

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**TESIS**

**EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA DE CARNE MOLIDA EXPENDIDA  
EN CUATRO MERCADOS DEL CUSCO**

**PRESENTADO POR:**

- Br. ANGEL ALAIN ARCE MELENDEZ
- Br. RIZAL CRISTHIAN CONDE CCALLUCHI

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO**

**ASESORA:**

**Dr. HELDY YIYI ESPINOZA CARRASCO**

**CUSCO - PERÚ**

**2024**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: Evaluación Bacteriológica de carne molida expandida en cuatro mercados del Cusco

presentado por: Ángel Alcán Arce Meléndez con DNI Nro.: 70148229..... presentado por: Rosal Castroam Conde Culluchi con DNI Nro.: 76210451..... para optar el título profesional/grado académico de Biólogo

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 7%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	<input type="checkbox"/>
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 18 de Octubre de 2024

Hedy V. Espinoza Carrasco

Firma

Post firma Hedy V. Espinoza Carrasco

Nro. de DNI 23.826.797

ORCID del Asesor 0000-0002-4016-8815

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.

2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** <https://unsaac.turnitin.com/viewer/submissions/oid:27259:394256368?locale=es-MX>

NOMBRE DEL TRABAJO

**EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA DE CARNE MOLIDA EXPENDIDA EN CUATRO MERCADOS DEL CUSCO**

AUTOR

**Angel Arce, Rizal Conde**

RECUENTO DE PALABRAS

**28861 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**165465 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**149 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**9.2MB**

FECHA DE ENTREGA

**Oct 18, 2024 10:08 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Oct 18, 2024 10:14 AM GMT-5**

### ● 7% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 6% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 5% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)

## **DEDICATORIA**

*Dedico este presente trabajo de investigación a toda mi familia. Especialmente, a mis padres Estanislao Conde Ayma y Veronica Ccalluchi Quispe quienes me apoyaron, cuidaron, alentaron y estuvieron presente en los buenos y malos momentos enseñándome a no rendirme y ser perseverante, todo esto con mucho amor y cariño sin pedirme nada a cambio También quiero dedicarle esta investigación a mi hermano Gonza Melbyn Conde Ccalluchi, por acompañarme en este camino, alentándome y apoyándome desde el principio hasta el fin de esta investigación.*

**Atte.: Rizal Cristhian Conde Ccalluchi**

## **DEDICATORIA**

*Dedico este trabajo a todas aquellas personas que me acompañaron en esta travesía brindándome su apoyo, amistad y compañía. Especialmente a mi madre, mi padre y mi hermana, cuyo esfuerzo, cariño y aliento ayudaron a alcanzar tan anhelado objetivo.*

**Atte.: Ángel Alain Arce Meléndez**

## **AGRADECIMIENTOS**

*Agradecemos a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco en cuyas aulas y ambientes obtuvimos múltiples saberes y conocimos a personas maravillosas.*

*A nuestra tutora, la Dra. Hedy Y. Espinoza Carrasco, por su guía, consejo, amistad y sobre todo su gran paciencia, cuya luz ayudó a encontrar el sendero hacia nuestros objetivos.*

*A la profesora Olga Cjuno Huanca y al biólogo Víctor Andrés Tapia Puma por habernos brindado las cepas que tanto necesitamos.*

*A nuestras familias por todo el apoyo brindado en este camino que no fue fácil y que nunca nos abandonaron.*

*A nuestros amigos Isaías, André y Victor Andrés por su amistad y apoyo durante todos estos años.*

*A nuestro colega José, fiel amigo, que brindó una mano en tiempos de necesidad.*

## **CONTENIDO**

RESUMEN .....	I
INTRODUCCIÓN .....	II
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	IV
JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	VI
OBJETIVOS .....	VII
HIPÓTESIS.....	VIII
VARIABLES .....	IX
1. CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	
1.1. ANTECEDENTES.....	1
1.1.1. Internacionales .....	1
1.1.2. Nacionales.....	2
1.2. CARNE .....	3
1.2.1. Composición química de la carne .....	4
1.2.2. Propiedades nutricionales de la carne .....	5
1.2.3. Carne molida.....	6
1.2.4. Factores intrínsecos en la alteración y contaminación de la carne .....	7
1.2.5. Factores extrínsecos en la contaminación y alteración de la carne.....	10
1.2.6. Métodos de conservación de la carne .....	12
1.3. CONTAMINACIÓN MICROBIANA DE LA CARNE.....	13
1.4. ENFERMEDADES MICROBIANAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS .....	15

1.5.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS .....	16
1.6.	AGENTES BACTERIANOS INDICADORES DE CALIDAD DE LA CARNE MOLIDA.....	18
1.6.1.	Aerobios mesófilos .....	18
1.6.2.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
1.6.3.	<i>Escherichia coli</i> .....	23
1.6.4.	<i>Salmonella</i> .....	34
2.	CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1.	UBICACIÓN DEL ÁREA DE PROCEDENCIA DE LA MUESTRA.....	44
2.1.1.	Mercado Casccaparo.....	45
2.1.2.	Mercado modelo de Ttio.....	46
2.1.3.	Mercado de Wanchaq .....	47
2.1.4.	Mercado Rosaspata .....	47
2.2.	ÁREA DE PROCESAMIENTO .....	48
2.3.	MATERIALES.....	49
2.3.1.	Material biológico.....	49
2.3.2.	Equipos .....	49
2.3.3.	Medios de cultivo y reactivos .....	49
2.3.4.	Materiales de vidrio .....	50
2.3.5.	Otros Materiales.....	50

2.4. METODOLOGÍA .....	51
2.4.1. Tipo de Investigación.....	51
2.4.2. Línea de investigación .....	52
2.4.3. Obtención de muestras .....	52
2.4.4. Preparación de las diluciones sucesivas.....	52
2.4.5. Método: AOAC 2015.13. Sistema Neogen® Petrifilm® Recuento de Aerobios.....	54
2.4.6. Método: AOAC 2018.13. Sistema Neogen® Petrifilm® EC .....	55
2.4.7. Método: AOAC 2003.11. Sistema Neogen® Petrifilm® <i>Staph Express</i> .....	56
2.4.8. Método: AOAC 2014.01. Sistema Neogen® Petrifilm® <i>Salmonella Express</i> .....	57
2.4.9. NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA-V 01.....	59
2.4.10. Tratamiento estadístico .....	60
3. CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1. Resultados de la cuantificación de aerobios mesófilos por Petrifilm® en las muestras de carne molida.....	61
3.2. Resultados de la cuantificación de <i>Escherichia coli</i> por Petrifilm® en las muestras de carne molida.....	64
3.3. Resultados de la cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> por Petrifilm® en las muestras de carne molida.....	68
3.4. Resultados de la determinación de la presencia de <i>Salmonella sp.</i> por Petrifilm® en las muestras de carne molida.....	71

3.5. Comparación de los resultados de la primera y segunda toma de muestra de la carne molida .....	73
3.6. Comparación de los resultados de la cuantificación de aerobios mesófilos, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> Y determinación de la presencia de <i>Salmonella</i> sp. en carne molida con la NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA-V 01 .....	75
CONCLUSIONES .....	83
SUGERENCIAS .....	85
BIBLIOGRAFÍA .....	86
ANEXOS .....	100

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de las variables de la investigación.....	IX
Tabla 2: Composición química de la carne de res .....	5
Tabla 3: Actividad del agua, contenido de agua y posibilidades resultantes para el control de la alteración microbiana de algunos alimentos .....	8
Tabla 4: Potenciales redox de la carne y productos cárnicos.....	9
Tabla 5: Toxinas y sus efectos biológicos de <i>S. aureus</i> .....	21
Tabla 6: Principales características relacionadas a las islas de patogenicidad .....	42
Tabla 7: Clasificación y número total de puestos de expendio de carne molida disponibles tanto en la mañana como en la tarde por mercado .....	52
Tabla 8: Interpretación para <i>E. coli</i> .....	56
Tabla 9: Interpretación de especies presuntivas de <i>Salmonella</i> sp. ....	59
Tabla 10: Criterios microbiológicos para las carnes crudas picadas y molidas.....	60
Tabla 11: Cuantificación mediante Petrifilm® de aerobios mesófilos en muestras de carne molida de los mercados del Cusco.....	61
Tabla 12: Cuantificación mediante Petrifilm® de <i>Escherichia coli</i> en muestras de carne molida de los mercados del Cusco.....	64
Tabla 13: Cuantificación mediante Petrifilm® de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de carne molida de los mercados del Cusco.....	68
Tabla 14: Determinación de la presencia de <i>Salmonella</i> sp. mediante Petrifilm® en muestras de carne molida de los mercados del Cusco .....	71
Tabla 15: Prueba de Wilcoxon aplicada a los resultados de aerobios mesófilos, <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> obtenidos en muestras de carne molida de los mercados del Cusco.....	73

Tabla 16: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella</i> sp. en muestras de carne molida del mercado Ccascaparo con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01 .....	76
Tabla 17: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella</i> sp. en muestras de carne molida del mercado modelo de Ttio con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01 .....	77
Tabla 18: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella</i> sp. en muestras de carne molida del mercado de Wanchaq con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01 .....	78
Tabla 19: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella</i> sp. en muestras de carne molida del mercado Rosaspata con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01 .....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Proceso de infección y patogénesis de EPEC .....	26
Figura 2: Proceso de infección y patogénesis de EHEC .....	28
Figura 3: Proceso de infección y patogénesis de EAEC .....	29
Figura 4: Proceso de infección y patogénesis de ETEC .....	31
Figura 5: Proceso de infección y patogénesis de EIEC .....	32
Figura 6: Proceso de infección y patogénesis de DAEC .....	33
Figura 7: Adherencia de <i>Salmonella</i> a la mucosa intestinal .....	36
Figura 8: Invasión de <i>Salmonella</i> a los enterocitos .....	37
Figura 9: Inicio del proceso diarreico y diseminación de <i>Salmonella</i> .....	38
Figura 10: Mercados en el mapa del casco urbano de la ciudad del Cusco .....	44
Figura 11: Croquis del mercado Casccaparo .....	45
Figura 12: Croquis del mercado modelo de Ttio .....	46
Figura 13: Croquis del mercado de Wanchaq .....	47
Figura 14: Croquis del mercado Rosaspata .....	48
Figura 15: Flujograma del protocolo del trabajo de investigación .....	51
Figura 16: Flujograma del procesamiento de las muestras de carne molida .....	53
Figura 17: Flujograma del procedimiento de inoculación, incubación e interpretación de las placas Petrifilm® .....	54
Figura 18: Colonias de aerobios mesófilos en Placas Petrifilm® .....	55
Figura 19: Ejemplos de patrones de burbujas asociadas a colonias .....	56
Figura 20: Colonias de <i>S. aureus</i> en Placas Petrifilm® <i>Staph Express</i> .....	57
Figura 21: Flujograma de la determinación de presencia para <i>Salmonella sp.</i> .....	58

Figura 22: Medias aritméticas para la cuantificación de aerobios mesófilos en muestras de carne de los mercados del Cusco (mañana y tarde).....	62
Figura 23: Medias aritméticas para la cuantificación de <i>Escherichia coli</i> en muestras de carne molida de los mercados del Cusco (mañana y tarde).....	65
Figura 24: Gráfico de barras de medias aritméticas para cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de carne molida de los mercados del Cusco (mañana y tarde) .....	69

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Preparación del material para el procesamiento de las muestras .....	100
Anexo 2: Caja térmica para el transporte de la muestra .....	101
Anexo 3: Esquema de diluciones sucesivas.....	102
Anexo 4: Placa Neogen® Petrifilm® <i>Salmonella</i> Express (SALX).....	102
Anexo 5: Placa Neogen Petrifilm® EC con colonias de <i>E. coli</i> .....	103
Anexo 6: Placa Neogen® Petrifilm® Staph Express (STX) con colonias de <i>S. aureus</i> .....	103
Anexo 7: Pesado de la muestra y realización de las diluciones sucesivas.....	104
Anexo 8: Distribución de placas Petrifilm® para cada muestra.....	104
Anexo 9: Distribución de las placas Petrifilm® <i>Salmonella</i> Express para cada muestra .....	105
Anexo 10: Inoculación y preparación de las Placas Petrifilm® .....	105
Anexo 11: Incubación de las Placas Petrifilm® y Caldo de Pre-enriquecimiento .....	106
Anexo 12: Incubación de las Placas Petrifilm® <i>Salmonella</i> Express.....	106
Anexo 13: Muestreo y donación de la muestra sobrante .....	107
Anexo 14: Crecimiento de colonias en las placas Petrifilm® a partir de las muestras.....	108
Anexo 15: Esquema de una Placa Petrifilm® para el recuento de Aerobios mesófilos .....	109
Anexo 16: Esquema de una Placa Petrifilm® para el recuento de <i>E. coli</i> y Coliformes.....	109
Anexo 17: Esquema de una Placa Petrifilm® <i>Staph Express</i> .....	110
Anexo 18: Productos cárnicos expendidos en el mercado Ccascaparo .....	110
Anexo 19: Productos cárnicos expendidos en el mercado Wanchaq.....	111
Anexo 20: Productos cárnicos expendidos en el mercado Rosaspata.....	111
Anexo 21: Productos cárnicos expendidos en el mercado Ttio .....	112

Anexo 22: Prueba de Wilcoxon utilizada para el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos de las muestras de carne molida de los mercados del Cusco .....	112
Anexo 23: Inserto de Neogen® Petrifilm® Recuento de Aerobios Mesófilos.....	113
Anexo 24: Inserto de Neogen® Petrifilm® Recuento de <i>E.coli</i> /Coliformes.....	114
Anexo 25: Inserto de Neogen® Petrifilm® Sistema <i>Staph Express</i> .....	115
Anexo 26: Inserto de Neogen® Petrifilm® Sistema <i>Salmonella Express</i> .....	116
Anexo 27: Ley de la Inocuidad de los Alimentos.....	117
Anexo 28: NTS N°205 MINSA/DIGESA-2023 .....	123
Anexo 29: NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA.....	126

## RESUMEN

La carne de vacuno contiene un 19% de proteínas de excelente calidad además de ser una buena fuente de hierro; sin embargo, su alto contenido en agua y los procesos a los que se somete favorece la contaminación por microorganismos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia bacteriana en carne molida expandida en cuatro mercados de la ciudad del Cusco. Se muestrearon 5 puestos por mercado en la mañana y en la tarde obteniendo 40 muestras en total para realizar los siguientes análisis microbiológicos: cuantificación de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y determinación de *Salmonella* sp., utilizando el método de placa Petrifilm® para posteriormente comparar los resultados entre ambas tomas de muestra (mañana y tarde) mediante la prueba de Wilcoxon, así como con los criterios microbiológicos establecidos en la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01. Los resultados mostraron presencia de aerobios mesófilos con valores de  $68 \times 10^3$  a  $40 \times 10^4$  UFC/g en el mercado Casccaparo,  $62 \times 10^3$  a  $96 \times 10^4$  UFC/g en el mercado modelo de Ttio,  $61 \times 10^4$  a  $23 \times 10^5$  UFC/g en el mercado de Wanchaq y  $29 \times 10^3$  a  $96 \times 10^4$  UFC/g en el mercado Rosaspata; presencia de *E. coli* con valores de 50 a  $43 \times 10^2$  UFC/g en el mercado Casccaparo,  $20 \times 10$  a  $11 \times 10^4$  UFC/g en el mercado modelo de Ttio,  $50$  a  $10 \times 10$  UFC/g en el mercado de Wanchaq y  $10 \times 10$  a  $54 \times 10^2$  UFC/g en el mercado Rosaspata; presencia de *S. aureus* con valores de  $34 \times 10^2$  a  $21 \times 10^4$  UFC/g en el mercado Casccaparo,  $30 \times 10^2$  a  $61 \times 10^3$  UFC/g en el mercado modelo de Ttio,  $31 \times 10^3$  a  $40 \times 10^4$  UFC/g en el mercado de Wanchaq y  $40 \times 10$  a  $14 \times 10^4$  UFC/g en el mercado Rosaspata; se determinó ausencia de *Salmonella* sp. en todas las muestras. La prueba de Wilcoxon demostró diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de las tomas de muestra de la mañana y de la tarde para aerobios mesófilos en los mercados Ttio, Wanchaq y Rosaspata, mientras que para *S. aureus* sólo en el mercado Rosaspata. De acuerdo a la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01 las muestras de carne molida de los diferentes mercados se encuentran sobrepasando los límites permisibles.

*Palabras clave:* Petrifilm®, carne molida, aerobios mesófilos viables, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp.

## INTRODUCCIÓN

La carne molida de vacuno es un producto cárnico altamente difundido en el mundo gracias a que se puede adquirir en cualquier puesto comercial dedicado a la venta de productos cárnicos, así como a su facilidad para integrarse en diversas recetas de platos típicos de cada región donde se la emplea. Consiste en carne deshuesada y sometida a procesos de molido (Canadian Beef, 2015), que sirve como base de alimentos tales como hamburguesas, chorizos o platos más tradicionales como empanadas, rocotos, papas y pimientos rellenos, salsa de tallarines, etc., sin embargo, es un medio ideal para el crecimiento de microorganismos y puede contaminarse más fácilmente en comparación a piezas enteras debido a que presenta una mayor superficie de contacto y, durante su elaboración, se somete a un alto grado de manipulación haciéndola susceptible a la contaminación cruzada proveniente de los utensilios, maquinaria y/o manipuladores con malas prácticas de higiene y limpieza (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003), algo que puede darse por descuido durante la actividad económica de venta y procesamiento del alimento.

Frente a ello, la Norma Sanitaria (MINSAs, 2008) indica que, para considerarse al alimento apto para el consumo humano, en carne molida y picada se debe realizar el recuento de los siguientes agentes microbianos: aerobios mesófilos, *E. coli*, *S. aureus* y determinación de presencia para *Salmonella* sp. Los aerobios mesófilos viables son un amplio grupo de microorganismos capaces de desarrollarse a temperaturas entre 30°C a 37°C con presencia de oxígeno; recuentos altos indican contaminación, malas prácticas de tratamiento o condiciones inadecuadas durante el almacenamiento, sin embargo, no garantizan la presencia o ausencia de patógenos (Amazará & Quintero, 2022); (SENASA, 2016).

Entre las Enterobacterias tenemos a los bacilos Gram negativos *Escherichia coli* y *Salmonella* sp.; *E. coli* forma parte de la microbiota de animales homeotermos teniendo cepas patógenas que causan diarrea y vómitos en seres humanos contraídas mediante la ingesta de alimentos contaminados (Bergaglio & Bergaglio, 2020); mientras que *Salmonella* sp., tiene como reservorio natural productos avícolas aunque se la puede encontrar en la carne molida de res debido a su alto contenido de nutrientes y ausencia de inhibidores; produce la enfermedad de la Salmonelosis siendo la dosis infecciosa de  $10^6$  UFC aunque esto puede variar dependiendo de los factores de

virulencia del serotipo, respuesta inmune del individuo o tipo de alimento (Alfaro, 2018); (Araujo, 2018); (Herrera & Jabib, 2015).

Por otro lado, tenemos a la bacteria *Staphylococcus aureus*, coco Gram positivo anaerobio facultativo que puede causar intoxicaciones alimentarias debido a su producción de enterotoxinas termoestables las cuales pueden estar presentes incluso tras la cocción cuando los microorganismos ya no son viables; sus reservorios naturales son la piel, la nasofaringe y mucosas tanto de manipuladores de alimentos como de animales (Galli, Brusca, & Pellicer, 2019); (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014).

Actualmente, las placas Petrifilm® pueden reemplazar perfectamente a las técnicas tradicionales de cultivo en placa que requerían el preparado de medios de cultivo; consisten en placas versátiles listas para usarse compuestas por una película cubierta de nutrientes y agentes gelificantes solubles en agua fría que brindan un excelente medio de cultivo para el microorganismo objetivo, incrementando la productividad y eficiencia en los procesos de recuento en placa (Jacó, Costa, Nero, Pereira, & Aguilar, 2015).

En este sentido, se pretende evaluar bacteriológicamente la carne molida expandida en cuatro mercados del Cusco; para ello, se realizó la cuantificación de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y la determinación de presencia o ausencia de *Salmonella* sp., en muestras de carne molida tomadas durante la mañana y la tarde de los mercados Casccaparo, Ttio, Wanchaq y Rosaspata, comparando los resultados entre ambas tomas de muestra, así como con los criterios microbiológicos de la norma sanitaria (MINSAs, 2008).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El expendio de carne molida se realiza en diferentes locales comerciales, siendo uno de los más importantes los mercados debido al bajo costo. Sin embargo, este producto es propenso a la contaminación bacteriana debido a su alto grado de manipulación, convirtiéndolo en un alimento altamente perecedero gracias a su fácil contaminación bacteriana durante su procesamiento, ya que al picar o moler, las barreras naturales de la carne como fascias y vainas musculares se destruyen, liberando el contenido celular e incrementando la superficie de contacto disponible para los microorganismos (Ayala, 2018); (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003). Esto brinda las condiciones ideales para el crecimiento de patógenos que pueden estar presentes representando un peligro para la salud pública. Así mismo, los mercados Casccaparo, Wanchaq, Ttio y Rosaspata son los mercados más cercanos al centro histórico de la ciudad del Cusco, teniendo en sus calles aledañas múltiples restaurantes y hoteles, quienes concentran gran afluencia de personas que adquieren productos en los centros de abasto más cercanos.

Se estima que, a nivel mundial, 600 millones de personas enferman al año debido a la ingesta de alimentos contaminados, de las cuales 420 mil fallecen (Naciones Unidas, 2022). Durante los años 2023 y 2024 se han reportado entre 541 a 547 mil casos de enfermedad diarreica aguda, de los cuales entre un 2,6% a 3,5% ocurrieron en el Cusco (MINSA, 2024). Aproximadamente el 70% de estas enfermedades se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos o sus toxinas (Guerrero, Folleco, Amador, & Montaña, 2016).

Según la ley, los alimentos destinados a consumo humano no deben ser nocivos para la salud ni deben causar daño al consumidor, el cual debe ser protegido de alimentos alterados, contaminados o que hayan sido declarados como no aptos para su consumo (Decreto Legislativo N° 1062, 2008). Para ello, se ha dispuesto la NTS N°205 MINSA/DIGESA-2023 que regula las buenas prácticas de higiene aplicadas al expendio de alimentos en los centros de abasto, así como las medidas de salubridad tanto del personal manipulador de alimentos como de sus instalaciones (MINSA, 2023), y la NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA-V 01 donde se establecen los criterios microbiológicos para la evaluación de la calidad e inocuidad en alimentos y bebidas (MINSA, 2008) de cumplimiento a nivel nacional para salvaguardar la salud pública.

Por tal motivo se plantea la siguiente interrogante: ¿Habr  presencia de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. en la carne molida que es expendida en los cuatro mercados del Cusco?

## JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La carne es uno de los alimentos más perecederos debido a su alto contenido de agua, composición y pH, cuya importancia nutricional radica en sus proteínas de alta calidad que representan un 19% aproximadamente, además de contener aminoácidos esenciales, minerales (como el hierro) y vitaminas de elevada biodisponibilidad que son bien aprovechados por el organismo gracias a que es digerida casi en su totalidad (Ayala, 2018). No obstante, el cambio de color y aparición de olores desagradables debido a procesos bioquímicos son los cambios más evidentes en la carne afectando tanto a su valor nutricional, sabor, textura como al incremento del riesgo de desarrollar alguna enfermedad transmitida por alimentos (ETA) por su ingesta (Ramírez, y otros, 2022).

Así pues, los mercados Casccaparo, Ttio, Wanchaq y Rosaspata son lugares de aprovisionamiento de productos cárnicos gracias al bajo costo y fácil accesibilidad, convirtiéndose en centros abastecedores de múltiples hogares y restaurantes próximos al centro histórico del Cusco. Además, la carne molida es un ingrediente importante en la elaboración de diferentes platillos que son ofrecidos por restaurantes y vendedores ambulantes en las diferentes calles de la ciudad, quienes adquieren los ingredientes en los mercados mencionados.

Dicho esto, si bien existen investigaciones a nivel nacional e internacional sobre la calidad bacteriológica de carne molida expandida en centros de abasto, a la fecha no hay reportes sobre el tema en nuestra región del Cusco. La contaminación de la carne por bacterias patógenas como *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp., es un problema de salud pública debido al riesgo de generarse un brote de ETA, por lo que es necesario conocer la calidad bacteriológica con la que este producto es expandido para que los expendedores cumplan con las normas sanitarias establecidas por el MINSA/DIGESA.

Por consiguiente, en el presente trabajo de investigación se evaluó la presencia de bacterias en la carne molida expandida en cuatro mercados del Cusco para prever la cadena de infección bacteriológica, principalmente en los manipuladores de carne cruda, sea el vendedor o comprador, teniendo conocimiento mediante la técnica de placa Petrifilm® qué patógenos están presentes y anticipar las consecuencias futuras de cada microorganismo hallado que pueda ser un peligro para la salud pública.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar la presencia de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp., en carne molida expendida en cuatro mercados del Cusco.

### Objetivos específicos

1. Cuantificar aerobios mesófilos por Petrifilm® en carne molida expendida en cuatro mercados del Cusco.
2. Cuantificar *Escherichia coli* por Petrifilm® en carne molida expendida en cuatro mercados del Cusco.
3. Cuantificar *Staphylococcus aureus* por Petrifilm® en carne molida expendida en cuatro mercados del Cusco.
4. Determinar la presencia de *Salmonella* sp. por Petrifilm® en carne molida expendida en cuatro mercados del Cusco.
5. Comparar los aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. de las tomas de muestra (mañana y tarde)
6. Determinar si los aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. están dentro de los límites permisibles de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01

## **HIPÓTESIS**

La carne molida expandida en los cuatro mercados del Cusco presentará aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. mostrando diferencia significativa entre los muestreos de la mañana y de la tarde.

## VARIABLES

Las operacionalización de variables se detalla en la Tabla 1:

Tabla 1: Operacionalización de las variables de la investigación

Variable	Tipo	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de medida
Cuantificación de aerobios mesófilos	Cuantitativa	Número de bacterias aerobias mesófilas en la muestra	Número de colonias	UFC/g	Recuento en Placa Petrifilm®
Cuantificación de <i>E. coli</i>	Cuantitativa	Número de células de <i>E. coli</i> presentes en la muestra	Número de colonias	UFC/g	Recuento en Placa Petrifilm®
Cuantificación de <i>S. aureus</i>	Cuantitativa	Número de células de <i>S. aureus</i> presentes en la muestra	Número de colonias	UFC/g	Recuento en Placa Petrifilm®
Presencia de <i>Salmonella</i> sp.	Cualitativa	Presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> sp.	Colonias	Presencia	Recuento en Placa Petrifilm®
Calidad bacteriológica de la carne molida	Cualitativa	Evaluación bacteriológica de la carne molida según la norma sanitaria	Aerobios mesófilos <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>Salmonella</i> sp.	Criterios microbiológicos	NTS N°071-2008 MINSA/ DIGESA -V 01

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

### 1.1. ANTECEDENTES

#### 1.1.1. INTERNACIONALES

**Jara (2016)** realizó el análisis microbiológico mediante la técnica de placa Petrifilm® en carnes molidas expandidas en el mercado popular “La Condamine” en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, Ecuador; encontrando que el recuento de *Escherichia coli* tuvo un valor promedio de  $32 \times 10^4$  UFC/g, *Staphylococcus aureus* un valor de  $47 \times 10^4$  UFC/g y presencia de *Samonella* sp. en el 73,33% del total las muestras, determinándose que los productos incumplían con la norma sanitaria ecuatoriana y pueden ser una fuente de transmisión de ETAs.

