo C (*Shigella boydii*) y subgrupo D (*Shigella sonnei*). Los serotipos se caracterizan por sus antígenos somáticos O de naturaleza polisacárida, y carecen de antígenos flagelares. Determinadas cepas poseen un antígeno K de envoltura que es termolábil. (ICMSF: 1996)

Patogenia, cuadro clínico

Es una de las infecciones que siempre han afectado al hombre. Tiene un periodo de incubación relativamente corto, generalmente de unas 48 horas, pero que varía desde 7 hasta 66 horas. Lo mismo que la mayoría de las infecciones entéricas, es esencialmente una enfermedad localizada, hallándose confinado el microorganismo responsable

habitualmente en el colon y el íleon. El modo de ataque es similar al de las salmonelas productoras de infecciones alimentarias, las síguelas invaden las células epiteliales del intestino grueso.

Shigella dysenteriae y *Shigella flexneri* con frecuencia originan una diarrea profusa y teñida de sangre. Además la producción de toxina de síga puede provocar trastornos sistémicos profundos. *S. sonnei* causa una enfermedad mucho más benigna. 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.

Las *Shigellas* tienen propiedades invasoras que les permiten atravesar el tejido epitelial del intestino, a la vez que la toxina es importante en la patogenia. La dosis infecciosa es insignificante y por esta razón los alimentos con bajas cifras de *Shigella* pueden causar enfermedad. El número de casos declarados de shigelosis cuyo origen fueron los alimentos es mucho más bajo que el número de casos registrados por salmonelosis y de campylobacteriosis, transmitidas por estos productos. (ICMSF: 1996; MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.5.4. *Escherichia coli* enterovirulenta

Patogenia, cuadro clínico

La mayoría de bacterias del grupo *Escherichia coli* son habitantes del intestino. Se distinguen seis cepas según su capacidad patógena, -también se les puede llamar virotipos-: *Escherichia coli* enteropatogénica (ECEP), enterotoxigénica (ECET), enteroinvasiva (ECEI), enterohemorrágica (ECEH), enteroagregativa (ECEA) y de adherencia difusa (ECAD). A finales del siglo pasado, se sospechó que algunas cepas eran patógenas entéricas en niños, pero solo hacia 1950 se comprobaron las sospechas y fue en 1988 cuando estas cepas enteropatógenas se integraron en el denominado grupo *Escherichia coli* enterovirulento.

Durante mucho tiempo se pensó que *Escherichia coli* enterovirulento solo afectaba a bebés y a los niños de corta edad y que existía una correlación entre el serotipo O y las propiedades enteropatógenas. Sin embargo, ninguna de estas suposiciones se ha confirmado. En los años 50, se obtuvieron las primeras evidencias, que se comprobaron en los años 80 y 90, de que también los adultos padecen con frecuencia diarreas por *Escherichia coli*. (ICMSF: 1996)

2.5.5. *Yersinia*

Características de generales

El género *Yersinia*, uno de los géneros de la familia Enterobacteriaceae, contienen 11 especies que incluyen a *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* y a *Yersinia enterocolitica*, que son patógenos tanto para las personas como para los animales.

Yersinia enterocolitica es una bacteria de forma bacilar, Gram negativa, anaerobia facultativa, que produce células ovales o cocoides en los cultivos jóvenes a 25 °C. en el primer aislamiento en medios sólidos, aparecen colonias lisas de aproximadamente 0,5 – 2.0 Mm. de diámetro, mientras que en los subcultivos pueden aparecer colonias rugosas. La expresión característica depende de la temperatura. (ICMSF: 1996)

Patogenia, cuadro clínico.

Yersinia enterocolitica ha sido identificada como causa de gastroenteritis febril desde 1965, pero la pruebas de que es transmitida por los alimentos solo hace algún tiempo que salió a la luz. Los síntomas son similares a los causados por las salmonelas. Es frecuente un dolor en el cuadrante inferior derecho del abdomen, por lo que a veces ha dado como resultado un diagnóstico erróneo de apendicitis y apendectomía innecesaria; sin embargo, tal vez estos microorganismos causen apendicitis. Los niños hasta la edad de 15 años, así como los individuos debilitados, son las personas que más comúnmente resultan infectadas. Este microorganismo es capaz de causar diversas complicaciones, especialmente de carácter reumatoide.

Las cepas patógenas de *Yersinia enterocolitica* producen una enterotoxina termoestable y son capaces de invadir las células de los mamíferos.

Las cepas que con más frecuencia causan infección en Europa, en Japón, en Canadá y en los EE UU son las pertenecientes a los serotipos O: 3, O: 5, O: 8 y O: 9. Serotipos implicados con menor frecuencia son el O: 13 y el O: 21. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.5.6. *Vibrio*

Características de generales

Vibrio cholerae es la especie del género *Vibrio*, un grupo de bacilos oxidasa – positivos, Gram negativos, con frecuencia curvados, anaerobios facultativos generalmente móviles debido a un característico flagelo polar provisto por una vaina. Los vibrios se diferencian de las Enterobacteriaceae por su reacción oxidasa – positiva y del grupo de *Aeromonas*

emparentado por no producir gas. La especie *Vibrio cholerae* incluye a la bacterias que producen el cólera verdadero.

Las cepas de *Vibrio parahemolyticus* se designa Kanawa – negativas en función de que se halle presente hemolisina directa termoestable, activa sobre los eritrocitos humanos recién obtenidos, y de aquí esta propiedad generalmente se correlaciona positivamente con la patogenicidad del hombre. Las cepas pueden ser serotipadas en base a los antígenos O y K, pero no existe una correlación constante entre la patogenicidad (o respuesta de Kanawa) y la serología. (ICMSF: 1996)

Patogenia, cuadro clínico

La especie *Vibrio cholerae* se divide en grupos en base a sus antígenos O. La serovariedad O: 1 incluye el vibrio clásico del cólera así como el biotipo El Tor, mientras que la serovariedad O319 ha sido identificada más recientemente. El número de células que se necesitan para iniciar la infección por los serotipos O: 1 se halla comprendido en el intervalo $10^4 - 10^8$, siendo generalmente mayor cuando el organismo es ingerido con el agua, y menor cuando es ingerido después de la neutralización del ácido estomacal.

Entre los síntomas destaca la fiebre alta y la diarrea grave. La bacteria se fija a las células epiteliales del intestino delgado y causa diarrea por producir una enterotoxina termolábil, similar a la toxina de *Escherichia coli*, que induce la pérdida de líquido por las células epiteliales, lo que puede provocar la muerte del paciente debido a la pérdida excesiva de fluidos e iones, especialmente de potasio. La reposición del agua y de los solutos perdidos puede prevenirla. Las biovariedades no toxigénicas de *V. cholerae* clásico también parecen capaces de causar una gastroenteritis grave. (MOSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.5.7. Clostridium

Características generales

Clostridium perfringens es un bacilo Gram negativo, con extremos cortados en ángulo recto, anaerobio clasificado dentro de la familia Bacillaceae. Este representante inmóvil del género *Clostridium* forma esporas ovals situadas en posición central de un tipo que rara vez se observa en los cultivos a no ser cuando el organismo se cultiva en medios especialmente formulados; las esporas son producidas fácilmente en el intestino. En extensiones de tejido se pueden observar capsulas. (ICMSF: 1996)

Patogenia, cuadro clínico

Esta enfermedad se caracteriza por diarrea y espasmos o retortijones abdominales, que generalmente aparecen una 10 horas (variación, 8 – 22 horas) después del consumo de un alimento colonizado con $10^5 - 10^9$ ufc de *Clostridium perfringens* por gramo. A veces se observan náuseas y raramente vómitos. El tipo de *Clostridium perfringens* es el A. el tipo C determina en el hombre una enfermedad transmitida por alimentos, pero mucho más grave, se denomina enteritis necrosante o enterocolitis necrosante. Esta enfermedad con diarrea sanguinolenta es rara.

Los síntomas de la infección intestinal por *Clostridium perfringens* son consecuencia de la liberación de una enterotoxina por las células en fase de esporulación en el tracto intestinal inferior. Se ha demostrado que la toxina es un componente de la envoltura del espora de las cepas de *Clostridium perfringens* responsables. Luego los alimentos no contienen la toxina preformada, sino que esta se forma in vivo en el intestino humano. Aunque, en alguna ocasión, se ha detectado en medios de cultivo y en los alimentos cuando en ellos ha tenido lugar la esporulación. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

2.5.8. *Staphylococcus aureus*

Características generales

Presenta formas de cocos Gram positivos y catalasa positivo que se dividen de un plano para formar racimos tridimensionales de células. Desde el punto de vista morfológico, *Staphylococcus aureus* es parecido al género *Micrococcus* pero, en contraposición al metabolismo estrictamente respiratorio de los micrococos aerobios, crece en anaerobiosis y muestra un metabolismo anaerobio facultativo.

La taxonomía de estafilococos ha sufrido un cambio importante en los últimos 20 años, en la actualidad se admiten un total de 30 especies. El comité internacional responsable de las recomendaciones sobre taxonomía ha indicado que los estafilococos se deben encuadrar en una familia independiente de los micrococos, a saber, la familia Staphylococcaceae. (ICMSF: 1996)

Etiología

La intoxicación alimentaria estafilocócica resulta del consumo de alimentos en los que las bacterias se han multiplicado hasta niveles del orden de 10^6 /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. Aunque realmente no es grave en el sentido clínico y solo rara

vez termina en muerte, la intoxicación alimentaria estafilocócica es, no obstante, muy desagradable, causando incapacidad total durante un corto periodo de tiempo.

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. En el otro extremo, el menor número de brotes se debe a cepas productoras de enterotoxina B (Tabla N°2.2), aunque no es raro en el laboratorio que esta enterotoxina sea producida por algunas cepas procedentes tanto de alimentos como de fuentes clínicas. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

TABLA N° 2.2
Ecovariedades o biotipos de *S. aureus* con especificidad de hospedador

Origen	Rasgos de la ecovariedad				Serotipo de la enterotoxina predominante
	BH	K	BP	CV	
Humano	+/-	+	-	C, A	A, B
Aviar/ porcino*	-	-	-	A	(D)
Bovino	+	-	+	A	B
Ovino	+	-	+	C	C
Ambiente	-	-	-	A	A, C, D

BH: hemólisis β; K: estafiloquinasa; BP: coagulasa de plasma bovino; CV: reacción de cristal violeta.
* Las cepas de origen porcino son muy variables con respecto a todos los rasgos o características.

FUENTE: Microbiología de los alimentos, D.A.A Mossel, B Moreno y C.B Struik, 2003.

2.5.9. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus causa intoxicaciones alimentarias a través de la ingesta de alimentos contaminados. En general se admite que, debido a la levedad del cuadro y a que la detección microbiológica de esta bacteria no se realiza rutinariamente en pacientes diarreicos, la incidencia real puede ser superior a la estimada. Mas si tenemos en cuenta, que el cuadro clínico se confunde a menudo con los producidos por *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens*, dependiendo de qué toxina esté involucrada.

La intoxicación alimentaria 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. Los

alimentos vinculados a brotes han sido carne y verduras cocidas, arroz frito o hervido, crema de vainilla, sopas, leche y brotes de vegetales crudos.

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. El síndrome emético está producido por una toxina preformada y termoestable, al igual que la de *Staphylococcus aureus*. 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. Este hecho ha llevado a confundir la intoxicación por *Bacillus cereus* y atribuirle a *Staphylococcus aureus*. El síndrome diarreico por el contrario, está producido por la ingestión de alimentos inadecuadamente refrigerados. Resulta de la esporulación del organismo in vivo y de la producción de una enterotoxina diferente de la anterior, preformada y termolábil tiene un período de incubación más largo que promedia entre 10 y 12 horas y las manifestaciones se relacionan con la afectación gastrointestinal baja similar a la intoxicación por *Clostridium perfringens*. Los síntomas son dolor abdominal, diarrea acuosa profusa, tenesmo y náuseas que generalmente duran 12-24 hrs. y en algunos pacientes pueden durar más tiempo, de 2 a 10 días.

El aislamiento de *Bacillus cereus* de las heces de los pacientes no es documentación suficiente del brote, a menos que se obtengan cultivos negativos de materia fecal de un adecuado grupo control. Se puede realizar tipificación serológica para estudios epidemiológicos de disponer de los antisueros.

La intoxicación alimentaria por *Bacillus cereus* es autolimitada y no requiere tratamiento antimicrobiano, el tratamiento es sintomático y ocasionalmente es necesario rehidratación. (MURRAY: 1995)

2.6. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS

La seguridad se determina por la presencia o ausencia de microorganismos patógenos o sus toxinas, por el número de patógenos, y por el control o destrucción esperada de estos agentes. Los ensayos con microorganismos indicadores pueden utilizarse para determinar la calidad o seguridad microbiológica siempre que previamente se haya establecido una relación entre la presencia del organismo indicador y la presencia probable de un patógeno o una toxina. El nivel de microorganismos alterantes da idea de

la calidad microbiológica o salubridad del alimento, así como de la efectividad de las medidas empleadas para controlar o destruir a tales microorganismos. (DOYLE: 2001)

Un criterio microbiológico define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basado en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote. (MINSA: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

Un criterio microbiológico incluye además el plan de muestreo y las condiciones para el rechazo o aceptación del lote, según los resultados del análisis de las unidades de muestra. Estos valores cuantitativos pueden ser obligatorios o simplemente recomendados o aconsejados. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

Un criterio microbiológico estipulara que un tipo de microorganismo, un grupo de microorganismos o una toxina producida por un microorganismo debe estar totalmente ausente, estar presente solo el número limitado de muestras o presente sin superar un determinado número o cantidad en un alimento o ingrediente alimentario.

De acuerdo con esta definición un criterio microbiológico consiste en:

- Señalar los microorganismos que preocupan y/o sus toxinas/metabolitos y la causa de tal preocupación.
- Los métodos analíticos para su detección y/o cuantificación.
- Un plan que indique el número de muestras de campo que deben tomarse para el análisis, y el tamaño de la unidad (o muestra).
- Los límites microbiológicos considerados apropiados para el alimento en el punto o puntos señalados de la cadena alimentaria.
- El número de muestras o unidades analíticas que deban estar dentro de estos límites.

El criterio microbiológico debe señalar asimismo:

- El alimento al que se aplica.
- El punto (o puntos) de la cadena alimentaria donde se aplica.
- Las medidas que deben tomarse cuando no se cumple el criterio.

Los criterios solo deben establecerse y utilizarse cuando son verdaderamente necesarios y su aplicación es practicable. Necesidad demostrada, por ejemplo, por evidencias epidemiológicas que indiquen que el alimento, objeto d estudio podría ser un riesgo de

salud pública y que el criterio sirve de protección del consumidor o como resultado de la valoración de un riesgo. Los criterios deben revisarse periódicamente ante la importancia de los patógenos emergentes, los cambios tecnológicos y su mejor entendimiento de la ciencia. (FORSYTHE: 2000)

➤ PLANES DE MUESTREO

Un plan de muestreo incluye tanto el procedimiento de toma de muestras como los criterios de decisión. Para examinar un alimento por la presencia de microorganismos, se ha de examinar con unos métodos definidos todo el lote o una muestra representativa. Un lote es aquella cantidad de alimento producido, manipulado y almacenado en un periodo limitado de tiempo bajo condiciones uniformes. Como no es nada práctico examinar el lote entero, deben usarse conceptos estadísticos de probabilidad de población y de muestreo para determinar el número y tamaño de unidades de muestra procedentes de los resultados analíticos. El plan de muestreo se diseña de modo que se rechacen aquellos lotes que no cumplan un determinado nivel de confianza.(DOYLE: 2001)

Para la elección de planes de muestreo se tendrá en cuenta:

- Los riesgos de salud pública asociados al peligro.
- La sensibilidad de los consumidores del grupo diana.
- La heterogeneidad de la distribución de los microorganismos cuando se utilizan planes de muestreo variables.
- El nivel de calidad aceptable (AQL) y la probabilidad estadística deseada para la aceptación de un lote "no conforme". (FORSYTHE: 2000)

Tipos de planes de muestreo

Los planes de muestreo se clasifican en dos grandes categorías: por variables y por atributos.

Los planes de muestreo por variables dependen de la distribución de frecuencias de un microorganismo en un alimento. Para una correcta aplicación de un plan por variables, los microorganismos deben seguir una distribución normal. Cuando el alimento procede de un origen común y se sabe que ha sido procesado o producido bajo condiciones uniformes, se asume que la distribución de microorganismos es normal. Sin embargo, cuando se tiene escasa información sobre el modo en que un alimento ha sido procesado, o cuando no se dispone de registros anteriores, se prefiere emplear un plan

de muestreo por atributos. También se puede emplear los planes de muestreo por atributos para evaluar el cumplimiento de Buenas Prácticas de Fabricación. (DOYLE: 2001)

➤ MICROORGANISMOS INDICADORES

La denominación de microorganismos indicadores se aplica a cualquier grupo taxonómico, fisiológico o ecológico de bacterias, cuya presencia o ausencia proporcione evidencias indirectas de la presencia en la muestra de algún aspecto singular anterior. Frecuentemente se utilizan las bacterias intestinales, aunque otros grupos de microorganismos sirvan igualmente de indicadores en otras circunstancias. Por ejemplo, la presencia en los alimentos tratados por el calor, de miembros de las bacterias Gram negativas es indicativo de un tratamiento térmico deficiente (respecto de la carga microbiana inicial), o de una contaminación posterior al termoprocesado. Los recuentos de coliformes, dado que representan un subgrupo de todas las bacterias Gram negativas constituyen un indicador menos sensible de los problemas asociados a los tratamientos térmicos pero todavía se emplean mucho para el análisis de los alimentos termoprocesados. El término de microorganismo indicador lo sugirió Ingram en 1977 para toda bacteria cuya presencia señala la posible existencia en la muestra de un patógeno ecológicamente igual.

Los microorganismos indicadores se emplean con más frecuencia para establecerse la seguridad e higiene de los alimentos que para establecer su calidad. Los indicadores de seguridad alimentaria ideales deben cumplir estos criterios:

- Ser fácil y rápidamente detectables.
- Ser fácilmente diferenciables de otros miembros de la flora alimentaria.
- Estar constantemente asociados a los microorganismos patógenos cuya presencia se busca.
- Que cuando la muestra contengan el microorganismo buscando este siempre presente en ella el organismo indicador.
- Que se trate de un microorganismo cuyos recuentos estén íntimamente correlacionados con los de la bacteria patógena de interés.
- Que posea las mínimas necesidades de crecimiento y las mismas tasas de multiplicación que las del patógeno.

- Que muera a una velocidad paralela a la del patógeno e idealmente que sobreviva un poco más que él.
- Que no aparezca en los alimentos libres de patógenos, salvo quizá en cantidades mínimas.

Los microorganismos indicadores más corrientes son:

- *Coliformes*.
- *Escherichia coli*.
- *Enterobacteriaceae*.
- *Streptococcus fecales*. (FORSYTHE: 2000)

➤ LIMITES MICROBIOLÓGICOS

Los criterios pueden ser consultivos o preceptivos. Un criterio preceptivo es aquel que no debe excederse y si el alimento no cumple los límites establecidos obliga a realizar alguna acción correctora, incluyendo su rechazo, destrucción, reprocesado o desviación. Un criterio consultivo permite realizar juicios de aceptabilidad, y debería servir para alertar de deficiencia en el procesado, distribución, almacenamiento o comercialización. En la práctica se emplean tres categorías de criterios microbiológicos: las normas o estándares, las directrices y las especificaciones.

Son varios los términos utilizados para referirse a los límites microbiológicos:

- **Norma o estándar**, un criterio microbiológico que forma parte de una ley, ordenanza, o reglamentación administrativa. Se trata de un criterio preceptivo, su incumplimiento supone violación de una ley, ordenanza o reglamentación y está sujeta a medidas de aplicación punitiva por el organismo administrativo responsable. Siempre que fuera posible debería contener límites únicamente para los microorganismos de relevancia en salud pública en el alimento implicado. Los límites para microorganismos no patógenos podrían ser necesarios cuando los métodos de detección para los patógenos de interés son engorrosos o no seguros.
- **Directriz**, es un criterio microbiológico a menudo empleado por la industria alimentaria o la administración para monitorizar el proceso de fabricación. La directriz funciona como mecanismo de alerta para señalar si las condiciones microbiológicas que prevalecen en un control de puntos críticos o en el producto

final se encuentran en el rango normal. Su intención es aumentar la seguridad de que se cumplen las disposiciones higiénicas del Codex.

- **Especificación**, es un criterio microbiológico empleado como requerimiento de compra, y por el cual la conformidad se convierte en condición de compra entre comprador y vendedor sobre un ingrediente alimentario. Una especificación microbiológica puede ser consultiva o preceptiva se aplica al establecimiento en un punto determinado durante o después del procesado para monitorizar la higiene. Su intención es servir de guía al fabricante y no a objetivos de control general. (DOYLE: 2001)

El estado es responsable de la protección de la salud pública, ejerciendo para ello la regulación, vigilancia y control sanitario de alimentos y bebidas destinados al consumo humano. Para ello dicta normas sanitarias a nivel nacional, que aseguren la calidad sanitaria e inocuidad de estos.

Las normas sanitarias peruanas incluyen a las diferentes variedades de alimentos, así como los criterios microbiológicos particulares que deben de cumplir para su expendio a la población.

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 615-2003-SA/DM, Lima, 2003

La presente norma se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano, además de establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

Se establece bajo el marco del Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007.98 SA y en concordancia técnica normativa con los Principios para el establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los Alimentos del Codex Alimentarius (CAC/GL-21(1997) y con la clasificación y planes de muestreo de la International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF)

Esta Norma Sanitaria es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de:

- 1) La obtención del Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas.
- 2) La obtención del Certificado Sanitario Oficial de Exportación.
- 3) La vigilancia y control sanitario que realiza la Autoridad Sanitaria.
- 4) La verificación o comprobación de la eficacia del Plan HACCP.
- 5) Control analítico de cada lote de producto antes de ser liberado para su comercialización, para el caso de las fábricas que aún no implementan el Sistema HACCP.
- 6) Aclarar dirimencias, inmovilizaciones, denuncias, operativos. (MINSA: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

TABLA N° 2.3

Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaína, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwiches, cebiche, postres, refrescos, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g. ó mL	
					m	M
<i>Aerobios Mesófilos</i>	2	3	5	2	10^5	10^6
<i>Coliformes</i>	5	3	5	2	10^2	10^3
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/ 25 g	-----

Fuente: Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, Resolución Ministerial N° 615-2003-S/ADM, Lima, 2003

TABLA N° 2.4

Comidas preparadas con tratamiento térmico (ensaladas cocidas, guisos, arroces, postres cocidos, arroz con leche, mazamorra, otros)

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g. ó mL	
					m	M
<i>Aerobios Mesófilos</i>	2	3	5	2	10^4	10^5
<i>Coliformes</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	<3	10^2
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/ 25 g	-----

Fuente: Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, Resolución Ministerial N° 615-2003-S/ADM, Lima, 2003

**GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO
CON ALIMENTOS Y BEBIDAS RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 461-2007/MINSA**

TABLA N° 2.5

Control microbiológico con aplicación del método del hisopo para superficies inertes.

SUPERFICIES INERTES				
METODO HISOPO	SUPERFICIE REGULAR		SUPERFICIE IRREGULAR	
ENSAYO	Límite de detección del método	Límite permisible (*)	Límite de detección del método	Límite permisible (*)
Coliformes totales	< 0,1 ufc ^a /cm ²	< 0,1 ufc ^a /cm ²	10 ufc ^a /superficie muestreada	10 ufc ^a /superficie muestreada
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)

^a Unidades formadoras de colonia.
 (*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.
 (**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

FUENTE: Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA.

TABLA N° 2.6

**PROCEDIMIENTO PARA EL CONTROL MICROBIOLÓGICO CON APLICACIÓN DEL MÉTODO DEL
ENJUAGUE PARA SUPERFICIES VIVAS.**

SUPERFICIES				
METODO EN ENJUAGUE	VIVAS		PEQUEÑAS O INTERNAS	
ENSAYO	Límite de detección del método	Límite permisible (*)	Límite de detección del método	Límite permisible (*)
Coliformes totales	< 100 ufc ^a /manos	< 100 ufc ^a /manos	25 ufc ^a /superficie muestreada (**)	< 25 ufc ^a /superficie muestreada (**)
Staphylococcus aureus	100 ufc ^a /manos	100 ufc ^a /manos	---	---
Patógeno	Ausencia / manos	Ausencia / manos	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

^a Unidades formadoras de colonia.
 (*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.
 (**) Para 4 utensilios.

FUENTE: Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA.

2.7. REQUERIMIENTOS DIARIOS DE MACRONUTRIENTES EN NIÑOS Y ADOLESCENTES

TABLA N° 2.7

Ingestas alimentarias de referencia (DRI) de macronutrientes

	AGUA TOTAL (L/día)	CARBOHIDRATOS		FIBRA		GRASAS	n6: Acido linoleico		n3: Acido linolénico		Proteínas		Valor Energético Kcal
		RDA/AI* (gr/día)	AMDR	RDA/AI* (gr/día)	AMDR	AMDR	RDA/AI* (gr/día)	AMDR	RDA/AI* (gr/día)	AMDR	RDA/AI* (gr/día)	AMDR	
Niños 4-8	1,7	130	45-65	25*	-	ND	10	5-10	0,9*	0,6-1.2	19	10-30	1800-2000
Varones 9-13	2,4	130	45-65	31*	-	ND	12*	5-10	1,2*	0,6-1.2	34	10-30	2000-3000
14-18	3,3	130	45-65	38*	-	ND	16*	5-10	1,6*	0,6-1.2	52	10-30	
Mujeres 9-13	2,1	130	45-65	26*	-	ND	10*	5-10	1,0*	0,6-1.2	34	10-30	2000-2200
14-18	2,3	130	45-65	26*	-	ND	11*	5-10	1,1*	0,6-1.2	46	10-30	

RDA: ingestas dietéticas recomendadas; AI*: Ingesta adecuada.

AMDR (% del total de energía). Rango de distribución aceptable de macronutrientes que se asocia con un riesgo reducido de enfermedad crónica al proporcionar unos ingresos adecuados de nutrientes esenciales. Si un individuo consume por exceso o defecto hay un potencial riesgo de enfermedad crónica y/o insuficiente ingreso de nutrientes esenciales.

FUENTE: Dietary References Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, amino acids. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine-National Academy of Sciences. Ed. 2005

CAPITULO III**3. MATERIALES Y METODOS****3.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS****3.1.1. ANALISIS MICROBIOLOGICO****➤ MATERIALES DE LABORATORIO**

- Frascos de vidrio termo resistentes de 400 mL.
- Tubos de ensayo de 10 x 100 mm y 15 x 150 mm.
- Pipetas volumétricas de 1, 5, 10 mL.
- Placas Petri de 100 x 15 mm.
- Asa de siembra de alambre de micrón.
- Aguja de siembra de alambre de micrón.
- Tubos Durham.
- Varillas de vidrio en forma de bastón
- Tubos con tapa rosca de 10 mL.
- Hisopos estériles.
- Plantilla de metal de 10 x 10 cm.
- Bolsas estériles.
- Matraz Erlen Meyer de 100, 500 mL
- Probetas graduadas de 50, 100, 500 mL
- Vasos de precipitados de 50, 100 mL
- Mechero Bunsen.
- Varillas de vidrio.
- Papel Kraff.
- Pizetas de 250 mL.

➤ EQUIPOS DE LABORATORIO

- Autoclave Aes Chemunex de 25 L.
- Balanza analítica 369 EP.
- Refrigeradora Indurama RI350.
- Baño María HL modelo YFK-2 ID.
- Estufa de incubación .
- Horno de esterilización.
- Cocina eléctrica.
- Contador de colonias.
- Incubadora.

➤ MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

- Agua peptonada salina.
- Agar PCA.
- Agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta.
- Caldo Lauril Triptosa fosfato.
- Caldo E.C.
- Agar Baird Parker.
- Caldo infusión cerebro corazón.
- Caldo selenito cisteína.
- Agar verde brillante.
- Plasma de conejo con heparina o EDTA.
- Agar lisina hierro.
- Agar triple azúcar hierro.