**Pérez (2016)** determinó la calidad nutricional de la carne molida expandida en supermercados de la ciudad de Guatemala así como el análisis microbiológico para cuantificar coliformes, coliformes fecales, *E. coli* mediante Placas Petrifilm® e identificar la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. mediante el método de Rapaport Vassiliadis y comparar los resultados con el RTCA 67.04.50:08; teniendo como resultado un recuento de *E. coli* valores superiores a  $20 \times 10^3$  UFC/g y presencia de *Salmonella* sp. en el 16% de sus muestras, por lo que ninguna cumplió con las normas establecidas, careciendo de calidad e inocuidad.

**Saltos et al. (2019)** realizaron un estudio de la carne de res expandida en quioscos y tercenas en la ciudad de Calceta mediante la técnica de Petrifilm®, Ecuador, determinando que, apenas el 16% de las muestras se encontraban dentro de los rangos aceptables de carga microbiana (aerobios mesófilos menor a  $10 \times 10^4$  UFC/g; *Escherichia coli* menor a  $10 \times 10^4$  UFC/g; *Staphylococcus aureus* menor a  $10 \times 10^2$  UFC/g y *Salmonella* ausencia/25g), además de que la contaminación se debía al desconocimiento del personal sobre buenas prácticas de manipulación de alimentos.

**Farias & Moran (2022)** llevaron a cabo una investigación en la cual muestrearon mercados y supermercados de la ciudad de Guayaquil, Ecuador, para determinar el recuento de aerobios mesófilos totales, *E. coli*, *Salmonella* e investigación de *S. aureus* y *Listeria sp.* mediante placas Petrifilm® para comparar los resultados con la NTE INEN 1346:2016; obteniendo como resultado aerobios mesófilos valores de  $13 \times 10^2$  a  $15 \times 10^5$  UFC/g, *E. coli* valores de  $10 \times 10$  a  $40 \times 10^3$  UFC/g y *S. aureus* valores de  $20 \times 10$  a  $35 \times 10^3$  UFC/g, además de la presencia de *Listeria sp.* y *Salmonella sp.*, concluyéndose que, si bien en los supermercados se evidenciaron menores recuentos, todas las muestras incumplieron con la norma sanitaria.

**Mora (2023)** determinó la presencia de *E. coli* y *S. aureus* mediante Placas Petrifilm® en carne molida de res de categoría premium y económica comercializada en nueve carnicerías del Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica, así como la higiene de los locales haciendo uso de listas de chequeo; encontrando que el recuento de *E. coli* tuvo una media de 62 UFC/g en la carne económica y 57 UFC/g en la carne premium, mientras que *S. aureus* tuvo una media de  $40 \times 10$  UFC/g en la carne económica y  $43 \times 10$  en la carne premium, incumpliendo todas las muestras con las normas establecidas.

**Paz (2023)** realizó el análisis microbiológico de carne molida del mercado “San Alfonso” de la ciudad de Riobamba, Ecuador; para ello, analizó a los microorganismos aerobios mesófilos, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella*, teniendo como resultado  $72 \times 10^4$  UFC/g para aerobios mesófilos,  $24 \times 10^3$  UFC/g para *E. coli* con mayor crecimiento en la muestra 1, donde se obtuvo  $20 \times 10^4$  UFC/g a causa de la contaminación de expendedores, y  $37 \times 10^4$  UFC/g para *S. aureus*, así como presencia de *Salmonella spp.* en el 57,14% de las muestras, concluyendo que ninguna muestra cumplió con la norma NTE INEN 1346:2010.

### 1.1.2. NACIONALES

**Palacios (2018)** evaluó la condición higiénico-sanitaria de la carne molida de res expendida en el “Mercado Modelo de Piura”; la cuantificación de los microorganismos se realizó mediante la Técnica del Número más Probable; la identificación de *Escherichia coli* se hizo mediante el método convencional usando el medio selectivo caldo EC y medios

diferenciales; mientras que las condiciones higiénico-sanitarias se evaluaron observando los puestos de venta y llenando un cuestionario; teniendo como resultado que el recuento de *E. coli* fue de  $92 \times 10$  a  $11 \times 10^2$  UFC/g, sobrepasando el límite establecido, además, únicamente el 23% de los puestos de venta cumplieron con las condiciones higiénico-sanitarias regulares.

**Moncayo (2019)** determinó la calidad bacteriológica de la carne molida expendida en los mercados de Iquitos utilizando el método de los tubos múltiples de fermentación expresados en el número más probable (NMP/100ml), recuento estándar para aerobios mesófilos y pruebas bioquímicas, Placas Petrifilm® y Agar MacKonkey para *E. coli* y Coliformes totales, teniendo como resultado que el recuento de aerobios mesófilos en el mercado Modelo fue de  $92 \times 10^6$  UFC/g mientras que en el mercado Central fue de  $85 \times 10^6$  UFC/g, *E. coli* estuvo presente en dos muestras del mercado Modelo y dos del mercado Central, hubo presencia de *Salmonella* sp. en dos muestras del mercado Central mientras que *S. aureus* estuvo ausente en todas las muestras.

## 1.2. CARNE

La carne se trata de tejido muscular de los animales el cual es obtenido luego de sacrificio y retiro de las vísceras pasando por el proceso de transformación del músculo en carne, el cual se divide en tres etapas: la fase *pre-rigor* o fase de supervivencia del sistema nervioso, el *rigor*, en la que los componentes energéticos, como el ATP, fosfocreatina o glucosa, se agotan, y por último la fase de *post-rigor*, en la que se produce una desestructuración de la arquitectura muscular (Ayala, 2018).

El músculo estriado en fase posterior a la rigidez cadavérica (*post-rigor*) debe ser comestible e inocuo, además, es uno de los alimentos más perecederos debido a su alto contenido de agua ( $a_w=0,99$ ), composición y pH, convirtiéndolo en un medio de cultivo ideal para los microorganismos y proclive a contaminación desde el sacrificio del animal hasta la venta final (Cardona, 2019). Si bien químicamente está compuesto por proteínas, ácidos grasos, minerales, aminoácidos, vitaminas y, en menor cantidad, de glúcidos, la importancia nutricional de este producto radica en sus proteínas de alta calidad que a su vez contienen

aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas de elevada biodisponibilidad (Ayala, 2018). Los procesos *post-mortem* degradan las proteínas miofibrilares que se encuentra dentro del tejido conectivo permitiendo mejorar algunas propiedades de la carne como el sabor, logrando así poder satisfacer al consumidor (Rodríguez, 2021).

Aproximadamente, la carne contiene entre un 19% a 21% de proteína de excelente calidad, así como cantidades útiles de riboflavina, niacina y un poco de tiamina; la cantidad de grasa depende del animal, del tipo de corte, el cuidado y la dieta durante el crecimiento, así como los tratamientos de cocción, es rica en ácidos grasos saturados como en colesterol y tiene dos efectos: realzar el sabor y servir de medio de transporte de vitaminas liposolubles (Ayala, 2018). La principal ventaja de una dieta que contenga carne es que brinda un balance apropiado de aminoácidos esenciales además de ser un alimento bien aprovechado por el organismo debido a que es casi completamente digerido (el 97% de sus proteínas y el 96% de sus lípidos) y sus proteínas, a diferencia de aquellas de origen vegetal, son ricas en vitaminas (como la vitamina B6 y B12, casi ausentes en alimentos de origen vegetal) y minerales como el hierro, el cual es bien absorbido (Ayala, 2018). Al despiezar a las reses, gran parte de la protección inicial de la carne se destruye, y al picar o moler desaparecen por completo incrementando enormemente el riesgo de contaminación bacteriana, así como la reducción de su vida útil (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

### **1.2.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE**

La carne contiene aproximadamente un 75% de agua, 19% a 22% de proteínas, 1% a 2% de grasa, 1% de minerales y menos del 1% en glúcidos generalmente en forma de glucógeno; del nitrógeno total del músculo, el 95% se encuentra en las proteínas y un 5% en péptidos, aminoácidos y otros compuestos (Ahmad, Imran, & Hussain, 2018). La mayor parte del contenido proteico de la carne se reparte entre la actina y miosina, responsables de las contracciones musculares, mientras que el resto se encuentra componiendo el colágeno y elastina (Ayala, 2018).

De esta manera, la composición de la carne tiene un gran aporte alimenticio en la dieta; si bien la carne de res tiene similitudes en su composición con la de otros animales, es rica en

agua y proteínas, sin embargo, esto va a depender de cómo es sacrificado el animal, el lugar donde habita, etc., (Tabla 2) para ello, se debe considerar algunos factores que influyen en la composición química de la carne como son la raza, sexo, la edad el estado de salud y tipo de alimentación al cual está sometido (Ahmad, Imran, & Hussain, 2018).

Tabla 2: Composición química de la carne de res

<b>Corte</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Agua (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Ceniza (%)</b>
<b>Espalda</b>	19,4	70	10	1
<b>Falda</b>	16,5	56	27	0,8
<b>Lomo</b>	19,2	69	11	1
<b>Chuletas torácicas</b>	18,8	66	14	1
<b>Piernas</b>	19	70	9	1

*Fuente: (Ahmad, Imran, & Hussain, 2018)*

### 1.2.2. PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LA CARNE

La carne es una fuente importante de nutrientes ya que, además de proteínas, grasas y agua, también podemos encontrar en su composición otras sustancias como minerales, entre los que se encuentran el hierro, zinc y fósforo, siendo el hierro el más indispensable para un buen funcionamiento del cerebro y la sangre, el zinc en la síntesis de proteínas y el fósforo en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas, sustancias nitrogenadas no proteicas, vitaminas (como la B6 y B12), así como glúcidos; además, de entre los aminoácidos esenciales, un 40% se encuentran componiendo las proteínas de la carne, lo que contribuye a la resistencia a enfermedades infecciosas, generación de anticuerpos, enzimas digestivas y hormonas (Ahmad, Imran, & Hussain, 2018). Cien gramos de carne roja aportan 20,7g de proteínas y la misma cantidad de carne blanca aporta un 21,9g de proteínas (Ayala, 2018).

Por otro lado, las grasas que se encuentran en la carne tiene una importancia en la textura, jugosidad y sabor, debiendo encontrarse en cantidades pequeñas porque un exceso de estas podría generar algunos efectos negativos en la salud humana (Ahmad, Imran, & Hussain, 2018) debido a que son ricas en ácidos grasos y colesterol. La ingesta de los ácidos grasos

saturados genera el aumento del colesterol y las lipoproteínas de baja densidad, factores causantes de algunas enfermedades cardiovasculares; entre los ácidos grasos saturados se encuentra el ácido palmítico, esteárico y el mirístico, también se encuentra un ácido graso insaturado beneficioso para la salud, el ácido linoleico, que contribuye en el descenso de la incidencia de enfermedades cardíacas, la arterioesclerosis, cáncer y diabetes (Rodríguez, 2021).

### **1.2.3. CARNE MOLIDA**

Generalmente se le conoce como carne molida a aquella carne fresca y deshuesada sometida a proceso de molido elaborada a partir de las reses siendo un producto muy popular, utilizado como base en la elaboración de productos como hamburguesas, embutidos, acompañamientos, rellenos, etc., pero, a su vez, es mucho más perecedera que la carne fresca debido a que los procesos de molido destruyen las barreras naturales e incrementan la superficie expuesta al aire predisponiéndolas a contaminación por microorganismos (Canadian Beef, 2015).

Una vez se realizan los cortes a la carne se van generando vías de contaminación por microorganismos, generalmente provenientes del tracto intestinal del animal (Ayala, 2018), por lo que, durante la preparación de la carne molida, los cortes en las piezas y su posterior depósito en el molido hacen que este producto tenga un alto grado de manipulación exponiéndose a una contaminación cruzada mediante las manos del manipulador, los utensilios o el lugar en donde se va a almacenar, sobre todo si se tienen malas prácticas de higiene; además, durante el molido se produce la liberación de constituyentes celulares y destrucción de las vainas musculares convirtiéndose en un medio de cultivo ideal para los microorganismos (Canadian Beef, 2015).

## 1.2.4. FACTORES INTRÍNSECOS EN LA ALTERACIÓN Y CONTAMINACIÓN DE LA CARNE

### a) Actividad del agua

Es un factor muy a tomar en cuenta a la hora de observar la colonización y crecimiento de los microorganismos, pues actúa como limitante en el desarrollo de éstos: a niveles superiores de 0,95 la totalidad de microorganismos prosperan, sobre todo las bacterias; mientras que a valores inferiores de 0,95 la mayoría de bacilos Gram negativos dejan de multiplicarse tomando su lugar microorganismos más xerotróficos como lactobacilos o micrococos; a valores inferiores a 0,86 se detiene el crecimiento de la mayoría de microorganismos, salvo unas cuantas bacterias halófilas, levaduras y mohos xerotróficos; en este sentido, un valor de 0,70 proporciona una protección razonable, mas no total, ante la alteración microbiana de los alimentos (Tabla 3) (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

En este sentido, la carne es uno de los alimentos que posee una actividad del agua entre 0,94 a 0,99, por lo que diferentes microorganismos patógenos, como *Salmonella* sp., *E. coli* o *S. aureus* pueden crecer y multiplicarse sin ninguna dificultad debido a que el alimento brinda la disponibilidad de agua suficiente para ello (Bergaglio & Bergaglio, 2020).

Tabla 3: Actividad del agua, contenido de agua y posibilidades resultantes para el control de la alteración microbiana de algunos alimentos

Intervalo de $a_w$	Organismos inhibidos casi totalmente por el valor más bajo del intervalo	Ejemplos de alimentos con el intervalo más bajo
1,00 – 0,95	Bacilos Gram negativos: casi todos los esporobacterianos; algunas levaduras	Embutidos cocidos, pan
0,95 – 0,91	Casi todos los cocos, lactobacilos, <i>Listeria monocytogenes</i> ; células vegetativas de Bacillaceae, algunos mohos	Jamón crudo, pescado ahumado, lonchas de carne de vacuno desecadas al aire
0,91 – 0,87	Levaduras no osmóticas	Salami seco, queso “viejo”

*Fuente: (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003)*

#### b) pH y capacidad tampón

Valores bajos de pH llegan a limitar o inhibir el crecimiento bacteriano, como en el caso de bacterias acidosensibles, como bacilos Gram negativos proteolíticos, permitiendo aplicar tratamientos térmicos menos intensos durante los procesos de enlatado en estos alimentos; valores elevados también resultan inhibidores del crecimiento microbiano, siendo superiores a 9 donde se detiene el crecimiento de la mayoría de bacterias y 10 en donde generalmente los patógenos entéricos cesan en su desarrollo; sin embargo, solamente el pH no va a ser suficiente para limitar o inhibir el crecimiento de los microorganismos ya que todos los factores como son la  $a_w$ , la temperatura o presión de oxígeno están ligados pudiendo compensarse unos a otros y permitir el desarrollo, como es el caso de algunas salmonelas que son capaces de crecer en entornos a un pH de 4,1 pese a su escasa acidotolerancia siempre que las condiciones intrínsecas y extrínsecas se hallen en un nivel óptimo (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

### c) Potencial redox y capacidad de equilibrio

La clasificación de los microorganismos dentro de los grupos de aerobios, microaerobios, anaerobios o facultativos se basa en el potencial redox (Eh) crítico necesario para la multiplicación y metabolismo; el Eh está directamente relacionado con la composición química del alimento y la presión parcial de oxígeno durante el almacenamiento (Tabla 4), además del potencial redox, la capacidad de equilibrio redox también determina la asociación microbiana que se va a desarrollar en el alimento, limitando la presión parcial del oxígeno externa del mismo modo que la capacidad tampón de un alimento lo hace con un cambio en la concentración de ácido (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

Tabla 4: Potenciales redox de la carne y productos cárnicos

Alimento	Acceso al aire	Eh (mv)	pH
Carnes			
- Hígado, crudo o picado	-	-200	7
- Músculo			
Crudo, post rigidez	-	-60 a -150	5,7
Crudo, picado	+	+225	5,9
Crudo, cocido	+	+300	7,5
Embutidos cocidos y carnes enlatadas	-	-200 a -150	6,5

*Fuente: (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003)*

### d) Nutrientes y componentes del alimento

Si bien casi todos los alimentos proporcionan los nutrientes suficientes como para permitir el crecimiento de los microorganismos, la carne es un alimento considerado de muy alto valor nutritivo por lo que perfectamente puede convertirse en un medio apropiado que permite el desarrollo de microorganismos, además, en la carne y la leche se encuentran compuestos de elevado peso molecular como son la lisozima y las inmunoproteínas que resultan ser altamente específicas, es por ello que estos alimentos

se convierten en altamente perecederos porque pueden ser atacados por todos aquellos microorganismos resistentes a éstas (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

Las estructuras biológicas presentes en el alimento tales como cáscaras, membranas, testas de semillas o cutículas vegetales impiden la penetración de microorganismos carentes de adaptaciones especiales que los ayuden; en la carne las estructuras son más complejas: antes del despiece del animal, los músculos se encuentran dentro de sus fascias protectoras mientras que las miofibrillas se encuentran contenidas dentro del sarcolema, las cuales proveen protección no sólo mecánica, pues al poseer una baja  $a_w$  actúan como limitante ante el crecimiento de bacilos Gram negativos psicrotrofos durante la congelación de la carne pues son sensibles a los valores bajos; esta protección perdura hasta que se inicia el proceso de despiece, en donde gran parte de ésta se va perdiendo, desapareciendo por completo durante el picado o molido (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

## **1.2.5. FACTORES EXTRÍNSECOS EN LA CONTAMINACIÓN Y ALTERACIÓN DE LA CARNE**

### **a) Temperatura de almacenamiento**

Durante la refrigeración (de 0°C a 4°C), el crecimiento de muchos microorganismos se ve limitado o ralentizado pues la temperatura influye directamente en su metabolismo, predominando aquellos microorganismos psicrófilos y psicrotrofos, sin embargo, eventualmente un almacenamiento prologado dará como resultado el crecimiento de los agentes alterantes; el efecto retardador del crecimiento a temperaturas de refrigeración se puede potenciar con niveles reducidos de  $a_w$ , pH o presión parcial del oxígeno (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003). Por lo que mantener una adecuada cadena de frío evitará el crecimiento de toda aquella microbiota que no sea psicrótrofa (Soriano, 2018). Así mismo, la congelación (temperaturas inferiores a -10°C) detiene por completo el crecimiento de los microorganismos debido a la baja temperatura y  $a_w$ , sin embargo, las enzimas liberadas por éstos pueden seguir activas en estas condiciones (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

**b) Humedad relativa**

Si los alimentos son almacenados en envases abiertos o que no son completamente impermeables, el agua existente en éstos se equilibrará con la presión de vapor de agua de la atmósfera llegando a un valor similar en lo que a humedad relativa se refiere; este dato es importante ya que alimentos con baja  $a_w$  eventualmente pueden captar el agua de una atmósfera de clima húmedo favoreciendo el crecimiento de mohos (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

**c) Procesado**

La carne y los productos cárnicos pueden contaminarse con microorganismos durante las actividades de faenado del canal, despiece y preparación para la comercialización, los cuales no solamente afectarán a la calidad organoléptica sino también podrían ser patógenos (Soriano, 2018). Estos microorganismos provienen ya sea de la canal del animal, del material y equipo utilizado para el proceso, el personal o el ambiente (Erkmen & Bozoglu, 2016).

**d) Composición de gases del ambiente**

Los gases del ambiente son un factor a tomar en cuenta durante la alteración y contaminación debido a que influyen tanto en los microorganismos como en los compuestos de la carne. Aquellos productos almacenados en condiciones de atmósfera normal pueden desarrollar olores, sabores y formación de limo superficial dando características de putrefacción debido al desarrollo de microorganismos alteradores como *Pseudomonas* spp, sin embargo, esto cambia si el producto se almacena en atmósferas modificadas con o sin presencia de oxígeno; a altas concentraciones de CO<sub>2</sub>, el crecimiento de *Pseudomonas* spp. se inhibe por lo que la vida útil aumenta significativamente (Soriano, 2018).

### 1.2.6. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LA CARNE

Los microorganismos difieren en su respuesta frente a tratamientos de congelación y refrigeración; la mayoría de esporas y células vegetativas no esporuladas (particularmente *Micrococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*) son muy resistentes al frío, sin embargo, la mayoría de microorganismos que no forman esporas son sensibles a la congelación, ya que un rango entre -10°C a -2°C puede dañarlos o matarlos, aunque las bacterias dañadas, una vez la carne se ha descongelado, pueden recuperarse y provocar tanto deterioro como ETA (Erkmen & Bozoglu, 2016).

El tratamiento térmico de la carne, especialmente aquellos en donde ésta alcanza una temperatura interna superior a 71°C, matará a la mayoría de microorganismos con excepción a algunos termoresistentes (*Micrococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Clostridium*), obteniéndose una carga final entre 10 a 10<sup>2</sup> UFC/g aproximadamente, aunque puede volver a contaminarse durante el procesamiento posterior como los cortes, la envoltura, los utensilios, los manipuladores de alimentos, el aire, etc. (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Otro método utilizado de conservación es mediante el empaquetado en atmósferas modificadas. Básicamente, consiste en eliminar el aire por completo para después inyectar uno o varios gases para modificar el ambiente en donde se encuentra la carne, de esta manera, alterar las condiciones para la respiración microbiana ralentizando su crecimiento y evitando la oxidación de compuestos, ocasionando a su vez un incremento significativo en la vida útil; en contraparte, el empaque al vacío no goza de mucha popularidad en cuanto a carne y productos cárnicos se refiere debido a que el producto adquiere una coloración púrpura, oscura y exudado en el empaque, convirtiéndolo en poco atractivo para el consumidor (Reséndris, Ramírez, & Guerrero, 2018).

### 1.3. CONTAMINACIÓN MICROBIANA DE LA CARNE

La carne, como cualquier otro alimento, es propenso a la contaminación microbiana. Ya sea en el ambiente, en las superficies o en el propio alimento, existe una gran variedad de microorganismos que incluyen aquellos presentes en el suelo, el agua o el polvo distribuido por todas partes, así como la maquinaria utilizada para la elaboración de alimentos y utensilios limpiados de manera inadecuada, o de los manipuladores y animales domésticos; a su vez, estos microorganismos se los puede clasificar como endógenos, referido a aquellos que son intrínsecos del alimento, y exógenos, referido a aquellos que se encuentran fuera del alimento, como en la piel, contenido intestinal, el suelo, el agua, el polvo, etc., y que pueden llegar al alimento durante su producción y manipulación (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

La contaminación microbiana de los alimentos ocurre en cualquier etapa de la cadena alimentaria y para poder evitarla se deben aplicar buenas prácticas de manufactura, control de materias primas, mantenimiento de la cadena de frío, o analizar los puntos críticos de control (HACCP) debido a que no puede haber sólo crecimiento de microorganismos, sino también producción de sus toxinas (Tropera, 2022). Por otra parte, el deterioro se produce ya sea por agentes químicos (como reacciones de oxidación y pardeamiento) sino también biológicos (por acciones enzimáticas, el crecimiento de microorganismos, contaminación de parásitos o la invasión de insectos) provocando que los alimentos no puedan ser consumidos generando que una cuarta parte del suministro mundial se pierda (Erkmen & Bozoglu, 2016).

En este sentido, la carne puede ser fácilmente contaminada durante el proceso de faenado debido a que muchos coliformes tienen como reservorio el tracto intestinal de las reses, ovejas, cabras, aves, etc., cuyas actividades con más incidencia son la eliminación de la piel o el derrame de los intestinos de los animales (Bergaglio & Bergaglio, 2020). Los factores que determinan la calidad microbiológica de la carne son las condiciones del animal, la temperatura y propagación bacteriana durante el sacrificio, así como el procesamiento, almacenamiento y distribución, ya que el producto potencialmente comestible va a estar completamente expuesto a los microorganismos (Erkmen & Bozoglu, 2016), los cuales pueden propagarse por contaminación cruzada debido a la adhesión y formación de biofilm bacteriano en las superficie (Bakhtiary, y otros, 2016).

Los cuerpos de los animales contienen diversos microorganismos, predominantemente bacterias, que viven en el tejido tegumentario, tracto gastrointestinal y respiratorio, etc., presentándose enterobacterias en intestinos y materia fecal, siendo las aves especialmente fuente de *Salmonella* sp. (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Además de todo aquello, la carne refrigerada y la carne molida contienen microorganismos provenientes del material y equipo utilizado para su proceso, el personal, el aire y el agua, siendo en su mayoría mesófilos que no crecerán por debajo de los 10°C siendo desplazados gradualmente por microorganismos psicrótrofos (capaces de vivir entre -1°C a 5°C); es importante señalar que la carne molida puede contener una carga bacteriana entre  $10^4$  a  $10^5$  UFC/g (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Por ende, los microorganismos presentes en el alimento, entre ellos la carne, utilizan los nutrientes presentes como medio de supervivencia y su crecimiento como herramienta de transmisión a los huéspedes, sean humanos u otros animales; entre estos microorganismos se encuentran aquellos considerados como beneficiosos, los cuales no causan daño alguno (y pueden utilizarse para el procesamiento de alimentos), aquellos responsables del deterioro, que ocasionan alteraciones en el producto suponiendo una carga económica tanto para los productores como procesadores y propietarios de centros de abasto, y los patógenos, quienes son capaces de provocar enfermedades graves transmitidas por alimentos; estos tipos de microorganismos perjudiciales son un problema grave en países en vías de desarrollo debido a que las instalaciones en donde se producen, almacenan y expenden los alimentos usualmente carecen de condiciones adecuadas de procesamiento y refrigeración (Bhunja, 2018).

La mayoría de los patógenos transmitidos por alimentos son aerobios mesófilos mientras que algunos pocos están dentro del grupo de los psicrófilos, además, su crecimiento generalmente no altera la calidad estética de los alimentos, por lo que guiarse por la sola aparente calidad estética no es buen criterio para descartar la presencia de microorganismos perjudiciales para el consumidor; estos microorganismos colonizan el intestino produciendo

diversos factores de adhesión como fimbrias, adhesinas y matrices extracelulares que les permitan formar biofilm (Bhunia, 2018).

#### 1.4. ENFERMEDADES MICROBIANAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

La principal vía de infección e intoxicación a causa de patógenos transmitidos por alimentos es la oral y el principal sitio de su acción es el tracto gastrointestinal (Bhunia, 2018). En este sentido, las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se producen por consumir alimentos contaminados, ya sea por toxinas microbianas o con bacterias patógenas; esta contaminación generalmente se da durante el proceso de elaboración y manipulación, siendo las manos de los manipuladores la principal vía de contaminación (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). De esta manera, los patógenos más comunes presentes en la carne fresca son *Samonella* sp., *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales pueden causar desde diarreas hasta enfermedades sistémicas (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Estas enfermedades suelen clasificarse en dos: las primeras se refieren a aquellas que se producen por la presencia de patógenos infectivos por ingestión, los cuales desencadenan la enfermedad mediante la colonización y crecimiento en el tracto intestinal u otro órgano, así como la liberación de sus toxinas, denominándose como infecciones alimentarias; y las segundas, que desencadenan la enfermedad debido a la ingesta de las toxinas producto del metabolismo de los microorganismos que estuvieron presentes en el alimento previo a su consumo, denominándose como intoxicaciones alimentarias; un detalle importante es que, para la aparición de intoxicaciones alimentarias, es necesario que exista una importante carga microbiana superior a  $10^5$  UFC/g o ml, mientras que para la aparición de una infección alimentaria la carga microbiana puede ser mucho menor, variando dependiendo del patógeno (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

Generalmente se refiere como dosis infectiva a la cantidad de células viables necesarias para producir una infección y aparición de los síntomas en individuos sanos, clasificándose a su vez como dosis infectiva mínima (DIM), referida al número mínimo de células viables, y dosis infectiva al 50% (DI<sub>50</sub>) referida al número de células suficientes como para tener un 50% de probabilidades para desencadenar una infección (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

La dosis infectiva va a variar según el tipo de organismo, toxina o el alimento ingerido (Bhunia, 2018).

Por otro lado, para que un microorganismo desencadene una enfermedad es necesario que pueda sobrevivir en el alimento y a las barreras iniciales del consumidor, para después encontrar nichos, multiplicarse y finalmente expresar sus factores de virulencia causando daño a las células del huésped (Bhunia, 2018). La capacidad infectiva del patógeno está estrechamente ligada a su virulencia y a las condiciones expuestas antes de encontrarse con el hospedador, lo que le ayudará a sortear las defensas de éste (como la supervivencia al paso por el estómago y el duodeno, capacidad de adherencia a los enterocitos, etc.), por otra parte, el tipo de alimento o la forma como se ingirió el patógeno también influye en la capacidad infectiva de éste, por ejemplo, alimento o agua ingerida durante los intervalos entre comidas disminuyen considerablemente el número de células viables suficientes para producir infección debido a que el alimento pasará más rápidamente del estómago al duodeno, o también si los patógenos están protegidos en los lípidos de los alimentos ayudándoles en la supervivencia al paso por el estómago (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

## **1.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS**

El análisis microbiológico de los alimentos tiene como objetivo principal el detectar y cuantificar los microorganismos presentes en un determinado alimento, valiéndose para ello de normativas reconocidas y validadas para una correcta evaluación de la muestra de ensayo (Tomás, López, & Prado, 2022). Es por eso que el análisis microbiológico de los alimentos se basa predominantemente en técnicas de cultivo para detectar y enumerar los diferentes microorganismos presentes en una muestra y, debido a la multiplicidad y variedad de estos, se cuenta con un gran número de pruebas entre cualitativas y cuantitativas (Da Silva, y otros, 2018).

Entre los diferentes métodos que se encuentran, está el recuento en medio sólido, el cual se basa en la inoculación de microorganismos en agar, los cuales tienen la capacidad de crecer y formar colonias que pueden ser apreciadas a simple vista (Tomás, López, & Prado, 2022). Los recuentos en placa estándar se pueden utilizar tanto para la cuantificación de grandes

grupos microbianos como lo son los aerobios mesófilos, como también géneros y especies particulares tales como *S. aureus*, *Bacillus cereus* o *Clostridium perfringens* (Da Silva, y otros, 2018) mediante el uso de medios de cultivo adecuados para cada microorganismo.

Sin embargo, estas técnicas y metodologías requieren de mucho tiempo disponible e implican una carga excesiva de trabajo por parte del analista, esto debido a que se debe esperar al crecimiento de los microorganismos diana para poder obtener los resultados y/o hacer las subsiguientes pruebas necesarias, tomando desde un día a una semana aproximadamente, por lo que se han ido desarrollando alternativas más rápidas (Jacó, Costa, Nero, Pereira, & Aguilar, 2015), sobre todo en las industrias de los alimentos ya que se necesita optimizar tanto el coste como el tiempo para la toma de decisiones.

Entre las alternativas están las placas Petrifilm®, que son un método rápido para el análisis microbiológico diseñado para la industria de alimentos y bebidas, probado y certificado bajo la Norma ISO 9001 y la AOAC (*Association of Analytical Communities*) (Latimer, 2023), existiendo múltiples estudios donde se evaluaron frente a las técnicas estándar, demostrando que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los métodos de referencia; (Bird, y otros, 2014); (Bird, y otros, 2020); (Flannery, y otros, 2016); (Silbernagel, Jechorek, Carver, Horter, & Lindberg, 2003). Su diseño consta de una película rehidratante cubierta de nutrientes y un agente gelificante en agua fría que proporciona resultados en tres pasos: inoculación, incubación y recuento; contando con una presentación para cada agente microbiano objetivo, ahorrando tanto material como tiempo y espacio, incrementando significativamente la productividad en el laboratorio y reemplazando a los tradicionales cultivos en placa (Jacó, Costa, Nero, Pereira, & Aguilar, 2015).

## 1.6. AGENTES BACTERIANOS INDICADORES DE CALIDAD DE LA CARNE

### MOLIDA

#### 1.6.1. AEROBIOS MESÓFILOS

Los aerobios mesófilos son un grupo de microorganismos capaces de desarrollarse en ambientes con presencia de oxígeno a una temperatura entre 20°C a 45°C siendo el óptimo 32°C y su recuento, bajo ciertas condiciones específicas, ayuda a calcular la microbiota total presente en un alimento; en este sentido, un alto recuento de estos microorganismos no implica necesariamente la presencia de patógenos, como también un recuento bajo tampoco descarta la presencia de éstos o de sus toxinas (Amazará & Quintero, 2022).

Sin embargo, la presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas a temperaturas cercanas a las del cuerpo humano incrementan el riesgo de que microorganismos patógenos se multipliquen, debido a que todas aquellas capaces de causar ETA son mesófilas (SENASA, 2016). De esta manera, entre las bacterias patógenas más importantes dentro de las Gram positivas presentes en la carne está *Staphylococcus aureus* y, dentro de las Gram negativas, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp.

#### 1.6.2. *Staphylococcus aureus*

##### a) Características

El género *Staphylococcus* está conformado por cocos Gram positivos caracterizándose por agruparse de manera semejante a racimo de uvas, además, también resalta su alta capacidad de adaptación, afectando a todas las especies conocidas de mamíferos siendo habitual la transmisión por zoonosis (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). *S. aureus* es una bacteria anaerobia facultativa, catalasa y coagulasa positiva, inmóvil y no esporulada, capaces de crecer en medios con alta concentración de sal (Pasachova, Ramírez, & Muñoz, 2019); (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). Son microorganismos poco exigentes en sus requerimientos nutricionales desarrollándose en diversas condiciones ambientales, pero su rango de temperatura óptima oscila entre 30°C a 37°C

con un pH próximo a 7; son resistentes a desinfectantes, desecación y concentraciones de sal en hasta un 12% (Fernández, García, Pérez, & Blázquez, 2016).

Es un comensal que a menudo se encuentra presente de forma asintomática en partes del cuerpo humano como la piel, glándulas cutáneas, membranas de las mucosas (Lakhundi & Zhang, 2018), ubicándose especialmente en las fosas nasales, por lo que los portadores juegan un papel importante en la transmisión del patógeno (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). Se estima que alrededor del 20% de las personas son portadores nasales persistentes, un 30% son portadores intermitentes, y un 50% no son portadores (Lakhundi & Zhang, 2018). En este sentido, aproximadamente la totalidad de la población humana podría ser portadora del microorganismo en algún momento de su vida (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014).

## **b) Taxonomía**

La clasificación taxonómica es la siguiente:

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884

Fuente: (Bergey *et al.*, 2005)

## **c) Patogenia**

*S. aureus* es uno de los principales agentes causales de infecciones tanto intrahospitalarias como fuera de los nosocomios, pudiendo afectar el torrente sanguíneo, la piel, tejidos blandos, el tracto respiratorio inferior, además, puede causar infecciones relacionadas con la instrumentación médica (Lakhundi & Zhang, 2018) así como septicemia potencialmente mortal y el síndrome de piel escaldada estafilocócica

debido a ser un patógeno altamente versátil (Komodromos, y otros, 2022). Sin embargo, otra característica importante de *S. aureus* es que también es uno de los principales agentes microbianos productores de ETA (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). Los alimentos frecuentemente asociados a estos patógenos incluyen productos lácteos, ensaladas, huevos, carne y derivados, etc., además, estos pueden variar debido a los hábitos de consumo que se tenga en una región a otra (Mekhloufi, y otros, 2021).

La contaminación de alimentos por *S. aureus* o sus toxinas se debe principalmente a su capacidad de ingresar a la cadena alimenticia a través de materia prima contaminada, manipulación inadecuada de los alimentos o una falta de mantenimiento de la cadena de frío (Mekhloufi, y otros, 2021). *S. aureus* desarrolla biofilm persistente tanto en superficies bióticas como abióticas, estableciéndose perfectamente en ambientes donde se procesan alimentos contribuyendo a la contaminación cruzada (Komodromos, y otros, 2022).

Su patogenicidad se promueve a través de varios factores de virulencia, como las enterotoxinas estafilocócicas (SE), la toxina 1 del síndrome de *shock* tóxico, las hemolisinas y las proteínas de unión a la fibronectina, (Mekhloufi, y otros, 2021). Los genes para la producción de enterotoxinas se encuentran en islas de patogenicidad ubicados en el cromosoma, plásmidos, transposones o bacteriófagos templados (Bhunia, 2018). La intoxicación alimentaria por *S. aureus* es una enfermedad gastrointestinal causada por el consumo de alimentos contaminados por este microorganismo en donde se han reproducido hasta el orden de  $10^6$  UFC/g produciendo enterotoxinas que tienen diferentes efectos biológicos (Tabla 5); la cantidad necesaria de estas toxinas para desencadenar la enfermedad es de entre 20 ng a 1 µg; el periodo de incubación es corto (de entre 1 a 6 horas) dependiendo de la susceptibilidad del individuo y de la dosis ingerida; los síntomas pueden ser leves, moderados o severos incluyendo náuseas, vómitos y dolor abdominal con o sin diarrea requiriendo hospitalización en el 10% de los casos, pero la mayoría tienen una recuperación rápida desapareciendo los síntomas en 24 a 48 horas por lo cual no todas las infecciones se llegan a reportar, sin embargo, esta intoxicación es muy desagradable y suele causar

incapacidad total durante un periodo corto de tiempo; los alimentos más involucrados en las intoxicaciones estafilocócicas son las carnes y lácteos destacando especialmente aquellos que han sido manipulados durante su producción; la mayoría de las intoxicaciones estafilocócicas alimentarias son causadas por cepas de *S. aureus* productoras de las enterotoxinas A y/o D (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

En este sentido, el consumo de toxinas preformadas induce al vómito con o sin diarrea en un plazo de 30 minutos a 8 horas, siendo lo usual 3 horas, tras la ingestión de alimento contaminado, debido a que estimulan los nervios vagales del revestimiento del estómago; estas enterotoxinas también se denominan superantígenos debido a que son capaces de formar complejos que inducen la proliferación de células T que, a su vez, producen cantidades masivas de citoquinas contribuyendo al síndrome de *shock* tóxico fatal (Bhunia, 2018).

Tabla 5: Toxinas y sus efectos biológicos de *S. aureus*

<b>Toxina</b>	<b>Efecto biológico</b>
Citotoxinas ( $\alpha$ , $\beta$ , $\delta$ y $\gamma$ leucocidina de PV)	Mecanismo poro-perforador sobre las membranas de leucocitos, eritrocitos, macrófagos, plaquetas y fibroblastos
Toxina exfoliativa (ETA y ETB)	Proteasas que rompen los puentes intercelulares en el estrato granuloso de la epidermis
Enterotoxinas (A-E-G-I)	Superantígenos (estimulan la proliferación de células T y la liberación de citosinas) que estimulan la liberación de mediadores químicos en mastocitos aumentando el peristaltismo
Toxina del síndrome del choque tóxico TSST-1	Superantígenos. Producen extravación o destrucción de células endoteliales

*Fuente: (Zendejas, Avalos, & Soto, 2014)*

Otra característica de las enterotoxinas estafilocócicas es que son de naturaleza proteica además de presentar termorresistencia, por lo cual la cocción de los alimentos no elimina el riesgo de intoxicación; la toxina más común involucrada en las ETA es la

enterotoxina A debido a que solo 100ng son suficientes para desencadenar los síntomas por la enorme susceptibilidad que tienen las plaquetas y monocitos a ésta (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). La toxina asociada al síndrome del choque tóxico (TSST-1), conocida anteriormente como exotoxina pirogénica C, puede desencadenar una respuesta inflamatoria exacerbada que se asemeja mucho a la sepsis bacteriana acarreado complicaciones médicas e incluso la muerte (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014).

#### **d) Factores de virulencia**

Entre los factores de virulencia más importantes descritos en *S. aureus* tenemos a la producción de hemolisinas, enterotoxinas y la enzima coagulasa. Dentro de las hemolisinas, la  $\alpha$ -hemolisina es responsable de la lisis de los eritrocitos y polimorfonucleares, la  $\beta$ -hemolisina (producida por el 97% de las cepas de *S. aureus*), con su función surfactante y actividad dermonecrótica, y la  $\gamma$ -hemolisina, que afecta el funcionamiento de neutrófilos, macrófagos y eritrocitos (Galli, Brusca, & Pellicer, 2019).

Las enterotoxinas estafilocócicas (SE) son una superfamilia de exotoxinas pirogénicas capaces de provocar vómitos, diarrea y calambres tras la ingestión de alimento contaminado (Mekhloufi, y otros, 2021). Constituyen el principal factor de virulencia responsable de la intoxicación alimentaria ocasionada por *S. aureus*; son proteínas relativamente termoestables capaces de tolerar tratamientos de pasteurización aunque se inactivan por encima de 115°C, también resisten a la irradiación así como a las enzimas proteolíticas pepsina y tripsina, se producen durante la fase exponencial del desarrollo y los genes que las codifican se encuentran en plásmidos o elementos heterólogos llamados islotes de patogenicidad; las SE suprimen la actividad de la IgM incrementando la susceptibilidad del paciente a generar *shock* y estimulan la emesis (expulsión violenta y espasmódica del contenido estomacal), característica distintiva utilizada para el diagnóstico clínico de las intoxicaciones alimentarias (Galli, Brusca, & Pellicer, 2019).

La producción de enterotoxinas se ve afectada por variables como la calidad de los nutrientes y el pH del sustrato, la temperatura, la atmósfera, la concentración de cloruro de sodio y por otros compuestos químicos y microorganismos competidores; de entre todas ellas, la enterotoxina del serotipo A (SEA) es la que aparece con mayor frecuencia en los brotes de intoxicación alimentaria y le siguen en orden decreciente las de los serotipos C, B, D y E (Galli, Brusca, & Pellicer, 2019).

Finalmente, otro factor de virulencia importante es la producción de la enzima coagulasa, utilizada como marcador de virulencia y permite diferenciar a *S. aureus* de otras especies estafilocócicas pues es la única especie coagulasa positiva; esta enzima causa la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico, localizando la infección y protegiendo a la bacteria de la fagocitosis; *S. aureus* también sintetiza como factores de virulencia desoxirribonucleasa, fibrinolisisina, hialuronidasa, lipasa, penicilinasas o b-lactamasas, catalasa y exotoxinas pirógenas (Galli, Brusca, & Pellicer, 2019).

### 1.6.3. *Escherichia coli*

#### a) Características

El género *Escherichia*, nombrado en honor al pediatra alemán Theodor Escherich, está conformado por bacilos anaerobios Gram negativos; su especie tipo, *Escherichia coli*, es el principal anaerobio facultativo que habita en el intestino grueso tanto humano como de otros animales de sangre caliente siendo eliminado al ambiente, usualmente, mediante las heces y efluentes de aguas residuales; aunque la mayoría de sus cepas viven de manera inofensiva en el tracto intestinal, existen varias cepas patogénicas capaces de desencadenar enfermedades intestinales y extraintestinales tanto en personas sanas como en inmunodeprimidas (Gomes, y otros, 2016); (Jang, y otros, 2017).

Es una de las primeras bacterias comensales que colonizan el intestino luego del nacimiento, siendo enormemente versátil gracias a su alta plasticidad en el genoma

dotándola de un potencial tanto comensal como patógeno pudiendo surgir cepas patógenas a partir de las cepas comensales (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023); (Thakur, y otros, 2018). Esta variabilidad genética hace que las cepas patógenas sean diferentes a sus contrapartes comensales codificando rasgos de virulencia específicos que las convierte en agentes causales de enfermedades (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

La *E. coli* diarreica (DEC) es una de las principales causas de trastornos gastrointestinales en el mundo, considerándosele un tema importante a abordar en la salud pública (Thakur, y otros, 2018). Las cepas *E. coli* diarreogénicas (DEC) a su vez se subdividen de acuerdo a sus sitios preferenciales de colonización del huésped, mecanismos de virulencia, los síntomas y consecuencias clínicas asociadas, tales como *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica/productora de toxina Shiga (EHEC/STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), que se adhieren a las células epiteliales en una distribución difusa; cada uno con factores de virulencia específicos (Gomes, y otros, 2016).

## b) Taxonomía

La clasificación taxonómica es la siguiente:

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *Escherichia coli* (Migula, 1895; Castellani y Chalmers, 1919)

Fuente: (Bergey *et al.*, 2005)

### c) Factores de virulencia y patogénesis

Se han descrito seis patotipos de *E. coli* involucrados en procesos diarreicos, los cuales fueron clasificados mediante la identificación de factores de virulencia y mecanismos de patogenicidad (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016):

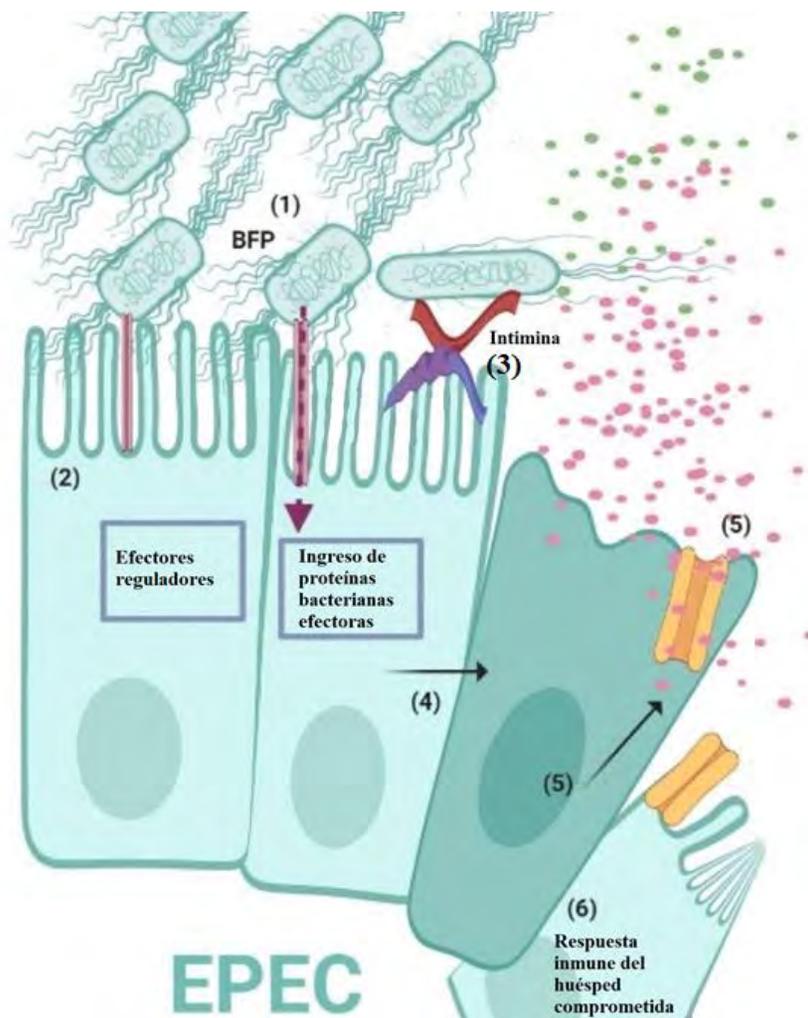
#### i. *E. coli enteropatogénica (EPEC)*

Las cepas EPEC se definen como aquellas con la capacidad de causar diarrea, producir una histopatología en el epitelio intestinal conocida como lesión de unión y borramiento (*attacking and effacing* o A/E), y la incapacidad de producir toxinas Shiga, enterotoxinas termolábiles (LT) o termoestables (ST) (Gomes, y otros, 2016). A su vez, se pueden clasificar en EPEC típica (tEPEC) y atípica (aEPEC) (Gomes, y otros, 2016) basado en la presencia (tEPEC) o ausencia (aEPEC) de un plásmido de virulencia llamado factor de adherencia de EPEC (EAF: *EPEC adherence factor*) (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016); (Gomes, y otros, 2016); (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

Las cepas EPEC forman un distintivo de microcolonias tridimensionales llamados patrón de adherencia localizada (L/A), que consiste en la destrucción de la arquitectura de las microvellosidades de las células epiteliales intestinales y la adherencia íntima entre la bacteria y la membrana celular, haciendo que en el sitio del contacto bacteriano se desencadenen cambios en el citoesqueleto para formar un pedestal en forma de copa rico en actina (Gomes, y otros, 2016).

Los mecanismos que originan el cuadro diarreico se relacionan principalmente con la alteración de la célula intestinal debido a la lesión de adhesión y borrado (A/E: *attaching/effacing*) y la formación de pedestales (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016). Se ha propuesto un modelo de tres etapas de patogénesis: adherencia localizada (L/A), transducción de señales y unión íntima con formación del pedestal (Gomes, y otros, 2016) como se observa en la Figura 1.

Figura 1: Proceso de infección y patogénesis de EPEC



*Nota: Las bacterias se adhieren íntimamente a las células epiteliales intestinales mediante el pilus formador de haces (BFP) que también ayuda a la adhesión interbacteriana (1), los patógenos contactan con la célula huésped a través de proteínas transmembrana y sus efectores (2) como la intimina de la membrana bacteriana (3), el sistema de secreción tipo III libera varias proteínas efectoras que migran al citoplasma (4) donde interactúan con proteínas del huésped para provocar el reordenamiento de la actina para formar el pedestal; las múltiples lesiones incrementarán la inflamación y permeabilidad intestinal conduciendo a la pérdida de superficie de absorción (5,6) (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).*

ii. *E. coli enterohemorrágica o shigatoxigénica (EHEC)*

Esta cepa representa un grupo bien conocido de patógenos transmitidos por alimentos distribuidos en todo el mundo, siendo su principal atributo de virulencia la producción de toxinas de la familia Shiga (Stx) y la colonización del intestino grueso (Gomes, y otros, 2016); (Thakur, y otros, 2018). Es prevalente en países

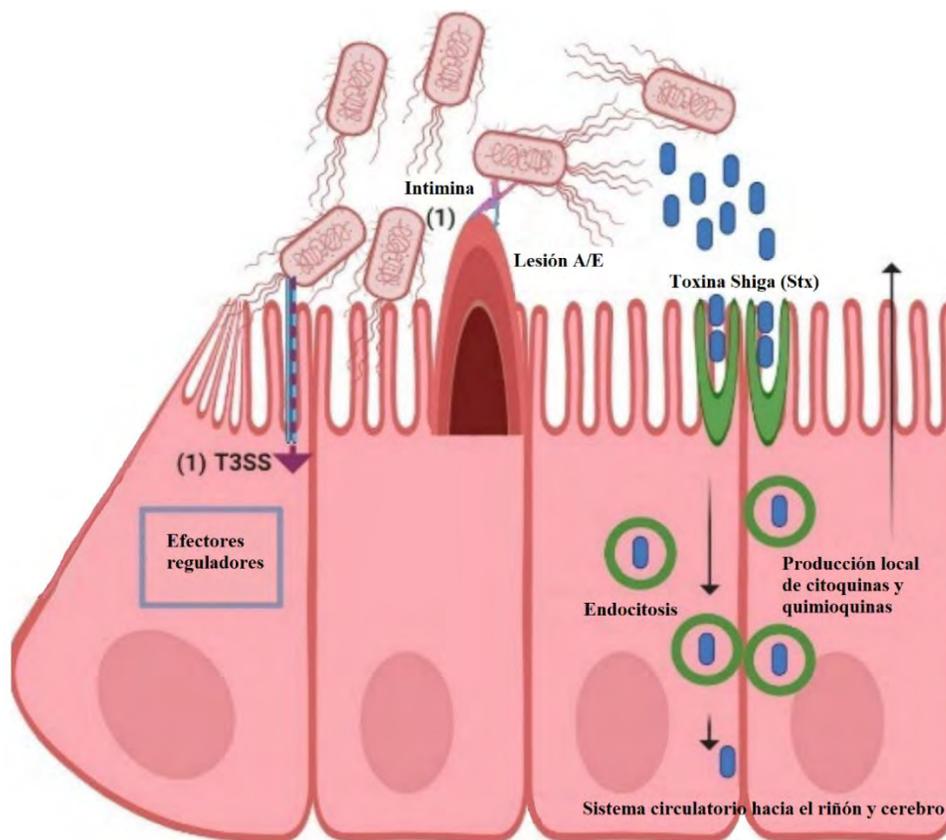
desarrollados como Estados Unidos, Canadá, Australia y algunos países de Europa, mientras que en Latinoamérica es endémica de Argentina, donde la población menor a cinco años es la más afectada, sin embargo, EHEC puede afectar a todos los grupos de edad (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016). Causa una amplia gama de infecciones, desde diarrea leve hasta afecciones más graves como colitis hemorrágica o el síndrome urémico hemolítico en lactantes y niños menores de cinco años, produciendo a su vez anemia hemolítica, trombocitopenia y falla renal (Gomes, y otros, 2016).

EHEC reside naturalmente en el intestino de animales rumiantes y su transmisión ocurre después del consumo de productos de origen animal contaminados (especialmente carne molida), agua contaminada, carnes mal cocidas o frutas y verduras mal lavadas (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023). El serotipo *E. coli* O157:H7 es característico de este grupo, siendo causante de brotes de ETA (Gomes, y otros, 2016) por lo que tiene gran importancia clínica (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016).