3.1.2. ANALISIS FISICOQUIMICO

➤ MATERIALES DE LABORATORIO.

- Crisol.
 - Pinza.
 - Desecador.
 - Extractor Soxleth
 - Pesa sustancias de vidrio.
 - Papel filtro.
 - Algodón.
 - Refrigerante de reflujo.
 - Embudo Buchner.
 - Bomba de vacío.
 - Probeta de 50, 100, 500 mL.
 - Equipo Kjeldahl.
 - Buretas de 50 mL.
 - Pipetas volumétricas de 1, 5, 10 mL.
 - Equipo de destilación.
 - Matraces de 50, 100, 500 mL.
 - Pera de succión.
 - Luna de reloj.
 - Pizetas
- #### ➤ EQUIPOS DE LABORATORIO.
- Balanza analítica.
 - Estufa.
 - Bandejas de metal.
 - Mufla.

- Hornilla eléctrica.

➤ **REACTIVOS**

- Hexano QP.
- H_2SO_4 (c)
- NaOH.(c)
- Rojo de metilo
- Verde de bromocresol.
- Alcohol.
- Dioxido de selenio.
- Ácido bórico.
- HCl (c)

3.2. DISEÑO METODOLOGICO

3.2.1. TIPO DE ESTUDIO:

Descriptivo, transversal

3.2.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACION:

No experimental, debido a que ninguna de las variables son manipuladas durante la investigación, se hará una observación de los fenómenos tal y como se den en su contexto natural, para después analizar los resultados obtenidos más no se podrá influir en ellos.

TRANSVERSAL

Debido a que el estudio se realizó en un momento único, haciendo un corte en el tiempo.

DESCRIPTIVO

Debido a que el objetivo propuesto es investigar los resultados de las variables propuestas a través de la medición de ellas para su posterior descripción.

3.2.3. POBLACION Y MUESTRA

3.2.3.1. POBLACION

- Alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco.

3.2.3.2. MUESTRA

- Alimentos preparados con tratamiento térmico o que posean ingredientes con o sin tratamiento térmico. (Tabla 3.1)

TIPO DE MUESTREO

El presente trabajo determinó la calidad microbiológica de alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares, basándose para ello en las normas peruanas vigentes, así para alimentos se utilizaron los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM. (ANEXO N° 7)

En el caso de superficies se utilizó la Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas. (ANEXO N° 8)

TABLA N° 3.1

Número total de muestras de alimentos preparados con tratamiento térmico o que contengan ingredientes con o sin tratamiento térmico, superficies vivas e inertes

Tipo de muestra	N° de colegios	N° de muestras por kiosco	N° de muestras por colegio	Número total de muestras
Alimentos preparados con tratamiento térmico o que contengan ingredientes con o sin tratamiento térmico.	13	-	5	65
Superficies vivas	13	1	2	26
Superficies inertes	13	1	2	26

FUENTE: ELABORACION PROPIA

3.3. VARIABLES

TIPO DE VARIABLE	VARIABLES	INDICADORES	SUB INDICADORES	EXPRESIÓN FINAL DE LA VARIABLE	
VARIABLES SIMPLICADAS	Alimentos			Alimento con/sin tratamiento térmico	
		Análisis organoléptico	<ul style="list-style-type: none"> - Color. - Sabor. - Textura. - Olor. 	Característico/ No característico.	
	Calidad sanitaria	Análisis microbiológico.	Numeración de aerobios mesófilos viables		UFC/g o mL.
			Recuento de bacterias coliformes		UFC/g o mL.
			Recuento de coliformes fecales (<i>Escherichia coli</i>)		Presencia/ausencia
			Recuento de <i>Staphylococcus</i>		Presencia/ausencia.
			Aislamiento de <i>Salmonella</i> .		Presencia/ausencia.
		Análisis fisicoquímico	Determinación humedad		Porcentaje de humedad
			Determinación de cenizas		Porcentaje de cenizas
			Determinación de grasa		Porcentaje de grasa
			Determinación de fibra bruta		Porcentaje de fibra bruta
			Determinación de proteína bruta		Porcentaje de proteína bruta
	Determinación del extracto libre de nitrógeno		Porcentaje de extracto libre de nitrógeno		
	Determinación del valor energético total		Kcal		

Fuente: Elaboración propia

TIPO DE VARIABLE	VARIABLES	INDICADORES	SUB INDICADORES	EXPRESION FINAL DE LA VARIABLE
VARIABLES IMPLICADAS	Higiene	Superficies vivas (Manipulador de alimentos)	Análisis microbiológico: Recuento de Bacterias coliformes Recuento de <i>Staphylococcus</i>	UFC/g o mL Presencia/ausencia
			Capacitación del personal: Alimentos Higiene.	Alimentos con/sin preparamiento térmico Deficiente (0-50 %) – aceptable (51-69%) – suficiente (70-100%)
		Superficies inertes	Recuento de bacterias coliformes	UFC/g o mL
			Instalaciones	Deficiente (0-50 %) – aceptable (51-69%) – suficiente (70-100%)
VARIABLES NO IMPLICADAS	Procedencia de las muestras de alimentos			<ul style="list-style-type: none"> • DANIEL ESTRADA PEREZ • MIGUEL GRAU SEMINARIO • 50731 • ROMERITOS • SAGRADO CORAZON DE JESUS • OLIMPICO PERUANO • URIEL GARCIA • 51021 • ARTURO PALOMINO • RODRIGUEZ • JOSE ABELARDO QUIÑONES • MARIA DE LA MERCED • NUESTRA SEÑORA DE FATIMA • VELASCO ASTETE
	Tiempo de traslado al laboratorio			Horas

Fuente: Elaboración propia

3.3.1. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

3.3.1.1. VARIABLES IMPLICADAS

a) ALIMENTOS

Definición conceptual

Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluidas las bebidas, el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos", no incluye cosméticos, tabaco ni sustancias utilizadas como medicamentos. (MINSAs: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativo.
- **Forma de medición:** Directo.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Encuestas realizadas a los vendedores.
- **Expresión final de la variable:** Alimento con/sin preparamiento térmico

b) CALIDAD SANITARIA:

Definición conceptual

Conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado apto para el consumo humano. (MINSAs: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativo/Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Directa/Indirecta.
- **Escala de medición:** Nominal/Razón.
- **Instrumento:** Observación de características organolépticas, cultivo y siembra en placas/ignición, extracción, pérdida de peso, cálculo matemático.
- **Expresión final de la variable:** Característico/No característico, UFC/g ó mL, Presencia/ausencia, porcentaje, Kcal.

INDICADORES

b.1) ANALISIS ORGANOLEPTICO

Definición conceptual

Disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. (wikilibros: 2003)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Observación de las características organolépticas por medio de los sentidos.
- **Expresión final de la variable:** Característico/ No característico

SUB- INDICADORES

b.1.1) Color

Definición conceptual

El color es una propiedad muy importante en los alimentos, tanto en aquellos que son procesados como en los que se ofrecen crudos al consumidor, es un indicador de las reacciones químicas que están ocurriendo en muchos alimentos. (wikilibros: 2003)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Observación de las características organolépticas por medio del sentido de la vista.

- **Expresión final de la variable:** Característico/ No característico.

b.1.2) Textura

Definición conceptual

Es la propiedad de los alimentos apreciada por los sentidos del tacto, la vista y el oído; se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación. Nos da idea; por ejemplo; si el alimento está duro o blando. (wikilibros: 2003)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Observación de las características organolépticas por medio de los sentidos del tacto, la vista y el oído.
- **Expresión final de la variable:** Característico/ No característico

b.1.3) Sabor

Definición conceptual

El sabor es una propiedad química, ya que involucra la detección de estímulos disueltos en agua, aceite o saliva por las papilas gustativas, localizadas en la superficie de la lengua, así como en la mucosa del paladar y el área de la garganta. Esta propiedad de los alimentos es muy compleja, ya que combina tres propiedades: olor, aroma y gusto; por lo tanto su medición y apreciación son más complejas que las de cada propiedad por separado. (wikilibros: 2003)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Observación de las características organolépticas por medio de los sentidos del olfato y el gusto.
- **Expresión final de la variable:** Característico/ No característico

b.1.3) Olor**Definición conceptual**

Consiste en la percepción de las sustancias olorosas y aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, llegando a través del Eustaquio a los centros sensores del olfato. El aroma es el principal componente del sabor de los alimentos, es por eso que cuando tenemos gripe o resfriado el aroma no es detectado y algunos alimentos sabrán a lo mismo. (wikilibros: 2003)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Observación de las características organolépticas por medio del sentido del olfato.
- **Expresión final de la variable:** Característico/ No característico

b.2) ANALISIS MICROBIOLOGICO***Definición conceptual***

Medición de un grupo de bacterias presentes en alimentos. (ZUMBADO: 2002)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa/Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón/Nominal
- **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL/Presencia, Ausencia.

➤ SUB INDICADORES**b.2.1) NUMERACION DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS*****Definición conceptual***

Grupo de bacterias capaces de desarrollarse en condiciones ambientales y temperaturas medias. (ICMSF: 2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL.

b.2.2) RECUENTO DE BACTERIAS COLIFORMES***Definición conceptual***

Grupo de bacterias Gram negativas intestinales, que producen fermentación a este nivel.
(ICMSF: 2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL.

**b.2.3) DETERMINACION DE ORGANISMOS COLIFORMES DE ORIGEN FECAL
(*Escherichia coli*)*****Definición conceptual***

Bacilos Gram negativos cortos. Cuando crecen *in Vitro* sobre medio sólido se observa la morfología característica. Forman colonias lisas, circulares convexas, con bordes bien diferenciados. Algunas cepas pueden producir hemólisis. (ICMSF: 2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Instrumento:** Siembra y aislamiento de E. coli.
- **Expresión final de la variable:** Presencia /ausencia.

b.2.4) RECUENTO DE *Staphylococcus****Definición conceptual***

Células esféricas Gram positivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos. Algunos son miembros de la flora normal de la piel. (ICMSF: 2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Siembra en placas y recuento de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/gr o mL.

b.2.5) AISLAMIENTO DE *Salmonella****Definición conceptual***

Los representantes de esta familia se caracterizan como bacterias Gram negativas, aerobias facultativas, asporógenas, de forma bacilar. Las formas móviles poseen flagelos peritricos. Producen ácido, y a veces gas, de la glucosa, suelen ser catalasa- positivas y oxidasa negativas u reducen los nitratos a nitritos. La mayoría de los representantes de la familia se encuentran en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales, bien como patógenos, bien como comensales. (ICMSF: 2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Siembra en placas y recuento de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/gr o mL.

b.3) ANALISIS FISICOQUIMICO

Definición conceptual

Caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico-químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en alimento. (ZUMBADO: 2002)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Directa/Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Pérdida de peso, Ignición, Extracción, Cálculo matemático.
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje, g, Kcal.

➤ SUB INDICADORES

b.3.1) DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.

Definición conceptual

Cantidad total de agua no combinada presente en una determinada muestra de alimento. Pérdida de peso de la muestra por deshidratación hasta obtener un peso constante. (HART: 1971)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Pérdida de peso de la muestra por deshidratación, hasta obtener un peso constante.
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de humedad.

b.3.2) DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Definición conceptual

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de incinerar la materia orgánica. (HART: 1971)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón
- **Instrumento:** Ignición de la muestra a 450 °C
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de ceniza

b.3.3) DETERMINACIÓN DE GRASA

Definición conceptual

Las grasas o lípidos son sustancias de diversa estructura química que poseen la propiedad común de ser insolubles en el agua y solubles en disolventes orgánicos. (FERNANDEZ: 2008)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Extracción de las grasas por medio de solventes orgánicos.
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de grasa.

b.3.4) DETERMINACIÓN DE FIBRA BRUTA

Definición conceptual

Residuo insoluble que se cuantifica después de una hidrólisis química con ácido diluido y álcali diluido. Dicho residuo incluye lignina, celulosa y algunas materias minerales. (FERNANDEZ: 2008)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** extracción de la fibra a través de una hidrólisis química.
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de fibra bruta.

b.3.5) DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA BRUTA

Definición conceptual

Proteínas presentes en los alimentos, incluye a las proteínas verdaderas como a las no proteínas (incluye otras fuentes de nitrógeno como la urea). (FERNANDEZ: 2008)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Extracción a través de una etapa previa de digestión, neutralización y destilación, para luego titular la muestra obtenida.
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de proteína bruta.

b.3.6) DETERMINACIÓN DEL EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO.***Definición conceptual***

Es la cantidad de carbohidratos totales o carbohidratos diferencia presentes en la muestra. (FERNANDEZ: 2008)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cálculo matemático, a través de la diferencia de los valores obtenidos anteriormente de 100.
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de extracto libre de nitrógeno.

b.3.7) DETERMINACIÓN DEL VALOR ENERGETICO TOTAL***Definición conceptual***

Capacidad relativa de un alimento para liberar calorías, es decir carbohidratos, proteínas y grasas. (STRYER: 2004)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cálculo matemático, a través del producto de los valores obtenidos en gramos por una constante.
- **Expresión final de la variable:** Kcal.

c) HIGIENE***Definición conceptual***

Todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria. (CODEX ALIMENTARIUS: 2005)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa/Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón/Ordinal/Nominal.
- **Instrumento:** Cultivo y siembra en placas/ Encuestas.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL/Alimento con o sin preparamiento térmico, Deficiente (0-50%)/ Aceptable (51-69%)/ Suficiente (70-100%)

INDICADORES**c.1) SUPERFICIE VIVA (Manipulador de alimentos)*****Definición conceptual***

Toda persona que manipule directamente alimentos envasados o no envasados, equipo y utensilios utilizados para los alimentos, o superficies que entren en contacto con los alimentos y que se espera, por tanto, cumpla con los requerimientos de higiene de los alimentos. (Minsa: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa/Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón/Ordinal/Nominal.
- **Instrumento:** Cultivo y siembra en placas/ Encuestas.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL/Alimento con o sin preparamiento térmico, Deficiente (0-50%)/ Aceptable (51-69%)/ Suficiente (70-100%)

➤ **SUB INDICADORES**

c.1.1) ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Definición conceptual

Recuento de bacterias presentes en alimentos. **(ICMSF: 2000)**

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL.

• **RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES**

Definición conceptual

Grupo de bacterias Gram negativas intestinales, que producen fermentación a este nivel. **(ICMSF: 2000)**

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL.

- **RECuento DE ESTAFILOCOCOS**

Definición conceptual

Células esféricas Gram positivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos. Algunos son miembros de la flora normal de la piel. (ICMSF: 2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Siembra en placas y recuento de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/gr o mL.

c.1.2) CAPACITACIÓN DEL PERSONAL

Definición conceptual

Aptitud o suficiencia para la realización de una labor en un determinado ámbito de estudio. (CODEX ALIMENTARIUS: 1995)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Ordinal/Nominal.
- **Instrumento:** Encuestas realizadas a los manipuladores.
- **Expresión final de la variable:** Alimento con /sin preparamiento térmico, Deficiente (0-50%) – Aceptable (51-69%) – Suficiente (70-100%).

- **ALIMENTOS**

Definición conceptual

Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluidas las bebidas, el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos", no incluye cosméticos, tabaco ni sustancias utilizadas como medicamentos. (MINSA: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativo.
 - **Forma de medición:** Directo.
 - **Escala de medición:** Nominal.
 - **Instrumento:** Encuestas realizadas a los vendedores.
 - **Expresión final de la variable:** Alimento con/sin preparamiento térmico
- **HIGIENE**

Definición conceptual

Todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria. (CODEX ALIMENTARIUS: 2005)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Ordinal
- **Instrumento:** Encuestas realizadas a los manipuladores
- **Expresión final de la variable:** Deficiente (0-50%)/ Aceptable (51-69%)/ Suficiente (70-100%)

c.2) SUPERFICIES INERTES

Definición conceptual

Todo envase, utensilio, equipo o instalación que estén en contacto con los alimentos y que se espera que cumplan con los requisitos de higiene necesarios. (MINSA: 2003, RM N° 615-2003-SA/DM)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa/Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón/Ordinal.
- **Instrumento:** Cultivo y siembra en placas/ Encuestas.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL/Deficiente (0-50%)/ Aceptable (51-69%)/ Suficiente (70-100%)

➤ SUB INDICADORES

c.2.1) RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES

Definición conceptual

Grupo de bacterias Gram negativas intestinales, que producen fermentación a este nivel. (ICMSF:2000)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias.
- **Expresión final de la variable:** UFC/g o mL.

c.2.2) INSTALACIONES

Definición conceptual

Cualquier edificio o zona en que se manipulan alimentos y sus inmediaciones, que se encuentren bajo el control de una misma dirección. (CODEX ALIMENTARIUS: 1995)

Definición operacional

- **Naturaleza:** Cualitativa.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Ordinal.
- **Instrumento:** Encuestas y observación de las instalaciones.
- **Expresión final de la:** Deficiente – aceptable - suficiente

3.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.4.1. CRITERIOS DE INCLUSION

- Alimentos preparados con tratamiento térmico expendidos en kioscos escolares.
- Alimentos preparados que lleven ingredientes con o sin tratamiento térmico.
- Superficies inertes que estén en contacto directo con los alimentos preparados con tratamiento térmico o que lleven ingredientes con o sin tratamiento térmico destinados al consumo.
- Manos de manipuladores (superficies vivas), con o sin guantes, que se encuentren en contacto directo con los alimentos preparados con tratamiento térmico o que lleven ingredientes con o sin tratamiento térmico destinados al consumo.

3.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Alimentos preparados sin tratamiento térmico.
- Especies, condimentos, salsas.
- Preparados de carne refrigerados o congelados (hamburguesas, milanesa, croquetas, etc.).
- Superficies inertes que no estén en contacto directo con los alimentos preparados con tratamiento térmico o que lleven ingredientes con o sin tratamiento térmico destinados al consumo.

- Personal que no se encuentre en contacto directo con los alimentos preparados con tratamiento térmico o que lleven ingredientes con o sin tratamiento térmico destinados al consumo.

3.5. INSTRUMENTOS DE RECOLECIÓN DE DATOS

El instrumento que se utilizó consiste en una encuesta de opinión, el cual contiene preguntas cerradas con múltiple alternativas relacionadas con los conocimientos sobre la normas de higiene que poseen los dependientes de los kioscos escolares de colegios nacionales del distrito de Wanchaq- Cusco. (ANEXO N° 2)

Características del instrumento

El instrumento reflejó el nivel de conocimientos que poseen los dependientes de kioscos escolares del distrito de Wanchaq- Cusco sobre las normas de higiene en el expendio de alimentos; fue expresado en forma escrita, no tenía límite de tiempo y se aplicó en forma individual.

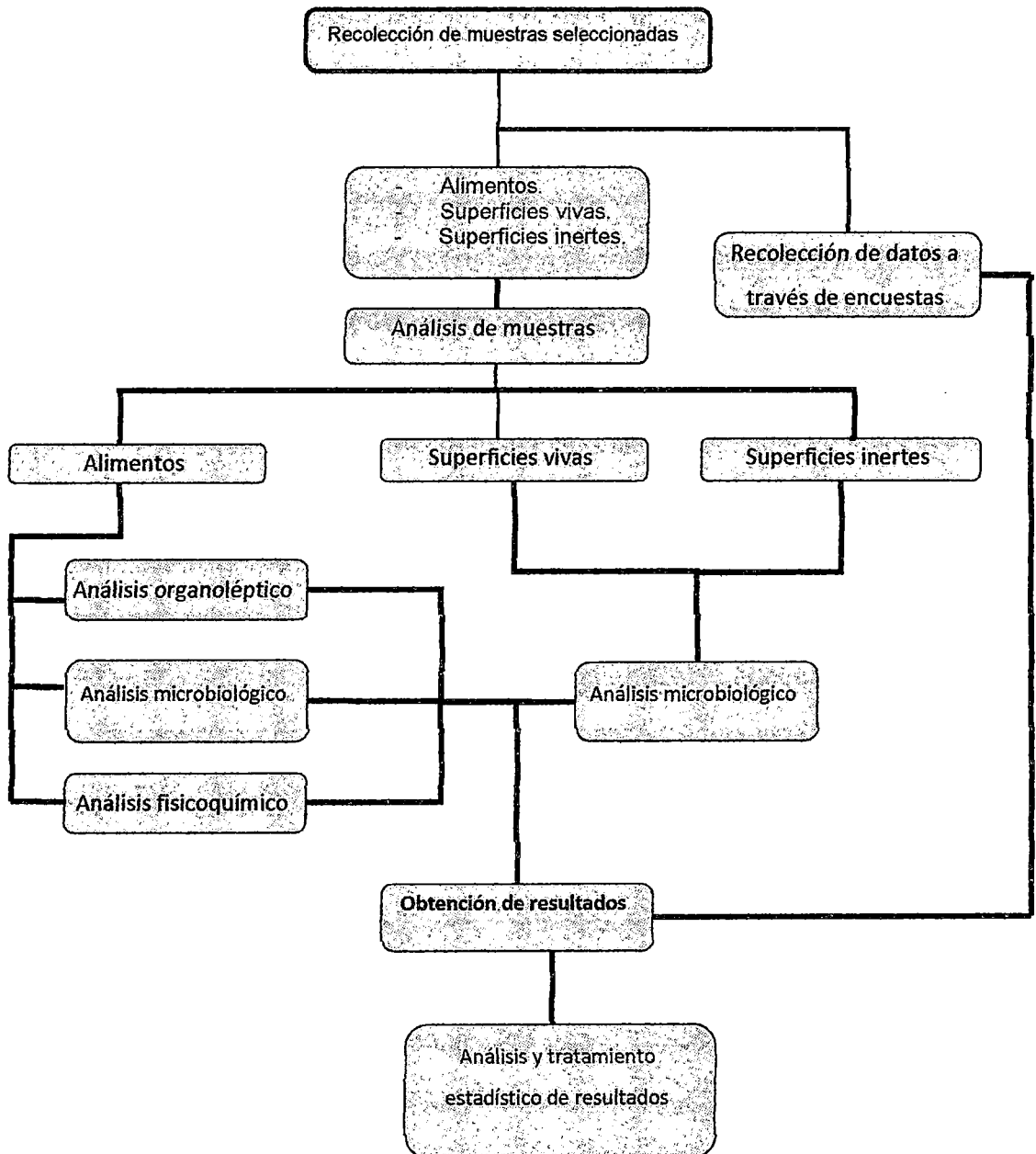
Validación del instrumento

Para obtener datos confiables en el presente estudio, se sometió el instrumento a la técnica de validez de criterio que nos permite respaldamos en investigaciones u otros estudios que nos ofrezcan garantías de medir lo que deseamos; así se utilizó como guías el CODIGO DE PRACTICAS DE HIGIENE PARA LA ELABORACION Y EXPENDIO DE ALIMENTOS EN LA VIA PUBLICA (Norma regional - América Latina y el Caribe), Codex alimetarius, CAC/RCP 43-1995 y los CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMOHUMANO, resolución ministerial n° 615-2003-sa/dm, Lima 30 de mayo del 2003.

3.6. PROCEDIMIENTO

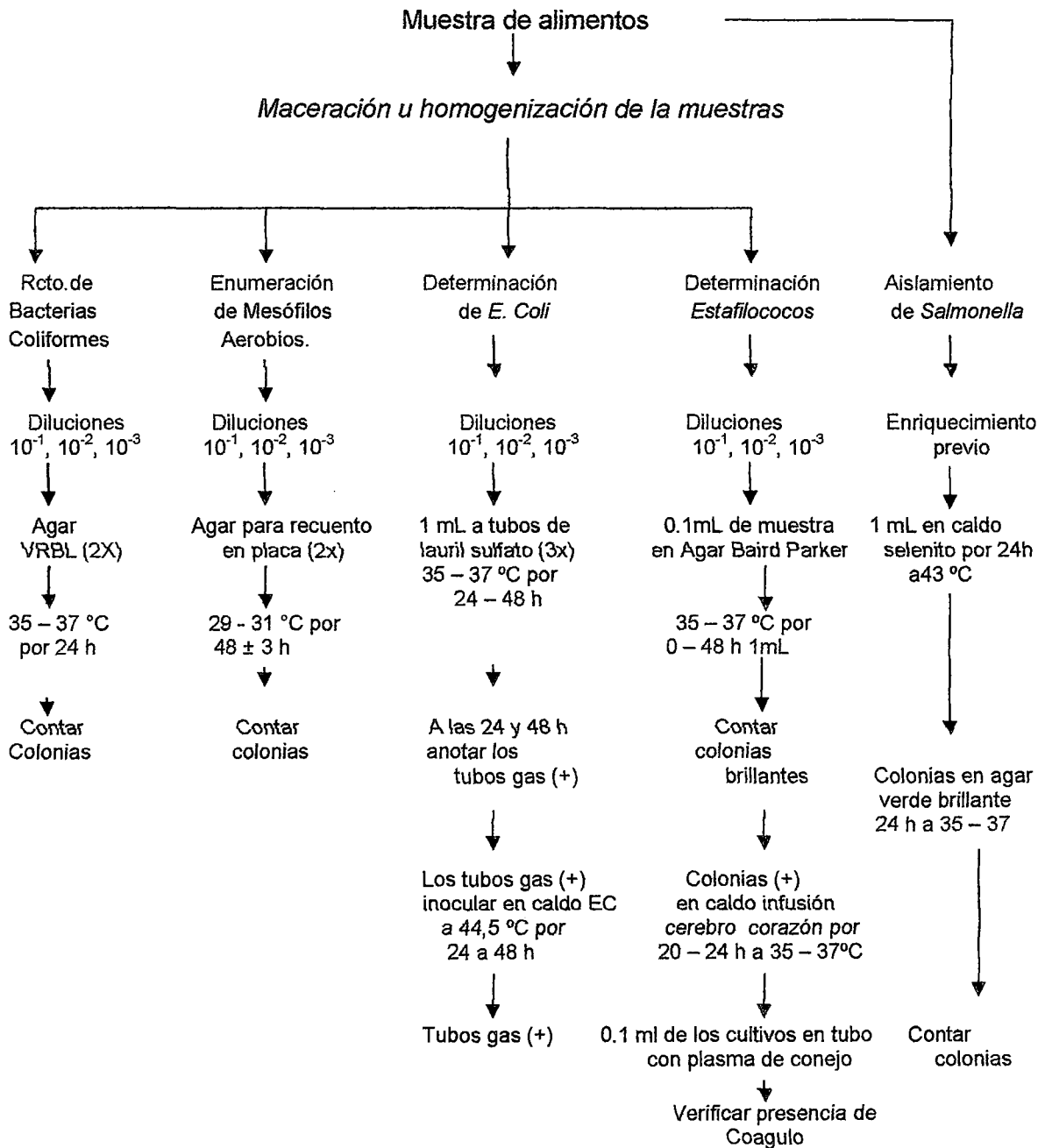
FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO

Figura N° 3.1



FUENTE: ELABORACION PROPIA

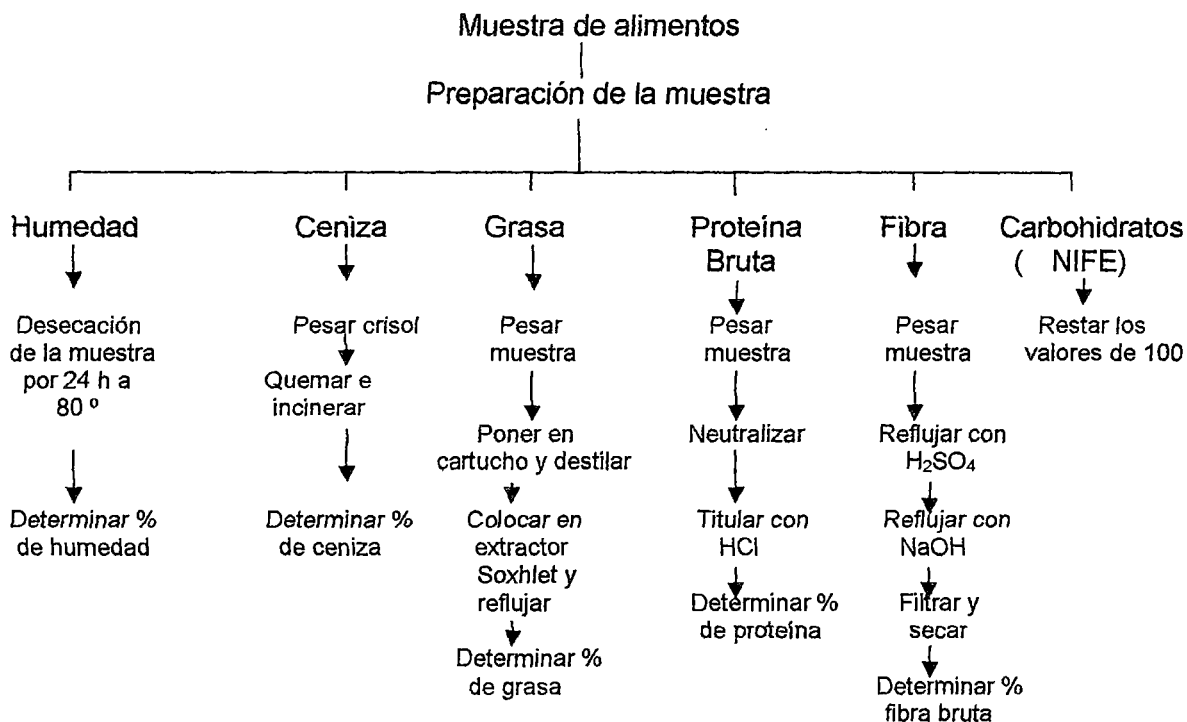
Figura N°3.2
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS



FUENTE: ELABORACION PROPIA

Figura N° 3.3

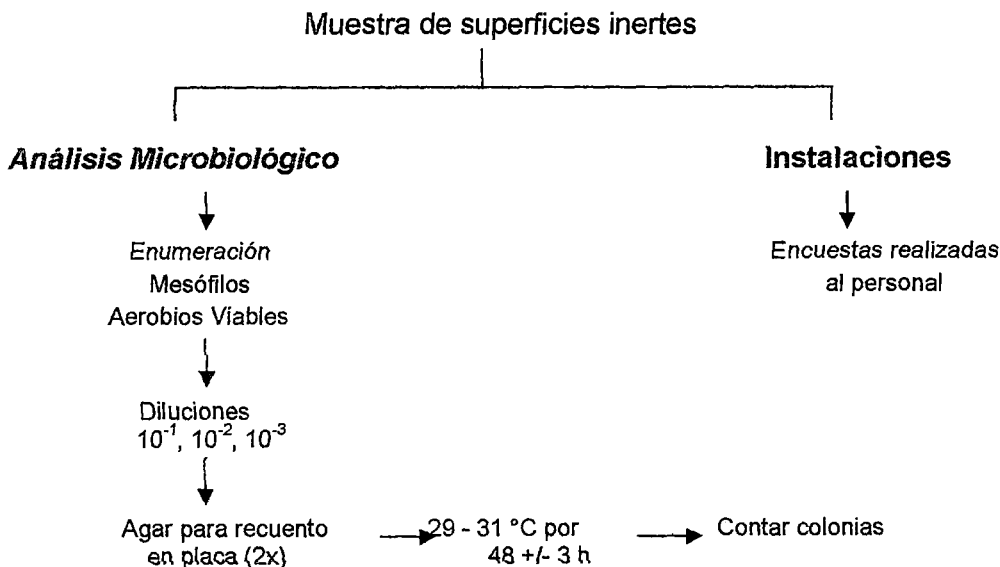
ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE ALIMENTOS



FUENTE: ELABORACION PROPIA

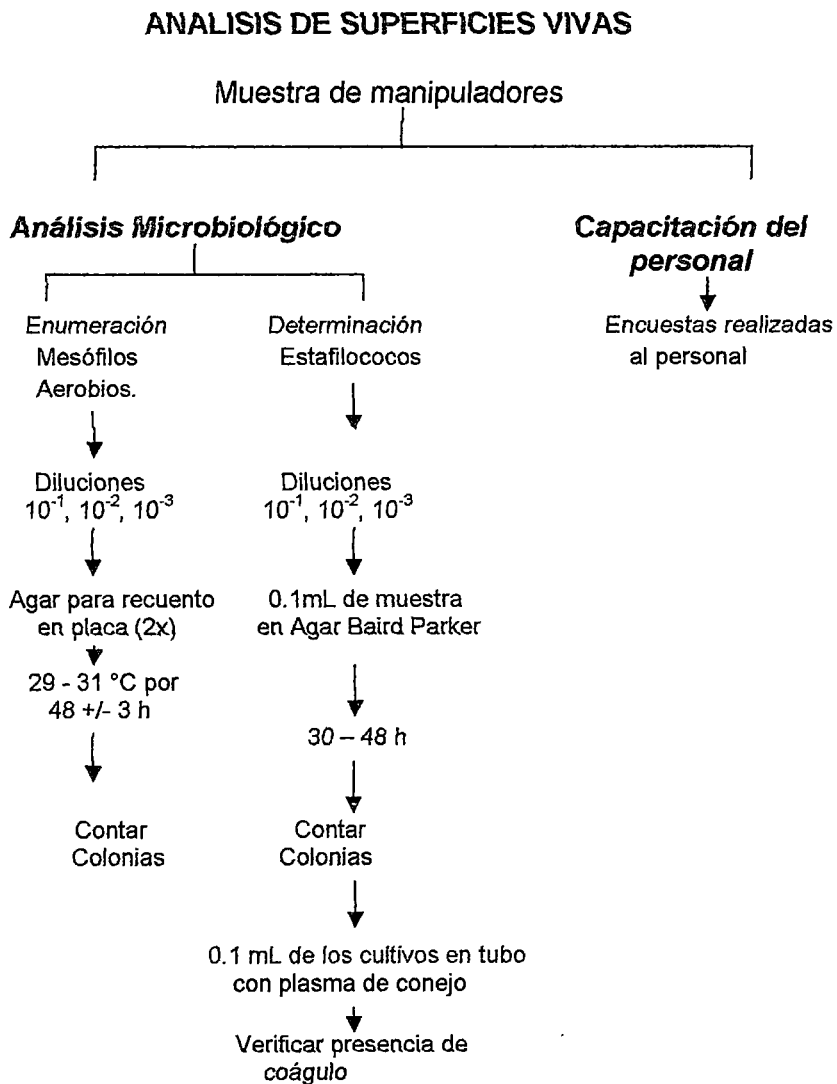
Figura N° 3.4

ANÁLISIS DE SUPERFICIES INERTES



FUENTE: ELABORACION PROPIA

Figura N° 3.5



FUENTE: ELABORACION PROPIA

3.6.1. ANALISIS ORGANOLEPTICO DE ALIMENTOS

Para el análisis organoléptico se evaluaron las características sensoriales de los alimentos a través de la ficha de recolección de datos del ANEXO 1.

3.6.2. ANALISIS MICROBIOLOGICO DE ALIMENTOS

➤ MACERACION U HOMOGENIZACION DE ALIMENTOS SÓLIDOS.

Para microorganismos que no son anaerobios facultativos, solución salina de peptona:

- | | |
|------------------|---------|
| - Peptona | 1 g |
| - Cloruro sódico | 9 g |
| - Agua destilada | 1 litro |

Para microorganismos anaerobios facultativos, solución salina peptonada con cisteína (peptone cysteine saline – PCS -)

- | | |
|---------------------------|---------|
| - Peptona | 1 g |
| - Cloruro sódico | 9 g |
| - Clorhidrato de cisteína | 1 g |
| - Agua destilada | 1 litro |

Se disolvió el medio, comprobando el pH, en el caso del último se ajustó a $7,5 \pm 0,1$. Se mezcló y repartió volúmenes de 225 mL en frascos, de 9 mL en tubos de cultivo, por último se esterilizó en la autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

Preparación del macerado inicial o dilución madre

Método general

Se usó la técnica del frasco de agitación, ya que no se disponen de agitadores mecánicos. Para ello se tomó 25 gr. de material de cada muestra o de la mezcla de muestras, agitándose este material con 225 mL de Agua peptonada para diluciones, en tarros o frascos de 400 mL provistos de 20 perlas de vidrio estériles de 2 mm de diámetro, durante 2 minutos, a razón aproximadamente 100 agitaciones min^{-1} . De este modo se obtuvo la dilución 10^{-1} .

Se midió 1 mL de la dilución 10^{-1} del homogenizado, evitando la formación de espuma y luego pasándolo a uno de los tubos blancos de dilución conteniendo 9 mL de Agua peptonada para diluciones y agitándolo enérgicamente en arco de 30 cm veinticinco veces, de esta manera se obtuvo la dilución 10^{-2} , se hizo el mismo procedimiento para las siguientes diluciones. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2003)

➤ ENUMERACION DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS

Recuento estándar en placa, recuento en placa por siembra en todo el medio o recuento en placa de microorganismos aerobios.

- Se preparó la muestra de alimento por el método de homogenización mencionado anteriormente.
- Se pipeteó por duplicado, en placas Petri, alícuotas de 1 mL de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , lo que supone la siembra por placa de 10^{-1} a 10^{-3} g de alimento.
- Luego se fundió el Agar para Recuento en Placa utilizando vapor y procurando que este tratamiento térmico no sea excesivamente prolongado para ello se templó el medio a 44 – 46 °C y se controló cuidadosamente su temperatura para que al mezclarlo con la dilución del alimento no sean inactivados los gérmenes.
- Se vertió inmediatamente en las placas Petri un volumen de 10 a 15 mL del medio fundido y templado. El periodo de tiempo transcurrido entre la realización de las soluciones y el vertido del medio no superó los 20 minutos.
- Por último se mezcló el inóculo fundido, inclinando y girando las placas y una vez solidificado el agar, se invirtió las placas e incubó a 29- 31 °C durante 48 ± 3 horas.

Calculo de resultados

Se eligió dos placas, correspondientes a una dilución, que presenten entre 30 y 300 colonias y se contó todas las colonias de cada placa utilizando un contador de colonias y un dispositivo de registro automático. Se halló la media aritmética de los dos valores y se multiplicó por el factor de dilución (la inversa de la dilución cuyas placas han sido seleccionadas). Se dio el valor obtenido como el recuento estándar en placa.

Cuando las placas de dos diluciones consecutivas presentan entre 30 y 300 colonias, deben hallarse los recuentos estándar en placa de cada dilución, el resultado se dará con la media de los dos valores obtenidos, a no ser que uno de ellos sea superior al doble del otro, en cuyo caso se dará como recuento estándar el valor más bajo.

Cálculo y presentación de resultados

Cuando se dan los valores del recuento estándar en placa, deben de utilizarse únicamente dos cifras significativas. Estas dos cifras corresponden a los dígitos primero y

segundo (empezando por la izquierda) de la medida de las colonias halladas o estimadas, los dígitos restantes fueron reemplazados por ceros.(ICMSF: 2000)

➤ **RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES**

Recuento de directo en placa de agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta (VRBL)

- Se preparó la muestra de alimento por el método de homogenización mencionado anteriormente, realizando las diluciones correspondientes.
- Se puso 1 mL de cada dilución del homogenizado del alimento en placas Petri estériles añadiéndose a estas un inóculo de 10 – 15 mL de agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta a una temperatura de 44 - 46 °C.
- Se mezcló el contenido de las placas con movimientos de balanceo y de rotación. Dejando que solidifique la mezcla (5 – 10 min) sobre una superficie nivelada. A continuación, se añadió 3 – 4 mL de medio fundido, de tal modo que se forme una capa que cubra la superficie del medio solidificado, evitando así la formación de colonias superficiales.
- Se incubó las placas invertidas a 35 – 37 °C durante 24 horas. Se consideró únicamente como pertenecientes a bacterias coliformes las colonias de un color rojo oscuro, cuyo tamaño, medido en las placas que no presentaron un número excesivo de colonias, sea superior a 0,5 mm de diámetro. Para contar las colonias se eligieron las placas que presenten un número menor de 150 colonias características. Para calcular el número de organismos coliformes por gramo de muestra, se multiplicó el número de colonias por la dilución correspondiente.(ICMSF: 2000)

➤ **DETERMINACION DE ORGANISMOS COLIFORMES DE ORIGEN FECAL (*Escherichia coli*)**

METODO NORTEAMERICANO.

- Se preparó la muestra de alimento por el método de homogenización mencionado anteriormente y se realizaron las diluciones correspondientes.
- Se pipeteó 1 mL de cada una de las diluciones del homogenizado del alimento en tubos de caldo lauril sulfato triptosa, utilizando tres tubos para cada dilución.
- Se incubaron los tubos a 35 - 37 °C durante 24 y 48 horas.

- Pasadas las 24 primeras horas, se anotaron los tubos que muestren producción de gas, se devolvieron a la estufa los tubos negativos para su incubación durante 24 horas más.
- Pasadas las 48 horas, se anotaron los tubos que muestren producción de gas
- Si la muestra es positiva:
 - Se tomara los tubos de caldo lauril sulfato triptosa gas positivo. Inocular un asa de caldo de cada uno de los cultivos seleccionados en caldo Endo C.
 - Incubar los tubos de caldo Endo C a $44,5 \pm 0,2$ °C y ver si son positivos de formación de gas a las 24 y a las 48 horas.
 - Se presume que los tubos de caldo Endo C que presenten gas son también positivos de organismos coliformes de origen fecal. (ICMSF: 2000)

➤ **RECuento de ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVOS**

Siembra directa en placas de agar Baird – Parker

- Se preparó la muestra de alimento por el método de homogenización mencionado anteriormente y se realizó las diluciones correspondientes.
- Se añadió el agar Baird – Parker a las placas (15 mL a cada una), dejando solidificar y secar las superficies en la estufa. Cuando se emplea la modificación del medio Baird – Parker propuestas por Holbrook en 1962 hay que añadir piruvato sódico al medio contenido en las placas antes de proceder a secar las superficies.
- Se transfirió 0,1 mL de homogenizado y de sus diluciones a la superficie del medio contenido en placas independientes y se extendió el inóculo con ayuda de las varillas de vidrio. Para cada dilución se preparó placas por duplicado.
- Se incubó las placas en posición invertida a 35 – 37 °C durante 30 – 48 horas.
- Pasadas las primeras 30 horas de incubación, se eligieron las placas que contengan entre 20 y 200 colonias aisladas y se contaron todas las colonias negras y brillantes de margen estrecho y blanco rodeadas de áreas claras que se extiendan en el medio opaco. La probabilidad de que estas colonias correspondan a *Staphylococcus aureus* es muy elevada.

- Se marcó la posición de estas colonias e incubar las placas por otras 18 horas.
- Una vez finalizado el segundo periodo de incubación (48 horas) se contó todas las colonias que presenten el aspecto mencionado y también aquellas cuyo color sea negro brillante con o sin margen estrecho blanco y que no presenten el área de aclaramiento. Se llevó a cabo la prueba de la coagulasa con un número significativo de colonias sospechosas de corresponder a *Staphylococcus aureus* (no menos de cinco).

Producción de coagulasa

- Se pasaron las colonias elegidas en el procedimiento anterior a tubos de caldo infusión cerebro corazón, incubándose durante 20- 24 horas a 35 – 37 °C.
- Se pasó 0,1 mL de los cultivos a los tubos de 10 x 75 mm conteniendo 0,3 mL de plasma de conejo y se incubó a 35- 37 °C.
- Se examinó los tubos a las 4 horas con el fin de detectar la presencia de coágulos; si no se observaba se mantenía los tubos a temperatura ambiente y se volvían a leer a las 24 horas. La aparición de un coagulo bien diferenciado fue indicativa de la actividad de la coagulasa. (ANEXO N°5)

➤ **AISLAMIENTO DE SALMONELAS**

ENRIQUECIMIENTO PREVIO DE SALMONELAS

- Se mezcló la muestra con 9 volúmenes del medio de enriquecimiento escogido del ANEXO N° 6, en proporción peso volumen.
- Se incubó el medio de enriquecimiento previo durante 18- 24 horas a 35 – 37 °C.

ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO DE SALMONELAS

- Se pipeteó 1 mL del cultivo de pre-enriquecimiento en 10 mL de caldo selenito cisteína. Incubándose en baño de agua a $43 \pm 0,05$ °C durante 24 horas.

SIEMBRA EN PLACAS EN MEDIOS DE AGAR SELECTIVO PARA SALMONELAS

- Se pasó un asa de 5 mL de cada uno de los dos medios de enriquecimiento selectivo a la superficie de una placa de agar verde brillante durante 24 horas a 35 -37 °C. Las colonias típicas de *Salmonella* son incoloras, rosa o fucsia o translúcidas a opacas, con el medio que las rodea de color rosa a rojo. (ICMSF: 2000)

3.6.3. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SUPERFICIE VIVAS E INERTES

➤ SUPERFICIES INERTES

Método del hisopo

- Se colocó una plantilla (10 x 10 cm) sobre la superficie a muestrear.
- Se humedeció el hisopo en la solución diluyente y se presionó ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
- Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se frotó 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior, asegurando el hisopado en toda la superficie.

Se colocó 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 fue eliminada. (MINSA: 2007, RM N° 461- 2007)

- Una vez hecha la toma de muestra se realizó el recuento de Aerobios mesófilos viables por el método detallado anteriormente.

➤ Superficies vivas

Método del enjuague

Para manos

- Se vació 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 1 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.
- Una vez hecha la toma de muestra se realizará el recuento de Aerobios mesófilos y *Staphylococcus aureus*, detallados anteriormente. (MINSA: 2007, RM N° 461- 2007)

3.6.4. ANALISIS FISICOQUIMICO.

Preparación de la muestra.

- Se aperturó una ficha y se asignó un código a cada muestra, indicando los insumos que formaban parte de cada una de ellas.
- Se separaron huesos, tallos u otras partes no comestibles de la muestra y se pesaron, obteniéndose el peso neto de la parte comestible de cada muestra.
- Se pesaron los recipientes vacíos y luego se pesaron las muestras con sus respectivos recipientes. Posterior a esto se restó el peso de la muestra más el recipiente menos el peso solo del recipiente para obtener el peso de la muestra.
- La parte comestible se homogenizó en licuadora, se añadió un volumen determinado de agua para facilitar la homogenización.
- El volumen total de la muestra homogenizada fue medido en una probeta graduada de volumen conocido, donde del total de cada muestra homogenizada se tomaron alícuotas, colocándolas en bandejas de deshidratación, para una posterior determinación del porcentaje de humedad a 80 °C por 24 horas, previamente se pesaran las bandejas de deshidratación.
- Al cabo de este tiempo se pesó la bandeja más la muestra seca y se restó el peso de la bandeja sola para hallar de esta manera el peso de la muestra seca.
- Se molió y tamizó cada muestra en una malla 100 X.
- Finalmente cada muestra se guardó en frascos de vidrio etiquetados, para su posterior análisis.

Observaciones

Al peso de la muestra que fue homogenizada se restó el peso del agua añadida para dicho proceso, de esta manera se obtuvo el peso real del homogenizado para la realización de los cálculos. (TORRES POLANCO: 1996)

➤ DETERMINACION DE LA HUMEDAD

- Se pesó la bandeja.
- Se colocó el homogenizado en la bandeja y se volvió a pesar.
- Se colocó la bandeja más el homogenizado en la estufa a 80 °C por 24 horas hasta peso constante.
- Se enfrió y pesó.

Cálculos

$$\% \text{ de humedad} = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

P₁: Peso de la muestra homogenizada - peso del agua añadida. (g)

P₂: Peso de muestra seca. (g)

➤ DETERMINACION DE CENIZAS

Todos los alimentos contienen minerales formando parte de compuestos orgánicos e inorgánicos. Es muy difícil determinarlos tal y como se presentan en los alimentos. La incineración para destruir toda materia orgánica cambia su naturaleza; las sales metálicas de los ácidos orgánicos se convierten en óxidos o carbonatos o reaccionan durante la incineración para formar fosfatos, sulfatos o haluros. Algunos elementos, como el azufre y los halógenos, pueden no ser completamente retenidos en las cenizas perdiéndose por volatilización.

Las incineraciones se llevan a cabo, en otro tiempo, con un mechero de alcohol o de gas, o en una mufia de gas. El control de la temperatura de incineración fue prácticamente imposible hasta el advenimiento de las muflas eléctricas provistas de pirómetro y dispositivo de termostatación. (HART: 1971)

Procedimiento

- Se pesó alrededor de 5 gramos de muestra (excepto si se trata de productos voluminosos o que tengan tendencia a aumentar de volumen al quemarse), en un crisol previamente calcinado y tarado.

- Se incineró la muestra con el quemador Bunsen, colocando el crisol en posición inclinada sobre el triángulo, hasta desaparición de los humos (trabajar en vitrina-extractora).
- Se introdujo el crisol con la muestra en el interior de un horno a 550°C hasta obtención de cenizas blancas, gris claro o gris-rojo.
- Se enfrió en el desecador, pesando rápidamente.

CÁLCULOS

El resultado se expresó como "porcentaje de ceniza bruta sobre la materia natural":

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \times 100$$

Dónde:

P₁: peso del crisol más la ceniza (g)

P₂: peso del crisol (g)

P₀: peso de la muestra seca y molida. (g)

OBSERVACIONES

Si se sospecha, por el color de las cenizas, que la calcinación no es total, después de enfriar añadir unas gotas de agua oxigenada (por ser un agente oxidante), introducir unos minutos en estufa a 105°C y después 15 minutos en el horno a 550°C.(FERNÁNDEZ: 2008)

➤ DETERMINACION DE GRASA

Procedimiento

- Se pesó 5 g de muestra seca y molida.
- Se transfirió cuantitativamente al cartucho de papel filtro y se tapó con un poco de algodón.

- Se colocó el cartucho con la muestra en el extractor Soxhlet y se reflujo con 150 mL de hexano durante 4 horas.
- Por último se realizó el pesado del cartucho, y se hizo los cálculos por diferencia de pesos.

Cálculos.

$$\% \text{ de grasa} = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \times 100$$

P_0 : Peso de muestra secas y molida. (g)

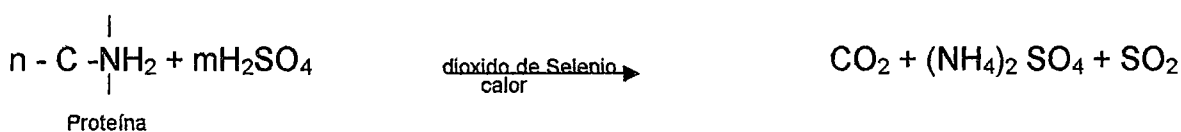
P_1 : Peso de grasa + cartucho (g)

P_2 : Peso de cartucho. (g) (FERNANDEZ, 2008)

➤ DETERMINACION DE PROTEINA BRUTA

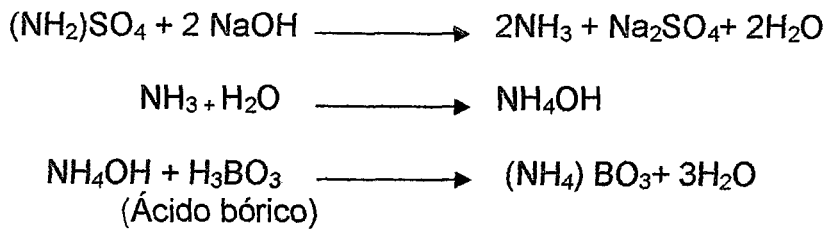
Digestión

Las proteínas contenidas en los tejidos vegetales junto a los carbohidratos, grasas y muchos otros compuestos orgánicos e inorgánicos, se descomponen por acción del calor en presencia de ácido sulfúrico concentrado y catalizadores de oxidación. Los productos de la descomposición son el bióxido de carbono, agua y sulfato de amonio.



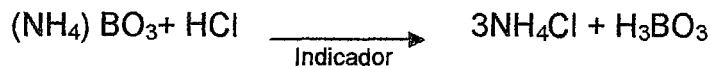
Neutralización y destilación

En una segunda etapa el sulfato de amonio se descompone en amoniaco por neutralización con un exceso de hidróxido de sodio al 40% y es arrastrado por vapor de agua y recibido en una solución de ácido bórico al 2%, en el cual se fija formando borato de amonio.



Titulación

El borato de amonio formado se titula cuantitativamente con ácido clorhídrico de normalidad conocida, utilizando como indicador una mezcla de rojo de metilo y verde bromocresol (indicador mixto).



PROCEDIMIENTO

Digestión

- Se pesó aproximadamente 0,1 g de la muestra seca y molida y se transfirió en un matraz de micro-Kjeldahl cuidando que la muestra no se adhiriera a las paredes o al cuello del matraz.
- Se añadió 2 mL de H_2SO_4 concentrado, dos perlas de ebullición y aproximadamente 0,1 g de mezcla catalizadora (dióxido de selenio)
- Se sometió a digestión la muestra en el aparato de microKjeldahl bajo una campana de extracción, con el matraz ligeramente inclinado usando baja temperatura durante 5 minutos al inicio y aumentando el calor fuertemente durante 45 minutos, rotando los matraces de vez en cuando para asegurarse de que se digiera toda la muestra. La digestión terminó cuando el color de la muestra fue clara.
- Se enfrió el matraz durante unos 4 minutos.

Destilación

- Se encendió la unidad destiladora y se abrió la llave del agua para tener H_2O circulando por el refrigerante todo el tiempo.

- Se añadió la muestra a la cámara de ebullición por medio de un embudo (para recuperar las perlas de ebullición) y se enjuagó el matraz con aproximadamente 5 mL. de H₂O destilada.
- Se colocó en 1 frasco Erlen meyer de 100 mL con 10 mL de ácido bórico al 2% y 2 gotas de indicador bajo la salida de destilación.
- Se añadió aproximadamente 10 mL. de la solución de NaOH a la cámara de ebullición "lentamente". La mezcla digerida se tornó oscura (azul-gris o café oscuro).
- Se colectó aproximadamente 20 mL del destilado (4-5 minutos). El destilado estuvo listo para ser titulado en el momento que se tornó verde en el matraz receptor.

Titulación

- El destilado se tituló con una solución de ácido clorhídrico 0,02 N hasta que se produjo el viraje de la solución de verde a rojo.

Cálculos

$$V_{HCl} \times N_{HCl} = m_{eq} NH_3$$

$$m_{eq} NH_3 = mg N$$

mg N x 6,25 = mg de proteína bruta

mg de proteína bruta / 100 = % de proteína bruta. (ZUMBADO: 2002)

Nota. El factor utilizado para la conversión de Nitrógeno a proteínas está basado en el contenido promedio de proteínas en los alimentos el cual es de aproximadamente de 16% de su contenido, por lo que se obtiene el factor de 6,25 (1/0,16). (FAO: 1970)

➤ DETERMINACIÓN DE FIBRA BRUTA

Procedimiento

- Pesar 0.5 g de muestra seca, molida y desgrasada y colocar en un Erlenmeyer conectado a un refrigerante de reflujo.
- Añadir 50 mL de ácido sulfúrico al 1,25% en peso y refluja suavemente por 30 minutos.
- Añadir 50 mL de hidróxido de sodio al 3,52% y refluja por otros 30 minutos.

- Pesar previamente un disco de papel filtro seco.
- Filtrar la mezcla digerida enjuagando el Erlenmeyer y el embudo con varias porciones de agua destilada y finalmente etanol.

El disco filtrante y la fibra que continúe, se seca hasta peso constante, se enfría en el desecador y se pesa. (FERNANDEZ, 2008)

Cálculos-:

$$\% \text{ de fibra bruta} = \frac{P_1 - P_2}{P_2} \times 100$$

➤ **DETERMINACION DE EXTRACTO LIBRE DE NITROGENO (NIFE)**

$$\text{NIFE} = 100 - (A + B + C + D)$$

A: Porcentaje de proteína bruta.

C: Porcentaje de fibra bruta.

B: Porcentaje de grasa.

D: Porcentaje de ceniza.

➤ **DETERMINACION DEL VALOR ENERGETICO TOTAL (V_{ET})**

$$V_{ET} \text{ (Kcal)} = 4(\text{gramos proteínas}) + 4 (\text{gramos carbohidratos}) + 9 (\text{gramos grasas})$$

3.6.5. EVALUACION DEL CUMPLIMIENTO DE LAS NORMAS DE HIGIENE

Se realizó una encuesta de opinión (ANEXO N° 2), la cual contiene preguntas cerradas con múltiple alternativas relacionadas con los conocimientos sobre las normas de higiene que poseen los dependientes de los kioscos escolares de colegios nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco.