Las toxinas Shiga (Stx), también conocidas como verotoxinas (VT), son el principal factor de virulencia de las cepas EHEC; es capaz de inducir la apoptosis celular resultando en un daño localizado del colon, causando colitis hemorrágica, necrosis y perforación del intestino (Gomes, y otros, 2016); (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023). Se han reconocido dos principales familias de Stx: la Stx1, más homogénea diferenciándose de la toxina producida por *Shigella dysenteriae* en tan solo un aminoácido, y la Stx2, que es más heterogénea compartiendo menos del 60% de similitud con la Stx1 (Gomes, y otros, 2016); (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

Su mecanismo de patogenicidad consta de dos pasos más importantes: la adherencia y liberación de toxinas (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016) como se observa en la Figura 2. Una vez liberadas las toxinas, las bacterias se trasladan desde la luz intestinal hacia los tejidos cercanos y al torrente sanguíneo (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

Figura 2: Proceso de infección y patogénesis de EHEC



*Nota: Las bacterias se unen a la célula huésped mediante la intimina e inyectan proteínas efectoras en el citoplasma del huésped a través del complejo T3SS (1), la toxina Shiga (Stx) se libera en respuesta al estrés, contribuyendo con el desarrollo de la enfermedad que ingresa mediante endocitosis; si llega al torrente sanguíneo, puede causar lesión endotelial directa al incrementar la inflamación, además de poder dañar órganos, especialmente el riñón y el cerebro (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).*

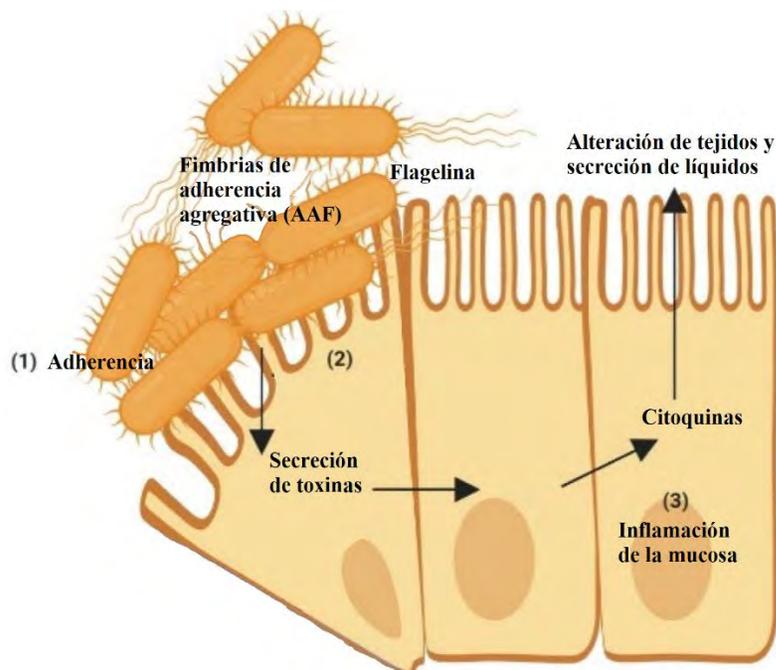
### iii. *E. coli enteroagregativa (EAEC)*

Se caracterizan por mostrar el patrón de adherencia agregativa (AA) en las células epiteliales, el cual se reconoce por una formación de bacterias en disposición de ladrillos apilados en la superficie de las células epiteliales (Gomes, y otros, 2016). Estas cepas son identificadas con frecuencia en cuadros diarreicos de países industrializados y en pacientes infectados por VIH (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016).

La diarrea causada por EAEC es acuosa, a menudo con presencia de moco, con o sin sangre, dolor abdominal, vómitos y fiebre, siendo la diarrea aguda autolimitada la patología más habitual, pero existen pacientes que desarrollan una diarrea prolongada dependiendo de la inmunidad, el estado nutricional y la susceptibilidad del huésped; los factores de virulencia identificados incluyen a las adhesinas, toxinas, proteínas secretadas y formación de biofilm (Gomes, y otros, 2016).

El modelo propuesto de patogénesis de las cepas EAEC consta de tres etapas principales: abundante adherencia bacteriana a la mucosa intestinal, producción de toxinas (citotoxinas y enterotoxinas), e inducción de la inflamación de la mucosa (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016); (Gomes, y otros, 2016) como se puede ver en la Figura 3.

Figura 3: Proceso de infección y patogénesis de EAEC



*Nota: la infección comienza con la colonización de la mucosa intestinal gracias a fimbrias de adherencia agregativa que originan el característico patrón AA semejante a ladrillos apilados (1), para la posterior secreción de diferentes enterotoxinas y citotoxinas con diferentes funciones (2), asociados a la producción de citoquinas y marcadores inflamatorios que resultan en la inflamación de la mucosa (3) (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).*

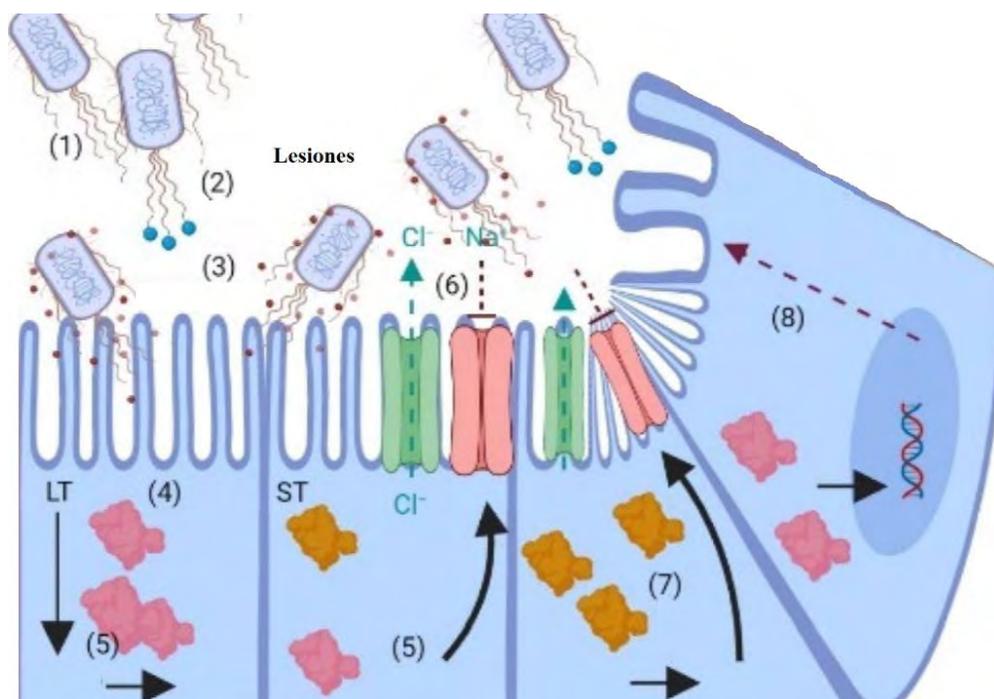
iv. *E. coli enterotoxigénica (ETEC)*

Es uno de los agentes más frecuentemente identificados en diarrea aguda, frecuentemente asociado a niños de países subdesarrollados y a la llamada “diarrea del viajero”, la cual es una diarrea aguda que afecta a los turistas que visitan a estos países (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016); (Gomes, y otros, 2016); (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023). Se caracterizan por la producción de factores de colonización (CFs) y al menos una de dos enterotoxinas: termolábiles (LT) y termoestables (ST), que alteran los mecanismos de secreción en el intestino y provocan diarrea acuosa; las infecciones pueden variar desde enfermedades diarreicas con síntomas leves y autolimitados, hasta síntomas muy similares al cólera (Gomes, y otros, 2016); (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023). Se reconocen dos principales mecanismos de patogenicidad: la adherencia a los enterocitos y liberación de toxinas (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016), como se observa en la Figura 4.

Las cepas ETEC son capaces de degradar la mucina secretada por las células caliciformes del epitelio del intestino delgado facilitando a que las bacterias superen la barrera de mucina; las bacterias se adhieren a la mucosa del intestino delgado con la ayuda de uno o más pili/fimbrias protéicos, también llamados factores de colonización (CF: *colonization factors*) (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

Luego de adherirse a la mucosa intestinal, las cepas ETEC producen enterotoxinas, reconocidos como el segundo componente asociado a la enfermedad diarreica, las cuales se dividen en enterotoxinas termolábiles (LT) y enterotoxinas termoestables (ST), que intervienen en los canales iónicos de la membrana epitelial provocando la pérdida de iones y cantidades masivas de agua, produciendo una diarrea acuosa, por lo que separadas o en combinación, estas toxinas son capaces de inducir un desequilibrio hidroelectrolítico celular contribuyendo a la patogénesis (Gomes, y otros, 2016).

Figura 4: Proceso de infección y patogénesis de ETEC



*Nota: la infección comienza con la unión bacteriana a los enterocitos mediante los factores FC (1) que se unen a receptores glucano presentes en la mucina (2) degradándola; las bacterias liberan las toxinas LT y ST que son captadas por los receptores celulares del huésped (4) produciendo proteínas (5) que inhiben la absorción de Na<sup>+</sup>, liberando agua e iones (6); la toxina termoestable (ST) provoca la fosforilación de las proteínas de los canales iónicos desarrollando diarrea (7), mientras que la toxina LT modula la transcripción de múltiples genes que expresan fimbrias tipo 1 promoviendo la adhesión bacteriana (8) (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).*

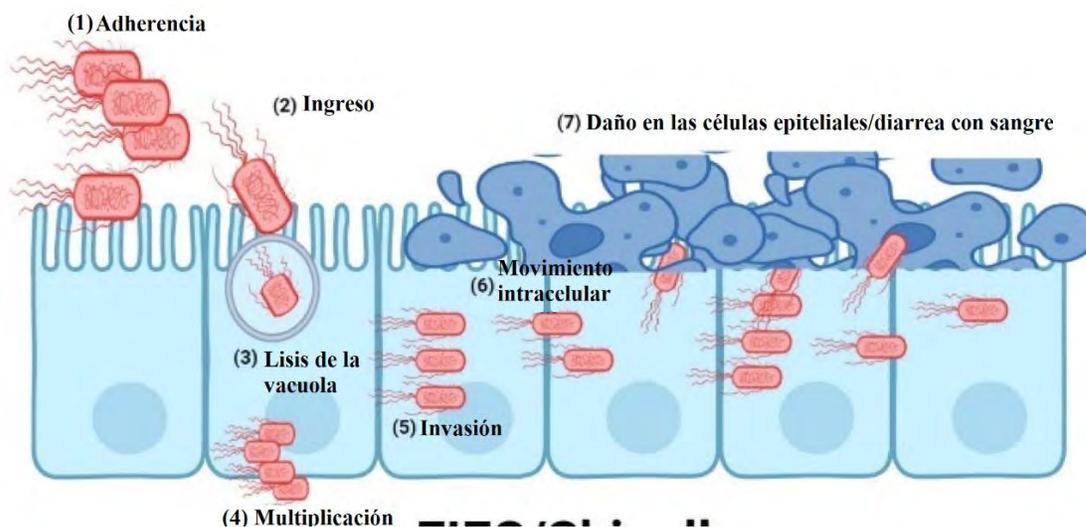
v. *E. coli enteroinvasora (EIEC)*

Esta cepa es identificada como un agente causante de disentería en países en vías de desarrollo; invade las células del colon produciendo una infección similar a la causada por *Shigella* sp. (Gomes, y otros, 2016), siendo en muchos casos indistinguibles y reportados como *Shigella* spp. (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016), y es considerada un verdadero patógeno intracelular debido a su capacidad de invadir y multiplicarse dentro de células epiteliales y macrófagos (Thakur, y otros, 2018); (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023). Debido a esto, las cepas EIEC evaden la respuesta inmune moviéndose lateralmente para invadir a otras células (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016).

Durante la infección, las cepas EIEC inicialmente penetran e ingresan en las células M, lisan la vacuola endocítica y se multiplican en el citoplasma, para después migrar a las células adyacentes y repetir el proceso, como se puede observar en la Figura 5; esto causará que se presenten síntomas similares a la Shigelosis, como diarrea acuosa con moco, leucocitos y sangre en las heces, dolor abdominal con calambres, fiebre y toxicidad sistémica (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

El complejo proceso de colonización y supervivencia de EIEC en el tracto gastrointestinal depende de la presencia de un gran plásmido muy similar al encontrado en *Shigella*, sin embargo, pese a sus similitudes en el mecanismo de invasión y los síntomas de la enfermedad, la dosis infectiva de EIEC es mucho mayor a la de *Shigella*, además de causar una forma más leve y autolimitada de la enfermedad (Gomes, y otros, 2016).

Figura 5: Proceso de infección y patogénesis de EIEC

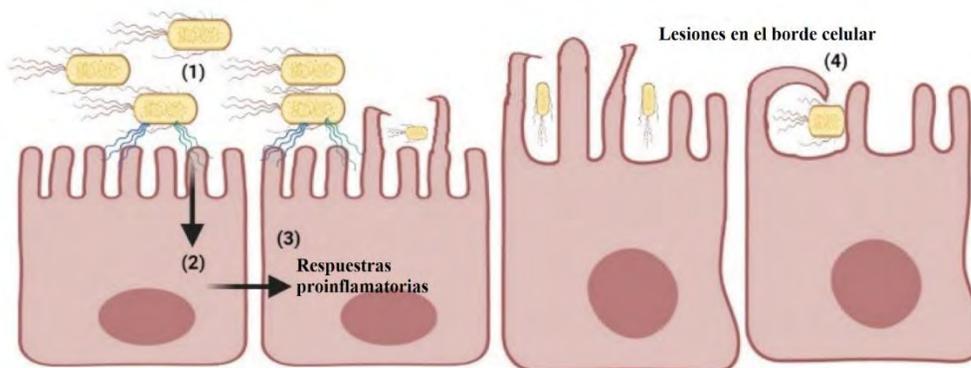


*Nota: La infección comienza con la adherencia de las bacterias a la superficie basolateral de los enterocitos formando un poro en la membrana del huésped (1), los antígenos de invasión median la captación de las bacterias por el enterocito (2) con la consiguiente entrada al citoplasma (3), multiplicación (4), y diseminación intracelular (5 y 6) que finalmente conducen a la muerte del enterocito (7); las bacterias invasoras liberadas ingresarán en otros enterocitos repitiéndose el ciclo (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).*

vi. *E. coli adherente difusa (DAEC)*

Estas cepas se han asociado más a procesos diarreicos de tipo agudo y persistente en niños y adultos, los cuales pueden ser portadores asintomáticos; se conoce muy poco acerca de los mecanismos de patogenicidad a pesar de su amplio estudio, teniendo dentro de las principales características observadas las siguientes: unión mediante adhesinas a la mucosa intestinal, formación de microcolonias típicas en forma de ladrillos apilados, producción de citotoxinas y enterotoxinas, y el desarrollo de una inflamación grave en la mucosa (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016), como se observa en la Figura 6.

Figura 6: Proceso de infección y patogénesis de DAEC



*Nota: La infección comienza con la interacción de las adhesinas con los receptores unidos a la membrana (1), se activa la vía de señalización intracelular que desencadena cambios estructurales en las microvellosidades (2), las interacciones entre el huésped y las adhesinas pueden inducir la migración de leucocitos polimorfonucleares, lo que promueve la producción de citoquinas proinflamatorias (3); la transducción de señales producidas por las bacterias induce proyecciones en forma de dedos en los enterocitos (4) (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).*

Las cepas de DAEC expresan adhesinas afimbriales (Afa) y adhesinas fimbriales (Dr) que se encuentran en la superficie bacteriana constituyendo el principal mecanismo de patogenicidad (Farfán, Ariza, Vargas, & Viviana, 2016). A la larga, estas fimbrias ocasionan el desmantelamiento de la red de actina en las células intestinales resultando en un mal funcionamiento de las microvellosidades e induciendo a proyecciones alargadas en forma de dedos que envuelven a las bacterias (Pokharel, Dhakal, & Dozois, 2023).

#### 1.6.4. *Salmonella*

##### a) Características

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae está constituido de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no requieren de NaCl para su crecimiento (pueden crecer a concentraciones entre 0,4% a 4%), su rango de temperatura está entre 5°C a 47°C con un óptimo de 37°C, sobreviven en un rango de pH entre 4 a 9 con una actividad del agua entre 0,94 a 0,99; son sensibles al calor ya que usualmente mueren a temperaturas superiores a 70°C y se puede inhibir completamente su crecimiento a temperaturas menores a 7°C, pH de 3,8 y actividad del agua de 0,94 (Alfaro, 2018). *Salmonella* es fermentador de glucosa, productor de H<sub>2</sub>S, puede utilizar citrato y descarboxila la lisina para utilizarlos como fuente de carbono (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018).

Están estrechamente ligados a otros géneros de enterobacterias, móviles debido a la presencia de flagelos peritricos a excepción de *S. gallinarum* y *S. pullorum* (Herrera & Jabib, 2015), que puede vivir en el intestino de animales y seres humanos sanos, siendo eliminados hacia el ambiente mediante las heces, las cuales pueden llegar a contaminar agua y alimentos frescos donde las bacterias se multiplican rápidamente (Alfaro, 2018).

Dentro del género se encuentran dos especies, *S. bongori* y *S. enterica* (Araujo, 2018), ésta última con seis subespecies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) que a su vez se dividen en múltiples serovariedades o serotipos (Herrera & Jabib, 2015). Para una mejor clasificación de las diferentes variedades se utiliza el serotipado, que es un método para diferenciar a las cepas de *Salmonella* a un nivel más allá de subespecie y consiste en la designación en base a la inmunorreactividad en dos estructuras de la superficie celular, los cuales son los antígenos somáticos (O) y flagelares (H), y los antígeno K o Vi, presente sólo en las cepas *S. typhi*, *S. paratyphi* y *S. dubli* (Alfaro, 2018).

Los reservorios naturales de *Salmonella* incluyen el tracto intestinal de animales de granja, reptiles, insectos, así como huevos, carnes de ave, cerdo y res, productos lácteos, así como el agua contaminada puede propagar a las bacterias hacia alimentos de origen animal (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018). *S. typhi* es capaz de sobrevivir durante un periodo prolongado dentro del cuerpo humano valiéndose del entorno de la vesícula biliar, a donde ingresa mediante el torrente sanguíneo o los conductos biliares del hígado, para ello forman un biofilm que las protege para después desprenderse de éste pudiendo diseminarse al ambiente mediante las heces y la orina (Jahan, y otros, 2022).

### **b) Taxonomía**

La clasificación taxonómica es la siguiente:

Dominio: Bacteria

Filo: Pseudomonadota

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacterales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Salmonella* Lignieres, 1900

Fuente: (Bergey *et al.*, 2005)

### **c) Patogenia**

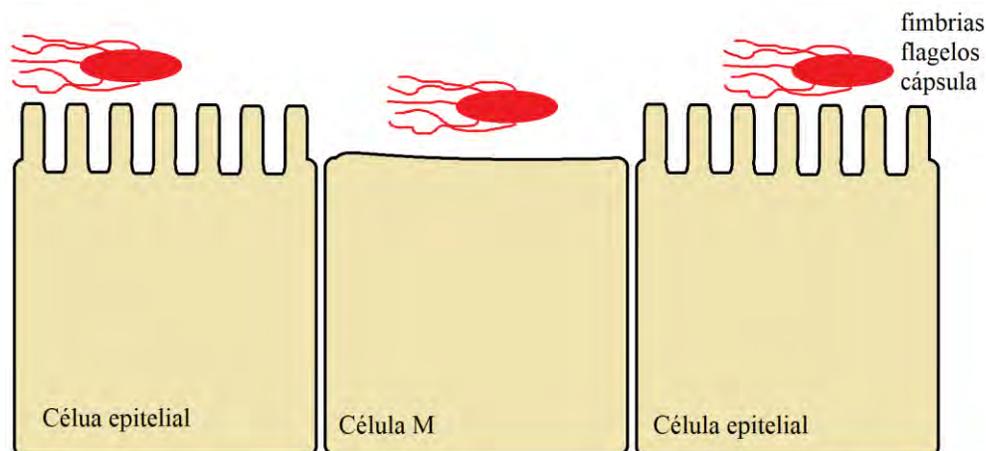
La principal vía de entrada para *Salmonella* es la oral mediante el contacto con heces de animales infectados, alimentos y agua contaminada, dependiendo de diversos factores comenzando con la ingestión de un inóculo elevado de microorganismos (mayor a  $10^6$  UFC), la capacidad para atravesar las barreras defensivas del huésped y la capacidad invasiva del patógeno (Araujo, 2018); (Herrera & Jabib, 2015).

Entre las barreras defensivas del huésped se tiene a la acidez gástrica, responsable de destruir a la mayor parte de las bacterias, razón por la cual es necesaria una gran cantidad de inóculo para desarrollar la infección; el peristaltismo intestinal, cuya

finalidad es arrastrar a los gérmenes impidiéndoles adherirse a la mucosa y se incrementa con la infección; la presencia de microbiota saprófita en el colon, que evita que una parte de *Salmonella* sp. se adhiera a la mucosa, por lo que una disminución de esta debido a tratamientos con antibióticos puede causar que se desarrolle infección con un menor inóculo; y la presencia de inmunidad específica (IgA) que también impide a los patógenos adherirse a la mucosa (Herrera & Jabib, 2015).

Después de la ingestión de agua o alimentos contaminados y han sobrepasado el estómago, *Salmonella* inicia su ciclo de infección invadiendo al hospedero a través del tejido linfoide, adhiriéndose apicalmente, mediante fibrinas específicas, a las células epiteliales del íleon y a las células M debido a la ausencia del borde de cepillo así como de glicocalix (Figura 7) que las convierte en una excelente puerta de entrada a estos patógenos (Herrera & Jabib, 2015). Este proceso permite la migración transepitelial hasta los fagocitos, a los cuales induce la fagocitosis tanto por aquellos profesionales como no profesionales a través de la expresión de las islas de patogenicidad (Araujo, 2018).

Figura 7: Adherencia de *Salmonella* a la mucosa intestinal



**Fuente:** (Herrera & Jabib, 2015).

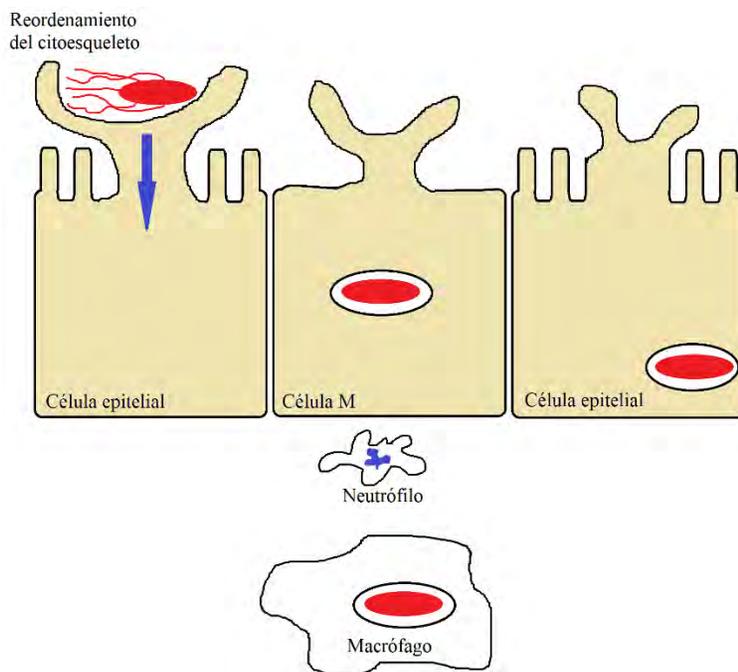
La invasión comienza con el envío de señales por parte de la bacteria hacia las células epiteliales, proceso conocido como disparo (*trigger*), que origina un rearrreglo en el

citoesqueleto produciendo ondulamiento en la superficie celular (*ruffling*) como respuesta al contacto (Herrera & Jabib, 2015), como se observa en la Figura 8.

Las células de *Salmonella* pueden exocitarse en los espacios intersticiales donde macrófagos, células dendríticas y células polimorfonucleares (PMN) las recogen y distribuyen a la linfa eferente hacia los ganglios linfáticos mesentéricos para después ser transportados hacia el hígado y bazo mediante el torrente sanguíneo (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018).

*Salmonella* tiene la capacidad de replicarse dentro de las células a las que ha ingresado (tanto fagocíticas como no fagocíticas), cuyo fagosoma brida un medio con concentraciones limitadas de  $Mg^{++}$  y  $Fe^{++}$  con un pH ácido, necesario para la supervivencia y replicación de la bacteria, la cual expresa enzimas para inactivar radicales reactivos de oxígeno y nitrógeno; una diferencia significativa es que gran parte de macrófagos sufre apoptosis posterior a la invasión (Figura 9), algo que no ocurre con los enterocitos (Herrera & Jabib, 2015).

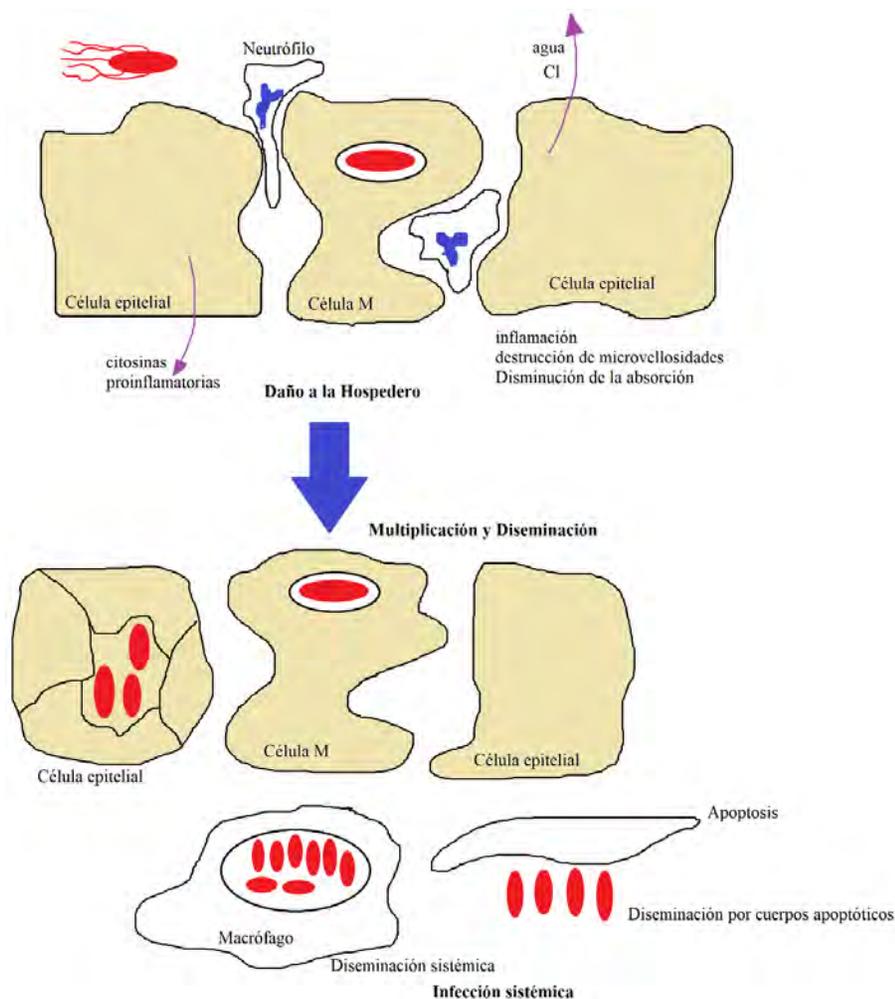
Figura 8: Invasión de *Salmonella* a los enterocitos



**Fuente:** (Herrera & Jabib, 2015).

*Salmonella* ocasiona efectos citotóxicos destruyendo a las células M e invade a los enterocitos adyacentes ya sea por la cara apical como basolateralmente, también induce apoptosis en macrófagos activados y fagocitosis en macrófagos no activados, lo que le permite poder llegar hasta el hígado o el bazo (Figura 9). *Salmonella* también induce a la migración de neutrófilos y macrófagos (PMN) así como la liberación de citoquinas proinflamatorias que reclutan a más células fagocíticas; la pérdida de permeabilidad, así como de agua y electrolitos gracias al daño integral a la mucosa intestinal, desencadenan el proceso diarreico (Herrera & Jabib, 2015). Además de diarrea, las citoquinas también pueden provocar ulceración y destrucción de las células de la mucosa intestinal (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018).

Figura 9: Inicio del proceso diarreico y diseminación de *Salmonella*



**Fuente:** (Herrera & Jabib, 2015).

La diseminación de *Salmonella* ocurre cuando la bacteria ingresa a vasos linfáticos o sanguíneos permitiéndole distribuirse en sangre y linfonodos mesentéricos desde donde puede migrar a la médula ósea, hígado o bazo, siendo capaz de permanecer hasta durante un año de forma crónica en células del sistema mononuclear fagocitario (Alfaro, 2018).

### **Salmonelosis**

Generalmente se la define como el tipo menos grave de gastroenteritis febril producida por las salmonelas de la “enteritis”, es decir, por serotipos diferentes a *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*; es transmitida especialmente por las carnes, cuyos síntomas aparecen entre 18 a 36 horas posteriores a la ingestión de alimento contaminado, caracterizándose por diarrea grave, fiebre, dolor de cabeza y malestar en general; su duración puede variar entre unos pocos días a unas semanas; la mayoría de cepas causantes de la enfermedad se fijan al epitelio del íleon donde van a producir enterotoxinas, sin embargo, algunas son citopatógenas y causan diarrea sanguinolenta, otras pocas invaden los tejidos subepiteliales produciendo enfermedades más graves (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003).

La mayoría de alimentos implicados a la salmonelosis son aquellos de origen animal, como lo pueden ser las carnes de mamíferos y de aves, ovoproductos no pasteurizados, lácteos no pasteurizados y otros alimentos contaminados por contaminación cruzada (Mossel, Moreno, & Struijk, 2003). Entre las recomendaciones que se dan para evitar la infección por *Samonella*, están la de envolver en bolsas la carne fresca y lavar inmediatamente los utensilios luego de procesarla para evitar la contaminación de otros alimentos, evitar el consumo de huevos, leche, carnes de aves de corral y reses crudas o con poca cocción, así como de lavarse las manos antes de manipular los alimentos (Herrera & Jabib, 2015).

#### d) Factores de virulencia

##### i. *Fimbrias, cápsula y flagelos*

Las fimbrias son estructuras superficiales de naturaleza proteica que facilitan la adhesión mediante la unión a receptores de la célula del huésped, juegan un papel importante en la patogenicidad de *Salmonella* ya que son proinflamatorias y aumentan la invasión de células eucariotas, también las fimbrias tienen tropismo por diferentes tipos de células de diferentes hospedadores y esto lleva que la ausencia de ciertas fimbrias puede alterar la virulencia de la cepa (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023); (Webber, y otros, 2019). Las fimbrias de *Salmonella* se localizan por toda la periferia bacteriana, participando en la adherencia a epitelios, proteínas de la matriz extracelular, formación de biofilm y la integración de las bacterias a las células que infectan (González, González, & Andrade, 2019).

Sólo *S. typhi* es capaz de formar una cápsula, factor que se encuentra conformado por una red de polisacáridos que recubre a la bacteria y la protege de la respuesta inflamatoria del huésped, impidiendo la fagocitosis por parte de los macrófagos (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023).

Por otro lado, los flagelos son apéndices largos que se encuentran fijados en un extremo de la célula permitiendo el movimiento o desplazamiento de un lugar a otro, su filamento está conformada por subunidades de la proteína flagelina, por lo cual su función es de ser un factor que interviene en la movilidad de las bacterias, pero su presencia depende de la serovariedad de *Salmonella* y una excepción son las especies *S. gallinarum* y *S. pullorum*, las cuales no presentan flagelos (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023).

##### ii. *Plásmidos*

Los plásmidos son elementos de ADN extra-cromosómico capaces de replicarse mediante el reclutamiento de la maquinaria de la célula huésped, portan genes que ayudan al huésped a adaptarse a entornos nuevos como a la exposición de

antibióticos, tolerancia a metales pesados, virulencia, y también en el catabolismo de fuentes de nutrientes (Carroll & Wong, 2018). Son denominados “plásmidos serotipo-específicos” que intervienen en la multiplicación intracelular de la bacteria, así como en la síntesis de fimbrias (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023).

### **iii. Islas de patogenicidad**

Agrupaciones de genes considerablemente largos localizados dentro de su cromosoma (Tabla 6) los cuales codifican los factores de virulencia y tienen un gran impacto tanto en la macroevolución (desarrollando nuevas variantes patogénicas) como en la microevolución (ya que el rearrreglo, delección y transferencia de islas de patogenicidad contribuyen en la adaptación y supervivencia durante el proceso de infección) del patógeno (Herrera & Jabib, 2015); *Salmonella* emplea dos mecanismos de secreción Tipo III codificados por la isla de patogenicidad de *Salmonella* 1 (SPI-1), que afecta todo el proceso de salmonelosis incluida la invasión, proliferación y respuestas del huésped, y la isla de patogenicidad de *Salmonella* 2 (SPI-2) que interviene en la enfermedad sistémica posterior; en *Salmonella* no tifoidea induce la apoptosis de macrófagos reduciendo la producción de citoquinas inflamatorias mediante la expresión de SPI-1 (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023). La SPI-3 interviene en la supervivencia intracelular en los macrófagos, proveyendo productos esenciales para el crecimiento en condiciones limitadas de  $Mg^{++}$ , la SPI-4 media la secreción de toxinas además de también ayudar a la supervivencia intracelular en los macrófagos, mientras que la SPI-5 codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria de la mucosa intestinal estimulando la liberación de Cl (Herrera & Jabib, 2015).

Tabla 6: Principales características relacionadas a las islas de patogenicidad

<b>Isla de patogenicidad</b>	<b>Función</b>
SPI-1	Translocación de moléculas en el citoplasma
SPI-2	Supervivencia intracelular
SPI-3	Supervivencia intracelular en el macrófago
SPI-4	Secreción de toxinas; adaptación a macrófagos
SPI-5	Reacción inflamatoria intestinal

*Fuente: (Alfaro, 2018)*

#### **iv. Producción de toxinas**

Las citotoxina de *Salmonella* se identificó en todas las subespecies de ésta, es secretada durante su interacción con células epiteliales intestinales y es un componente de la membrana externa de este patógeno; contribuye a la inhibición de la síntesis de proteínas permitiendo el escape del calcio de la célula huésped con el fin de aniquilar a las demás células, responsable del daño de la superficie de la mucosa intestinal, síntomas entéricos y la diarrea inflamatoria (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023); (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018).

Las endotoxinas son complejos lipopolisacárido-lipoproteína que se caracterizan por poseer un elevado grado de termoestabilidad y sus mecanismos de acción se presentan de manera general mediante la presencia de fiebre debido a la estimulación que producen para liberar pirógenos endógenos; la membrana externa expresa un inductor de la respuesta inmunitaria, el lipopolisacárido (LPS) que se compone de tres unidades: un polisacárido hidrofílico, el antígeno O y un dominio hidrofóbico conocido como lípido A, responsable de la mayor actividad endotóxica (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023). Por otra parte, las exotoxinas influyen en el intestino delgado causando una segregación masiva en la luz intestinal desencadenando vómitos y diarrea (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023).

v. ***Sideróforos***

El Fe es un elemento necesario para el desarrollo bacteriano, por esto, los miembros de la familia Enterobacteriaceae expresan agentes quelantes de bajo peso molecular inducidos por un estrés en este elemento (Mey, Gómez, & Payne, 2021). *Salmonella* sintetiza y secreta quelantes de hierro de alta afinidad conocido como los sideróforos, que son sistemas enzimáticos que extraen el hierro del ambiente extracelular y facilitan la disponibilidad del hierro del huésped, pues las bacterias no pueden usarlo directamente; debido a su gran eficiencia en tomar el hierro en competencia con otras proteínas del hospedador, las bacterias presentan receptores para complejos que pueden eliminar el hemo o el hierro de la proteína para utilizarlo dentro de la célula bacteriana teniendo afinidad por el hierro férrico mas no por el ferroso (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023); (Mey, Gómez, & Payne, 2021).

vi. ***Antígenos***

Los antígenos O se encuentran en la membrana externa e incrementan la acción virulenta debido a que la infección sucede en una ruta en la cual se ven expuestas a macrófagos con la capacidad de matar a *Salmonella*; frente a ello, el Antígeno ViB actúa como factor de protección de los antígenos O versus los anticuerpos y su acción, ya que es resistente a la fagocitosis debido a la carencia de anticuerpos con especificidades (Cruz, Núñez, Leiva, & Díaz, 2023). También el antígeno polisacárido O es una sustancia polimérica extracelular necesaria para la formación y desarrollo de biofilm en los serovares *typhimurium*, *typhi*, *enteritidis*, y *curli* (Jahan, y otros, 2022).

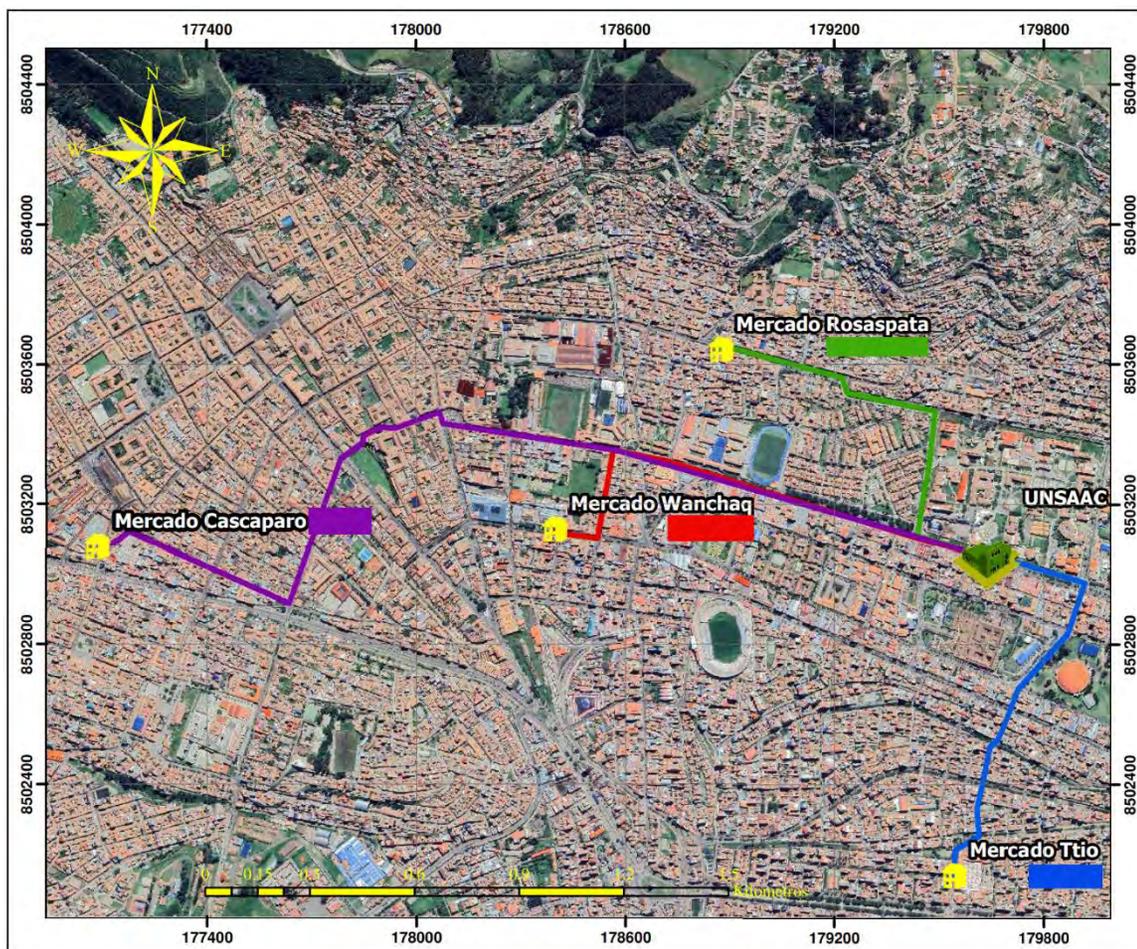
Otro antígeno importante es el antígeno k, que sólo existe en *S. typhi*, *S. paratyphi* y *S. dublin*, cuya acción hace imposible la aglutinación de sueros anti O; en algunas cepas se identificó otro antígeno homólogo a k, denominándolo antígeno Vi (K), el cual se encuentra en el flagelo (Herrera & Jabib, 2015).

## CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. UBICACIÓN DEL ÁREA DE PROCEDENCIA DE LA MUESTRA

La procedencia de las muestras fueron los mercados Casccaparo, Ttio, Wanchaq y Rosaspata (Figura 10):

Figura 10: Mercados en el mapa del casco urbano de la ciudad del Cusco



LEYENDA	
	UNSAAC
	Mercado Casccaparo
	Mercado de Wanchaq
	Mercado Modelo de Ttio
	Mercado Rosaspata
	Ruta M. Casccaparo-Universidad
	Ruta M. Rosaspata-Universidad
	Ruta M. Wanchaq-Universidad
	Ruta M. Ttio-Universidad

<b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO</b> FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGIA		
<b>TESIS PREGADO</b> <b>EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA DE CARNE MOLIDA EXPENDIDA EN CUATRO MERCADOS DEL CUSCO</b>		
<b>MAPA:</b> <b>TOMA DE MUESTRAS</b>		
<b>ELABORADO POR:</b> Bach. Rizal Cristhian Conde Ccalluchi Bach. Angel Alain Arce Meléndez		
<b>UBICACIÓN:</b> DEPARTAMENTO: CUSCO PROVINCIA: CUSCO DISTRITO: CUSCO	<b>ESCALA:</b> 1:16 000	<b>LAMINA:</b> <b>RA-01</b>

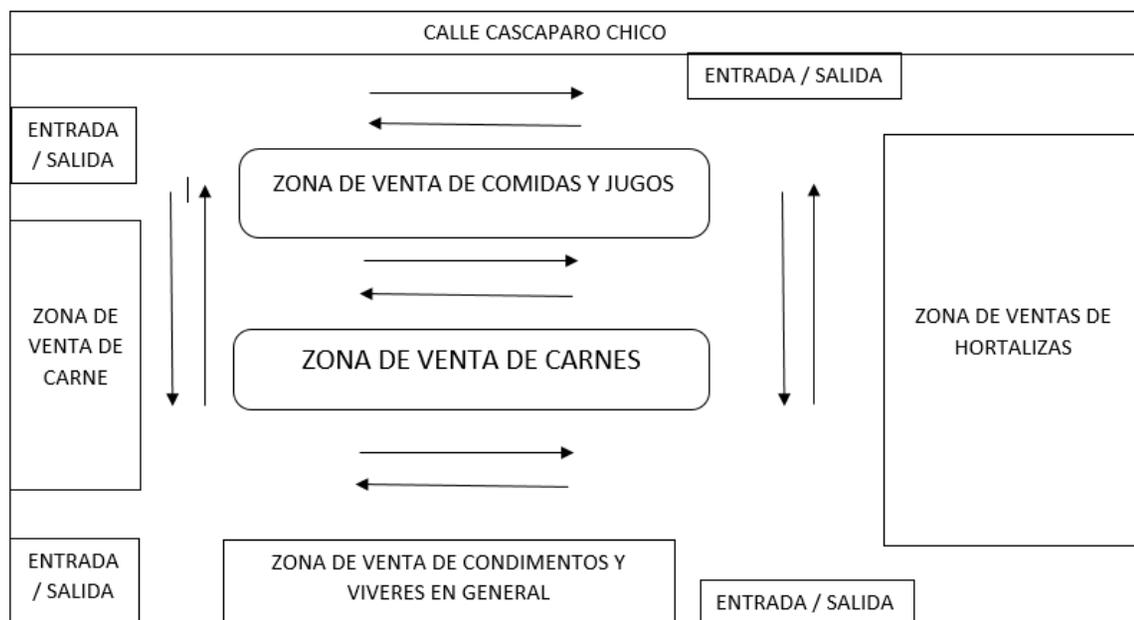
*Fuente: SAS Planet v.230909*

### 2.1.1. MERCADO CASCCAPARO

El mercado Casccaparo es uno de los principales centros de expendio que está localizado en la parte oeste de la ciudad del Cusco (con coordenadas UTM 177086.00 m Este y 8503081.00m Sur), una de las zonas más concurridas por la población debido a que se pueden encontrar una gran cantidad de restaurantes, pollerías y diferentes negocios alrededor del mercado.

Los puestos de expendio de productos cárnicos de este mercado se encuentran expuestos y mal ventilados (Figura 11), percibiéndose un olor característico en todas las calles aledañas. La carne molida se exhibe sin protección ni refrigeración, expuesta a insectos, desechos de combustión de los automóviles, polvo, etc. Los expendedores manipulan los productos cárnicos recibiendo el dinero con la misma mano con la que tocan la carne.

Figura 11: Croquis del mercado Casccaparo

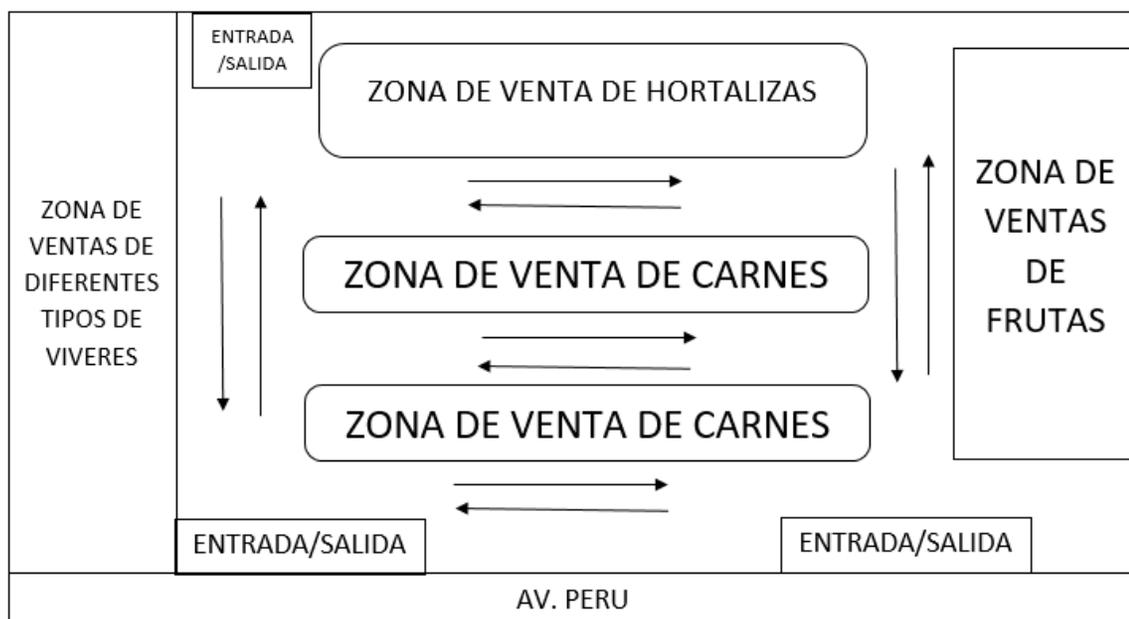


### 2.1.2. MERCADO MODELO DE TTIO

Ubicado en la parte sureste de la ciudad del Cusco (con coordenadas UTM 179544.00m Este y 8502142.00m Sur), es un mercado de fácil acceso mediante el transporte público debido a que muchas empresas tienen en sus rutas la calle aledaña a sus instalaciones. Cuenta con un local limpio, bien ventilado y con secciones que delimitan diferentes productos que se ofrece al público (Figura 12).

Los puestos de expendio exhiben los productos cárnicos totalmente expuestos a moscas, polvo y carentes de cadena de frío, además de haber perros merodeando. Los expendedores manipulan los productos cárnicos recibiendo el dinero con la misma mano con la que tocan la carne.

Figura 12: Croquis del mercado modelo de Ttio

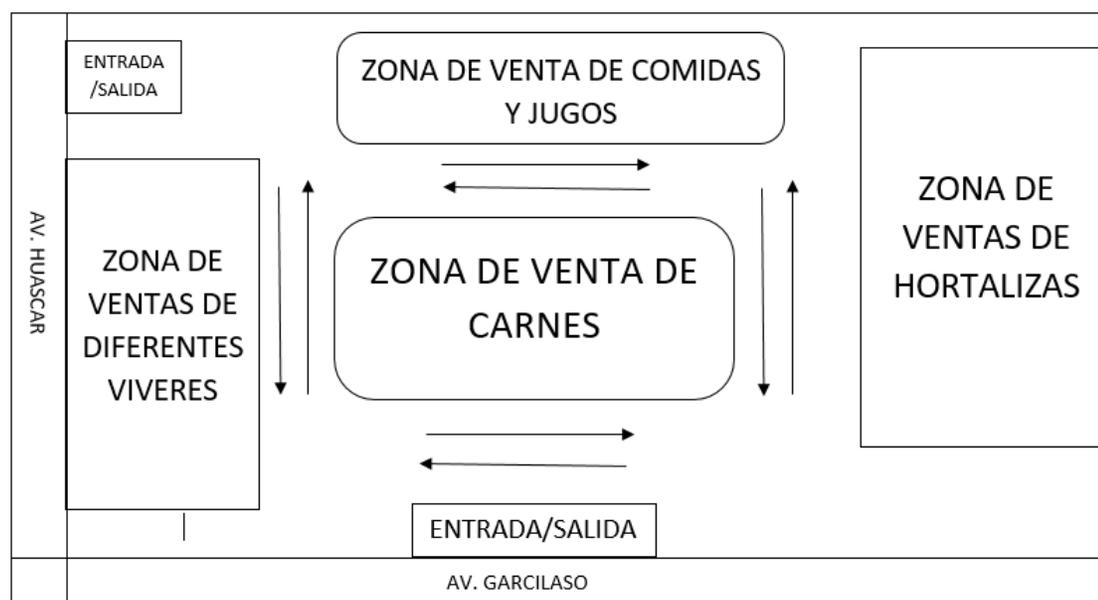


### 2.1.3. MERCADO DE WANCHAQ

Ubicado en la parte suroeste de la ciudad del Cusco (con coordenadas UTM 178399.00m Este y 8503131.00m Sur), es un mercado muy concurrido tanto por la población local como por turistas debido a que se ubican muchos hoteles en las calles adyacentes y la estación de tren.

Organizado por diferentes secciones según el producto ofrecido al público en general (Figura 13), ubicándose la zona de carnes en la parte central. Los puestos de expendio de productos cárnicos se encuentran adyacentes unos a otros, exhibiendo la carne al aire libre y sin cadena de frío. Los expendedores manipulan los productos cárnicos recibiendo el dinero con la misma mano con la que tocan la carne.

Figura 13: Croquis del mercado de Wanchaq



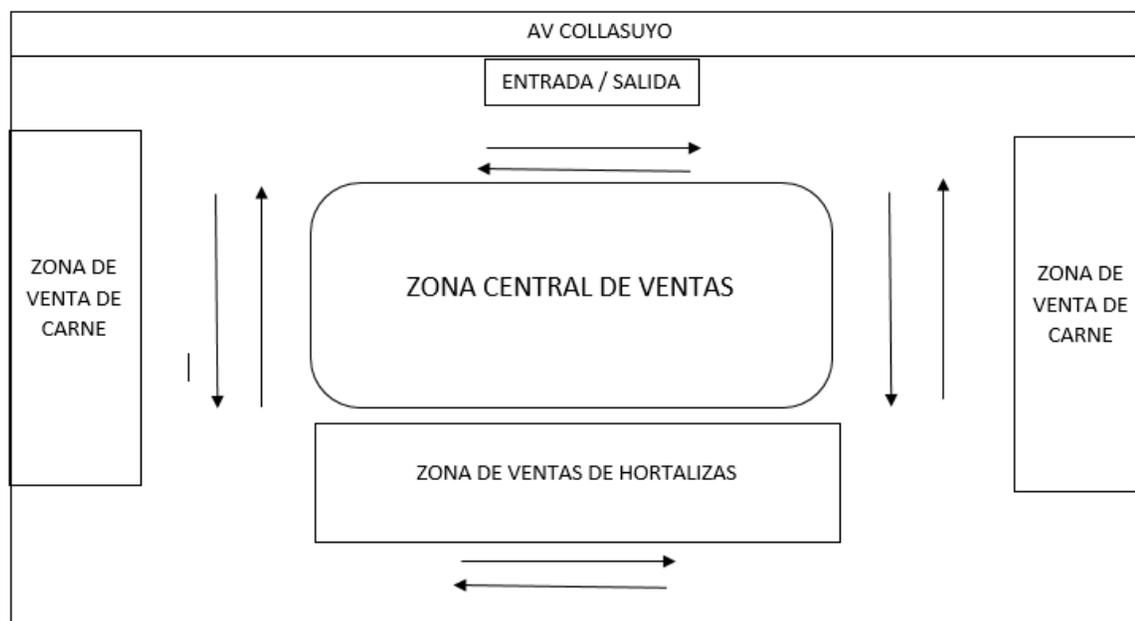
### 2.1.4. MERCADO ROSASPATA

El mercado Rosaspata se encuentra en la parte noroeste de la ciudad del Cusco (con coordenadas UTM 178875.00m Este y 8503645.00m Sur) y es el más cercano, junto al mercado Wanchaq, a la ciudad universitaria de Perayoc, siendo muy concurrido por el

público en general. Los puestos de venta están distribuidos en diferentes secciones según el producto que se ofrece.