3.7. TECNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS

Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences versión 15.0 en español), Office 2010: word, excel.

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) el cual establece diferencia entre las medias poblacionales; es un método matemático creado para probar hipótesis de que las medias aritméticas de más de 2 grupos poblacionales son iguales.

CAPITULO IV
RESULTADOS.

**4.1. RELACION DE ALIMENTOS PREPARADOS MUESTREADOS QUE SON
EXPENDIDOS EN KIOSKOS ESCOLARES DEL DISTRITO DE WANCHAQ-
CUSCO.**

TABLA N° 4.1
RELACION DE MUESTRAS DE ALIMENTOS POR INSTITUCION EDUCATIVA

	INSTITUCIÓN EDUCATIVA	MUESTRAS DE ALIMENTOS PREPARADOS CON TRATAMIENTO TÉRMICO
1	DANIEL ESTRADA PEREZ	Churro, papa con huevo, sándwich de carne, arroz chaufa, alfajor.
2	MIGUEL GRAU SEMINARIO	Hamburguesa de carne, hamburguesa de pollo, huevo duro, churros, arroz chaufa.
3	50731	Sándwich de pollo, arroz chaufa, papa rellena, yuca frita, torta de chocolate.
4	ROMERITOS	Papa a la huancaína, arroz chaufa, salchipapa, papa cocida, yuca frita.
5	SAGRADO CORAZON DE JESUS	Sándwich de queso frito, arroz chaufa, hamburguesa de pollo, hamburguesa de carne, pan con huevo.
6	OLIMPICO PERUANO	Segundo de tarwi, Sándwich con pollo, hamburguesa de carne, huevo duro, torta de chocolate.
7	URIEL GARCIA	Pan con salchicha, hamburguesa de carne, pie de manzana, pan con salchicha, sándwich con pollo.
8	51021	Empanada, revuelto de vainita, arroz chaufa, papa dorada, arroz con fideos.
9	ARTURO PALOMINO RODRIGUEZ	Sándwich de queso frito, arroz con salsa de habas, arroz chaufa, torta de naranja, alfajor.
10	JOSE ABELARDO QUIÑONES	Estofado de pollo, arroz con fideos, saltado de carne, papa dorada., pudín de chocolate.
11	MARIA DE LA MERCED	Sándwich de pollo, salchipapa, empanada, pan con palta, pollipapa.
12	NUESTRA SEÑORA DE FATIMA	Salchipapa, eco de pollo, sándwich con pollo, hamburguesa de carne, torta de chocolate.
13	VELASCO ASTETE	Segundo de fideos, arroz verde, yuca frita, huevo duro, sándwich con pollo.

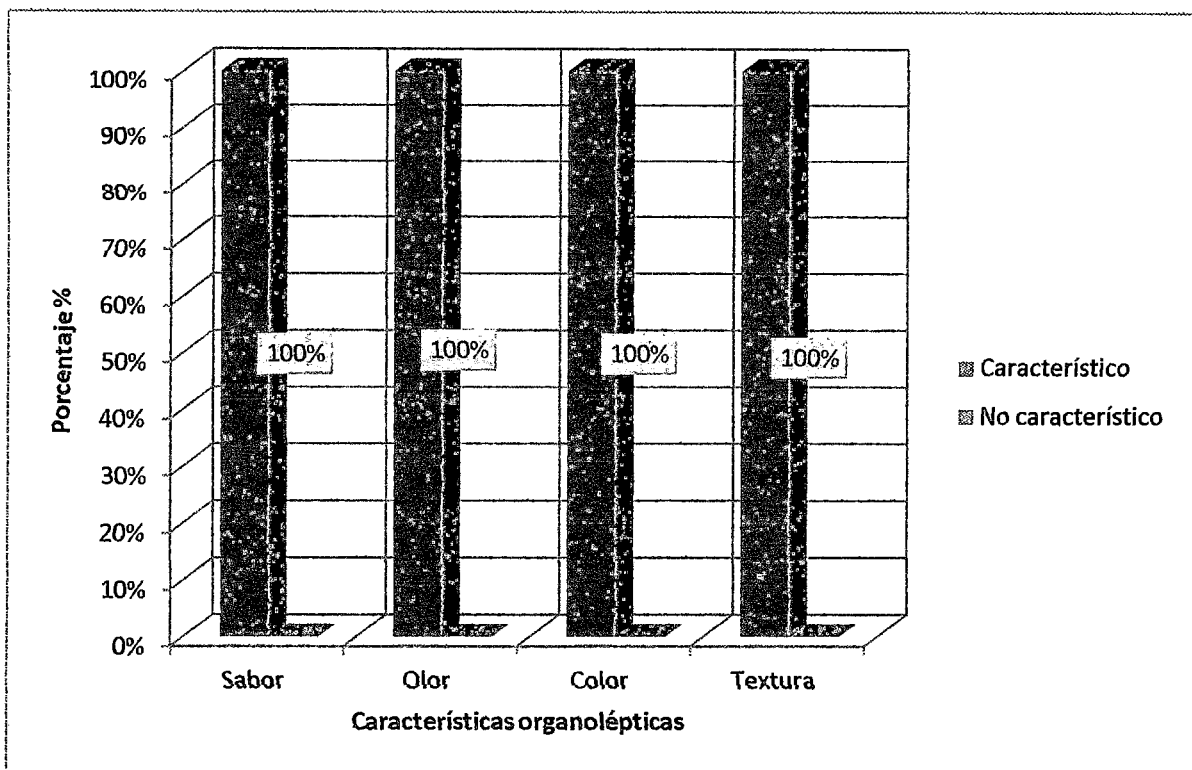
Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

Fuente: Elaboración propia

4.2. ANALISIS ORGANOLEPTICO DE ALIMENTOS

Gráfico N° 4.1

Características organolépticas de los alimentos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

Fuente: Elaboración propia

Análisis y discusión.

En el gráfico N° 4.1 se evidencian las características organolépticas evaluadas durante la investigación, de lo que se concluye que:

El 100% de las muestras analizadas cumplen con los criterios propuestos en la investigación, es decir estos presentan textura, sabor, olor y color propios a los alimentos en cuestión.

Esto se debe a que el expendio de esta clase de alimentos depende de las características externas que presenten y que además estas resulten agradables al público, por lo que su presentación para su expendio es cuidada de manera

minuciosa por las personas encargadas de los establecimientos de venta en las instituciones educativas.

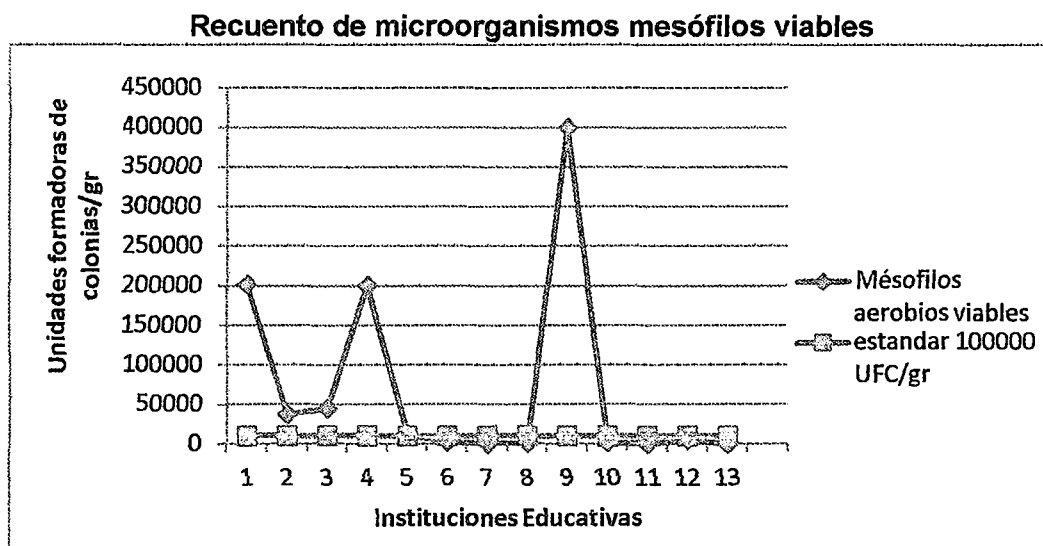
No existen estudios preliminares nacionales ni internacionales con las que podamos relacionar los resultados, por lo que estos servirán como referencia a futuras investigaciones realizadas en el mismo campo.

4.3. ANALISIS MICROBIOLOGICO DE ALIMENTOS

4.3.1. RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS VIABLES.

En el siguiente gráfico se podrá observar los resultados obtenidos del análisis a 65 muestras de alimentos, los puntos negros que se encuentren por debajo de la línea superior indican que la cantidad de microorganismos hallados se encuentran de los límites de crecimiento microbiano permisibles, en cambio a aquellos valores por encima indicaran que estos se encuentra fuera del límite permitido.

Gráfico N° 4.2



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

LEYENDA							
INSTITUCION EDUCATIVA							
ARTURO PALOMINO	1	PROGRESO	5	VIRGEN DE FATIMA	9	MIGUEL GRAU	13
DANIEL ESTRADA	2	CHACHACOMAYOC	6	URIEL GARCIA	10		
MARIA DE LA MERCED	3	OLIMPLICO PERUANO	7	VELASCO ASTETE	11		
ABELARDO QUIÑONES	4	ROMERITOS	8	SAGRADO CORAZON	12		

Cuadro N° 4.1

Estadísticos para una muestra en el recuento de mesófilos aerobios viables

	N	Media	Desviación típ.	Coef. de variabilidad
Mesófilos Aerobios Viables	65	70134,37	241584,188	344.46
Prueba para una muestra				
	Valor de prueba = 10000			
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias
Mesófilos Aerobios Viables	2,007	64	0,049	60134,369

Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

Análisis y discusión.

En el gráfico N° 4.2 se observa que de la totalidad de colegios, seis de ellos, es decir un 46.15% no cumple con las especificaciones establecidas en la Resolución Ministerial N° 615-2003 SA/DM, la cual refiere que la cantidad permitida de Microorganismos mesófilos aerobios viables es de 10^4 UFC/gr. Lo que nos indica que existe contaminación bacteriana en los alimentos que son expendida a escolares del distrito de Wanchaq, haciéndolos de esta manera no aptos para su consumo.

Los microorganismos mesófilos aerobios viables son indicadores de una manipulación inadecuada de los alimentos durante las diferentes fases de su preparación, el uso de materia prima contaminada o el almacenamiento a condiciones tiempo/temperatura no aptas para alimentos perecederos, los cuales en su conjunto favorecen el crecimiento bacteriano. Todas las bacterias patógenas vehiculares por alimentos son patógenas, incluso muchas que nos son consideradas como agentes infecciosos pueden convertirse en causantes de enfermedad si existe un número elevado de células viables. (ICMSF: 2000)

Del cuadro N° 4.1 se puede observar que el valor del Coeficiente de variabilidad nos indica que no existe homogeneidad en los resultados, por lo que entendemos que las condiciones de preparación varían de acuerdo a la institución educativa de acuerdo a factores como conocimiento sobre hábitos de higiene de los manipuladores, entre otros.

Se puede observar además que el valor de sigma bilateral es menos que 0.05, lo cual nos indica que existe una diferencia significativa con el estándar, esto nos permite concluir que los alimentos preparados y expendidos en colegios nacionales del distrito de

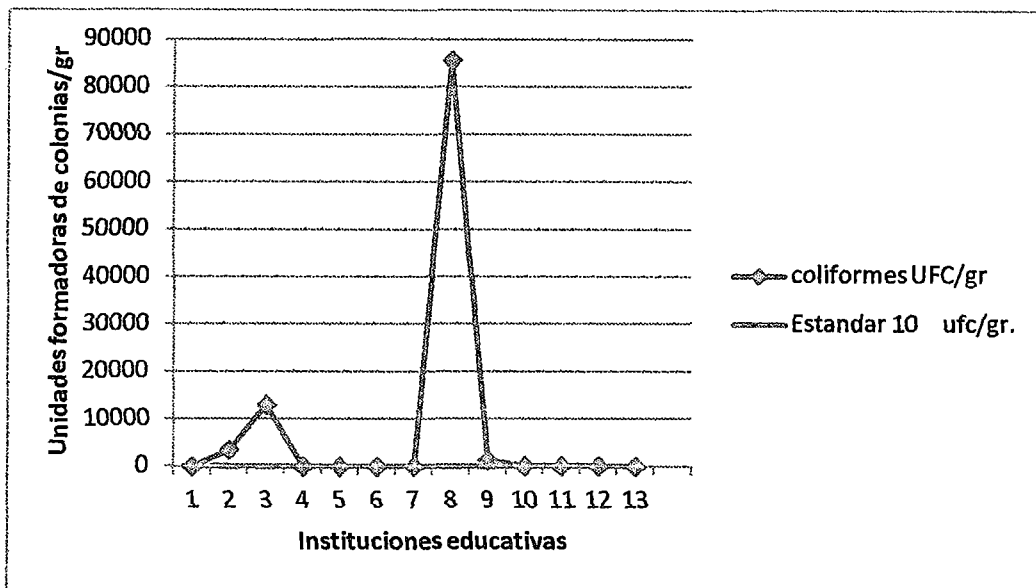
Wanchaq no cumplen con los parámetros microbiológicos que exige la norma peruana vigente.

Según el estudio de Alvarado-Díaz, "Evaluación sanitaria de una cantina escolar" realizado en Mérida-Venezuela, se encontraron los siguientes resultados: el número de Mesófilos Aerobios viables era de $2,7 \times 10^8$ para queso, $2,1 \times 10^4$ en jugo de guayaba entre otros.

4.3.2. RECUENTO DE MICROORGANISMOS COLIFORMES.

Gráfico N° 4.3

Recuento de microorganismos coliformes



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

LEYENDA							
INSTITUCION EDUCATIVA							
ARTURO PALOMINO	1	PROGRESO	5	VIRGEN DE FATIMA	9	MIGUEL GRAU	13
DANIEL ESTRADA	2	CHACHACOMAYOC	6	URIEL GARCIA	10		
MARIA DE LA MERCED	3	OLIMPLICO PERUANO	7	VELASCO ASTETE	11		
ABELARDO QUIÑONES	4	ROMERITOS	8	SAGRADO CORAZON	12		

Cuadro N° 4.2

Estadísticos para una muestra en el recuento de Coliformes

	N	Media	Desviación típ.	Coef. de variabilidad.
Coliformes	65	7969,54	26346,368	330,59
Prueba para una muestra				
Valor de prueba = 10				
	T	GI	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias
Coliformes	2,436	64	0,018	7959,538

Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSION.

En el gráfico N° 4.3 se puede observar que siete colegios que representan un 53, 85% de las instituciones educativas no cumplen con las especificaciones de la Resolución Ministerial N° 615-2003 SA/DM, la cual nos indica que la cantidad permitida de microorganismos es de 10 UFC/gr. De tal manera podemos indicar que existe contaminación bacteriana en los colegios con resultados mayores a la norma establecida, haciéndolos no aptos para el consumo humano.

Las bacterias coliformes o coliaerógenas comprenden a bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, dentro de las cuales podemos observar *Escherichia coli* y otras especies como *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*. Estos se identifican con microorganismos patógenos para el hombre e indicadores de contaminación fecal.

Estos determinan una mala manipulación de los alimentos ya preparados o de la materia prima utilizada para su elaboración; no obstante no queda descartada la posible contaminación durante su transporte o proceso de almacenamiento. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2000)

Del cuadro N° 4.2 se observa que el coeficiente de variabilidad; al igual que en el caso de las bacterias Mesófilos; no existe homogeneidad en los resultados por lo que las condiciones de preparado varían de acuerdo a cada institución educativa.

Además se puede observar que el valor de sigma bilateral este es menor a 0.05 el cual nos indica que existe una diferencia significativa con el estándar, por lo que concluimos

que los alimentos expendidos en kioscos escolares del distrito de Wanchaq no cumple no los parámetros de la ley peruana vigente.

Según el estudio de Alvarado-Díaz, **“Evaluación sanitaria de una cantina escolar”** realizada en Mérida-Venezuela, se encontraron un número de bacterias coliformes, mayor al permitido por la norma el cual hacia inaceptables y no aptos para el consumo humano los alimentos estudiados.

En un estudio similar **“Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón”, Sonora, México;** se encontró que de la totalidad de muestras analizadas el 66 % de las muestras analizadas presentaban valores acordes a las normas establecidas en este país, sólo con la excepción del análisis a ensaladas de frutas en el todas las muestras daban valores no aptos para el consumo humano.

4.3.3. DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli*

Cuadro N° 4.3

Determinación de *Escherichia coli*

INSTITUCION EDUCATIVA	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	MUESTRA 4	MUESTRA 5
ARTURO PALOMINO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
DANIEL ESTRADA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
MARIA DE LA MERCED	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ABELARDO QUIÑONES	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PROGRESO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
CHACHACOMAYOC	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OLIMPLICO PERUANO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ROMERITOS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
VIRGEN DE FATIMA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
URIEL GARCÍA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
VELASCO ASTETE	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
SAGRADO CORAZON	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
MIGUEL GRAU	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

En el cuadro N° 4.3 se observa que de la totalidad de muestras analizadas, ninguna presentó crecimiento bacteriano, cumpliendo con los criterios establecidos por la Resolución Ministerial N° 615-2003 SA/DM, la cual nos indica que la cantidad permitida de microorganismos es de < 3 UFC/gr lo que significa, que dichos alimentos no se encuentran contaminados por esta bacteria siendo aptos para el consumo humano.

Escherichia coli, es un germen cuyo hábitat natural es el tracto entérico, por lo que su presencia es un indicador de contaminación directa o indirecta; de origen fecal.; además *Escherichia coli* es el indicador de posibles patógenos entéricos en el agua, moluscos, lácteos y otros alimentos, su enumeración en alimentos puede estar influenciado por su multiplicación o su adherencia a las partículas de los alimentos. Cifras sustanciales de este sugieren una falta de limpieza total y almacenamiento inadecuado. (ICMSF: 2000)

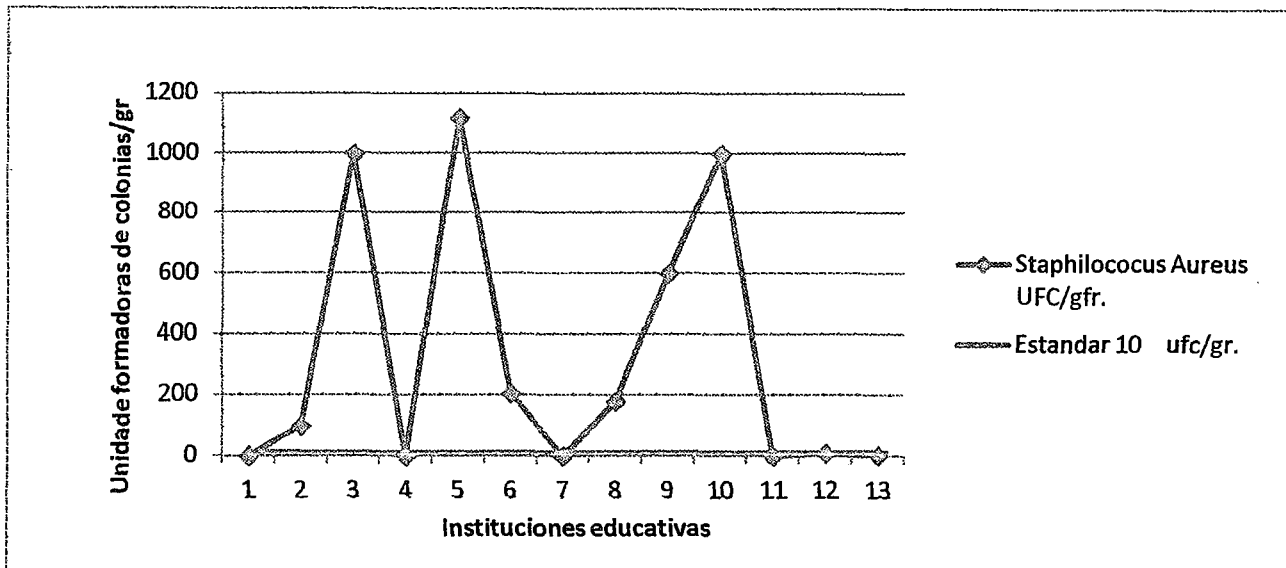
En estudios similares como el realizado en la ciudad de San José, Costa Rica titulado "Calidad microbiológica de alimentos vendidos en las fiestas populares" Monge-

Arias, 1991; se encontró que el 55 % de las muestras analizadas presentaban contaminación por *Escherichia coli*, lo cual era una indicación de contaminación fecal.

4.3.4. DETERMINACION DE *Staphylococcus aureus*

Gráfico N° 4.4

Determinación de *Staphylococcus aureus*



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
FUENTE: Elaboración propia

LEYENDA							
INSTITUCION EDUCATIVA							
ARTURO PALOMINO	1	PROGRESO	5	VIRGEN DE FATIMA	9	MIGUEL GRAU	13
DANIEL ESTRADA	2	CHACHACOMAYOC	6	URIEL GARCIA	10		
MARIA DE LA MERCED	3	OLIMPLICO PERUANO	7	VELASCO ASTETE	11		
ABELARDO QUIÑONES	4	ROMERITOS	8	SAGRADO CORAZON	12		

Cuadro N° 4.4

Estadísticos para una muestra en la determinación de *Staphylococcus aureus*

	N	Media	Desviación tip.	Coef. De variabilidad.
<i>Staphylococcus Aureus</i>	65	324,31	1112,338	342.98
Prueba para una muestra				
	Valor de prueba = 10			
	T	Gf	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias
<i>Staphylococcus Aureus</i>	2,278	64	0,026	314,308

Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSIÓN

De acuerdo al gráfico N° 4.4 podemos observar que siete colegios, que representan el 53.85% de las instituciones educativas no cumplen con las especificaciones de la Resolución Ministerial N° 615-2003 SA/DM (para la determinación de este microorganismo se tomó en cuenta sólo aquellas colonias que dieron positivo a la prueba de la coagulasa), la cual nos indica que la cantidad permitida de microorganismos es de 10 UFC/gr; haciendo de estos no aptos para el consumo humano, debido a la mala manipulación de los alimentos en sí y de la materia prima utilizada para su elaboración.

Staphylococcus aureus es capaz de producir intoxicaciones alimentarias por la ingesta de sus enterotoxinas. Los alimentos que frecuentemente son responsables de intoxicaciones tienen dentro de sus ingredientes las carnes de mamíferos y aves cocinadas, esto se puede confirmar por los resultados obtenidos en la investigación debido a que la dieta de los escolares está basada principalmente en este tipo de alimentos, además se sabe también que para generar la enfermedad no es necesario la presencia de los microorganismos en estos después de la cocción tan sólo la presencia de las toxinas termorresistentes. (MOSSEL, MORENO Y STRUIK: 2000)

Según con la información epidemiológica con la que se cuenta el reservorio más importante es el hombre siendo las fosas nasales y las manos los lugares más comunes donde se encuentren, por lo que los *Staphylococcus* son buenos indicadores de la

higiene del personal responsables de la elaboración de los alimentos y así permitimos saber si son aptos para el consumo humano. (ICMSF: 2000)

En el cuadro N° 4.4 podemos observar que según el coeficiente de variabilidad no existe homogeneidad entre las muestras, por lo que las condiciones de preparado varían entre las instituciones educativas.

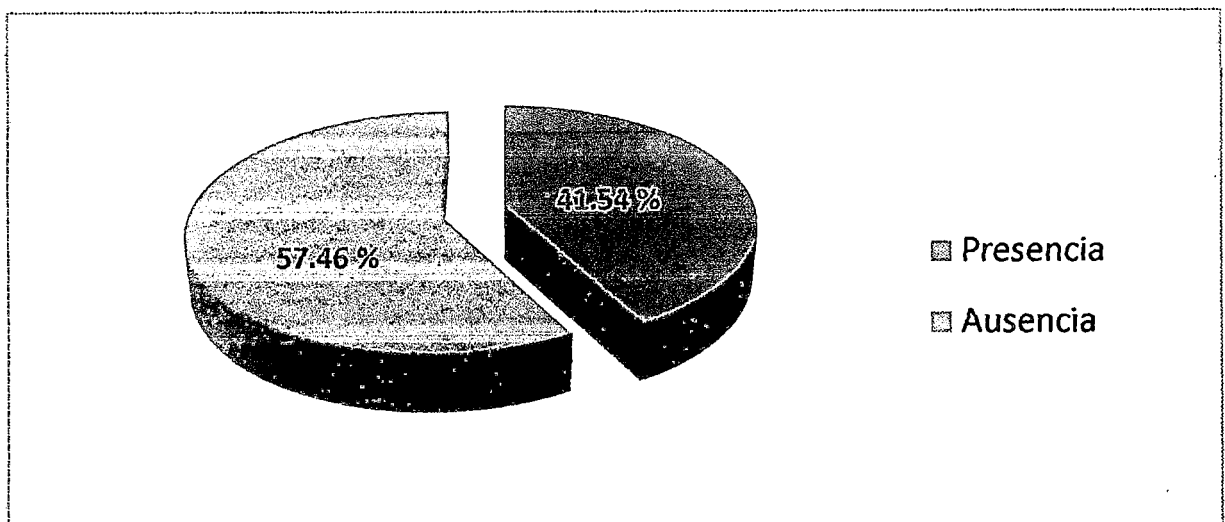
Además según el valor de sigma bilateral que es menor de 0.05 existe diferencia significativa con el estándar, por lo que concluimos que los alimentos expendidos en kioscos escolares del distrito de Wanchaq no cumplen con las especificaciones requeridas por la ley peruana vigente.

En el estudio, "Evaluación sanitaria de una cantina escolar" de Alvarado-Díaz realizada en Mérida-Venezuela, se encontró que los alimentos expendidos contenían una alta concentración de *Staphylococcus*, convirtiéndolos en fuentes potenciales de intoxicación.

4.3.5. AISLAMIENTO DE *Salmonella*

Gráfico N° 4.5

Porcentaje de muestras aisladas contaminadas con *Salmonella*



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSION

En gráfico N° 4.5 se puede observar que existe un 41.54% de instituciones educativas; es decir cinco de ellas; que no cumplen con las especificaciones de la RM N° 615-2003

SA/DM la cual nos indica que debe no debe existir presencia de este microorganismo en el alimento, haciendo de estos no aptos para el consumo humano.

Las *Salmonellas* producen intoxicaciones alimentarias en el hombre denominadas fiebres tifo-paratíficas, su contagio se realiza por contacto directo o con alimentos contaminados así como también por el agua. La enfermedad es grave para niños y ancianos. Es probable que una parte de la población estudiantil afectada haya establecido un tipo de estado de tolerancia, lo que determina un estado de portador para toda la vida haciéndolos inmune a la enfermedad y reduciendo los brotes de enfermedades en los centros educativos estudiados.

La contaminación de los alimentos puede ocurrir en cualquier fase del proceso de producción, compra y expendio. Además estudios de administración de alimentos han demostrado que no se requieren dosis elevadas de la bacteria para producir la enfermedad por lo que su presencia se considera siempre un riesgo para grave para la salud.(ICMSF: 2000)

4.4. ANALISIS MICROBIOLOGICO DE SUPERFICIES Y MANIPULADORES

Cuadro N° 4.6

Resultado análisis microbiológico de superficies y manipuladores

INSTITUCION EDUCATIVA	DETERMINACION DE COLIFORMES		AISLAMIENTO DE <i>Staphylococcus</i>
	SUPERFICIES	MANIPULADORES	MANIPULADORES
ARTURO PALOMINO	6×10^1	0	0
ABELARDO QUIÑONES	$3,1 \times 10^1$	5×10^1	0
ROMERITOS	18×10^1	17×10^1	0
URIEL GARCÍA	15×10^1	3×10^1	0

Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSIÓN

Del total de colegios sólo se pudo realizar el análisis en cuatro de ellos, debido a la falta de colaboración de las encargadas de los kioscos escolares del resto de instituciones educativas. De los colegios analizados se observa que todos cumplen con las especificaciones requeridas por la Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA. Por lo que se asegura la higiene en estas instituciones educativas.