A diferencia de los anteriores mercados, los puestos de expendio de carne molida no se encuentran dentro de sus instalaciones, ubicándose en las partes laterales a éstas (Figura 14). Se observó que algunos expendedores contaban con refrigeradoras en donde se almacenaban las piezas de carne que luego eran molidas a pedido del comprador. Sin embargo, muchos exhibían los productos cárnicos a la intemperie o en vitrinas repletas de moscas, manipulándolos junto al dinero simultáneamente.

Figura 14: Croquis del mercado Rosaspata



## 2.2. ÁREA DE PROCESAMIENTO

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas SL01LA164 ubicado en el segundo piso del pabellón de Control de Calidad en la Ciudad Universitaria de Perayoc de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

## 2.3. MATERIALES

### 2.3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestras de carne molida de res de los mercados Ccascaparo, Ttio, Wanchaq y Rosaspata.
- Cepa *Escherichia coli* ATCC 35218
- Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Cepa de *Salmonella* sp.

### 2.3.2. EQUIPOS

- Balanza analítica H.W. Kessel S.A. GR – 200
- Horno Pasteur ESCO Isotherm Forced Convection Laboratory Oven
- Autoclave Phoenix AV-75 PLUS 121X 15
- Autoclave Phoenix Vertical AV Plus
- Incubadora H.W. Kessel S.A. J.P. Selecta S. A.
- Homogeneizador LW Scientific #MXL-TMV7-7RC1
- Homogeneizador velp scientifica Wizard Advanced IR
- Contador de colonias Kenko KK-6829C
- Destilador de agua Ivymen System AC-L8
- Refrigerador Bosch
- Pipeta automática Hirschmann Laborgerate labopette de 100 a 1000µl

### 2.3.3. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

- Neogen® Petrifilm® Placas para Recuento de Aerobios
- Neogen® Placa Petrifilm® para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (EC)
- Neogen® Petrifilm® Staph Express
- Neogen® Petrifilm® *Salmonella Express* (SALX)
- Peptona Merck
- Caldo Cerebro Corazón (BHI) HiMedia

- Agar Hierro Triple Azúcar (TSI) Oxoid
- Agar Lisina Hierro (LIA) Merck
- Agar Citrato de Simmons Merck
- Agar *Salmonella – Shigella* (Agar SS) Merck
- Agar MIO DIFCO
- NaCl Emsure
- Fosfato potásico bibásico Panreac
- Fosfato potásico monobásico Panreac
- Caldo Rappaport-Vasiliadis Merck

#### **2.3.4. MATERIALES DE VIDRIO**

- Frascos de Vidrio de 500ml con tapa rosca
- Tubos de ensayo
- Bagueta
- Matraz de Erlenmeyer de 1000ml
- Probetas de 100ml y 500ml
- Placas de Petri
- Pipetas de 10ml

#### **2.3.5. OTROS MATERIALES**

- Gradillas
- Papel Kraft
- Ligas
- Papel aluminio
- Etiquetas
- Equipo de protección personal (guantes, gorro, mascarillas, etc.)
- Cooler 20L Yeti BASA COMERCIAL
- Bolsas de Polipropileno
- Encendedor
- Plumón marcador

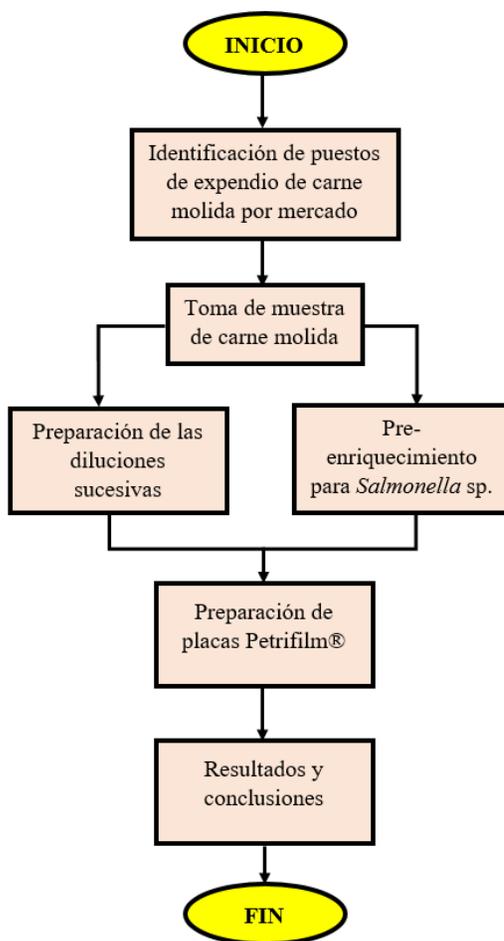
- Bolsa de gel refrigerante Gel Pack 250g
- Cubiertos de acero inoxidable
- Papel toalla
- Piseta de agua destilada y alcohol
- Materiales de limpieza (jabón, lejía, detergente)

## 2.4. METODOLOGÍA

### 2.4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación es analítico y transversal porque se va a recopilar información del fenómeno estudiado mas no se interferirá en él y el muestreo se realizará en un determinado tiempo. El proceso de la investigación se resume en el siguiente flujograma (Figura 15):

Figura 15: Flujograma del protocolo del trabajo de investigación



## 2.4.2. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

3309.90 UNESCO Microbiología de Alimentos.

## 2.4.3. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

La carne molida se muestreó en bolsas de polipropileno debidamente etiquetadas y transportadas en un *Cooler* con gel refrigerante hasta el laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas. Las primeras muestras se tomaron entre las 7 a 8 horas, mientras que, las segundas muestras, entre las 12 a 13 horas en un mismo día. Los muestreos se llevaron a cabo los lunes del mes de enero iniciando el día 8 con el mercado Cascaparo y terminando el 29 con el mercado Rosaspata.

Para un mejor tratamiento de los datos se les asignó un código a cada uno de los mercados, además, se realizaron visitas previas para verificar el número total de puestos de venta de carne molida que atendían tanto en la mañana como en la tarde, contabilizándose cinco en cada mercado (Tabla 7).

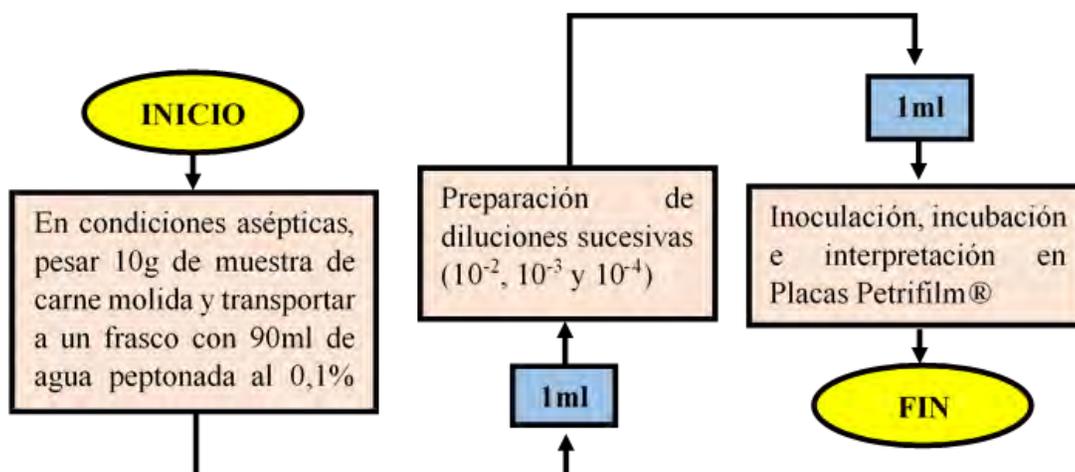
Tabla 7: Clasificación y número total de puestos de expendio de carne molida disponibles tanto en la mañana como en la tarde por mercado

<b>Código</b>	<b>Mercado</b>	<b>Nº Puestos</b>	<b>Cantidad de muestra de carne molida de res (g)</b>
<b>MCC1</b>	Ccascaparo	5	250
<b>MTT2</b>	Ttio	5	250
<b>MWQ3</b>	Wanchaq	5	250
<b>MRP4</b>	Rosaspata	5	250

## 2.4.4. PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES SUCESIVAS

El método de las diluciones sucesivas se utiliza para reducir la carga bacteriana de una muestra y de esta manera poder sembrar un inóculo de éstas en placas Petri para producir colonias contables (Anexo 3) (Tortora, Berdell, & Case, 2017). Se pesó asepticamente 10g de la muestra de carne molida que se transportó a un frasco de vidrio con 90ml de agua peptonada al 0,1% (Figura 16). Estas diluciones se utilizaron para el análisis microbiológico de aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus* (DIGESA, 2001).

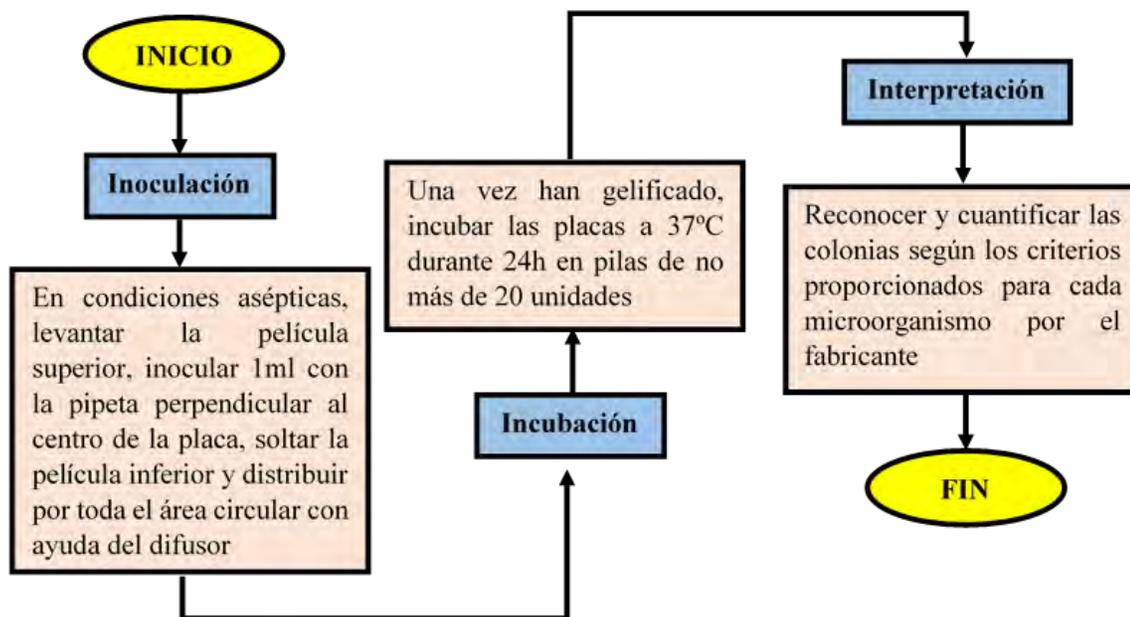
Figura 16: Flujograma del procesamiento de las muestras de carne molida



En el empleo de las placas Petrifilm® se sigue un procedimiento más o menos parecido (Anexo 23, Anexo 24, Anexo 25 y Anexo 26), el cual consiste en inocular las placas con 1ml de la dilución correspondiente que se desea sembrar, para después extender con ayuda del difusor de plástico e incubar a 37°C durante 24h (Figura 17); su posterior lectura fue realizada según el método correspondiente para cada bacteria (Neogen® Corporation, 2023). Este procedimiento se siguió para la cuantificación de aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*.

Para la determinación de la presencia de *Salmonella* sp. se realizó primero un pre-enriquecimiento: se pesó asépticamente 25g de muestra de carne molida que se dispuso en 225ml de agua peptonada tamponada e incubó a 37°C durante 24h (DIGESA, 2001); (Merck, 2024). Posteriormente, se inoculó 2ml del caldo de pre-enriquecimiento en las placas Petrifilm® e incubó a 37°C durante 24h (Figura 21).

Figura 17: Flujograma del procedimiento de inoculación, incubación e interpretación de las placas Petrifilm®

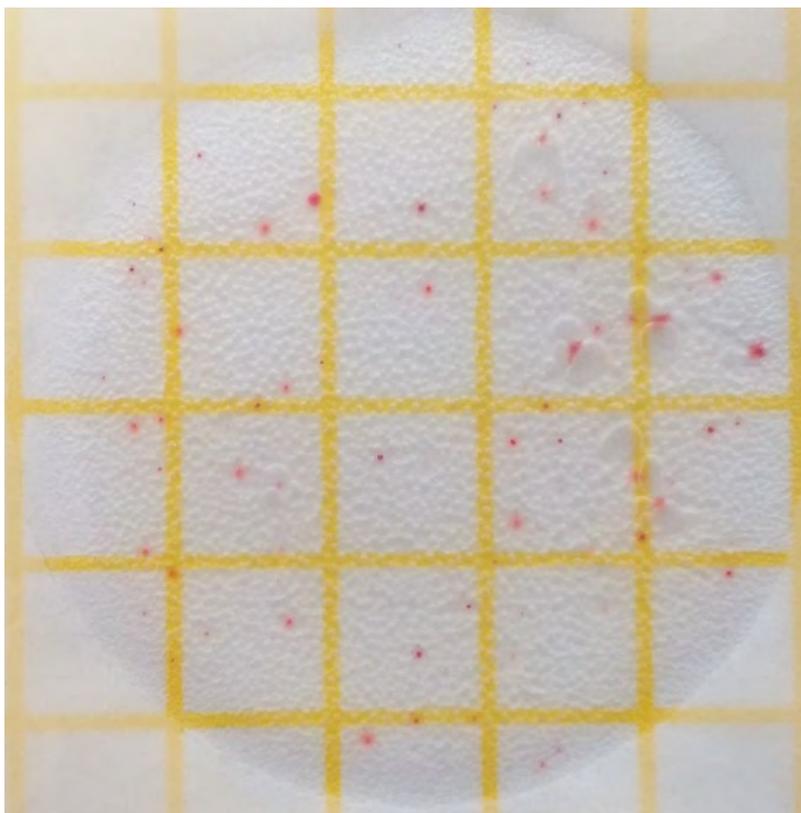


#### 2.4.5. MÉTODO: AOAC 2015.13. SISTEMA NEOGEN® PETRIFILM® RECuento DE AEROBIOS

El método AOAC 2015.13., consta de la placa Petrifilm® Recuento de Aerobios utilizada para cuantificar los aerobios mesófilos en los alimentos (Latimer, 2023). Las placas Petrifilm® para el recuento de Aerobios mesófilos contienen nutrientes del *Agar Standard Method* y un indicador de color rojo (TTC) para facilitar la enumeración de las colonias (Neogen® Corporation, 2024).

En las placas Petrifilm® Recuento de Aerobios, las colonias se presentan de color rojo gracias al indicador TTC (Neogen® Corporation, 2023) como se muestra en la Figura 18. Con ayuda de un contador de colonias con fondo blanco se procedió a contar las colonias rojas sin importar su tamaño o intensidad del color para después realizar los cálculos de UFC/g aplicando el factor correspondiente a la dilución.

Figura 18: Colonias de aerobios mesófilos en Placas Petrifilm®



*Fuente: (Neogen® Corporation, 2023)*

#### **2.4.6. MÉTODO: AOAC 2018.13. SISTEMA NEOGEN® PETRIFILM® EC**

El método AOAC 2018.13., consta de la placa Petrifilm® EC utilizada para cuantificar coliformes totales y *E. coli* presentes en los alimentos (Latimer, 2023). Estas placas contienen nutrientes del medio bilis rojo violeta (VRB), un indicador de actividad de la glucoronidasa y un indicador tetrazolio para facilitar el recuento de las colonias (Neogen® Corporation, 2024).

En las Placas Petrifilm® EC, *E. coli* se presenta como colonias azules mientras que otras coliformes como colonias rojas, esto debido a la producción de ácido por parte de éstas que oscurecen a un indicador de pH presente en el medio, además de que ambos tipos de colonias poseen burbujas de gas asociadas (Neogen® Corporation, 2023). Todas las colonias azules con burbujas de gas asociadas fueron contadas como positivo para *E. coli*

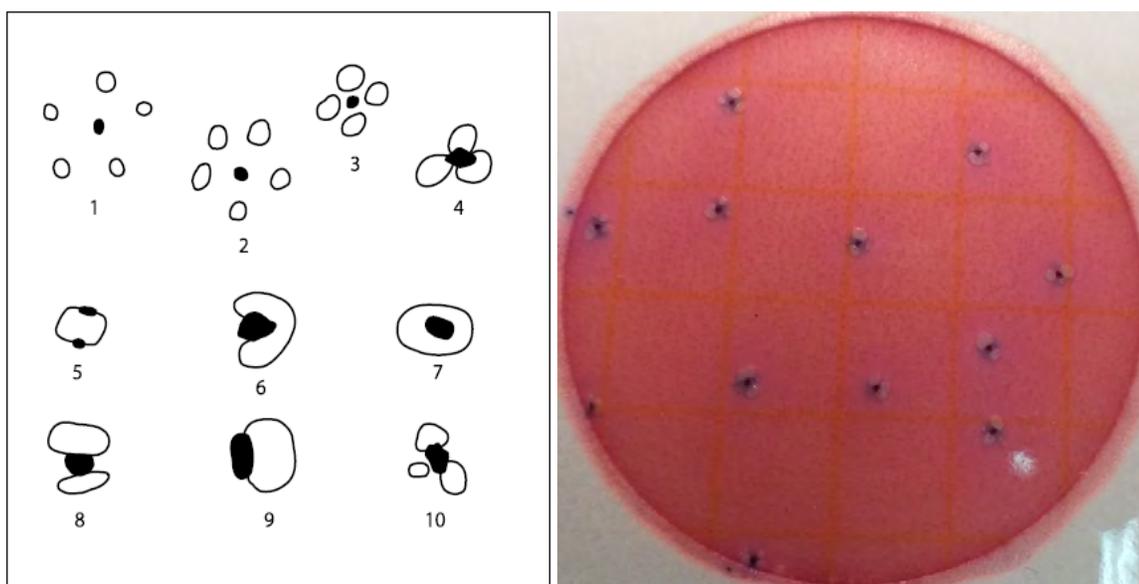
(Tabla 8) sin importar su forma (Figura 19) para después realizar los cálculos de UFC/g aplicando el factor correspondiente a la dilución.

Tabla 8: Interpretación para *E. coli*

Color de la colonia	Burbuja de gas	Resultado
Azul	Presencia	Positivo
Rojo	Presencia o ausencia	Negativo

*Fuente: (Neogen® Corporation, 2023)*

Figura 19: Ejemplos de patrones de burbujas asociadas a colonias



*Fuente: (Neogen® Corporation, 2023)*

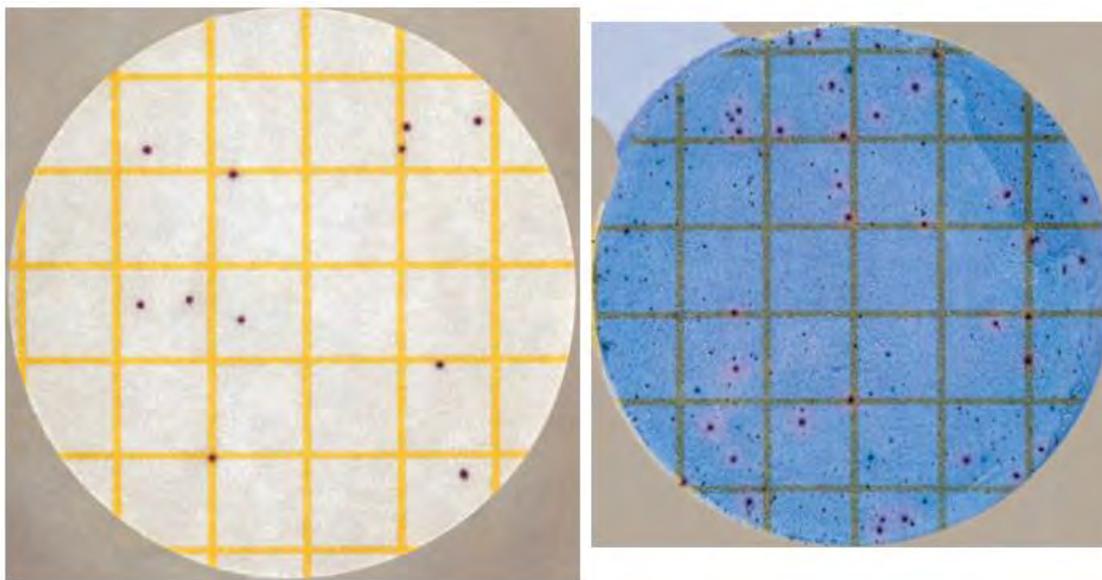
#### 2.4.7. MÉTODO: AOAC 2003.11. SISTEMA NEOGEN® PETRIFILM® *Staph Express*

El método AOAC 2003.11., consta de placas Petrifilm® *Staph Express* y sus discos de confirmación para cuantificar *S. aureus* presentes en los alimentos (Latimer, 2023). Este sistema contiene nutrientes del medio cromogénico *Baird Parker* modificado, así como un disco reactivo con ADN y tinte azul-O toluidina (Neogen® Corporation, 2023).

En las Placas Petrifilm® *Staph Express* las colonias de *S. aureus* se presentan de color rojo-violeta debido a que el medio es selectivo y diferencial para este microorganismo, sin embargo, pueden presentarse también colonias con otra coloración (Neogen® Corporation,

2023). En el caso de que sólo crezcan colonias rojo-violetas, se las cuenta como *S. aureus* positivas sin importar su tamaño; si se presentasen, además de éstas, colonias de otra coloración, se utiliza el disco de confirmación. Para esto, se separa el film superior, se inserta el disco de confirmación y se incuba a 37°C durante 3h; las colonias de *S. aureus* positivas formarán un halo rosado debido a la presencia de azul-O toluidina que evidencia la reacción de la DNasa específica para este microorganismo (Neogen® Corporation, 2024). Se contó todas las colonias de color rojo-violeta y aquellas que formaron halo rosado (en el caso de utilizarse el disco de confirmación) para después realizar los cálculos de UFC/g aplicando el factor correspondiente a la dilución.

Figura 20: Colonias de *S. aureus* en Placas Petrifilm® *Staph Express*



*Fuente:* (Neogen® Corporation, 2023)

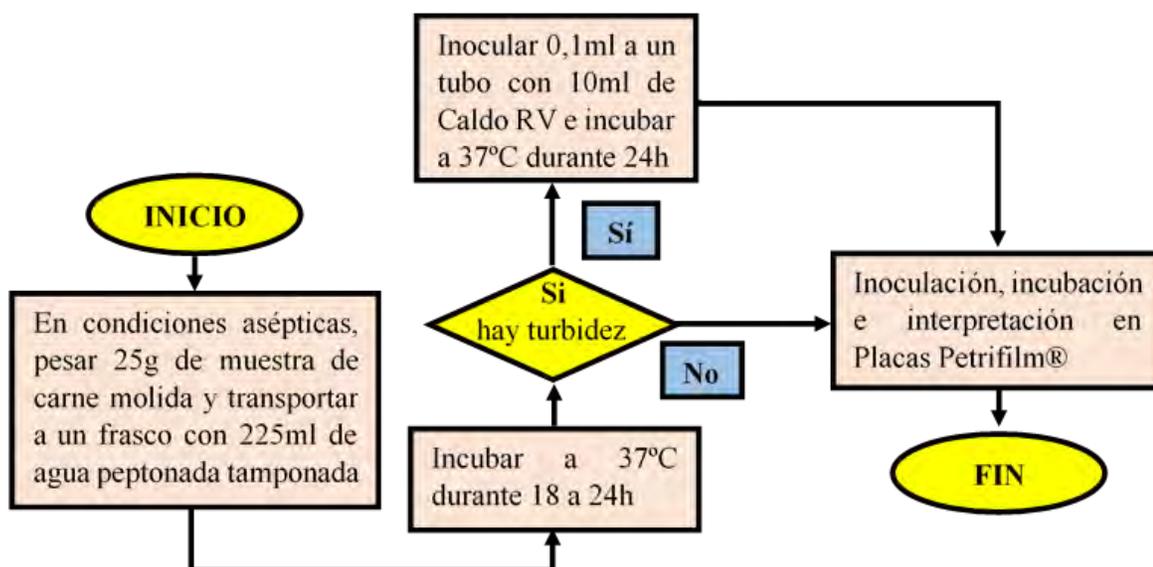
#### **2.4.8. MÉTODO: AOAC 2014.01. SISTEMA NEOGEN® PETRIFILM® *Salmonella Express***

El método AOAC 2014.01., consta de la placa Petrifilm® *Salmonella Express* con su disco de confirmación utilizada para detectar la presencia de *Salmonella* sp. en los alimentos (Latimer, 2023). Se trata de un medio selectivo y diferencial para *Salmonella* proveyendo resultados presuntivos; el disco confirmatorio contiene un sustrato para facilitar la

confirmación bioquímica de todas las especies de *Salmonella* (Neogen® Corporation, 2024).

Para el pre-enriquecimiento, se pesó 25g de muestra en condiciones asépticas que se transportó a un frasco de vidrio con 225ml de agua peptonada tamponada, para después incubar a 37°C durante 24h (DIGESA, 2001); (Merck, 2024) como se muestra en la Figura 21. Una vez se ha realizado el pre-enriquecimiento, el fabricante indica que, de presentarse alta carga bacteriana (turbidez), se trasfiera 0,1ml a 10ml de caldo RV e incubar a 37°C de 8 a 24h; caso contrario, se preparan las placas del sistema Neogen® Petrifilm® *Salmonella Express* (Neogen® Corporation, 2023).

Figura 21: Flujograma de la determinación de presencia para *Salmonella sp.*



En las placas Petrifilm® *Salmonella Express* las colonias de *Salmonella sp.* se presentan como colonias rojas o rojas oscuras, con presencia de gas o sin ella, con zona amarilla o sin ella; para confirmar bioquímicamente se utiliza el disco de confirmación, con lo cual se observarán colonias de color azul-oscuro (Neogen® Corporation, 2023) (Tabla 9).

Tabla 9: Interpretación de especies presuntivas de *Salmonella* sp.