En un estudio similar "Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón", Sonora, México; se encontró que el análisis de las superficies se encontraban dentro de los límites permitidos por la norma, mientras que el análisis de manipuladores demostró que la totalidad de ellos representaban un alto riesgo de contaminación, debido a que los valores obtenidos se encontraban fuera de la norma.

4.5. ANALISIS FISICOQUÍMICO

Cuadro N° 4.7

Resultados análisis fisicoquímicos de alimentos

INSTITUCION EDUCATIVA	Peso de muestra seca gr.	Humedad mL	% Humedad	Geniza gr.	% Geniza	Proteína gr.	% Proteína	Grasa gr.	% de Grasa	Fibra gr.	% de Fibra	NIFE ^a gr.	% NIFE ^a	Valor energético kcal
ARTURO PALOMINO	13	9,5	73,3	0,017	0,128	1,118	8,6	0,4927	3,8	0,883	6,8	10,4923	80,71	50.88
DANIEL ESTRADA	19	15	80,6	0,028	0,146	1,938	10,2	0,437	2,3	0,057	0,3	16,5338	87,02	77.82
MARIA DE LA MERCED	33	13	40,2	0,014	0,043	7,029	21,3	2,1846	6,6	5,66	17	18,1203	54,91	120.26
ABELARDO QUIÑONES	20	16	81,5	0,043	0,216	3,42	17,1	0,29	1,5	0,334	1,7	15,908	79,54	79.92
PROGRESO	18	14	76,6	0,022	0,12	3,168	17,6	0,6336	3,5	2,023	11	12,1572	67,54	67.00
CHACHACOMAYOC	21	16	77,4	0,016	0,077	3,549	16,9	0,5187	2,5	0,42	2	16,485	78,5	84.80
OLIMPLICO PERUANO	18	14	75,7	0,025	0,14	1,908	10,6	0,018	0,1	2,192	12	13,851	76,95	63.20
ROMERITOS	24	18	76,2	0,03	0,127	3	12,5	1,5816	6,6	2,086	8,7	17,2992	72,08	95.43
VIRGEN DE FATIMA	17	15	85,9	0,056	0,328	3,621	21,3	0,9435	5,6	2,123	12	10,2612	60,36	64.02
URIEL GARCIA	23	15	67	0,014	0,062	3,887	16,9	0,8602	3,7	0,207	0,9	18,0205	78,35	95.37
VELASCO ASTETE	14	10	72	0,011	0,076	2,562	18,3	0,7238	5,2	0,322	2,3	10,388	74,2	58.31
SAGRADO CORAZON	13	10	79,7	0,037	0,285	2,873	22,1	0,4355	3,4	0,169	1,3	9,49	73	53.37
MIGUEL GRAU	14	12	87,3	0,028	0,206	1,215	9	0,0878	0,7	0,093	0,7	12,0785	89,47	53.96

^a. NIFE = Extracto libre de nitrógeno (carbohidratos)

Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSION

De los resultados obtenidos en el análisis químico de alimentos en las instituciones educativas se pudo observar los siguientes resultados:

El contenido total de agua en ellos no excede los 18 mL, lo cual no representa un aporte significativo a los requerimientos establecidos en las Dietary References Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, amino acids, la cual nos indica aportes entre 1,7 y 2,4 litros por día dependiendo del intervalo de edad y sexo del individuo.

El agua en el organismo cumple diferentes funciones biológicas dentro de las más importantes: es esencial para el equilibrio osmótico y el mantenimiento del pH, permite el transporte de sustancias disueltas y de desecho, y favorece el aporte de iones en todo tipo de reacciones anabólicas y catabólicas. Pérdidas de un 10% del agua corporal causan trastornos graves, pero si esta pérdida alcanza el 20% puede condicionar la muerte.(GIL: 2006)

En el caso de carbohidratos vemos que el aporte máximo, en la dieta, de los alimentos expendidos es solo de 18 gr, lo cual no representa un aporte significativo al requerimiento establecido en las Dietary References Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, amino acids, que indica un consumo de 130 gramos por día para escolares de edades entre 4-19 años de ambos sexos.

Los hidratos de carbono representan la fuente de energía mayoritaria para el ser humano siendo la glucosa el combustible metabólico primario para los humanos, la ingesta de energía debida a los hidratos de carbono representa el 40-60% de la energía total aportada por la dieta. Entre los órganos dependientes del suministro continuo de glucosa se encuentra el cerebro, el cual es capaz de oxidar completamente hasta CO_2 y agua. Por otra parte, los eritrocitos tienen una capacidad limitada de oxidar glucosa, ya que no tienen mitocondrias, pero la obtención de energía depende exclusivamente de ese combustible metabólico oxidándola parcialmente hasta lactato vía glucólisis. Otras células especializadas, como las células de la córnea, el cristalino, la retina, los leucocitos, las células testiculares y las células de la médula renal, son eminentemente glucolíticas.

La glucosa también sirve como molécula precursora para la síntesis del resto de los hidratos de carbono constituyentes de glicoproteínas, proteoglicanos y glicolípidos corporales. Estas biomoléculas complejas son componentes importantes de los fluidos corporales, la matriz de los tejidos, las membranas y las superficies celulares.(GIL: 2006).

El contenido de fibra encontrado en los alimentos analizados varía de entre 0,057 a 5,66 gr; los cuales no representan un aporte significativo a la dieta diaria de los estudiantes; según las Dietary References Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, amino acids que indican valores de entre 25 a 38 gramos por día para escolares de edades entre 4-19 años de ambos sexos.

El consumo adecuado de fibra ha demostrado; a través de diversos estudios epidemiológicos; prevenir la aparición de patologías como la diabetes, enfermedades cardiovasculares, obesidad y enfermedades del tracto digestivo como la diverticulosis y el estreñimiento crónico generando; en este último caso; un incremento en el volumen de los contenidos luminales, con la consiguiente distensión de las paredes del tracto gastrointestinal. El resultado final será la estimulación de los correspondientes reflejos que facilitan la sensación de saciedad o que aceleran el tránsito de los contenidos en el intestino delgado y grueso.(GIL: 2006)

En el caso de la determinación de proteínas los valores encontrados fueron de entre 1,118 a 7,029 gr. Los cuales; al igual que en casos anteriores; no representan un aporte significativo en la dieta según las Dietary References Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, amino acids que indican valores de entre 19 a 52 gramos por día para escolares de edades entre 4-19 años de ambos sexos.

Las proteínas de la dieta no sólo son necesarias para el mantenimiento de la proteína corporal, sino imprescindible para el incremento de la proteína corporal asociada al crecimiento (limitaciones en la ingesta proteica producen retraso en el crecimiento).La pérdida de proteínas corporales se asocia a numerosas patologías y a un aumento de la mortalidad. Cuando las pérdidas de proteínas son superiores al 30% del total de proteína corporal, la proporción de supervivencia disminuye hasta el 20%. Además de esto las proteínas cumplen funciones estructurales (colágenos), facilitan la movilidad (actina y miosina en la contracción muscular), intervienen en el transporte de numerosas sustancias en los fluidos corporales (hemoglobina, transferrina, ceruloplasmina, etc.), y a través de las membranas (sistemas de transporte), intervienen como biocatalizadores en numerosas reacciones biológicas (enzimas), participan en la regulación del sistema inmune (inmunoglobulinas y citocinas) y actúan como reguladores en numerosos procesos de crecimiento, desarrollo y diferenciación celular (factores de crecimiento, factores de transcripción, etc.). (GIL: 2006)

En la determinación de grasas se encontraron valores de entre 0,0180 a 2,1846 gr. No se han establecido Ingestas Dietéticas Recomendadas (RDA) de grasas para niños y adultos; ya que, no hay suficientes datos para determinar el nivel de riesgo o el necesario para prevenir las enfermedades crónicas.

Los lípidos de la dieta están constituidos mayoritariamente por triglicéridos (grasas) y pequeñas cantidades de otros lípidos complejos tales como fosfolípidos, colesterol y otros componentes minoritarios (ceras, glicolípidos, vitaminas liposolubles, etc.). Las funciones más importantes de los lípidos de la dieta son servir de fuente de energía metabólica, proveer de elementos estructurales para las membranas celulares, servir como fuente de agentes emulsionantes, para la propia absorción de los triglicéridos, y como lubricantes de las superficies corporales, servir de vehículo para el transporte de vitaminas liposolubles (A, D, E y K) y actuar como precursores de hormonas y de otras moléculas de señalización celular. (GIL: 2006)

Por último se determinó que el aporte calórico en todas las determinaciones no representa ni el 4 % de los límites establecidos por las Ingestas Dietéticas Recomendadas (RDA), lo cual significa un aporte insignificante a la dieta de los escolares.

Los requerimientos energéticos están determinados por el metabolismo basal, la actividad física, la termogénesis postprandial y el crecimiento. La energía es el requerimiento básico de la dieta, si no se cubren sus necesidades, las proteínas, vitaminas y minerales no pueden utilizarse de forma efectiva en las funciones metabólicas. Por otro lado, el exceso de aporte energético se almacena en forma de grasa con el consiguiente perjuicio. (HIDALGO: 2003)

Los niños de edad escolar no presentan en general, una morbilidad elevada por causa de la desnutrición. Han pasado los años de mayor riesgo en la primera infancia. La velocidad de crecimiento es más lenta que en los primeros cinco años de vida y son capaces de consumir los alimentos que componen la dieta familiar. De ordinario, han adquirido un alto nivel de inmunidad, por lo menos contra algunas infecciones o parásitos.

En el estudio **“Evaluación bromatológica y nutricional de las dietas ofrecidas en el comedor de la UNSAAC”**, Torres Polanco; se determinó que las dietas ofrecidas en el comedor universitario no cubrían con los requerimientos energéticos para mujeres, pero si cubrían los requerimientos nutricionales de los estudiantes universitarios.

4.6. ENCUESTAS REALIZADAS AL PERSONAL

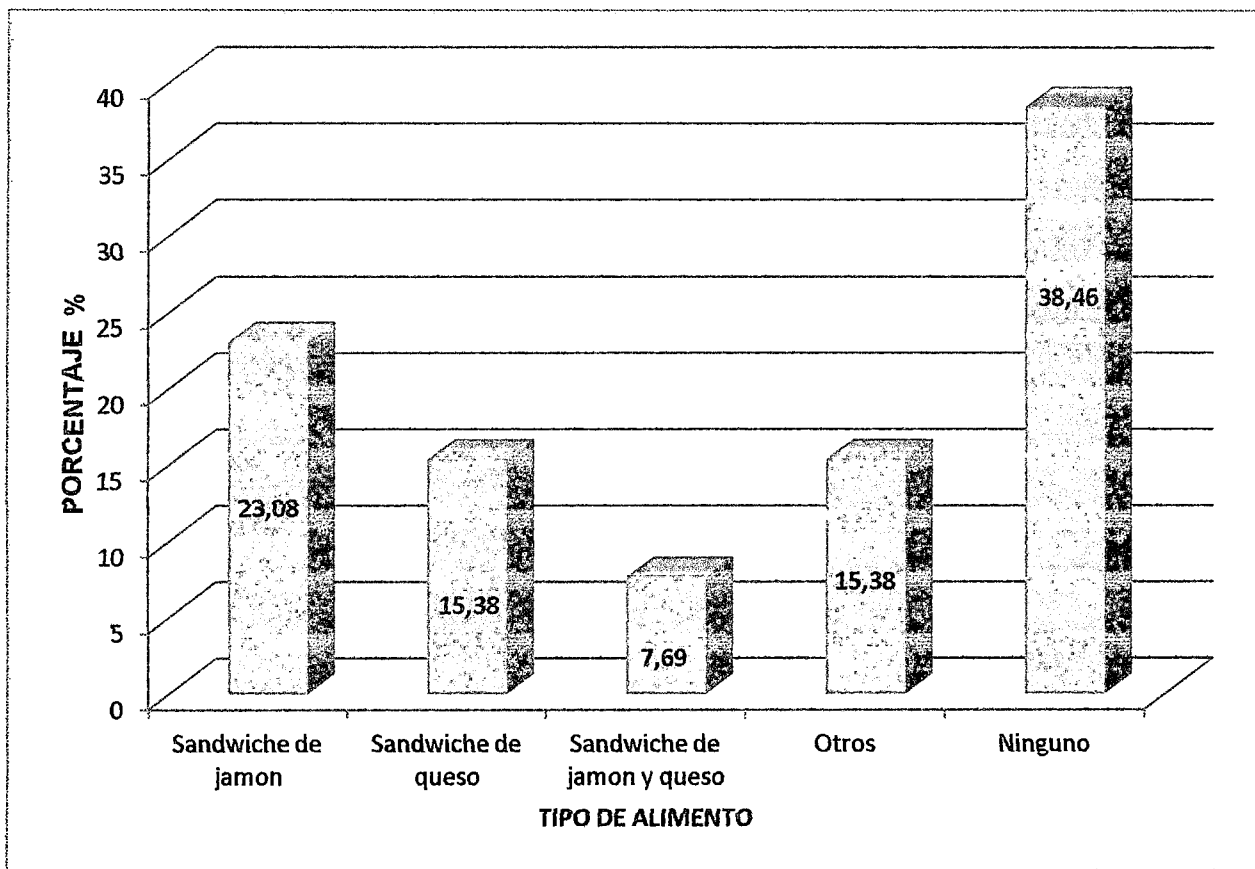
De las encuestas realizadas al personal se obtuvieron los siguientes resultados:

4.6.1. Alimentos:

A partir de los gráficos N° 4.6, 4.7, 4.8; se puede observar que de la totalidad de colegios encuestados el 100% de ellos pone a la venta alimentos preparados con tratamiento térmico y un 61.54% alimentos preparados sin tratamiento térmico. Además un 92.31% de estos prepara los diferentes tipos de bebidas que expenden en sus locales y un 69.22% prepara los diferentes tipos de condimentos que utiliza.

Gráfico N° 4.6

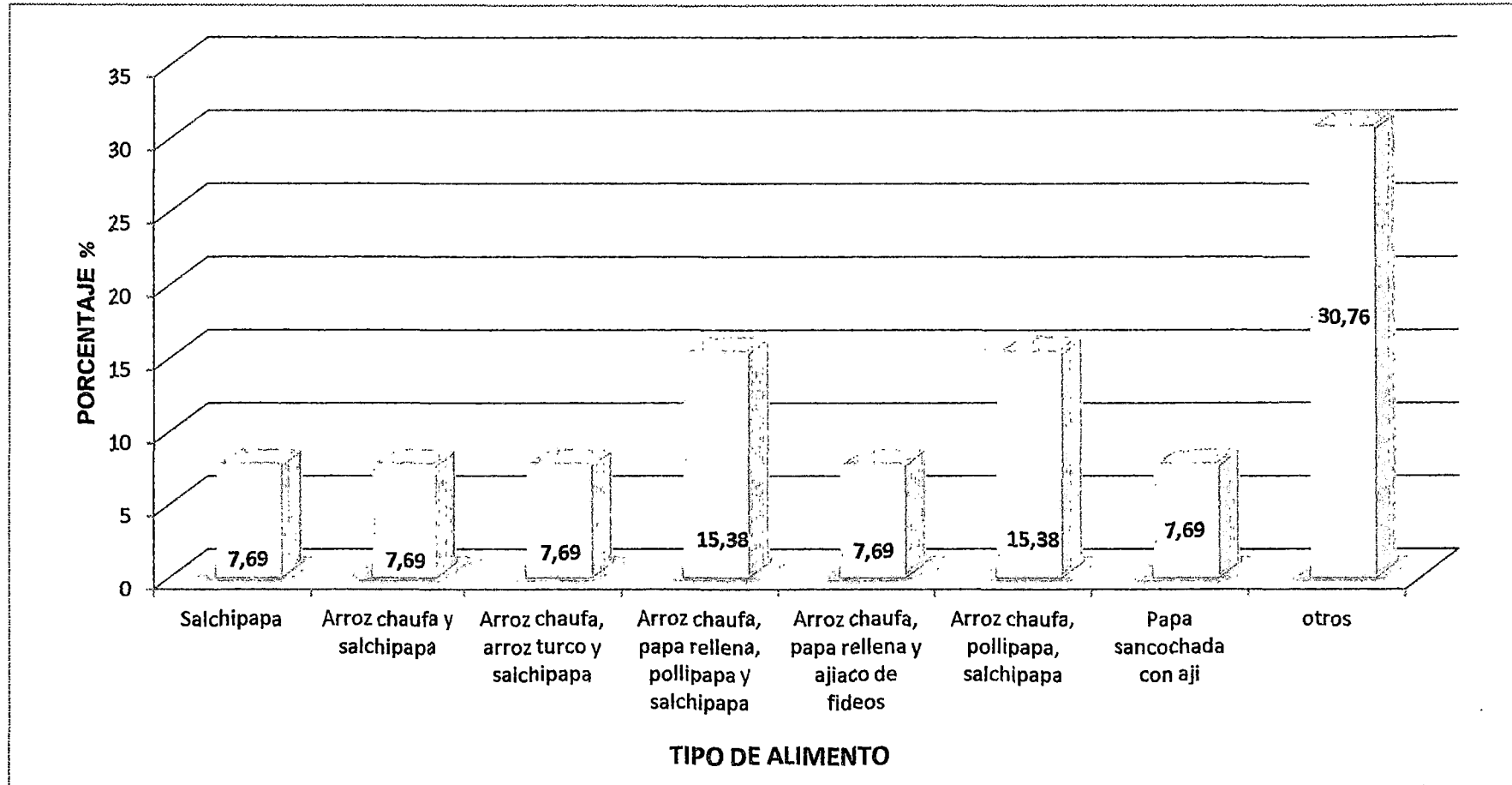
Comidas preparadas sin tratamiento térmico



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.7

Comidas preparadas con tratamiento térmico

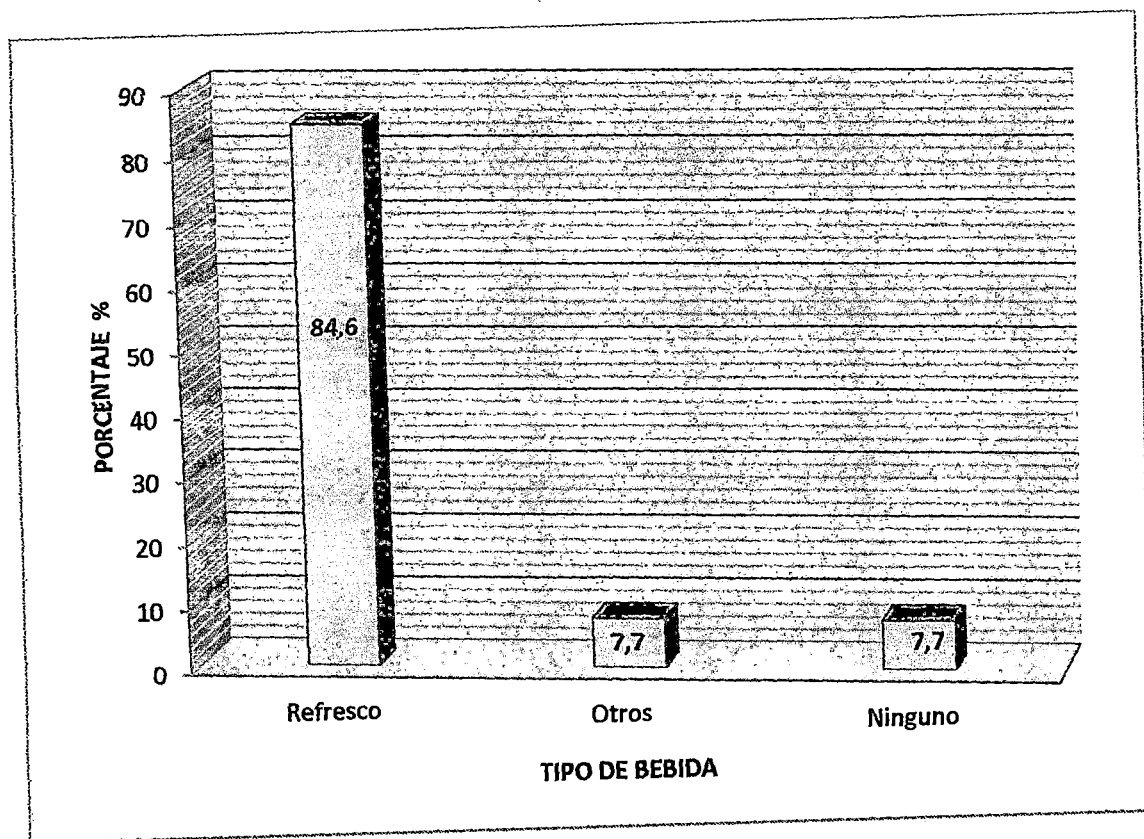


Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.8

Bebidas preparadas en kioscos escolares



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
FUENTE: Elaboración propia

4.6.2. Higiene

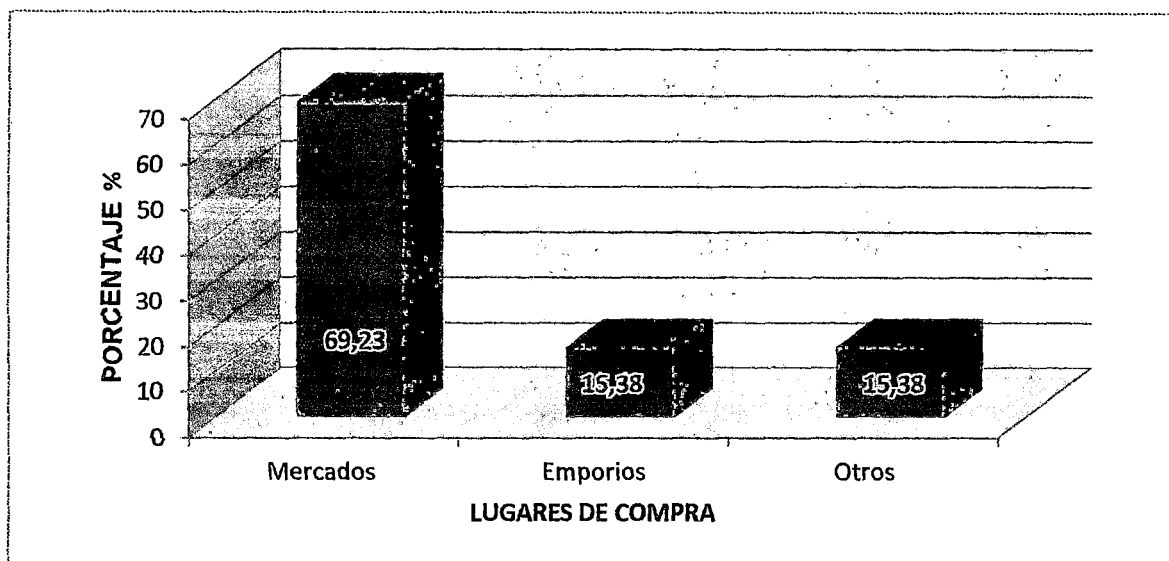
Insumos e ingredientes:

De los gráficos N° 4.9, 4.10, 4.11, se observa que de la totalidad de colegios se encontró que el 69,2% de los responsables de los kioscos escolares adquirirían la materia prima en mercados cercanos a los centros educativos y que el expendio de esta en un 38,5% se hace tanto en estantes o en el suelo de manera indiscriminada según referencias de estas mismas personas.

Además el transporte de la materia prima se realiza de manera adecuada ya que en un 84,7% lo hace en recipientes que lo protegen de posibles agentes de contaminación.

Gráfico N° 4.9

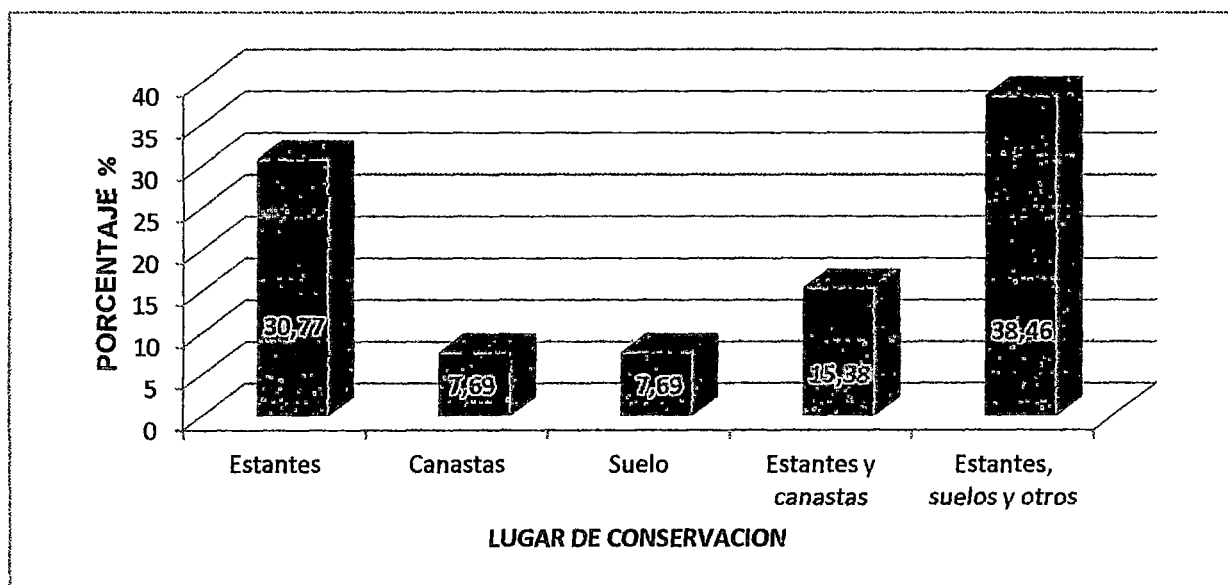
Lugares de compras de los insumos e ingredientes utilizados para la elaboración de los alimentos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.10

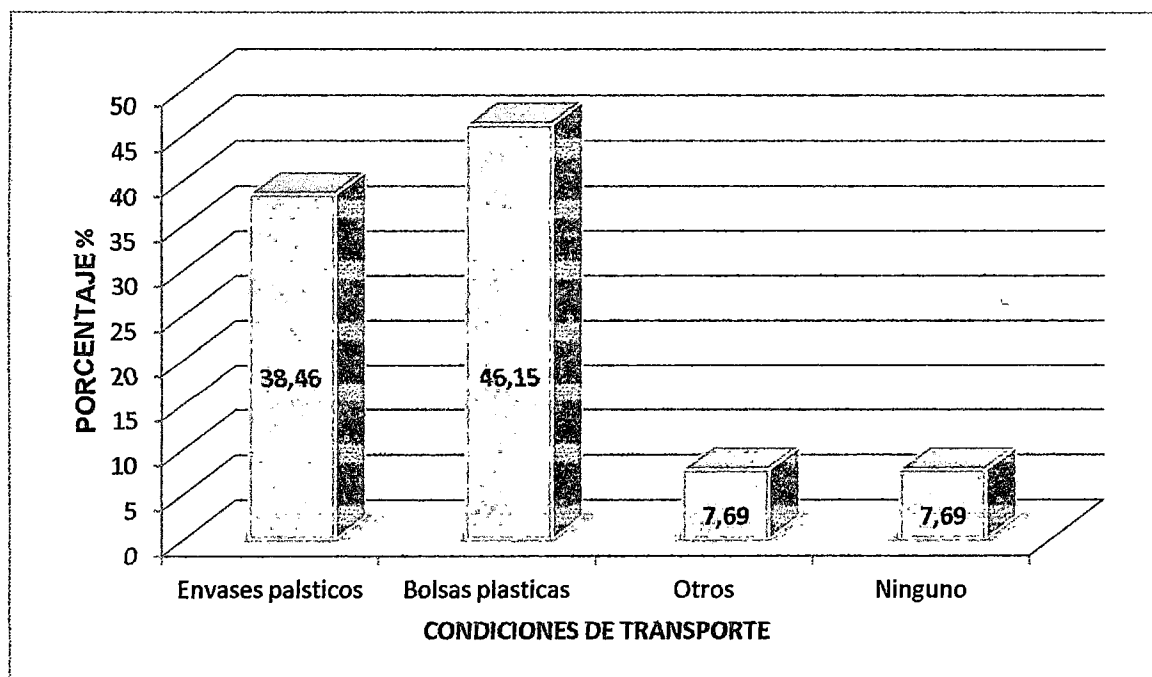
Lugares de conservación de los insumos en los puestos de venta en los que se realiza la adquisición de insumos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.11

Condiciones de transporte que eviten el deterioro por calor o contaminación



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

De estos resultados podemos determinar que el riesgo de contaminación es elevado debido a que un gran porcentaje de los alimentos expendidos en los kioscos escolares son preparados en estos, por lo que una mala manipulación podrían causar brotes infecciosos en toda la población estudiantil que los consumen sumado a esto se tiene que la materia prima se expende en zonas que no aseguran su inocuidad e higiene.

Debe tenerse en cuenta en todo momento el efecto de las actividades de producción primarias sobre la higiene e inocuidad de los alimentos, tratando en todo momento de identificar las etapas que representen un mayor riesgo de contaminación y adoptar medidas para reducir al mínimo dichos riesgos. En lo posible los productores deberán evitar la contaminación procedente del aire, suelo y agua; además de proteger la materia prima de contaminación fecal y de otra índole. (CODEX ALIMENTARIUS: 2003)

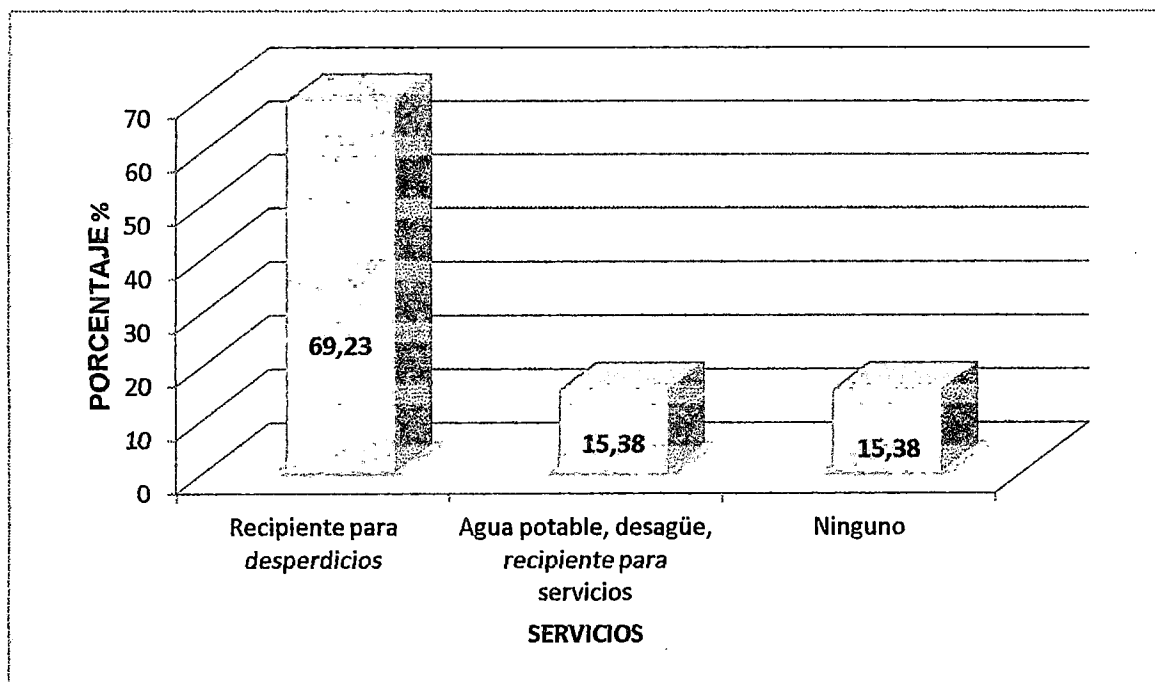
Ambiente:

A partir de los gráficos N° 4.12, 4.13, 4.14, 4.15 y 4.16, se determinó que el 15,38% de los kioscos de las instituciones educativas cuentan con servicios de agua, desagüe y recipientes para desperdicios, el 69,23% sólo con recipientes para desperdicios y el 15,38% no cuenta con ninguno de estos.

El 84,62% de kioscos escolares posee superficies de madera en las que se preparan los alimentos, además en estos el 46,15% realiza la limpieza de los locales 1 vez al día, 2 veces por semana en el 38,46% y una vez por semana en el 15,38%. Se determinó también que el 92,3% de los responsables de los kioscos realizan a limpieza de los utensilios 1 vez al día y el 7,7% de ellos lo hacen 1 vez al mes, mientras que las superficies de preparación son aseadas 1 vez al día en el 84,62% de las instituciones educativas; sólo un 15,38 % realiza esta limpieza una vez por semana.

Gráfico N° 4.12

Servicios con los que cuenta el área donde se preparan los alimentos.

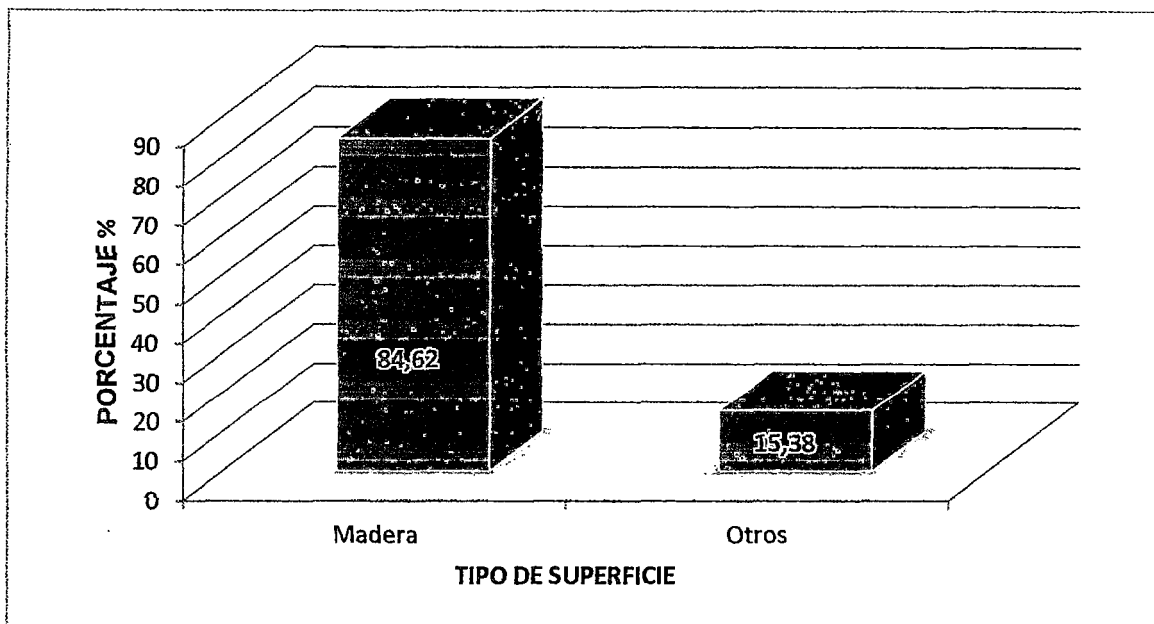


Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.13

Tipos de superficie en la que se preparan los alimentos

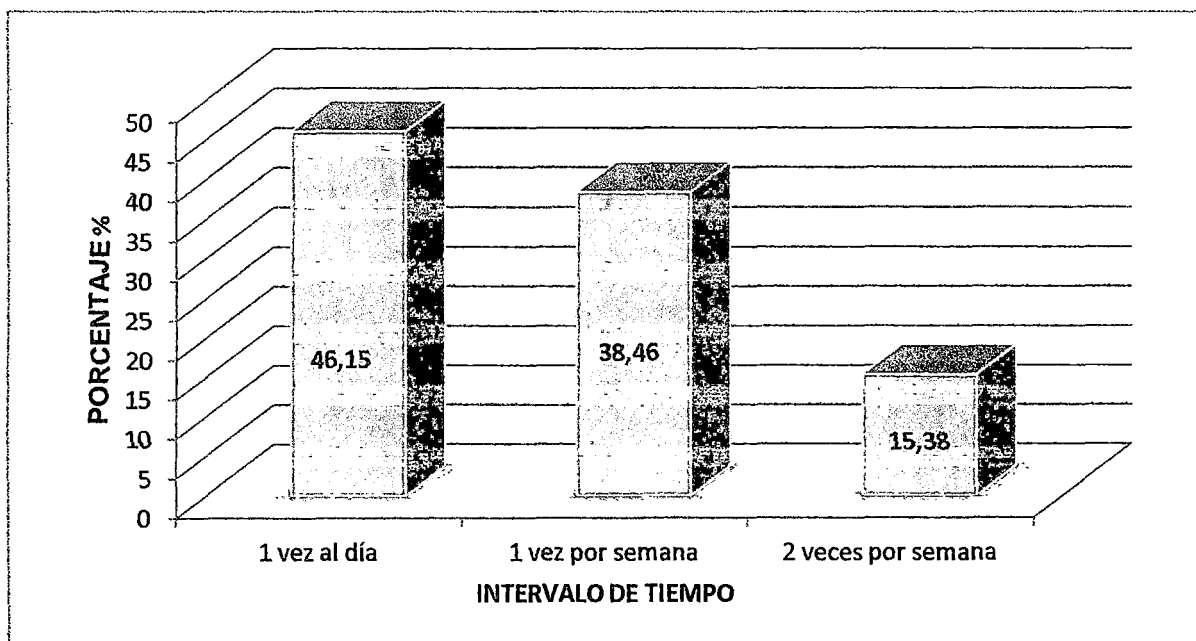


Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.14

Intervalos de tiempo de limpieza del local de trabajo

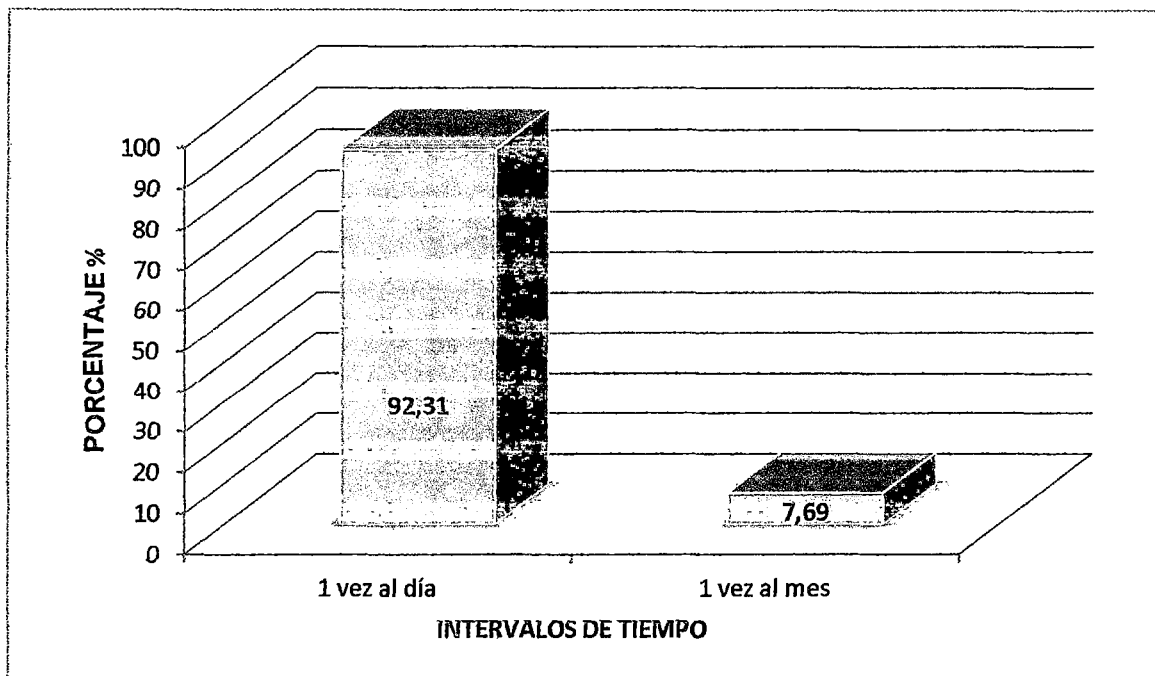


Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.15

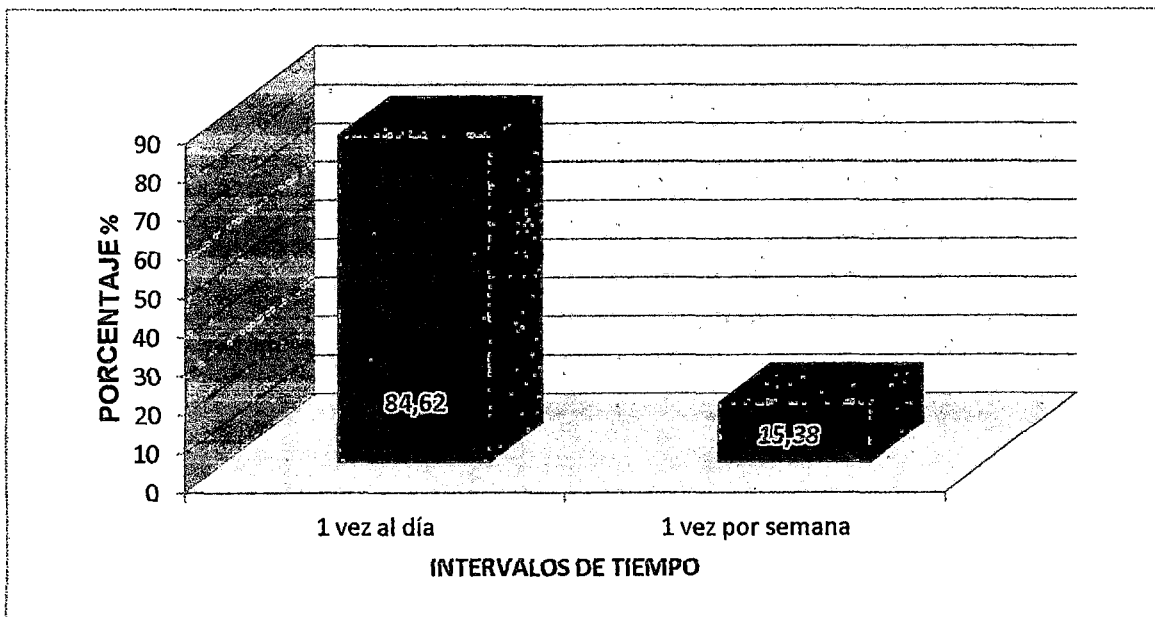
Intervalos de tiempo limpieza de utensilios de preparación



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.16

Intervalos de tiempo limpieza de superficies de preparación



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos se puede observar que un gran porcentaje de kioscos escolares no garantizan una elaboración ni expendio adecuado de alimentos, esto debido a la falta de servicios básicos, lugares de desecho, materiales y superficies idóneas de preparación, así como en algunos casos la falta de capacitación para una adecuada limpieza del local.

Según la FAO; en su guía del año 2002; los locales de venta deben de contar con un abastecimiento suficiente de agua potable, con instalaciones adecuadas para su almacenamiento y distribución; asegurando así la inocuidad y aptitud de los alimentos. El agua podrá conservarse en recipientes de material inoxidable de 20 litros de capacidad como mínimo debidamente protegidos, además deberá de haber sistemas e instalaciones adecuados de desagüe y eliminación de desechos, los cuales estarán proyectados y construidos de manera que se evite el riesgo de contaminación de los alimentos o del abastecimiento de agua potable. De igual manera las superficies de trabajo o de preparación deberán ser de material higiénico, impermeable y de fácil limpieza y mantenerse en buenas condiciones de conservación. Tales disposiciones no se cumplen en su totalidad, ya sea por falta de recursos brindados por la institución educativa o por desconocimiento por parte de los encargados de los puntos de venta.

Por último, dentro de las recomendaciones hechas por la FAO se indica que después de cada operación, deberán lavarse con agua, jabón, detergente y cepillo las superficies que entren en contacto con los alimentos para evitar la re contaminación de los alimentos con residuos de alimentos contaminados que han estado anteriormente en contacto con la superficie en cuestión. Con el lavado a fondo se eliminan los gérmenes y restos de alimentos que quedan en la superficie, además se deberá lavarse con agua y jabón todos los utensilios que se vayan a utilizar, para disminuir los riesgos de contaminar los alimentos con utensilios sucios. (CODEX ALIMENTARIUS: 1995),(CODEX ALIMENTARIUS: 2003)

Al igual que en casos anteriores dichas medidas no son tomadas en cuenta, por lo que podemos indicar como deficiente el manejo de la higiene en los locales de venta, superficies y utensilios.

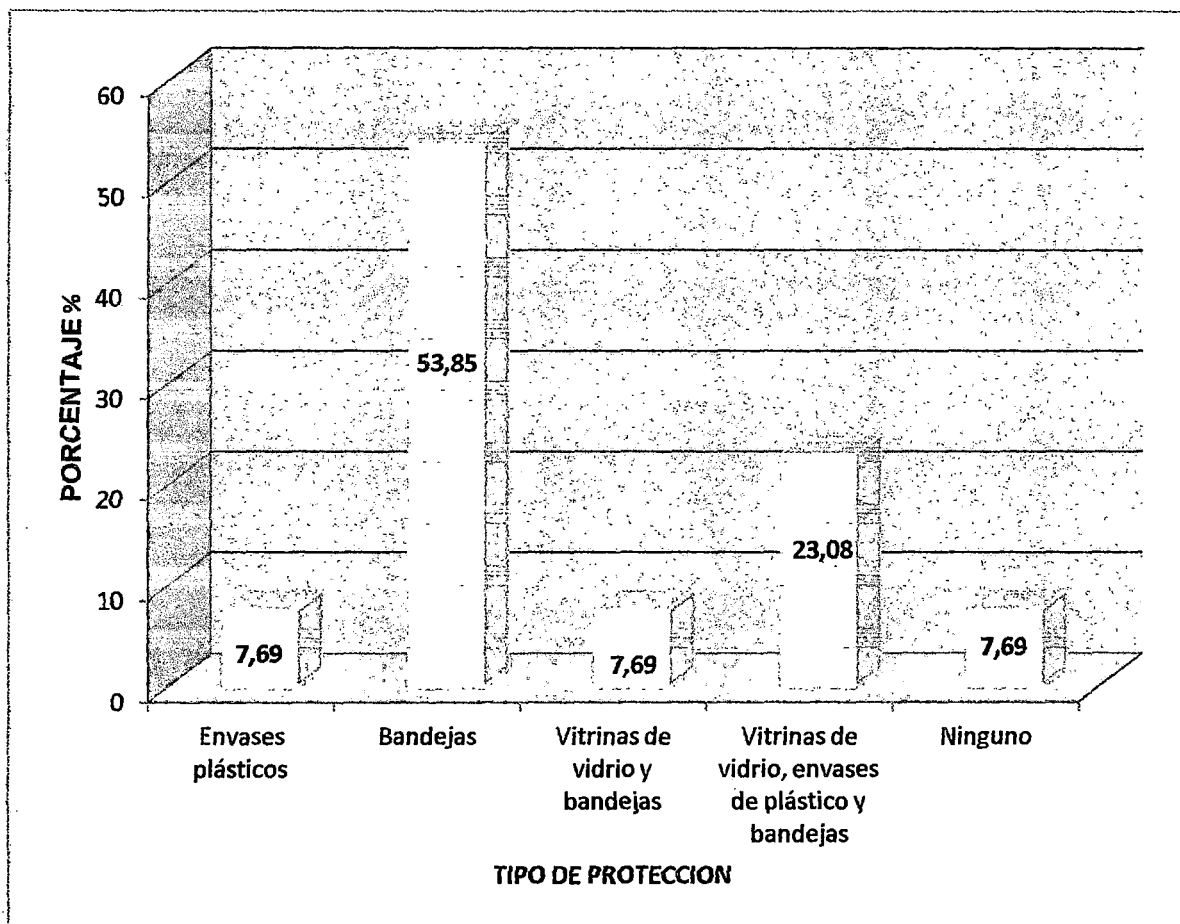
Conservación y almacenamiento

A partir de los gráficos 4.17, 4.18, 4.19, se determinó que el 23.08 % de los locales de venta contaban con vitrinas de vidrio y bandejas los cuales actúan como barrera frente a contaminación bacteriana; el 84,62% utiliza envases de plástico desechables para el expendio de alimentos y solo un 15,38 % de ellos utiliza envases reutilizables.

Además, el 92,31% de los manipuladores no usa ningún tipo de instrumento para la manipulación de los alimentos que preparan. Pero aún más preocupante es saber que el 100% de ellos entregan los alimentos de manera simultánea a la que reciben el dinero de las compras de estos.

Gráfico N° 4.17

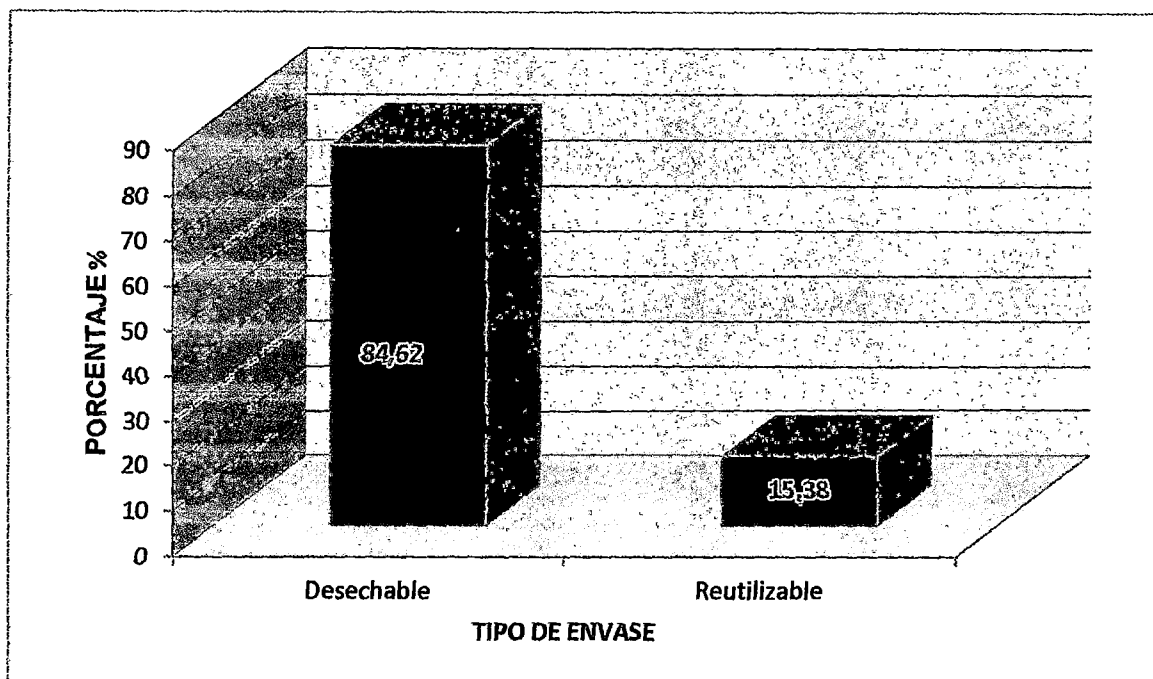
Protección de los alimentos expendidos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.18

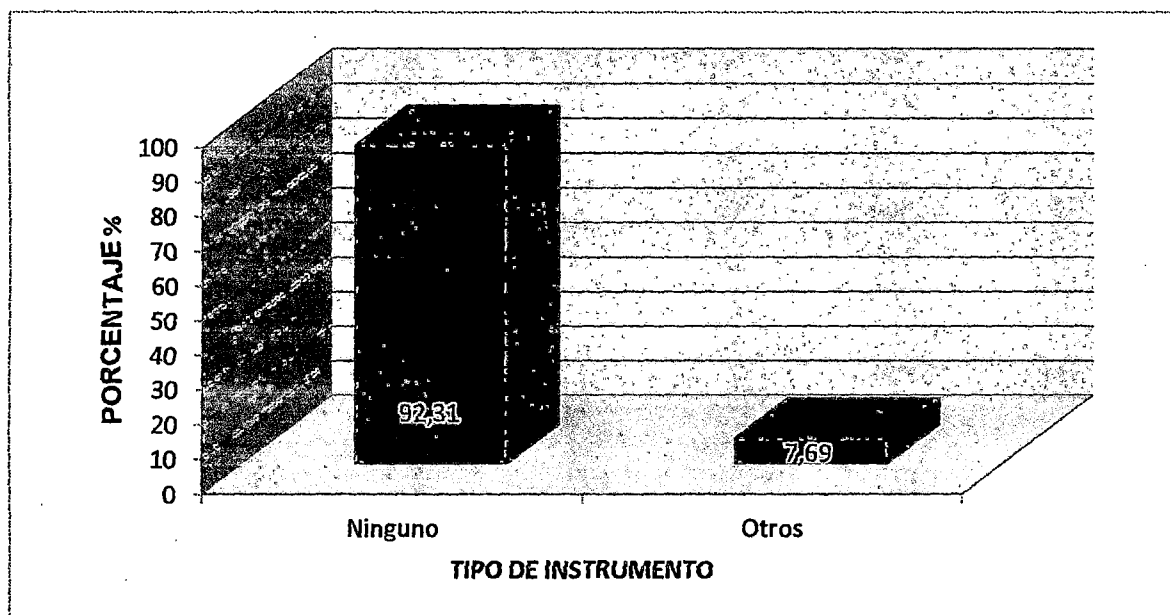
Tipo de envases utilizados en los kioscos escolares



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.19

Instrumentos utilizados para la venta de alimentos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según recomendaciones de la FAO; en su guía del año 2002; los alimentos y bebidas que se exponen a la venta deberán estar protegidos en vitrinas y cubiertos con campanas de malla metálica o material plástico; además estas deberán de servirse utilizando de preferencia platos, cubiertos y vasos desechables después del uso. De no ser ello posible, los platos, cubiertos y vasos deberán estar en buen estado de conservación y limpieza. De los resultados podemos observar que el mayor porcentaje de colegios cumplen con la utilización de barreras de protección para los alimentos durante su expendio.

Dentro de las recomendaciones de la FAO se indica que no se deberá manipular el dinero y alimentos simultáneamente, porque el dinero es un elemento contaminante. La persona que manipula alimentos no deberá tocar dinero, pero si ello fuera inevitable, deberá lavarse las manos antes de volver a manipular alimentos. (CODEX ALIMETARIUS: 1995)

De acuerdo a nuestros resultados el 92.31% personas encuestadas no cumplen con esta recomendación debido al corto tiempo con el que cuentan para el expendio de sus productos, aumentando con ello el riesgo de infecciones en la población estudiantil, por lo que podemos indicar como deficiente este aspecto del cuidado de la higiene en el expendio de alimentos en kioscos escolares.