Color de colonia			Metabolismo de la Colonia		Resultado
Rojo	Rojo Oscuro	Marrón	Zona Amarilla	Burbuja de gas	
++	-	-	-	-	Presuntiva +
++	-	-	-	-	Presuntiva +
++	-	-	-	+	Presuntiva +
-	++	-	-	-	Presuntiva +
-	++	-	-	-	Presuntiva +
-	++	-	-	+	Presuntiva +
-	-	++	-	-	Presuntiva +
-	-	++	-	-	Presuntiva +
-	-	+++	-	-	Presuntiva +

*Fuente: (Neogen® Corporation, 2023)*

#### 2.4.9. NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA-V 01

La NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01 es aquella donde se establecen los criterios microbiológicos para la evaluación de la calidad e inocuidad de alimentos y bebidas, teniendo como finalidad garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos destinados a consumo humano, y cuyo cumplimiento es obligatorio en todo el territorio nacional (MINSA, 2008), por lo tanto, todo alimento, para ser considerado apto para el consumo humano, debe cumplir íntegramente con todos los criterios que se establecen para éste.

En este sentido, la norma divide a los alimentos en grupos que a su vez se dividen en subgrupos, esto con la finalidad de establecer los criterios microbiológicos para cada uno según su origen, procesos de elaboración, el grupo consumidor, etc. Dentro de esta clasificación, la carne se encuentra dentro del grupo X denominado como “Carnes y productos cárnicos”, y la carne molida de res dentro del subgrupo X.6 denominado “Carnes crudas picadas y molidas”.

Para las carnes crudas, picadas y molidas, los criterios microbiológicos son: aerobios mesófilos, *E. coli*, *S. aureus*, y *Salmonella* sp. (MINSA, 2008), cuyos límites se detallan en la (Tabla 10).

Tabla 10: Criterios microbiológicos para las carnes crudas picadas y molidas

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	$10^6$	$10^7$
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	$5 \times 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	$10^2$	$10^3$
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---

Fuente: NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA-V 01 (MINSA, 2008)

Según la norma sanitaria, los aerobios mesófilos son clasificados como microorganismos indicadores de alteración, los cuales definen la vida útil y alteración del producto, en este caso, la carne molida de res; por otro lado, *E. coli* es clasificado dentro del grupo de microorganismos indicadores de higiene, los cuales, si bien no son patógenos, están asociados a ellos; por último, *S. aureus* y *Salmonella* sp. son agrupados dentro de los microorganismos patógenos, cuya cantidad condiciona el desarrollo de enfermedades alimentarias (como en el caso de *S. aureus*) o cuya sola presencia ya es un peligro para la salud del consumidor (como en el caso de *Salmonella* sp.) (MINSA, 2008).

#### 2.4.10. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para el tratamiento estadístico se utilizó el *software* IBM® SPSS Statistics® versión 27.0.1.0., mediante el cual se realizó la prueba de Wilcoxon para comparar los resultados del muestreo de la mañana y de la tarde (Anexo 22).

### CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS POR PETRIFILM® EN LAS MUESTRAS DE CARNE MOLIDA

La cuantificación de aerobios mesófilos presentes en las muestras de carne molida en los diferentes puestos de los mercados Ccascaparo (MCC1), Ttio (MTT2), Wanchaq (MWQ3) y Rosaspata (MRS4) se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11: Cuantificación mediante Petrifilm® de aerobios mesófilos en muestras de carne molida de los mercados del Cusco

Muestreo	Mercado	Puesto 1 (UFC/g)	Puesto 2 (UFC/g)	Puesto 3 (UFC/g)	Puesto 4 (UFC/g)	Puesto 5 (UFC/g)
<b>Mañana</b>	MCC1	$12 \times 10^4$	$13 \times 10^4$	$24 \times 10^4$	$40 \times 10^4$	$10 \times 10^4$
	MTT2	$87 \times 10^4$	$96 \times 10^4$	$22 \times 10^4$	$95 \times 10^4$	$74 \times 10^4$
	MWQ3	$96 \times 10^4$	$61 \times 10^4$	$90 \times 10^4$	$95 \times 10^4$	$67 \times 10^4$
	MRS4	$96 \times 10^4$	$99 \times 10^3$	$71 \times 10^3$	$11 \times 10^4$	$99 \times 10^3$
<b>Tarde</b>	MCC1	$11 \times 10^4$	$22 \times 10^4$	$22 \times 10^4$	$40 \times 10^4$	$68 \times 10^3$
	MTT2	$31 \times 10^4$	$44 \times 10^4$	$22 \times 10^4$	$60 \times 10^4$	$62 \times 10^3$
	MWQ3	$71 \times 10^4$	$17 \times 10^5$	$23 \times 10^5$	$18 \times 10^5$	$20 \times 10^5$
	MRS4	$91 \times 10^4$	$29 \times 10^3$	$60 \times 10^3$	$35 \times 10^3$	$35 \times 10^3$

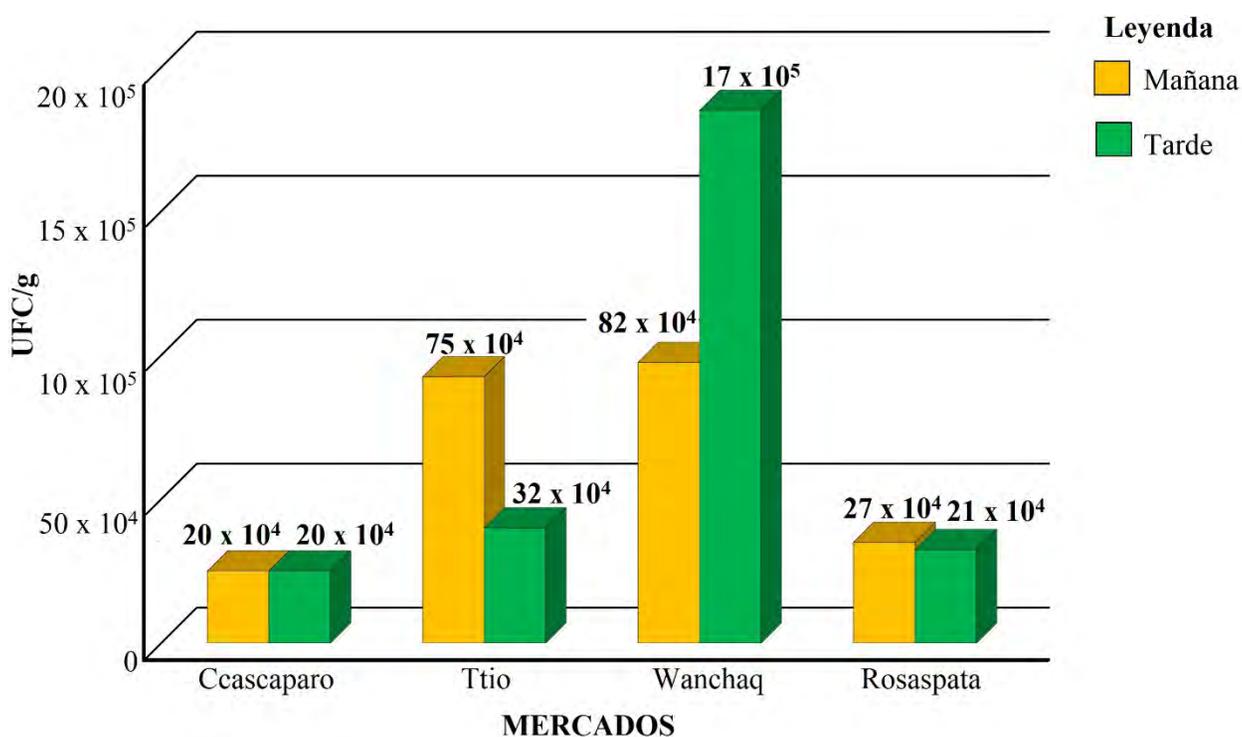
*Nota: (MCC1) = Mercado Casccaparo, (MTT2) = Mercado modelo de Ttio, (MWQ3) = Mercado de Wanchaq, (MRS4) = Mercado Rosaspata*

En la presente tabla se tiene los resultados de aerobios mesófilos de las muestras tomadas durante la mañana y la tarde. En el mercado Casccaparo (MCC1), en los puestos 1, 3 y 5 la cuantificación de aerobios mesófilos de la tarde disminuyó con respecto a la mañana, mientras que en el puesto 2 se incrementó. En el mercado modelo de Ttio (MTT2), en todos los puestos se registró una disminución durante la tarde a excepción del puesto 3 en donde la cuantificación se mantuvo con  $22 \times 10^4$  UFC/g. Por otro lado, en el mercado de Wanchaq (MWQ3), en todos los puestos se observó un incremento en las muestras de la tarde a

excepción del puesto 1. Finalmente, En el mercado Rosaspata (MRS4) se registró una disminución en todas las muestras de los puestos tomadas en la tarde.

Estos cambios son más apreciables al comparar las medias de cada muestreo como se observa en la Figura 22. Tanto el mercado modelo de Ttio como Rosaspata revelan una disminución apreciable en la cuantificación de aerobios, en contraparte del mercado Casccaparo donde casi es imperceptible. Por el contrario, en el mercado Wanchaq se llega a apreciar un gran incremento en la media de las muestras tomadas durante la tarde.

Figura 22: Medias aritméticas para la cuantificación de aerobios mesófilos en muestras de carne de los mercados del Cusco (mañana y tarde)



En el mercado Casccaparo la carne molida era exhibida en vitrinas o sobre mesas, renovándose cada vez que se agotaba, explicando por qué no se nota gran cambio entre las muestras de la mañana y la tarde debido al tiempo que estuvieron expuestas a contaminación. Por otra parte, en los mercados de Ttio, Wanchaq y Rosaspata, la carne molida era procesada en el mismo momento en el que el consumidor hacía el pedido de la cantidad deseada, lo que explicaría el por qué hubo una disminución en la cuantificación

de aerobios mesófilos al tratarse de diferentes piezas molidas; sin embargo, esto no sucedió en el mercado Wanchaq, en donde hubo un incremento significativo, por lo que se puede inferir que la carne recién molida puede haberse mezclado con los restos de otros procesos de molido produciéndose una contaminación cruzada, ya que se observó que aquella carne sobrante era almacenada sobre las mesas (Anexo 19).

Salto *et al.* (2019) en su trabajo de investigación señalan la presencia de aerobios mesófilos como indicador de las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos de venta de carne y de su manipulación durante la comercialización, y al encontrar valores superiores a  $10 \times 10^4$  UFC/g lo atribuyeron a malas condiciones higiénico-sanitarias en que se expendía el producto.

Esto mismo señaló Paz (2023), en cuyo estudio determinó un valor promedio de  $72 \times 10^6$  UFC/g para aerobios mesófilos, concluyendo que podría deberse a la contaminación por falta de higiene en la manipulación de la carne molida.

Por su parte, Moncayo (2019) en su estudio señaló que la presencia elevada de aerobios mesófilos puede indicar que hubieron condiciones favorables para la multiplicación de microorganismos patógenos luego de determinar valores de  $92 \times 10^6$  UFC/g y  $85 \times 10^6$  UFC/g en los mercados Modelo y Central de Iquitos, concluyendo que la carne molida expendida estaría descompuesta, evidenciando un peligro de intoxicación alimentaria.

Finalmente, Farias & Moran (2022), encontraron menor presencia de aerobios mesófilos en carne molida proveniente de supermercados a comparación de los mercados, argumentando que esto podría deberse a que el personal tuvo mayor cuidado a la hora de manipular los alimentos.

### 3.2. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE *Escherichia coli* POR PETRIFILM® EN LAS MUESTRAS DE CARNE MOLIDA

La cuantificación de *E. coli* presente en las muestras de carne molida de los diferentes puestos de los mercados Ccascaparo (MCC1), Ttio (MTT2), Wanchaq (MWQ3) y Rosaspata (MRS4) se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12: Cuantificación mediante Petrifilm® de *Escherichia coli* en muestras de carne molida de los mercados del Cusco

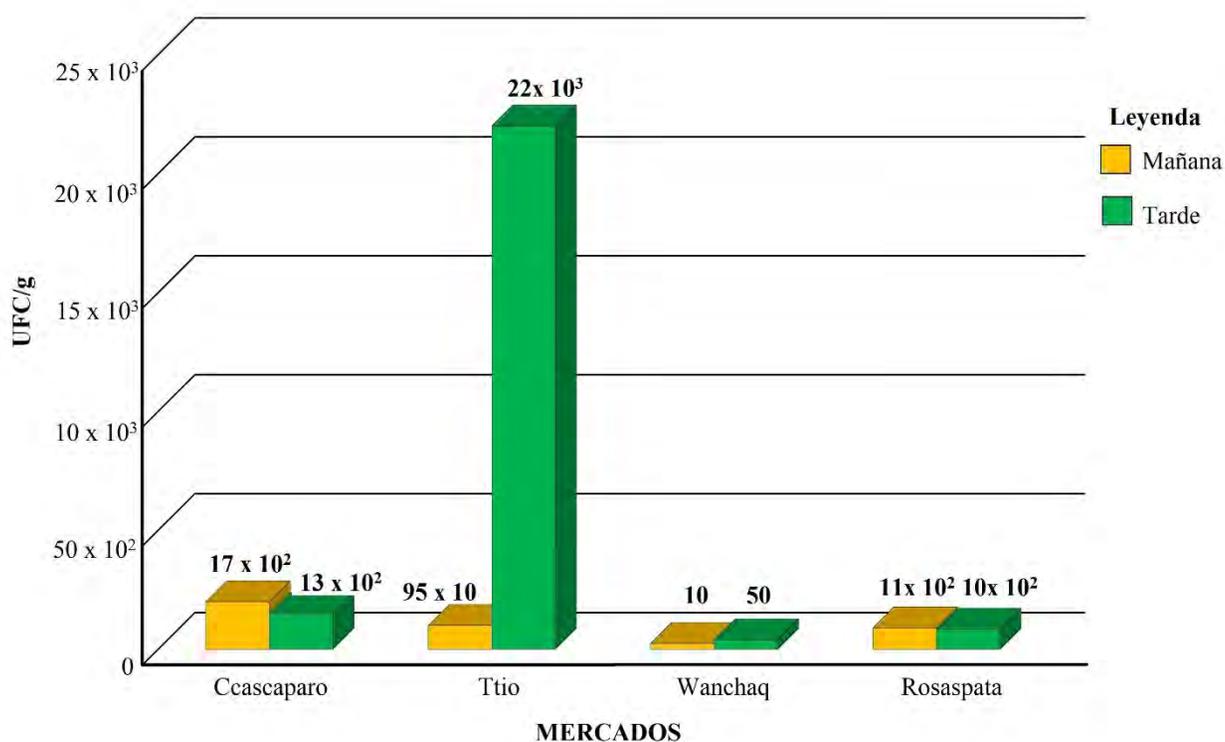
Muestra	Mercado	Puesto 1 (UFC/g)	Puesto 2 (UFC/g)	Puesto 3 (UFC/g)	Puesto 4 (UFC/g)	Puesto 5 (UFC/g)
Mañana	MCC1	50	$33 \times 10^2$	$30 \times 10$	$43 \times 10^2$	$60 \times 10$
	MTT2	$10 \times 10$	$15 \times 10^2$	$65 \times 10$	$18 \times 10^2$	$80 \times 10$
	MWQ3	50	0	0	0	0
	MRS4	$54 \times 10^2$	0	0	0	0
Tarde	MCC1	$20 \times 10$	$19 \times 10^2$	50	$43 \times 10^2$	50
	MTT2	$60 \times 10$	$20 \times 10$	$65 \times 10$	$11 \times 10^4$	$24 \times 10^2$
	MWQ3	0	$10 \times 10$	$10 \times 10$	50	0
	MRS4	$48 \times 10^2$	0	0	$10 \times 10$	$10 \times 10$

Nota: (MCC1) = Mercado Ccascaparo, (MTT2) = Mercado modelo de Ttio, (MWQ3) = Mercado de Wanchaq, (MRS4) = Mercado Rosaspata

En la Tabla 12 se tienen los resultados de la cuantificación de *E. coli* en las muestras de carne molida tomadas durante la mañana y la tarde. Los puestos 2, 3, 4 y 5 de los mercados de Wanchaq (MWQ3) y Rosaspata (MRS4) evidenciaron ausencia de *E. coli* durante la mañana, mientras que, por la tarde, sólo los puestos 1 y 5 del mercado Wanchaq, 2 y 3 del mercado Rosaspata tuvieron este mismo resultado. En el mercado Ccascaparo (MCC1) se observó una disminución en los puestos 2, 3 y 5, mientras que se registró un incremento en el puesto 1. En contraparte, en el mercado de Ttio (MTT2) se observó un incremento en los puestos 1, 4 y 5, especialmente en el puesto 4 en donde se determinó una cuantificación de  $11 \times 10^4$  UFC/g, siendo éste el mayor valor obtenido para *E. coli*.

Al realizar una comparación entre las medias de las muestras tomadas durante la mañana y la tarde, se nota un gran incremento en el mercado de Ttio debido al resultado del puesto 4 obtenido durante la tarde (Figura 23). En el resto de mercados es apreciable una ligera disminución, a excepción del mercado de Wanchaq en donde es indistinguible.

Figura 23: Medias aritméticas para la cuantificación de *Escherichia coli* en muestras de carne molida de los mercados del Cusco (mañana y tarde)



En el mercado modelo de Ttio, si bien la carne era molida en la cantidad que pedía el consumidor, se observó que las piezas de carne eran exhibidas colgadas y sin refrigeración, además de hallar perros merodeando en la zona de expendio de productos cárnicos (Anexo 21). El incremento en la cuantificación de *E. coli* podría deberse a contaminación tanto directa como indirecta con materia fecal, ya que esta enterobacteria tiene como reservorio el tracto intestinal de los animales sacrificados (Ayala, 2018), por lo que la canal puede contaminarse fácilmente si entra en contacto con los intestinos durante el faenamiento.

Por otra parte, la ausencia de *E. coli* en los puestos del mercado de Wanchaq y Rosaspata se podría deber a buenas prácticas a la hora del faenamiento, además, en el mercado Rosaspata se observó que algunos puestos contaban con refrigeradoras de donde se obtenía las piezas de carne para molerlas, sin embargo, también hubo presencia de moscas posadas en los productos cárnicos exhibidos en las mesas (Anexo 20).

Jara (2016) obtuvo un valor promedio de  $32 \times 10^4$  UFC/g en la carne molida expandida en el mercado La Condamine de la ciudad de Riobamba, muy superior al límite establecido por la NTE INEN 1346:2010, atribuyéndolo a condiciones higiénicas deficientes que permiten la contaminación fecal del alimento en las zonas de expendio. En esta misma ciudad, Paz (2023) en su estudio obtuvo un valor promedio de  $24 \times 10^3$  UFC/g para *E. coli* presente en la carne molida del mercado San Alfonso, atribuyéndolo a una falta de control en las condiciones de higiene y sanidad en la zona de expendio.

Así mismo, Moncayo (2019) en su estudio detectó la presencia de *E. coli* en cuatro puestos de los mercados Modelo y Central de Iquitos, donde indica que hubo contaminación fecal existiendo el riesgo de la presencia de otros patógenos entéricos. Del mismo modo, Farias & Moran (2022) hallaron la presencia de *E. coli* en el 42% de los mercados y el 58% de las muestras de supermercados de Guayaquil.

Por su parte, Pérez (2016) encontró un valor promedio de  $20 \times 10^3$  UFC/g para *E. coli* en la carne molida empacada y comercializada en supermercados, concluyendo que la presencia de esta bacteria se debe a contaminación fecal, que sucedió incluso tras el tratamiento térmico, implicando contaminación directa e indirecta producto de deficiencias en las prácticas higiénicas, uso inadecuado de utensilios, manipulación por parte de personal enfermo o carente de higiene personal, uso de carne contaminada, así como las deficiencias registradas en la temperatura de refrigeración.

Además, Saltos *et al.* (2019) en su investigación hallaron valores superiores a  $10 \times 10$  UFC/g para *E. coli*, destacando que estas bacterias tienen su origen en las heces tanto humanas como animales, constatando que no existía lavado de manos por parte del personal expendedor de

carne molida, además de que la carne llegaba previamente contaminada por los procesos de faenamiento de las reses que se desarrollaban en medio de heces y orina de los animales.

En otro estudio, Mora (2023) hizo una distinción entre carne molida económica y premium expandida en el Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica, donde determinó un valor de 62 UFC/g para la carne económica y 57 UFC/g para la carne premium, llegando a la conclusión que no existieron diferencias cuantificables entre ellas; sin embargo, también señala que las piezas utilizadas para la elaboración de la carne molida se encontraban expuestas a superficies y al ambiente, donde los carniceros indicaron que la única diferencia entre la carne premium y económica era que ésta tenía más cantidad de grasa.

Finalmente, Palacios (2018) en su investigación determinó valores de  $92 \times 10$  a  $11 \times 10^2$  UFC/g para *E. coli* concluyendo que, la carne molida al requerir más procesos de transformación para su comercialización, está más expuesta a sufrir mayor grado de contaminación producto de una falta de medidas higiénico-sanitarias en los centros de expendio.

### 3.3. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus* POR PETRIFILM® EN LAS MUESTRAS DE CARNE MOLIDA

La cuantificación de *S. aureus* presentes en las muestras de carne molida en los diferentes puestos de los mercados Casccaparo (MCC1), Ttio (MTT2), Wanchaq (MWQ3) y Rosaspata (MRS4) (Tabla 13).

Tabla 13: Cuantificación mediante Petrifilm® de *Staphylococcus aureus* en muestras de carne molida de los mercados del Cusco

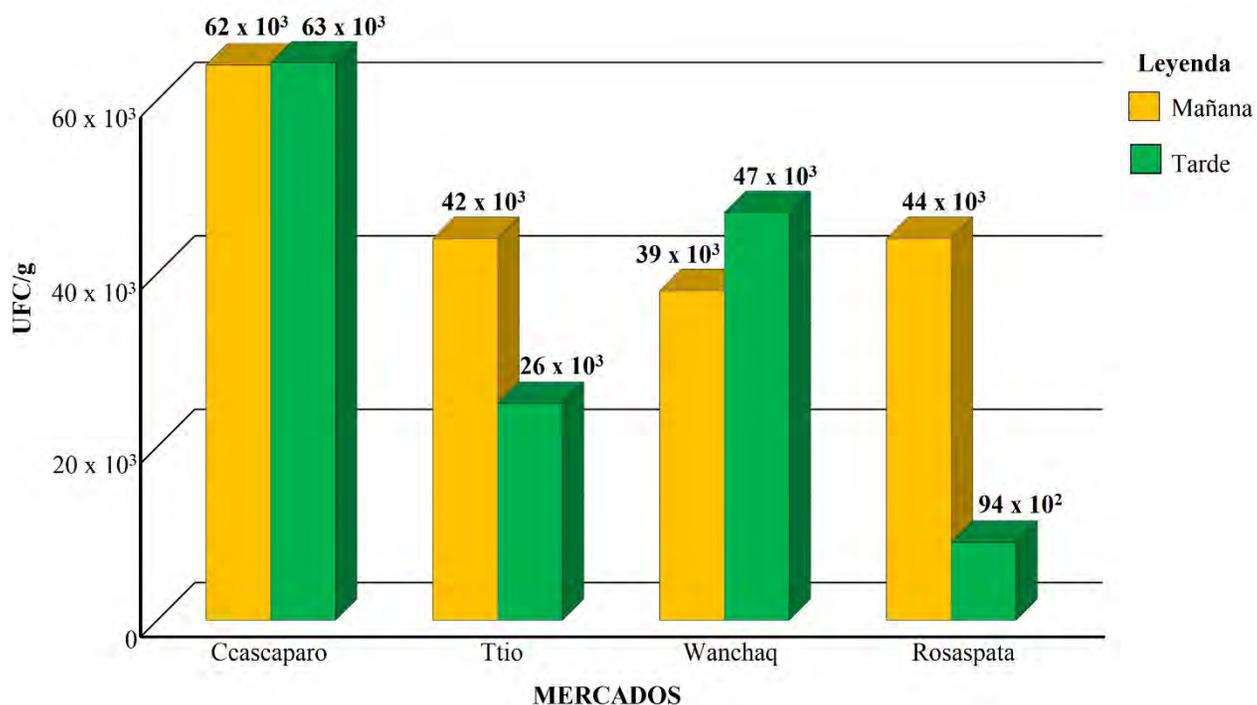
Muestra	Mercado	Puesto 1 (UFC/g)	Puesto 2 (UFC/g)	Puesto 3 (UFC/g)	Puesto 4 (UFC/g)	Puesto 5 (UFC/g)
Mañana	MCC1	$13 \times 10^3$	$55 \times 10^2$	$58 \times 10^3$	$21 \times 10^4$	$31 \times 10^3$
	MTT2	$16 \times 10^3$	$57 \times 10^3$	$60 \times 10^3$	$61 \times 10^3$	$14 \times 10^3$
	MWQ3	$40 \times 10^4$	$40 \times 10^3$	$38 \times 10^3$	$43 \times 10^3$	$33 \times 10^3$
	MRS4	$14 \times 10^4$	$14 \times 10^3$	$17 \times 10^2$	$32 \times 10^3$	$29 \times 10^3$
Tarde	MCC1	$23 \times 10^3$	$48 \times 10^3$	$83 \times 10^3$	$16 \times 10^4$	$34 \times 10^2$
	MTT2	$38 \times 10^3$	$13 \times 10^3$	$30 \times 10^2$	$35 \times 10^3$	$11 \times 10^3$
	MWQ3	$31 \times 10^3$	$39 \times 10^3$	$70 \times 10^3$	$50 \times 10^3$	$47 \times 10^3$
	MRS4	$32 \times 10^3$	$38 \times 10^2$	$40 \times 10$	$56 \times 10^2$	$50 \times 10^2$

Nota: (MCC1) = Mercado Casccaparo, (MTT2) = Mercado modelo de Ttio, (MWQ3) = Mercado de Wanchaq, (MRS4) = Mercado Rosaspata

En la Tabla 13 se muestran los resultados de la cuantificación de *S. aureus* en las muestras de carne molida tomadas durante la mañana y la tarde. En el mercado Casccaparo (MCC1) se registró un incremento en los puestos 1, 2 y 3 mientras que hubo una disminución en los puestos 4 y 5. Lo mismo sucedió para el Mercado de Wanchaq (MWQ3) donde en los puestos 1 y 2 se notó una disminución, y en los puestos 3, 4 y 5 hubo un incremento de la cuantificación de *S. aureus* en las muestras de la tarde. En contraparte, en el mercado Rosaspata (MRS4) se observó una disminución en todos los puestos, mientras que en el mercado modelo de Ttio hubo un incremento solamente en el puesto 1 a diferencia de los puestos 2, 3, 4 y 5 en donde se vio una disminución en la cuantificación de *S. aureus*.

Si se comparan las medias de los resultados obtenidos para *S. aureus* (Figura 24), se observa que apenas existe diferencia entre las muestras tomadas durante la mañana y la tarde en el mercado Casccaparo (MCC1), mientras que en el mercado modelo de Ttio (MTT2) y Rosaspata (MRS4) la disminución es más evidente. Todo lo contrario sucede en el mercado de Wanchaq (MWQ3), donde se nota claramente un incremento en la cuantificación de *S. aureus* en las muestras de la tarde.