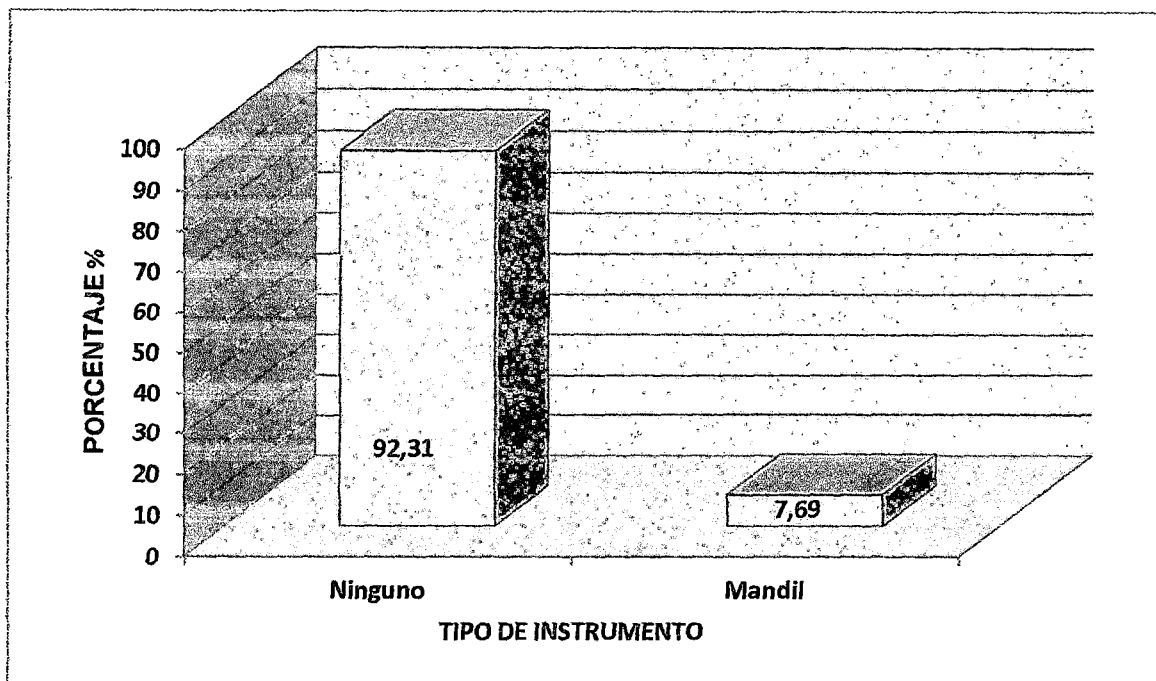
Personal

De los gráficos N° 4.20 y 4.21, se pudo determinar que el 92,31% de los manipuladores no utilizan ningún tipo de barrera primaria (guantes, mandiles, barbijos) para evitar la contaminación de los alimentos que expenden y sólo un 7,69% de estos utiliza mandiles.

Sin embargo el 53,85% de estos han recibido algún tipo de capacitación sobre higiene alimentaria por lo que en su gran mayoría conocen normas de higiene básicas.

Gráfico N° 4.20

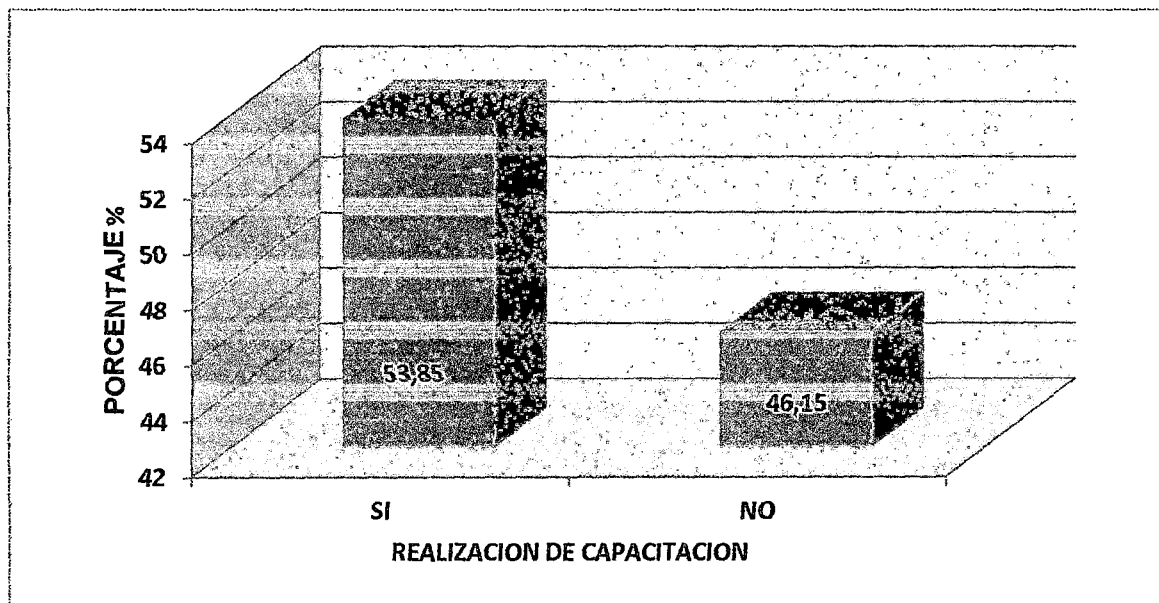
Instrumentos utilizados para la venta de alimentos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

Gráfico N° 4.21

Capacitaciones realizadas por los manipuladores sobre higiene



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.
 FUENTE: Elaboración propia

ANALISIS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados el 53.85% de los encuestados ha recibido capacitaciones sobre higiene de los alimentos, a pesar de ello podemos observar deficiencias durante todas las fases de preparación de los alimentos que expenden, además se observa que el 92.3% de los encuestados no utiliza barreras de protección tales como guantes, mandiles, entre otros; de esta manera aumenta el riesgo de contaminación sobre los alimentos y de infecciones alimentarias en la población estudiantil.

Según recomendaciones de la FAO; en su guía del año 2002; todo vendedor/manipulador de alimentos deberá vestir ropa adecuada, consistente por lo menos en un delantal y un cubrecabeza (hombres) o redecilla o pañoleta (mujer) siempre limpios y en buenas condiciones, y preferiblemente blancos o de colores claros, además deberá recibir capacitación en manipulación higiénica de los alimentos. La capacitación permitirá al manipulador/vendedor adquirir los conocimientos necesarios para obtener productos alimenticios de consumo directo en condiciones higiénicas idóneas. (CODEX ALIMENTARIUS: 1995)

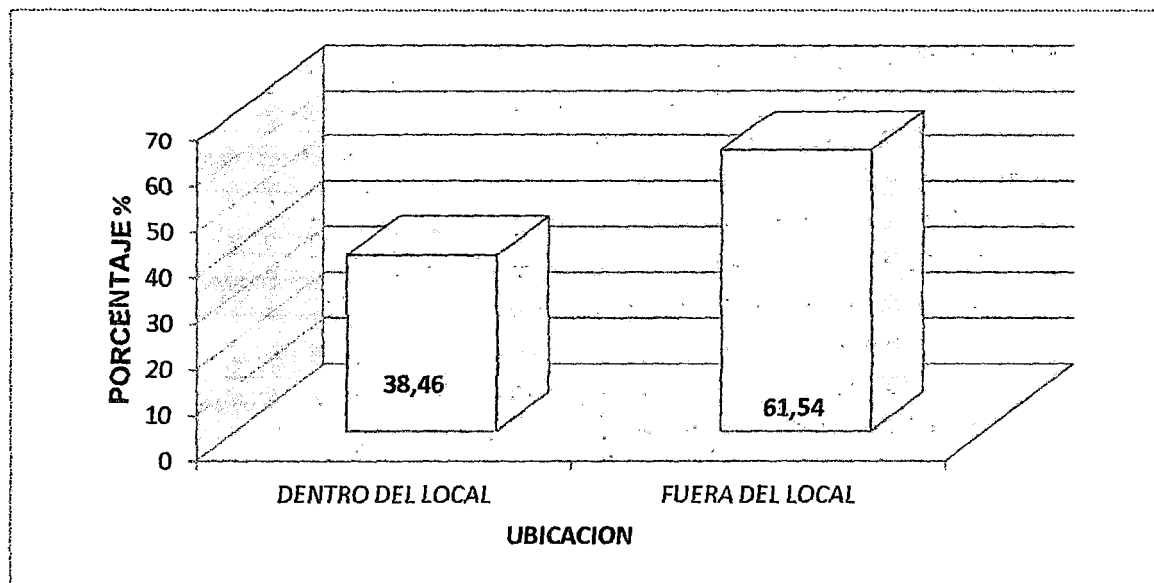
Al igual que en casos anteriores se puede indicar como deficiente el manejo de los puntos mencionados en párrafos anteriores.

Manipulación y eliminación de residuos

De acuerdo al gráfico N° 4.22 se observó que el 38,46% de los kioscos escolares tienen los recipientes para residuos en su interior muy cerca de las superficies de preparación de los alimentos, lo cual constituye una verdadera amenaza para la salud de los escolares.

Gráfico N° 4.22

Ubicación de los recipientes destinados a la eliminación de residuos



Muestras de alimentos obtenidas de kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco, 2010.

FUENTE: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según las recomendaciones de la FAO; en su guía del año 2002; los recipientes para desechos deberán mantenerse alejados de donde se manipulan los alimentos y cubiertos siempre con una tapa, para que el recipiente que contiene los desperdicios no constituya foco de atracción de plagas. (CODEX ALIMENTARIUS: 1995)

Se puede observar en los resultados, que tales recomendaciones no se cumplen ya que en un gran porcentaje de kioscos escolares los recipientes para residuos se encuentran en el interior de estos, muchas veces debido a la poca disponibilidad de espacio con los que cuentan los establecimientos, esto aunado a la falta de apoyo por parte de las instituciones educativas por mejorar las condiciones en la que se encuentran, pudiendo catalogarse como deficiente el manejo de la higiene con respecto a estos puntos.

CONCLUSIONES

- Se evaluó el cumplimiento de las normas de higiene y parámetros de calidad sanitaria establecidos por la ley peruana vigente en alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco.
- En relación a las características físico – químicas de los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco se determinó que el 100% de ellos no aporta valores nutritivos significativos de macronutrientes a la dieta de los escolares.
- Respecto al recuento de microorganismos indicadores de alteración, indicadores de higiene y patógenos, presentes en alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco se tiene que:
 - En el caso de microorganismos indicadores de alteración; específicamente aerobios mesófilos viables; se encontró que el 46,15% de las instituciones educativas no cumplen con los criterios establecidos por la RM N° 615-2003 SA/DM.
 - En el caso de microorganismos indicadores de higiene; específicamente Coliformes Totales; se encontró que el 53,85% de las instituciones educativas no cumplen con los criterios establecidos por la norma peruana.
 - En el caso de microorganismos patógenos se encontró la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* en el 53,85% y 41,54% de las instituciones educativas respectivamente; fuera de los rangos establecidos por la norma peruana En el caso de *Escherichia coli* se determinó su ausencia en el 100% de las instituciones educativas.
- Con relación al recuento de microorganismos indicadores de alteración y patógenos, presentes en manipuladores (superficies vivas) e inertes presentes en kioscos escolares de centros educativos nacionales del distrito de Wanchaq – Cusco, solo se pudo realizar el recuento en cuatro instituciones educativas las cuales el cumplieron en un 100% los criterios establecidos por la norma peruana.
- En el caso de las muestras analizadas correspondían a alimentos preparados con tratamiento térmico o alimentos preparados que llevaban ingredientes con o sin

tratamiento térmico, de ellos se determinó un elevado grado de contaminación microbiana, donde:

El 46,15% de las instituciones presentó recuentos elevados con respecto al análisis de microorganismos mesófilos aerobios viables, un 53,85% de las instituciones con respecto a la determinación de Coliformes y *Staphylococcus aureus*, y un 41,54% con respecto a la determinación de *Salmonella*.

Por último el 100% de los alimentos expendidos en kioscos escolares en instituciones educativas demostró no presentar contaminación por *Escherichia coli*.

- Con relación al análisis microbiológico de superficies, manipuladores y alimentos preparados; se determinó:
 - De los resultados del análisis microbiológico en superficies y manipuladores se encontró que el 100% de ellos se encontraban dentro de los criterios establecidos por la norma peruana.
 - De los resultados del análisis microbiológico para alimentos se determinó:
 - En el recuento de microorganismos mesófilos aerobios viables, el 46,15% no cumple con las especificaciones establecidas por la norma peruana.
 - En el recuento de microorganismos coliformes 53,85% de las instituciones educativas no cumplen con las especificaciones establecidas por la norma peruana.
 - En la determinación de *Escherichia coli* no hubo crecimiento bacteriano lo cual indica que los alimentos expendidos en los kioscos escolares de las instituciones educativas cumplen con los criterios establecidos por la norma peruana.
 - En la determinación de *Staphylococcus aureus* se encontró que el 53,85% de las instituciones educativas no cumple con las especificaciones establecidas por la norma peruana.
 - Para el aislamiento de *Salmonella* se encontró que el 41,54% de instituciones educativas no cumplen con las especificaciones establecidas por la norma peruana.
- Se determinó que los alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares del distrito de Wanchaq-Cusco no cumplen con la normas de higienes impuestas por organismos internacionales.

SUGERENCIAS

A LAS INSTITUCIONES DE SALUD Y EDUCACION

- A la Dirección de Salud Ambiental, establecer un control más estricto en la calidad de alimentos que son expendidos en kioscos escolares, de esta manera evitar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.
- A la Dirección Regional de Educación establecer inspecciones periódicas que garanticen el cumplimiento de las normativas de calidad sanitaria de los alimentos expendidos en kioscos escolares de colegios nacionales.

A LOS DIRECTORES Y DOCENTES DE COLEGIOS NACIONALES

- Proponer la realización de capacitaciones periódicas de buenas prácticas de manipulación e higiene, a los dependientes de los kioscos escolares de sus centros educativos, para de esta manera garantizar la calidad de alimentos que se ofrecen a la población estudiantil.

A LOS EXPENDEDORES

- Mantener la higiene personal y evitar la contaminación de los alimentos a través de una manipulación inadecuada durante la preparación o venta de los mismos.

A LOS ESTUDIANTES Y DOCENTES DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

- Promover un mayor interés por la investigación en el campo de control de calidad; tanto microbiológico como físico-químico de alimentos puesto que es una rama íntimamente ligada con nuestra profesión.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Adams MR, Miss MO. Microbiología de los alimentos. 2 ed. España: Editorial Acriba; 1995.
2. Alvarado Rivas C, Díaz- Rivero CG, Evaluación sanitaria de una cantina escolar, Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Departamento de Microbiología y Parasitología, 2007[consulta 10 de febrero del 2010]. Disponible en www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23895/5/articulo4.pdf Similares
3. Arias-Echandi M L. Calidad microbiológica de alimentos vendidos en las fiestas populares. Rev Biomed [Internet] 2000 [consulta 2 de febrero del 2010]; 11:113-122. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v12n1-2/art4.pdf>
4. Arias-Echandi, M L. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Rev Biomed [Internet]. 2000 [consulta 2 de febrero del 2010]; 11:113-122. Disponible en : <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2000/bio002e.pdf>
5. Arzú OR, Peiretti HA, Roibón WR. Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Noreste Argentino. Facultad de Ciencias Veterinarias – UNNE [Internet]. 2000 [consulta 2 de febrero del 2010]. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/04-Veterinarias/V-063.pdf>
6. Bello Gutiérrez J. Ciencias bromatológicas: Principios generales de los alimentos. España: Editorial Diez Santos; 2000.
7. Catana R, Manual para manipuladores de alimentos. [Internet] 2001 [Consulta 10 de febrero del 2010]. Disponible en : <http://es.scribd.com/doc/6751245/Cattana-Rosa-Manual-Para-Manipuladores-de-Alimentos>
8. Center for disease control and prevention [Internet]. National Center for immunization and respiratory disease: Division of bacterial disease; 2005. Disponible en: www.cdc.gov/flu/
9. Codex Alimentarius, Código internacional de prácticas recomendadas: Principios generales de higiene de los alimentos. 2003; CAC/RCP 1 – 1969 Rv 4 – 2003.
10. Codex alimentarius, Código de prácticas de higiene para la elaboración y expendio de alimentos en la vía pública (Norma regional - América Latina y el Caribe). 1995; CAC/RCP 43-1995.
11. Contreras Zaravia M Y. Control de calidad de alimentos de venta ambulatoria de la Margen Derecha del río Huatanay – Cusco (tesis pre-grado). Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 1996.

12. De Curtis ML, Olgamar F. Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas. Archivos Latinoamericanos de Nutrición [Internet] 2000 [consulta 12 de febrero del 2010]; ISSN 0004-0622.
13. de la Torre CM [Internet]. Ecuador; 2010 [consulta el 15 de febrero del 2010]. Disponible en :www.conquito.org.ec/expoinvquito/index.php?option=com_content&task=view&id=175&Itemid=44
14. Departamento de Vigilancia Epidemiológica del M.S.P. y el Servicio de Regulación Alimentaria. Brote de gastroenteritis por Salmonella Enteritidis en la ciudad de Montevideo [Internet]. 2000 [consulta 12 de febrero del 2010]; Disponible en: <http://www.diemeh.org/mediapool/61/617167/data/NormasVancouver.pdf>
15. Dietary References Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, amino acids [Internet]. Washington: Food and Nutrition Board. Institute of Medicine-National Academy of Sciences; 2005 (consulta 10 de julio del 2011). Disponible en: http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Energy/energy_full_report.pdf.
16. Dirección Regional de Salud Cusco, Dirección Ejecutiva de Inteligencia Sanitaria. 2009. Disponible en: <http://pid.ics.jccm.es/Lists/Recursos%20Metodologicos/Attachments/45/Guia%20Vancouver.pdf>
17. Doyle M, Beuchat L. Microbiología de los alimentos: Fundamentos y Fronteras, España: Editorial Acribia; 2001.
18. FAO. Food energy - methods of analysis and conversion factors. FAO FOOD AND NUTRITION PAPER; 2002 [consulta el 7 de octubre del 2011]. Disponible en: http://www.fao.org/infoods/publications_en.stm
19. FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud),1973; Necesidades de energía y de proteínas. Informe de un Comité Especial Mixto FAO/OMS de Expertos, serie Reuniones sobre nutrición, N° 52, Roma, FAO. Disponible en : http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_522_spa.pdf
20. FAO/OMS. Foro mundial FAO/OMS de Autoridades de Reglamentación sobre inocuidad de alimentos; 2002 [consulta 20 de julio del 2010]; Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/meeting/004/y2122s.htm>
21. FAO/OMS. Foro Mundial FAO/OMS de Autoridades de Reglamentación Sobre Inocuidad de los Alimentos; 2002 [consulta el 20 de julio del 2010]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/meeting/004/y2122s.htm>

22. Félix-Fuentes A, Campas-Baypolí O, Meza-Montenegro M. Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón. *Revista Salud Pública y Nutrición* [Internet]. 2005 [consulta 12 de febrero del 2010]; Disponible en: http://www.respyn.uanl.mx/vi/3/articulos/calidad_sanitaria.htm.
23. Fernández Borràs F. *Iniciación a la bromatología: Protocolos de análisis químico* [Internet]. 2008 [consulta 5 de febrero del 2010]; Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/58993165/PRACTICAS-BROMATOLOGIA>.
24. Fernández Salguero J. *Análisis de los alimentos: Métodos analíticos y de control de calidad*. 2da ed. España: Editorial Acribia; 1982.
25. Flórez, Astrid Carolina. *Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia*, Asociación Colombiana de Infectología [Internet]. 2010 [consulta el 16 de febrero del 2010]. Disponible en: http://www.revistainfectio.org/site/Portals/0/volumen%2012_4/factores%20relacionados.pdf.
26. Forsythe SJ. *Alimentos seguros: microbiología*. 2 ed. España: Editorial Acribia; 2002.
27. Frazier, Whesthuft. *Microbiología de los alimentos*. 4 ed. España: Editorial Acribia; 1983.
28. Froilán Medina, Ricardo. *Control microbiológico preliminar del Yogur elaborado en la ciudad del Cusco (tesis de pre grado)*. Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 1993.
29. Gamboa E, Cama I. *Contaminación fecal en carne molida del mercado "Ciudad de Dios" de San Juan de Miraflores*. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* [Internet]. 2002 [consulta 10 de febrero del 2010]; Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/artrevisa/pdf/VOL19SU/nutricion.pdf>.
30. Gamboa E, Núñez P, Velásquez M, Barzola L, Córdova D. *Condiciones higiénicas en los kioscos de las playas del Cono Sur – verano*. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* [Internet]. 2002 [consulta 10 de febrero del 2010]; Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/artrevisa/pdf/VOL19SU/nutricion.pdf>
31. Gil Hernandez A. *Tratado de nutrición*. 2 ed. España: Edit. Médica Panamericana; 2006.
32. González Yapo, Concepción. *Calidad microbiológica del producto enriquecido lácteo de consumo en 6 centros educativos iniciales de la ciudad del Cusco*, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, 1994.

33. Hart FL, Fisher HJ. *Análisis moderno de los alimentos*. España: Editorial Acribia; 1977.
34. Hays PR. *Microbiología e higiene de los alimentos*. España: Editorial Acribia; 1993.
35. Hernan Daza, C. *Nutrición infantil y rendimiento escolar*. Universidad del Valle, Cali, Colombia [Internet]. 1997 (consulta el 20 de agosto del 2011); 28: 92-98-ISSN 1657-9534.
36. Hidalgo Vicario MI. *Nutrición en la edad preescolar, escolar y adolescente*. Centro de Salud Barrio del Pilar [Internet]. 2003 (consulta el 18 de julio del 2010); VII(5): 340-354. Disponible en: [http://www.sepeap.org /imágenes / seccion e s/image/_USER_/Nutricion_ edad _preescolar\(1\).pdf](http://www.sepeap.org /imágenes / seccion e s/image/_USER_/Nutricion_ edad _preescolar(1).pdf)
37. ICMSF. *Microorganismos de los alimentos: características de los patógenos microbianos*. España: Editorial Acribia; 1996.
38. ICMSF. *Microorganismos en los alimentos 1: su significado y métodos de enumeración*. 2 ed. España: Editorial Acribia; 2000.
39. Jay, James M. *Microbiología moderna de los alimentos*. 4 ed. España: Editorial Acribia; 2000.
40. Luna Ballón L A. *Determinación de la adulteración, contaminación microbiana y presencia de residuos de antibióticos en la leche fresca comercializada en mercados y tiendas del Cusco (tesis pre grado)*. Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 2008.
41. Machaca V, Albarracín M, Quispe C, Sakuray S. *Vigilancia sanitaria de leche cruda de expendio ambulatorio en los centros de abasto de la ciudad de Tacna*. Rev Peru Med Exp Salud Pública [Internet]. 2002 [consulta 10 de febrero del 2010]; ISSN 1726-4634. Disponible en: <http://www. ins.gov. pe/insvirtual/images / revista /pdf /Rev 19Suplemento.pdf>
42. Michanie S, Benvenaste S. *Salmonelosis por consumo de huevo de sándwiches con huevo duro*. Revista DIAETA [Internet]. 1996 [consulta el 30 de enero del 2010]; N° 76:47-51. Disponible en: http://www.bpm-haccp. com.ar/ index_ archivo s/pdf/Salmonelosis-por-Consumo-de-Sandwiches-con-Huevo-Duro.pdf.
43. Ministerio de educación Perú. *Estadística de la calidad educativa: Instituciones educativas públicas del distrito de Wanchaq*; 2011 [consulta 20 de enero del 2010]. Disponible en: http://escale.minedu.gob.pe/escale/consulta/buscar/listar_centros.do?metodo=listar

44. Mossel DAA, Moreno B, Struik CB. Microbiología de los alimentos. 2 ed. España: Editorial Acribia; 2003.
45. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, 9 ed. Washington, DC; 2007.
46. Pérez Ruibal Rodríguez M. Tecnología en la elaboración de embutidos de carne de alpaca y su control de calidad (tesis pre grado). Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 1988.
47. Quispe M, Víctor Sánchez P. Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima – Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública [Internet]. 2001 [consulta 3 de febrero del 2010]; v.18 n.1-2. Disponible en : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342001000100007&script=sci_arttext
48. Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas (2007).
49. Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM. Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (2003).
50. Rivero Cándida G, Alvarado Rivas C. Evaluación sanitaria de una cantina escolar. Revista de la Facultad de Farmacia [Internet]. 2007 [consulta 3 de febrero 2010]; Vol. 49(1). Disponible en: http://ecotropicos.saber.ula.ve/db/ssaber/Edocs/pub_electronicas/revistafarmacia/vol49/articulo4.pdf.
51. Rodríguez Grajeda M. Calidad higiénica de chocolate elaborado en la ciudad del Cusco (tesis pre grado). Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 1995.
52. Rodríguez Leiva M. Relación Hospedante – Parasito mecanismo de patogenicidad de los microorganismos. 2 ed. Washington, DC: Secretaria General de Estados Americanos; 1998.
53. Rojas Corrales ZE. Investigación de Salmonella en embutidos fabricados en la ciudad del Cusco (tesis pre grado). Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 1990.
54. Sánchez Carlessi H, Reyes Meza C. Metodología y diseños en la investigación científica. Lima: Los jazmines; 1990.
55. Sinell HJ. Introducción a la higiene de los alimentos. España: Editorial Acribia; 1981.
56. Stryer I, Tymoczko JL, Berg JM. Bioquímica , 5 ed. España: Editorial Reverte; 2004

57. Torres Polanco JG. Evaluación bromatológica y nutricional de la dieta ofrecida en el comedor universitario de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (tesis pre grado). Cusco; 1996.
58. Valdeiglesias Jara W. Control de calidad higiénica de los alimentos del comedor Universitario San Antonio Abad del Cusco (tesis pre grado). Cusco; 1988.
59. Valverde Alosilla M. Control de calidad higiénica de la vajilla del comedor universitario de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (tesis pre grado), Cusco; 1989.
60. Wikilibros. Análisis sensorial de los alimentos. Disponible en: http://es.wikibooks.org/wiki/An%C3%A1lisis_Sensorial_de_Alimentos/Conceptos_generales_del_an%C3%A1lisis_sensorial.
61. Zumbado H. Análisis químico de los alimentos, Métodos clásicos. Cuba; disponible en: <http://es.scribd.com/doc/51156308/Analisis-Quimico-de-los-Alimentos-Metodos-Clasicos>.

ANEXOS

ANEXO N° 1

FICHA DE RECOLECIÓN DE DATOS DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS DE ALIMENTOS PREPARADOS Y EXPENDIDOS EN KIOSCOS ESCOLARES DEL DISTRITO DE WANCHAQ-CUSCO

Tipo de muestra	Alimentos preparados con tratamiento térmico	Alimentos preparados que contengan ingredientes con o sin tratamiento térmico.
<p>SABOR</p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>
<p>COLOR</p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>
<p>OLOR</p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>
<p>TEXTURA</p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>	<p>Característico: a) Si b) No Observaciones: </p>

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 2

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA DETERMINACION DEL CUMPLIMIENTO DE LAS
NORMAS DE HIGIENE EN LA PREPRACION DE ALIMENTOS Y LIMPIEZA DE SUPERFICIES E
INSTALACIONES**

C.E..... FECHA:

ESCUESTADOR:.....KIOSKO N°:

1) ALIMENTOS**Preparados de carne**

- | | |
|--------------------------|----------------|
| a) Hamburguesa de carne. | c) Otros:..... |
| b) Hamburguesa de pollo. | |

Comidas preparadas con tratamiento térmico:

- | | |
|----------------------|------------------------------------|
| a) Arroz chaufa. | g) Yuca rebosada. |
| b) Ajiaco de fideos. | h) Papa sancochada con ají molido. |
| c) Arroz turco. | i) Papa sancochada con huevo. |
| d) Papa rellena. | j) Wanton Frito. |
| e) Pollipapa. | k) Otros:..... |
| f) Salchipapa. | |

Comidas preparadas sin tratamiento térmico

- | | |
|-----------------------|----------------------------------|
| a) Sándwich de jamón. | d) Sándwich de mermelada/manjar. |
| b) Sándwich de queso. | e) Otros:..... |
| c) Sándwich de palta. | |

Bebidas

- | | |
|--------------|----------------|
| a) Refresco. | c) Otros:..... |
| b) Agua. | |

Especies, Condimentos o Salsas

- | | |
|----------------|----------------|
| a) Mayonesa. | c) Otros:..... |
| b) Ají molido. | |

2) HIGIENE**2.1) INSUMOS E INGREDIENTES:**

1.- ¿Dónde son adquiridos los insumos e ingredientes utilizados para la elaboración de los alimentos?

a) Mercados b) Emporios c) Tiendas minoristas d) Otros:.....

2.- La conservación de insumos en los puestos de venta, en los que realiza su adquisición, es sobre:

a) Estantes b) Cajones c) Canastas d) Suelo e) Otros:.....

3.- Los productos adquiridos conservan sus propiedades organolépticas (olor, sabor, textura, color) de alimentos frescos:

a) Si b) No

4.- El transporte de los insumos se realiza en condiciones que eviten el deterioro por el calor o la contaminación, tales como:

a) Cooler b) Envases plásticos c) Bolsas plásticas d) Otros:.....

2.2) AMBIENTE

1.- ¿El área donde se preparan los alimentos dispone de los siguientes servicios?:

a) Agua potable b) Desagüe c) Recipientes para desperdicios

2.- La superficie en la que se prepara los alimentos es de (tipo de material):

a) Madera b) Cemento c) Melamina d) Otros:.....

3.- ¿Cada cuánto tiempo se realiza la limpieza de las superficies de preparación?

a) 1 vez al día b) 1 vez por semana c) 2 veces por semana d) 1 vez por mes

e) Otros:.....

4.- ¿Cada cuánto tiempo se realiza la limpieza del local de trabajo?

a) 1 vez al día b) 1 vez por semana c) 2 veces por semana d) 1 vez por mes

e) Otros:.....

5.- ¿Cada cuánto tiempo se realiza la limpieza de los utensilios?

- a) 1 vez al día
- b) 1 vez por semana
- c) 2 veces por semana
- d) 1 vez por mes

e) Otros:.....

2.3) CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO

1.- Los alimentos y bebidas que se exponen a la venta se encuentran en:

- a) Vitrinas de vidrio
- b) Envases plásticos
- c) Bandejas
- d) Otros:

2.- En el caso de comidas y bebidas los platos, vasos y cubiertos son:

- a) Desechables
- b) Reutilizables

En el caso de ser Reutilizable: ¿Cómo desinfecta dichos materiales?

.....

3.- Para la manipulación de los alimentos que son expendidos se hace uso de:

- a) Pinzas
- b) Tenazas
- c) Guantes
- d) Ninguno
- e) Otros:.....

4.- ¿La manipulación de los alimentos y el dinero recibido por ellos se hace de manera simultánea?

- a) Si
- b) No

2.4) PERSONAL

1.- Los vendedores/manipuladores cuentan con alguna de las siguientes prendas:

- a) Mandil
- b) Gorro
- c) Barbijo
- d) Guantes
- e) Ninguno

Otros:.....

2.- ¿Los vendedores/manipuladores han recibido algún tipo de capacitación acerca de higiene alimentaria?

- a) Si
- b) No

En caso de haberla recibido, ¿Cuándo y que aspectos conoce acerca del tema en mención?

.....
.....

3.- El vendedor/manipulador cumple con hábitos higiénicos elementales, tales como:

- a) Cabello corto b) Uñas limpias y cortasc) Manos limpias
- d) No toser ni estornudar sobre los alimentos
- e) No fumar ni ingerir sustancias tóxicas durante la preparación del alimento.
- f) No manipular los alimentos si presenta lesiones o infecciones en piel.

2.5) Manipulación y eliminación de residuos**1.- Los recipientes destinados a la eliminación de residuos se encuentran alejados de la zona de preparación de alimentos:**

- a) Si b) No

Expresión final:

Eficiente: 70 – 100%

Aceptable: 50 – 69%

Deficiente: 0 – 49%

FUENTE:

- CODIGO DE PRACTICAS DE HIGIENE PARA LA ELABORACION Y EXPENDIO DE ALIMENTOS EN LA VIA PUBLICA (Norma regional - América Latina y el Caribe), Codex alimentarius, CAC/RCP 43-1995.
- CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO, resolución ministerial nº 615-2003-sa/dm, Lima 30 de mayo del 2003.

ANEXO N° 3

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

Nombre del encuestador: **Fecha:**.....

1.- ¿Conoce Ud. los alimentos que se venden en los kioscos escolares?

.....

2.- ¿Qué tipo de alimentos conoce?

.....

.....

3.- ¿Cree Ud. que la elaboración de estos es higiénica? ¿Por qué?

.....

.....

4.- ¿Cree Ud. que los manipuladores cumplen con los principios básicos de higiene? ¿Por qué?

.....

.....

5.- ¿Conoce Ud. el significado de Enfermedad transmitida por alimentos?

.....

6.- ¿Alguna vez si hijo (a) presentó una enfermedad trasmitida por alimentos?

.....

7.- ¿Cree Ud. que esté relacionado con el consumo de los alimentos expendidos en los kioscos escolares? ¿Por qué?

.....

.....

8.- ¿Cree Ud. que los alimentos expendidos en los kioscos escolares tienen algún valor nutritivo?

.....

.....

FUENTE: ELABORACION PROPIA

ANEXO N° 4

RELACION DE COLEGIOS NACIONALES DE EDUCACION PRIMARIA Y SECUNDARIA DEL DISTRITO DE WANCHAQ –
CUSCO

CÓDIGO MODULAR	NOMBRE DE LA I.E.	NIVEL / MODALIDAD	DIRECCIÓN	GÉNERO	FORMA	ALUMNOS (2009 P/)
1386234	50025	Secundaria	Avenida PEDRO VILCA APAZA S/N	Mixto	Escolarizado	255
0405100	50025 DANIEL ESTRADA PEREZ	Primaria	Avenida PEDRO VILCA APAZA S/N	Mixto	Escolarizado	427
0405167	50032 MIGUEL GRAU SEMINARIO	Primaria	Avenida TOMASA TTITO CONDEMAYTA S/N	Mixto	Escolarizado	424
0205062	50731	Primaria	Jirón COYA S/N	Mixto	Escolarizado	218
0206128	51014 ROMERITOS	Primaria	Calle CUSCO S/N	Mixto	Escolarizado	318
0735035	51014 ROMERITOS	Secundaria	Calle CUSCO S/N	Mixto	Escolarizado	475
0206201	51021	Primaria	Avenida LOS INCAS 1054	Mixto	Escolarizado	259
0489104	ARTURO PALOMINO RODRIGUEZ	Primaria	Calle AGUA MARINA MZ A LOTE 10	Mixto	Escolarizado	424
0591198	ARTURO PALOMINO RODRIGUEZ	Secundaria	Calle AGUA MARINA MZ A LOTE 10	Mixto	Escolarizado	418
1386127	JOSE ABELARDO QUIÑONES	Secundaria	Avenida GASTON ZAPATA 447	Mixto	Escolarizado	194
0933473	JOSE ABELARDO QUIÑONES	Primaria	Avenida GASTON ZAPATA 447	Mixto	Escolarizado	222
0406751	MARIA DE LA MERCED	Primaria	Avenida TOMASA TTITO CONDEMAYTA S/N	Mujeres	Escolarizado	278
0579177	MARIA DE LA MERCED	Secundaria	Avenida TOMASA TTITO CONDEMAYTA	Mujeres	Escolarizado	375

Código modular	Nombre de la I.E.	Nivel / Modalidad	Dirección	Género	Forma	Alumnos (2009 P/)
0591131	<i>MIGUEL GRAU SEMINARIO</i>	Secundaria	Avenida TOMASA TTITO CONDEMAYTA S/N	Mixto	Escolarizado	638
1386168	<i>NUUESTRA SEÑORA DE FATIMA</i>	Secundaria	Otros ZONA CIVICA S/N	Mixto	Escolarizado	361
0235010	<i>NUUESTRA SEÑORA DE FATIMA</i>	Primaria	Otros ZONA CIVICA S/N	Mixto	Escolarizado	470
0928200	<i>OLIMPICO PERUANO</i>	Secundaria	Avenida HIPOLITO UNANUE S/N	Mixto	Escolarizado	109
0818120	<i>OLIMPICO PERUANO</i>	Primaria	Avenida HIPOLITO UNANUE S/N	Mixto	Escolarizado	73
0933598	<i>SAGRADO CORAZON DE JESUS</i>	Secundaria	Avenida 28 DE JULIO S/N	Mixto	Escolarizado	1129
0928820	<i>SAGRADO CORAZON DE JESUS</i>	Primaria	Avenida 28 DE JULIO S/N	Mixto	Escolarizado	1158
0236174	<i>URIEL GARCIA</i>	Secundaria	Avenida JORGE CHAVEZ S/N	Mixto	Escolarizado	1510
0497651	<i>URIEL GARCIA</i>	Primaria	Avenida JORGE CHAVEZ S/N	Mixto	Escolarizado	967

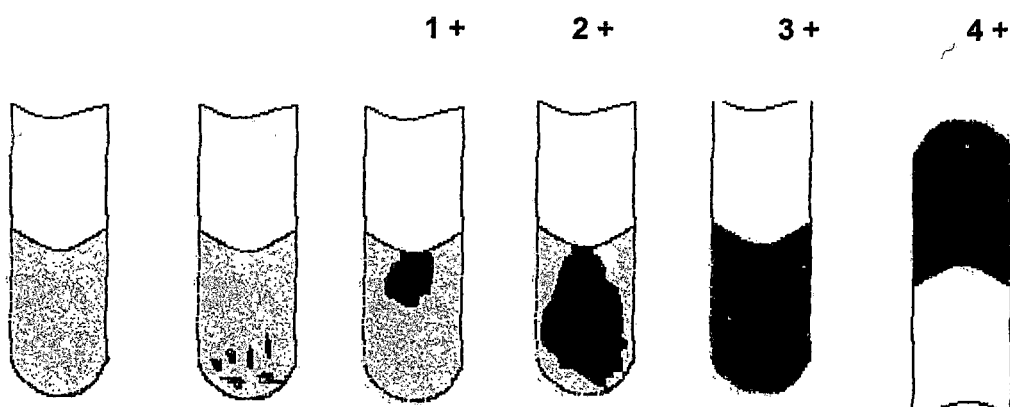
Fuente: http://escale.minedu.gob.pe/escale/consulta/buscar/listar_centros.do?metodo=listar

ANEXO N° 5

Esquema orientativo para apuntar las reacciones en la prueba de la coagulasa

Negativas

Positivas

**Negativa**

no posee evidencia de la formación de fibrina.

1 + positiva

aparecen coágulos muy pequeños desorganizados.

2 + positiva

aparece un coágulo pequeño organizado.

3 + positiva

aparece un gran coágulo organizado.

4 + positiva

aparece coagulado todo el contenido M tubo; el coagulo se mantiene aun cuando se invierte el tubo.

Fuente: Microorganismos de los alimentos 1, ICMSF, 2000

Hay que hacer notar que la reacción 1 + no se considera como evidencia positiva de la producción de coagulasa. La reacción 2 + se caracteriza por que el coagulo se eleva por encima del nivel de líquido cuando el tubo se inclina casi horizontalmente. Hay que tener cuidado a la hora de diferenciar entre un coágulo verdadero y una formación similar a un saco (seudocoágulo). La diferenciación puede basarse en que los seudocoágulos se deshacen al agitar el tubo suavemente. Las cepas que dan lugar a reacciones 2 + carecen, con mucha frecuencia, de la capacidad de producir nucleasa termoestable. Teniendo en cuenta que una de las propiedades de *Staphylococcus aureus* es la producción de endonucleasa termoestable es recomendable a realización de esta prueba. (ICMSF: 2000)

ANEXO N° 6

Métodos de enriquecimiento previo para *Salmonellas*

Producto	Caldo de pre enriquecimiento
Huevos completos desecados, yemas de huevo desecadas, claras de huevo desecadas, huevos líquidos pasteurizados y congelados, mezclas preparadas en polvo, galletas, fórmulas para niños, huevos crudos, carnes crudas, pasta conteniendo huevo, tintes y sustancias colorantes.	Caldo lactosa o agua de peptona tamponada.
Levadura desecada (inactiva)	Agua destilada
Leche en polvo descremada y leche en polvo entera.	Agua destilada con 2 mL de solución al 1% de verde brillante por litro
Caramelos y bombones.	Leche en polvo reconstituida con verde brillante.
Subproductos grasos animales fundidos, coco.	Caldo lactosa con 1% de Tergitol o agua peptonada tamponada con 0,22% de Tergitol.

FUENTE: Microorganismos de los alimentos 11CMSF, 2000

Nota: Si la muestra no es soluble en el medio de enriquecimiento o si no se produce su rápida dispersión mézclase la muestra con volumen apropiado del medio y añádase la muestra mezclada al volumen total del medio de enriquecimiento. (ICMSF: 2000)

ANEXO N° 7**NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO****(RM N° 615-2003 SA/DM)****CAPÍTULO I****GENERALIDADES****Artículo 1°.- Finalidad**

La presente norma se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano.

Artículo 2°.- Objetivo

Establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

Artículo 3°.- Ámbito de aplicación

La presente Norma Sanitaria es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de:

- 1) La obtención del Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas.
- 2) La obtención del Certificado Sanitario Oficial de Exportación.
- 3) La vigilancia y control sanitario que realiza la Autoridad Sanitaria.
- 4) La verificación o comprobación de la eficacia del Plan HACCP.
- 5) Control analítico de cada lote de producto antes de ser liberado para su comercialización, para el caso de las fábricas que aún no implementan el Sistema HACCP.
- 6) Aclarar dirimencias, inmovilizaciones, denuncias, operativos

Artículo 4°.- Base legal y técnica

La presente norma sanitaria se establece en el marco del Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007.98 SA y en concordancia técnico normativa con los Principios para el establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los Alimentos del Codex Alimentarius (CAC/GL-21(1997) y con la clasificación y planes de muestreo de la International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF)

CAPITULO II**DISPOSICIONES GENERALES****Artículo 5°.- Conformación de los criterios microbiológicos**

Los criterios microbiológicos están conformados por:

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

Artículo 6°.- Aptitud microbiológica para el consumo humano

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

Artículo 7.- Planes de muestreo

El plan de muestreo sólo se aplica a lote o lotes de alimentos y bebidas. Se sustenta en el riesgo para la salud y las condiciones normales de manipulación y consumo del alimento, y establece:

- a) Categoría de riesgo: Escala relativa al riesgo que representa un alimento y a la manipulación posterior prevista.
- b) Componentes del plan de muestreo

- "n" (minúscula): Número de unidades de muestra requeridas para realizar el análisis, que se eligen separada e independientemente, de acuerdo a normas nacionales o internacionales referidas a alimentos y bebidas apropiadas para fines microbiológicos.
- "c": Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o unidades de muestra provisionalmente aceptables en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a "c" se rechaza el lote.
- "m" (minúscula): Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable.

En general, un valor igual o menor a "m", representa un producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes rechazables en un plan de muestreo de 2 clases.

- "M" (mayúscula): Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

c) Tipos de plan de muestreo para lote o lotes:

- **Plan de 2 clases:** Es un plan de muestreo por atributos, donde puede establecerse únicamente la condición de "aceptable" o "rechazable". Un plan de 2 clases queda definido por "n" y "c";

Para microorganismos patógenos:

Condición de "aceptable" = ausencia

Condición de "rechazable" = presencia

Para otros microorganismos

Condición de "aceptable" = menor o igual al nivel crítico establecido, "c"

Condición de "rechazable" = mayor al nivel crítico establecido, "c"

- **Plan de 3 clases:** Es un plan de muestreo por atributos que queda definido por "n", "c", "m", "M"; donde se establece:

Condición de "aceptable":

Cuando todas las unidades de muestra presentan recuentos igual o inferiores a "m".

Cuando hasta "c" unidades de muestra pueden tener recuentos entre "m" y "M" (incluido "M").

Condición de "rechazo":

Cuando más de "c" unidades de muestra presentan recuentos entre "m" y "M" (incluido "M").

Cuando al menos 1 de las unidades de muestra presentan recuentos superiores a "M".

PLANES DE MUESTREO PARA COMBINACIONES DE DIFERENTE GRADO DE RIESGO PARA LA SALUD Y DIVERSAS CONDICIONES DE MANIPULACIÓN

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

Fuente: RM N° 615-2003 SA/DM

Artículo 8°.- Número de unidades de muestra para Registro Sanitario de alimentos y bebidas

El número de unidades de muestra de alimentos y bebidas (n) para la inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario podrá ser igual a uno (n=1) y deberá ser calificada con los límites más exigentes (m) indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida.

Artículo 9°.- Número de unidades de muestra para la verificación del Plan HACCP

Para la verificación del Plan HACCP, el número de unidades de muestra de los planes de muestreo podrá ser igual a uno (n=1) y deberá ser calificada con los límites más exigentes (m) indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida. Esto procederá, si las personas natural y jurídica que operan o intervienen en cualquier proceso de fabricación, elaboración e industrialización de alimentos y bebidas demuestran mediante documentación histórica con un mínimo de 3 años, que cuentan con procedimientos eficaces basados en los principios del sistema HACCP.

Artículo 10°.- Número de unidades de muestra para la vigilancia sanitaria de alimentos preparados

Para el caso de la vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas preparados provenientes de establecimientos de comercialización, preparación y expendio, se tomará al menos una muestra por cada tipo de alimento y deberán ser calificadas con los límites más exigentes (m), indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida.

CAPITULO III**DE LOS MICROORGANISMOS Y METODOS DE ANALISIS****Artículo 11°.- Grupos de microorganismos**

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

1. - Microorganismos indicadores de alteración: las categorías 1, 2, 3 definen los microorganismos asociados con la vida útil y alteración del producto tales como

microorganismos aerobios mesófilos, aerobios mesófilos esporulados, Mohos y Levaduras, *Lactobacillus*, microorganismos lipolíticos.

2. - Microorganismos indicadores de higiene: en las categorías 4, 5, y 6 se encuentran los microorganismos no patógenos que suelen estar asociados a ellos, como Coliformes (que para efectos de la presente norma sanitaria se refiere a Coliformes Totales), *Enterobacteriaceas*, a excepción de este último en el caso de "Preparaciones en polvo para Lactantes.

3. - Microorganismos patógenos: son los que se hallan en las categorías 7 a la 15. Las categorías 7, 8 y 9 corresponde a microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, cuya cantidad en los alimentos condiciona su peligrosidad para causar enfermedades alimentarias. A partir de la categoría 10 corresponde a microorganismos patógenos, tales como *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli H7 O15*, entre otros patógenos, cuya sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud.

Artículo 12°.- Métodos de análisis

Los métodos de análisis a utilizar deben ser métodos validados y reconocidos por organismos internacionales. La modificación de estos métodos o el uso de métodos propios deberán ser validados para poder ser utilizados.

Artículo 13°.- Reportes de ensayo

Los Informes de Ensayo, Certificados de Análisis y otras formas de reporte emitidos por los laboratorios, deberán indicar el método de análisis empleado y la expresión de resultados acorde con el método debe expresarse en: UFC/g, UFC/mL, NMP/g, NMP/mL o Ausencia/25 g. ó mL.

CAPITULO IV**DE LOS GRUPOS DE ALIMENTOS Y CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS****Artículo 14º. - Grupos de alimentos**

Para los efectos de la presente disposición sanitaria, se establecen 19 grupos de alimentos y bebidas según su origen, tecnología aplicada en su procesamiento o elaboración y grupo consumidor; siendo estos:

1. Leche y productos lácteos
2. Helados y mezclas para helados
3. Productos grasos
4. Productos deshidratados, liofilizados o concentrados y mezclas
5. Granos de Cereales, leguminosas y derivados
6. Azúcares, mieles y productos similares
7. Productos de confitería y derivados del cacao
8. Productos de panadería, pastelería, galletería y otros
9. Alimentos para Regímenes especiales.
10. Carnes y productos cárnicos
11. Productos hidrobiológicos
12. Huevos y ovoproductos
13. Especies, condimentos y salsas
14. Frutas, hortalizas y frutos secos.
15. Comidas preparadas
16. Bebidas
17. Estimulantes y fruitivos
18. Semiconservas
19. Conservas.

Artículo 15°.- Criterios microbiológicos

Los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados aptos para el consumo humano:

Comidas preparadas

Comidas preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesa, salsa de papa, huancaina, cocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con o sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sandwiches, cebiche, postres, refrescos, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	N	c	Límite por g. ó ml	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁶
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	2	Ausencia/25 g	—

Comidas preparadas con tratamiento térmico (ensaladas cocidas, guisos, arroces, postres cocidos, arroz con leche, mazamorra, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	N	c	Límite por g. ó ml	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3	5	1	10	10 ²
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	< 3	—
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	—

ANEXO N°8**RESOLUCION MINISTERIAL N° 461-2007/MINSA****GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS****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.

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 expenden 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 superior 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.

MÉTODO DE MUESTREO	SUPERFICIES A MUESTREAR
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 referentemente 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.
- Plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 100 cm² (10cm x 10cm) o alternativamente, plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 25 cm² (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 (10cm x 10cm) 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 5cm x 5cm, repetir esta operación 3 veces más, en lugares diferentes de la misma superficie, para obtener 100 cm².
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 5cm x 5 cm.
- Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm² (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.
- 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).

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.
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes.

c) Procedimiento:**Para manos**

1. Vaciar el diluyente del frasco (100 mL) en una bolsa plástica de primer uso.
2. Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.
3. 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.
4. 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.

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: International 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: International 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 cm²).

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 / cm²:
- 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

SUPERFICIES INERTES				
METODO HISOPO	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 0,1 ufc / cm ²	< 0,1 ufc / cm ²	< 10 ufc / superficie muestreada	< 10 ufc / superficie muestreada
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	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 cm².

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

SUPERFICIES INERTES				
METODO ENJUAGUE	Vivas		Pequeñas o Internas	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite 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	Ausencia / manos	Ausencia / manos	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

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

(**) Para 4 utensilios.

ANEXO N° 9

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

1. Agua de Peptona

Fórmula (por litro)

Peptona..... 10 g

Sodio Cloruro 5 g

pH final: 7,2 ±0,2

Preparación

Suspender 15 g en 1 l de agua destilada; agitar hasta disolución total. Distribuir y esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

2. Agua de Peptona Tamponada

Fórmula (por litro)

Peptona..... 10,0 g

Potasio di-Hidrógeno Fosfato 1,5 g

Sodio Cloruro 5,0 g

di-Sodio Hidrógeno Fosfato..... 9,0 g

pH final: 7,0 ±0,2

Preparación

Disolver 25,5 g en 1 l de agua destilada. Distribuir y esterilizar a 121°C durante 5 minutos

3. Baird-Parker, Base de Agar

Fórmula (por litro)

Extracto de Carne 5,0 g

Extracto de Levadura 1,0 g

Glicina 12,0 g

Litio Cloruro 5,0 g

Peptona de Caseína 10,0 g

Sodio Piruvato 10,0 g

Agar..... 17,0 g

pH final: 6,8 ±0,2

Preparación

Suspender 60 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar hasta 45°C y añadir 50 ml de Emulsión de Yema de Huevo-Telurito y, si se desea 50 mg/l de Sulfametacina. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

4. Bilis-Rojo Neutro-Violeta Cristal con Lactosa (VRBL), Agar

Fórmula (por litro)

Mezcla de Sales Biliares 1,5 g

Violeta Cristal..... 0,002 g

Rojo Neutro 0,03 g

Lactosa 10,0 g

Extracto de Levadura 3,0 g

Peptona de Gelatina 7,0 g

Sodio Cloruro 5,0 g

Agar..... 15,0 g

pH final: 7,4 ±0,2

Preparación

Suspender 41,5 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Se puede esterilizar con cuidado (30 minutos vapor fluyente, por ejemplo). NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE.

5. EC, Medio**Fórmula (por litro)**

Bilis de Buey desecada	8,0 g
Potasio Tetrionato	20,0 g
Verde Brillante.....	0,07 g
Calcio Carbonato.....	20,0 g
Peptona de Carne	8,6 g
Sodio Cloruro	6,4 g
pH final: 7,0 ±0,2	

Preparación

Disolver 63 g en 1 l de agua destilada. Calentar (máximo 50°C) y agitar hasta disolución total. Distribuir en tubos estériles repartiendo el precipitado de calcio carbonato. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE. Los mejores enriquecimientos se consiguen después de dejar el Caldo preparado en reposo 2 ó 3 días a temperatura ambiente.

6. Citrato de Simmons, Agar**Fórmula (por litro)**

tri-Sodio Citrato	2,0 g
Amonio di-Hidrógeno Fosfato	1,0 g
Azul de Bromotimol	0,08 g
Magnesio Sulfato	0,2 g
di-Potasio Hidrógeno Fosfato	1,0 g
Sodio Cloruro	5,0 g
Agar.....	15,0 g
pH final: 6,9 ±0,2	

Preparación

Suspender 24,2 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. Distribuir y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Si se distribuye en tubos de ensayo dejar enfriar en posición inclinada, dejando un fondo de 2-3 cm y una superficie inclinada de 4-5 cm.

7. EC, Medio**Fórmula (por litro)**

Azul de Anilina 0,1 g

Fórmula (por litro)

Lactosa 5,0 g

Potasio di-Hidrógeno Fosfato 1,5 g

di-Potasio Hidrógeno Fosfato 4,0 g

Sales Biliares nº 3 1,9 g

Sodio Cloruro 5,0 g

Triptosa..... 20,0 g

pH final: 6,9 ±0,2

Preparación

Suspender 37,4 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta disolución total. Distribuir en tubos de ensayo con campana Durham y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Evitar las burbujas de aire en la campana de fermentación antes de inocular los tubos.

8. Hierro y Lisina, Agar**Fórmula (por litro)**

Amonio Hierro(III) Citrato 0,5 g

L-Lisina..... 10,0 g

Extracto de Levadura..... 3,0 g

D(+)-Glucosa 1,0 g

Peptona de Gelatina	5,0 g
Púrpura de Bromocresol.....	0,02 g
Sodio Tiosulfato.....	0,04 g
Agar.....	13,5 g

pH final: 6,7 \pm 0,2

Preparación

Suspender 33 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y disolución total y hervir durante 1 minuto. Distribuir en tubos de ensayo y esterilizar a 121°C durante 12 minutos. Dejar solidificar los tubos en posición inclinada.

9. Hierro y Triple Azúcar, Agar

Fórmula (por litro)

Amonio Hierro(III) Sulfato	0,2 g
D(+)-Glucosa	1,0 g
Lactosa	10,0 g
Sacarosa	10,0 g
Peptona.....	20,0 g
Rojo de Fenol	0,025 g
Sodio Cloruro	5,0 g
Sodio Tiosulfato.....	0,2 g
Agar	13,0 g

pH final: 7,3 \pm 0,2

Preparación

Suspender 59,4 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y disolución total, y hervir durante 1 minuto. Distribuir en tubos de ensayo (1/3 del volumen del tubo) y esterilizar a 118°C durante 15 minutos. Dejar endurecer el medio en posición inclinada.

10. Lauril Triptosa, Caldo**Fórmula (por litro)**

Sodio Laurilsulfato	0,10 g
Triptosa.....	20,0 g
Lactosa.....	5,0 g
Potasio di-Hidrógeno Fosfato	2,75 g
di-Potasio Hidrógeno Fosfato	2,75 g
Sodio Cloruro	5,0 g

pH final: 6,8 ±0,2

Preparación

Suspender 35,6 g en 1 l de agua destilada y agitar hasta disolución total. Distribuir en tubos de ensayo con campana Durham y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Cuando el medio se almacena en el frigorífico puede enturbiarse, pero se aclara notablemente en la incubación. La transparencia no es fundamental y sólo la formación de gas es crítica.

11. Salmonella y Shigella, Agar**Fórmula (por litro)**

Extracto de Carne	5,0 g
Hierro(III) Citrato.....	1,0 g
Lactosa	10,0 g
Peptona.....	5,0 g
Sales Biliares	8,5 g
R rojo Neutro.....	0,025 g
tri-Sodio Citrato	8,5 g
Sodio Tiosulfato.....	8,5 g
Verde Brillante	0,330 mg
Agar	13,5 g

pH final: 7,0 ±0,2

Preparación

Suspender 60 g en 1 l de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y hervir durante 1 minuto. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE. Dejar enfriar hasta 45-50°C y distribuir en placas de Petri estériles, empleando 20 mL por placa. Dejar solidificar el medio.

12. Selenito, Base de Caldo

Fórmula (por litro)

Sodio Selenito	4,00 g
Lactosa.....	4,00 g
Mezcla de Peptonas	5,00 g
tri-Sodio Fosfato	10,00 g
pH final: 7,0 ±0,2	

Preparación

Suspender 23 g en 1 l de agua destilada; mezclar bien y calentar ligeramente hasta disolución total. No sobrecalentar. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE. Si se ha de conservar largo tiempo esterilizar por filtración, no siendo necesaria su esterilización si se usa de inmediato. Un caldo distribuido en tubos y esterilizado puede conservarse en nevera durante meses. El caldo preparado es claro y anaranjado. Tras un largo almacenaje del medio deshidratado, el caldo preparado puede ser más rojo. Ello puede alterar la eficacia del medio.