Figura 24: Gráfico de barras de medias aritméticas para cuantificación de *Staphylococcus aureus* en muestras de carne molida de los mercados del Cusco (mañana y tarde)



En todos los mercados, el personal expendedor recibía el dinero para inmediatamente después manipular los alimentos sin lavarse las manos, además, objetos de uso personal, como celulares o libretas, estuvieron presentes en el mismo ambiente en donde se realizaban los cortes de los productos cárnicos (Anexo 18), claramente incumpliendo con la NTS N°205 MINSA/DIGESA-2023 en donde se señala que el personal manipulador de alimentos debe contar con el cabello recogido y cubierto por un gorro, utilizar mandil e indumentaria exclusivamente para el expendio de alimentos, así como evitar llevar objetos de uso personal tales como lapiceros o celulares durante la manipulación de los alimentos (MINSA, 2023).

Esto puede ser una de las principales fuentes de contaminación por *S. aureus* ya que existe la posibilidad de que las personas puedan convertirse en portadores sanos, al menos una vez en la vida, teniendo como hábitat primario la mucosa nasal de donde es capaz de migrar a la piel (Lakhundi & Zhang, 2018); (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014). En este sentido, tanto vendedores como compradores de la carne molida podrían ser portadores llegando a contaminar el alimento producto de la contaminación cruzada debido a las malas prácticas de higiene.

Saltos *et al.* (2019) en su estudio determinaron valores superiores a  $10 \times 10^2$  UFC/g para *S. aureus* en el 28% y 88% de sus muestreos, indicando que, si bien esta bacteria se encuentra en el ambiente y superficie donde se procesa la carne, su principal reservorio son la piel, el cabello, fosas nasales y garganta, llegando hasta la carne por medio de la contaminación cruzada producto de las malas prácticas de higiene del personal, como carencia de guantes a la hora del expendio o falta de limpieza de las tablas de picado.

Por otro lado, Jara (2016) en su investigación obtuvo un valor promedio de  $47 \times 10^4$  UFC/g para *S. aureus* presentes en la carne molida, señalando que su contaminación surge en la nariz, heridas, lesiones y garganta de los manipuladores de alimentos los cuales favorecen la contaminación cruzada.

Mientras tanto, Farias & Moran (2022) determinaron la presencia de *S. aureus* en el 50% de sus muestras, con valores entre  $20 \times 10$  a  $25 \times 10^2$  UFC en supermercados y  $10 \times 10$  a  $40 \times 10$  UFC/g en mercados, aunque no explican el posible origen de la contaminación, al igual que Mora (2023) que obtuvo una media de  $40 \times 10$  UFC/g en la carne económica y  $43 \times 10$  en la carne premium del mercado municipal de Alajuela, Costa Rica.

Del mismo modo, Paz (2023) en su investigación en el mercado San Alfonso, determinó un valor promedio de  $37 \times 10^4$  UFC/g para *S. aureus* presente en la carne molida, indicando que podría deberse a inadecuadas prácticas de higiene, mala manipulación y deficiente conservación de la carne a lo largo de la cadena alimentaria.

Finalmente, Moncayo (2019) en la investigación a la carne molida expendida en los mercados Modelo y Central de Iquitos no logró identificar *S. aureus*, señalando que, si bien determinó la presencia de *Staphylococcus coagulasa* negativos, la norma sanitaria no indica los límites permisibles de éstos en la carne molida.

### 3.4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* sp. POR PETRIFILM® EN LAS MUESTRAS DE CARNE MOLIDA

La determinación de la presencia de *Salmonella* sp. de las muestras de carne molida expendida en los diferentes puestos de los mercados Casccaparo (MCC1), Ttio (MTT2), Wanchaq (MWQ3) y Rosaspata (MRS4) (Tabla 14).

Tabla 14: Determinación de la presencia de *Salmonella* sp. mediante Petrifilm® en muestras de carne molida de los mercados del Cusco

Muestra	Mercado	Puesto 1 (Presencia)	Puesto 2 (Presencia)	Puesto 3 (Presencia)	Puesto 4 (Presencia)	Puesto 5 (Presencia)
Mañana	MCC1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	MTT2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	MWQ3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	MRS4	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Tarde	MCC1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	MTT2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	MWQ3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	MRS4	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Nota: (MCC1) = Mercado Casccaparo, (MTT2) = Mercado modelo de Ttio, (MWQ3) = Mercado de Wanchaq, (MRS4) = Mercado Rosaspata

Como se observa en la presente tabla, no se encontró la presencia de *Salmonella* sp. reportando como “ausencia” en todos los mercados. Estos resultados podrían deberse a que la carne molida expendida no llegó a contaminarse con materia fecal de otros animales infectados, ya que la principal fuente de contaminación de los alimentos por *Salmonella* sp. es el contacto con agua o material contaminado con heces de estos animales, siendo las

moscas un importante vehículo de contaminación debido a que suelen posarse en las heces y en los alimentos expuestos atraídas por el olor de la carne (Alfaro, 2018); (Araujo, 2018); (Gut, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2018).

En contraste, la investigación realizada por Jara (2016) determinó la presencia de *Salmonella* sp. en el 73,33% de las muestras atribuyéndolo a malas prácticas durante la manipulación. En contraparte, Farias & Moran (2022) hallaron la presencia de *Salmonella* sp. en un 25% de las muestras analizadas mas no explicaron el posible origen de la contaminación.

Por su parte, Pérez (2016) en su investigación a la carne molida empaquetada en los supermercados de Guatemala determinó presencia de *Salmonella* sp. en el 16% de sus muestras, señalando que se debe evitar el consumo de este producto a término medio, sometiéndola a cocción por encima de 70°C durante al menos 10 minutos para eliminar al patógeno por completo.

Mientras tanto, Saltos *et al.* (2019) encontraron presencia de *Salmonella* sp. en el 52% de las muestras, concluyendo que la propagación de este patógeno se debió a la poca distancia entre los centros de expendio y las fuentes de contaminación como botaderos de basura, desperdicios de carnes y pescado, presencia de moscas y manipulación simultánea de dinero y carnes.

Del mismo modo, en su estudio, Paz (2023) reportó presencia de *Salmonella* sp. en el 57,14% de las muestras analizadas indicando que la transmisión de esta bacteria de individuo a individuo es poco frecuente debido a que el 97% de las infecciones están relacionadas por el consumo de alimento contaminado.

Finalmente, Moncayo (2019) en su estudio determinó la presencia en dos muestras provenientes del mercado Central de Iquitos, indicando que la contaminación pudo deberse a la inadecuada manipulación del alimento desde el lugar de faenamiento hasta el centro de acopio.

### 3.5. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRIMERA Y SEGUNDA TOMA DE MUESTRA DE LA CARNE MOLIDA

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el *software* IBM® SPSS Statistics® versión 27.0.1.0. Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de la cuantificación de aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus* de las tomas de muestra de carne molida en la mañana y tarde, se utilizó la prueba de Wilcoxon (Tabla 15). Para ello, se planteó las siguientes hipótesis:

$H_0$ : los resultados de las muestras en la mañana son similares a las de la tarde

$H_a$ : los resultados de las muestras en la mañana son diferentes a las de la tarde

El criterio de decisión indica que, si  $p < 0,05$  entonces, se rechaza la hipótesis nula concluyéndose que existen diferencias significativas entre ambas tomas de muestra.

Tabla 15: Prueba de Wilcoxon aplicada a los resultados de aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus* obtenidos en muestras de carne molida de los mercados del Cusco

Agente microbiano	Mercado	p-valor
Aerobios mesófilos	MCC1	0,715
	MTT2	<b>0,043</b>
	MWQ3	<b>0,048</b>
	MRS4	<b>0,043</b>
<i>E. coli</i>	MCC1	0,144
	MTT2	0,273
	MWQ3	0,194
	MRS4	1,000
<i>S. aureus</i>	MCC1	0,893
	MTT2	0,138
	MWQ3	0,345
	MRS4	<b>0,043</b>

Nota: (MCC1) = Mercado Cascaparo, (MTT2) = Mercado modelo de Ttio, (MWQ3) = Mercado de Wanchaq, (MRS4) = Mercado Rosaspata

En la Tabla 15 se observa el resultado de la prueba de Wilcoxon. En la cuantificación de aerobios mesófilos, los mercados Ttio (MTT2), Wanchaq (MWQ3) y Rosaspata (MRS4) evidenciaron diferencia significativa entre los muestreos de la mañana y la tarde. Para los resultados de *E. coli*, todas las muestras de la mañana fueron similares a las de la tarde. Finalmente, para los resultados de *S. aureus*, el mercado Rosaspata (MRS4) presentó diferencia significativa entre los muestreos de la mañana y la tarde.

Como ya se mencionó, en el mercado Casccaparo (MCC1) la carne molida era exhibida en vitrinas y sobre las mesas de los puestos de expendio, exponiéndose a contaminación a lo largo del día, por lo que no hubo variación en los resultados de los indicadores bacterianos a excepción de *E. coli*, en donde se registró una disminución en la cuantificación, posiblemente debido a la renovación del producto conforme éste se iba vendiendo.

Por el contrario, en todos los demás mercados la carne era molida inmediatamente después de la solicitud del consumidor en la cantidad indicada. Sin embargo, los restos sobrantes del proceso eran almacenados sobre las mesas para futuras ventas, lo que explicaría sobre todo el incremento de aerobios mesófilos en el mercado Wanchaq, posiblemente debido a que la carne recién molida se mezclaba con aquella ya procesada.

Jara (2016) realizó tres muestreos en el mercado La Condamine, a los cuales sometió a ANOVA para verificar si existían diferencias significativas entre ellos, determinando que hubo diferencias cuantificable únicamente para *E. coli* mas no para *S. aureus* y *Salmonella* sp.

Por su parte, Mora (2023) hizo una distinción entre carne molida económica y premium, utilizando ANOVA para comprobar si existían diferencias dentro de cada categoría, así como la prueba t de Student por muestra con la finalidad de probar la variabilidad de en ambas categorías, determinando que no existió diferencia significativa entre ambos tipos de carne en los resultados de la cuantificación de *S. aureus* y *E. coli*.

Así mismo, Paz (2023) utilizó ANOVA para comprobar si existía variabilidad significativa entre sus muestreos, determinando que hubo diferencia en la cuantificación de aerobios mesófilos y *E. coli*, mas no en *S. aureus* y *Salmonella*.

### **3.6. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE AEROBIO MESÓFILOS, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* Y DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* sp. EN CARNE MOLIDA CON LA NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA-V 01**

Los resultados de la cuantificación de aerobios mesófilos, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp. de cada mercado fueron comparados con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01.

Al comparar los resultados obtenidos del análisis microbiológico de las muestras de carne molida de Casccaparo con la norma sanitaria, se determinó que todos los puestos se mantuvieron dentro de los límites establecidos para aerobios mesófilos y *Salmonella* sp. Sin embargo, para *E. coli* solamente un puesto estuvo dentro del límite establecido durante la mañana y dos puestos durante la tarde. Sin embargo, todos los puestos sobrepasaron el límite para *S. aureus* (Tabla 16).

Tabla 16: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. en muestras de carne molida del mercado Ccascaparo con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01

Puesto	Aerobios mesófilos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	Resultado
	m = 10 <sup>6</sup> (UFC/g)	m = 50 (UFC/g)	m = 10 <sup>2</sup> (UFC/g)	m = Ausencia/25g	
<b>1 (M)</b>	12×10 <sup>4</sup>	50	13×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>2 (M)</b>	13×10 <sup>4</sup>	33×10 <sup>2</sup>	55×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>3 (M)</b>	24×10 <sup>4</sup>	30×10	58×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>4 (M)</b>	40×10 <sup>4</sup>	43×10 <sup>2</sup>	21×10 <sup>4</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>5 (M)</b>	10×10 <sup>4</sup>	60×10	31×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>1 (T)</b>	11×10 <sup>4</sup>	20×10	23×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>2 (T)</b>	22×10 <sup>4</sup>	19×10 <sup>2</sup>	48×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>3 (T)</b>	22×10 <sup>4</sup>	50	83×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>4 (T)</b>	40×10 <sup>4</sup>	43×10 <sup>2</sup>	16×10 <sup>4</sup>	Ausencia	Rechazable
<b>5 (T)</b>	68×10 <sup>3</sup>	50	34×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable

Nota: (M) = mañana y (T) = tarde

En la Tabla 16 se muestran los resultados del muestreo en el mercado Casccaparo. Según los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01, para aerobios mesófilos, todos los puestos cumplieron con el límite establecido de “m”, siendo hasta 10<sup>6</sup> UFC/g lo permitido. Para *E. coli*, sólo un puesto en la mañana y dos puestos en la tarde cumplieron con el límite establecido de “m”, siendo hasta 50 UFC/g lo permitido. Para *S. aureus*, todas las muestras sobrepasaron el límite de “m” siendo hasta 10<sup>2</sup> UFC/g lo permitido; mientras que, para *Salmonella* sp., ningún puesto evidenció presencia. Es por ello que ninguna muestra proveniente del mercado Casccaparo cumplió con los criterios microbiológicos de la norma sanitaria (MINSA, 2008).

Así mismo, al comparar los resultados obtenidos del análisis microbiológico de carne molida proveniente del mercado modelo de Ttio con la norma sanitaria, se revela que, para la cuantificación de aerobios mesófilos y determinación de la presencia de *Salmonella* sp., no se superaron los límites establecidos tanto en la mañana como en la tarde, a diferencia

del *E. coli* y *S. aureus*, cuya cuantificación sobrepasó los valores permitidos en todos los puestos (Tabla 17).

Tabla 17: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. en muestras de carne molida del mercado modelo de Ttio con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01

Puesto	Aerobios mesófilos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	Resultado
	m = 10 <sup>6</sup> (UFC/g)	m = 50 (UFC/g)	m = 10 <sup>2</sup> (UFC/g)	m = Ausencia/25g	
1 (M)	87×10 <sup>4</sup>	10×10	16×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
2 (M)	96×10 <sup>4</sup>	15×10 <sup>2</sup>	57×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
3 (M)	22×10 <sup>4</sup>	65×10	60×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
4 (M)	95×10 <sup>4</sup>	18×10 <sup>2</sup>	61×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
5 (M)	74×10 <sup>4</sup>	80×10	14×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
1 (T)	31×10 <sup>4</sup>	60×10	38×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
2 (T)	44×10 <sup>4</sup>	20×10	13×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
3 (T)	22×10 <sup>4</sup>	65×10	30×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable
4 (T)	60×10 <sup>4</sup>	11×10 <sup>4</sup>	35×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
5 (T)	62×10 <sup>3</sup>	24×10 <sup>2</sup>	11×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable

Nota: (M) = mañana y (T) = tarde.

En la Tabla 17 se observa los resultados del muestreo en el mercado modelo de Ttio. Según los criterios microbiológicos de la norma NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01, en aerobios mesófilos, todos los puestos, tanto en la mañana como en la tarde, no sobrepasaron el límite de 10<sup>6</sup> UFC/g. De la misma manera, para *E. coli*, todos los puestos en la mañana no sobrepasaron el límite de 50 UFC/g, sin embargo, durante la tarde, un puesto cumplió con este límite. Para *S. aureus*, ningún puesto se mantuvo por debajo de 10<sup>2</sup> UFC/g, mientras que, para *Salmonella* sp., la totalidad de los puestos cumplió con el criterio microbiológico. Por lo tanto, ninguna muestra proveniente del mercado modelo de Ttio cumplió con los criterios microbiológicos de la norma sanitaria (MINSA, 2008).

Por otra parte, los resultados de la cuantificación de aerobios mesófilos, *E. coli* y determinación de la presencia de *Salmonella* sp., al ser comparados con la norma sanitaria, se mantuvieron dentro de los valores permitidos, todo lo contrario a *S. aureus*, en donde se observó que ningún puesto estuvo dentro del límite establecido (Tabla 18).

Tabla 18: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. en muestras de carne molida del mercado de Wanchaq con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01

Puesto	Aerobios mesófilos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	Resultado
	m = 10 <sup>6</sup> (UFC/g)	m = 50 (UFC/g)	m = 10 <sup>2</sup> (UFC/g)	m = Ausencia/25g	
1 (M)	96×10 <sup>4</sup>	50	40×10 <sup>4</sup>	Ausencia	Rechazable
2 (M)	61×10 <sup>4</sup>	Ausencia	40×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
3 (M)	90×10 <sup>4</sup>	Ausencia	38×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
4 (M)	95×10 <sup>4</sup>	Ausencia	43×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
5 (M)	67×10 <sup>4</sup>	Ausencia	33×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
1 (T)	71×10 <sup>4</sup>	Ausencia	31×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
2 (T)	17×10 <sup>5</sup>	10×10	39×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
3 (T)	23×10 <sup>5</sup>	10×10	70×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
4 (T)	18×10 <sup>5</sup>	Ausencia	50×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
5 (T)	20×10 <sup>5</sup>	Ausencia	47×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable

Nota: (M) = mañana y (T) = tarde.

En la Tabla 18 se tienen los resultados del muestreo en el mercado de Wanchaq. Según los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01, en aerobios mesófilos, todos los puestos durante la mañana no sobrepasaron el límite de 10<sup>6</sup> UFC/g. Por otro lado, para *E. coli*, todos los puestos durante la mañana no sobrepasaron el límite de 50 UFC/g, mientras que, en la tarde, tres puestos cumplieron con este límite. Para *S. aureus*, la totalidad de los puestos sobrepasaron el límite de 10<sup>2</sup> UFC/g, mientras que, para *Salmonella* sp., ninguno evidenció presencia. De esta manera, ninguna muestra proveniente del mercado de Wanchaq cumplió con los criterios microbiológicos de la norma sanitaria (MINSA, 2008).

Finalmente, se compararon los resultados obtenidos del análisis microbiológico de la carne molida proveniente del mercado Rosaspata con la norma sanitaria, determinando que solamente en la cuantificación de *E. coli* hubo una variación en el cumplimiento de los límites establecidos a lo largo del día, mientras que en el resto de criterios se mantuvieron en la misma condición (Tabla 19).

Tabla 19: Comparación de los resultados de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. en muestras de carne molida del mercado Rosaspata con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01

Puesto	Aerobios mesófilos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	Resultado
	m = 10 <sup>6</sup> (UFC/g)	m = 50 (UFC/g)	m = 10 <sup>2</sup> (UFC/g)	m = Ausencia/25g	
1 (M)	96×10 <sup>4</sup>	54×10 <sup>2</sup>	14×10 <sup>4</sup>	Ausencia	Rechazable
2 (M)	99×10 <sup>3</sup>	Ausencia	14×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
3 (M)	71×10 <sup>3</sup>	Ausencia	17×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable
4 (M)	11×10 <sup>4</sup>	Ausencia	32×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
5 (M)	99×10 <sup>3</sup>	Ausencia	29×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
1 (T)	91×10 <sup>4</sup>	48×10 <sup>2</sup>	32×10 <sup>3</sup>	Ausencia	Rechazable
2 (T)	29×10 <sup>3</sup>	Ausencia	38×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable
3 (T)	60×10 <sup>3</sup>	Ausencia	40×10	Ausencia	Rechazable
4 (T)	35×10 <sup>3</sup>	10×10	56×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable
5 (T)	35×10 <sup>3</sup>	10×10	50×10 <sup>2</sup>	Ausencia	Rechazable

Nota: (M) = mañana y (T) = tarde.

En la Tabla 19 se presentan los resultados del muestreo en el mercado Rosaspata. Según los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01, para aerobios mesófilos, todos los puestos no sobrepasaron el límite de 10<sup>6</sup> UFC/g. Para *E. coli*, cuatro puestos durante la mañana, y dos puestos durante la tarde, no sobrepasaron el límite de 50 UFC/g. Para *S. aureus*, todas las muestras sobrepasaron el límite de 10<sup>2</sup> UFC/g, mientras que, para *Salmonella* sp., no se evidenció presencia de este patógeno. En este sentido, ninguna muestra proveniente del mercado Rosaspata cumplió con los criterios microbiológicos de la norma sanitaria (MINSA, 2008).

Jara (2016) en su trabajo de investigación de la carne molida expandida en el mercado La Condamine, Ecuador, comparó el promedio de la cuantificación de *E. coli* y *S. aureus*, así como los resultados de la investigación de *Salmonella* sp. con la NTE INEN 1346:2010, determinando que el 100% de las muestras excedían el límite establecido para *E. coli*, el 89% para *S. aureus* y el 71,3% para *Salmonella* sp., concluyendo que ninguna muestra cumplió con la norma sanitaria ecuatoriana además de ser una fuente de transmisión de ETA.

Por otro lado, Pérez (2016) comparó los resultados de cinco supermercados que expendían carne molida empaquetada en Guatemala con el RTCA 67.04.50:08, determinando que todas las muestras excedieron el límite que señalaba dicho reglamento, mientras que en dos supermercados se encontró la presencia de *Salmonella* sp., representando el 16% del total de las muestras, concluyendo que ninguna cumplió con los criterios microbiológicos, careciendo de calidad e inocuidad.

Del mismo modo, Saltos *et al.* (2019) compararon los resultados obtenidos al evaluar puestos de expendio de la ciudad de Calceta, Ecuador, con la NTE INEN 1338:2010 y la norma peruana RM 615-2003 SA/DM, determinando que apenas el 16% de las muestras analizadas se encontraron dentro del límite establecido para aerobios mesófilos, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.

También, Farias & Moran (2022) evaluaron mercados y supermercados en Guayaquil y compararon sus resultados con la NTE INEN 1346:2016, determinando que el 57% de los supermercados estuvieron dentro del límite establecido para aerobios mesófilos, mientras que todas las muestras provenientes de los mercados excedieron dicho límite; para *E. coli*, el 14% de los supermercados se mantuvieron dentro del límite, a excepción de los mercados, donde sobrepasó el límite máximo permisible (M); para *S. aureus*, el 42% de los supermercados y el 80% de los mercados estuvieron dentro de los límites establecidos; mientras que se encontró la presencia de *Salmonella* sp. en el 71% de los supermercados y en el 80% de los mercados, concluyendo que ninguna muestra cumplió con los criterios microbiológicos.

Así mismo, Mora (2023) hizo una distinción entre carne molida premium y económica en el mercado de Alajuela, Costa Rica, comparando sus resultados con el RTCA 67.04.50:17, determinando que no existieron diferencias entre ambos productos salvo en la cantidad de grasa de las materias primas, además de que todas las muestras incumplieron con el reglamento.

Por otra parte, Paz (2023) comparó los promedios de la cuantificación de aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*, obtenidos de carne molida expendida en el mercado San Alfonso, Ecuador, con la NTE INE 1346:2010, determinando que todos excedieron los límites establecidos, además de hallar la presencia de *Salmonella* sp. en el 57,14% de las muestras, concluyendo que ninguna cumplió con los criterios microbiológicos.

Igualmente, Palacios (2018) determinó que todas las muestras de carne molida provenientes del Mercado Modelo de Piura sobrepasaron el límite de 50 UFC/g para *E. coli* establecido por la norma NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01; además, también evaluó las condiciones higienico-sanitarias de los puestos de expendio, llegando a la conclusión de que se tenía una relación inversa con la cuantificación de *E. coli*, es decir, mientras menos condiciones higiénico-sanitarias se cumplieron, mayor fue la cuantificación de este microorganismo.

Finalmente, Moncayo (2019) comparó los resultados del análisis microbiológico realizado a muestras de carne molida de los mercados Modelo y Central de Iquitos con la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01, determinando que el 18,75% de las muestras en el mercado Modelo y el 6,5% de las muestras del mercado Central estuvieron dentro del límite establecido para aerobios mesófilos; hubo presencia de *E. coli* en el 25% de las muestras del mercado Modelo y en el 12,5% de las muestras del mercado Central; ausencia de *Staphylococcus* coagulasa positivo en todas las muestras, así como ausencia de *Salmonella* sp. en el mercado Modelo y presencia en el 12,5% de las muestras del mercado Central, concluyendo que algunas muestras no fueron aptas para el consumo humano.

Al señalar en reiteradas ocasiones las malas condiciones higiénicas y sanitarias en la elaboración, almacenamiento y expendio de la carne molida por los investigadores, se revela que en estos países, al igual que en el Perú, las prácticas de manipulación e higiene de los productos cárnicos no son lo suficientemente satisfactorias, favoreciendo la contaminación bacteriana y la propagación de ETA, un problema recurrente en los países en vías de desarrollo (Bhunja, 2018).

## CONCLUSIONES

1. La carne molida expandida en los mercados del Cusco, mercado Casccaparo, Ttio, Wanchaq y Rosaspata, evidenció presencia de aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
2. En la cuantificación de aerobios mesófilos por Petrifilm® en carne molida, en el mercado Casccaparo se obtuvo valores de  $10 \times 10^4$  a  $40 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $68 \times 10^3$  a  $40 \times 10^4$  UFC/g (tarde). En el mercado modelo de Ttio, valores de  $22 \times 10^4$  a  $96 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $62 \times 10^3$  a  $60 \times 10^4$  UFC/g (tarde). En el mercado de Wanchaq  $61 \times 10^4$  a  $96 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $71 \times 10^4$  a  $20 \times 10^5$  UFC/g (tarde). Por último, en el mercado Rosaspata  $71 \times 10^3$  a  $96 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $29 \times 10^3$  a  $91 \times 10^4$  UFC/g (tarde).
3. En la cuantificación de *E. coli* por Petrifilm® en carne molida, en el mercado Ccascaparo se obtuvo valores de 50 a  $43 \times 10^2$  UFC/g (tanto en la mañana como en la tarde). En el mercado modelo de Ttio valores de  $10 \times 10$  a  $18 \times 10^2$  UFC/g (mañana) y  $20 \times 10$  a  $11 \times 10^4$  UFC/g (tarde). Ausencia en los puestos 2, 3, 4 y 5 (mañana), así como en los puestos 1 y 5 (tarde) en el mercado de Wanchaq. Y ausencia en los puestos 2, 3, 4 y 5 (mañana) así como en los puestos 2 y 3 (tarde) en el mercado Rosaspata.
4. En la cuantificación de *S. aureus* por Petrifilm® en carne molida, en el mercado Ccascaparo se obtuvo valores de  $55 \times 10^2$  a  $21 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $34 \times 10^2$  a  $16 \times 10^4$  UFC/g (tarde). En el mercado modelo de Ttio, valores de  $14 \times 10^3$  a  $61 \times 10^3$  UFC/g (mañana) y  $30 \times 10^2$  a  $38 \times 10^3$  UFC/g (tarde). En el mercado de Wanchaq,  $33 \times 10^3$  a  $40 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $31 \times 10^3$  a  $70 \times 10^3$  UFC/g (tarde). Por último, en el mercado Rosaspata,  $17 \times 10^2$  a  $14 \times 10^4$  UFC/g (mañana) y  $40 \times 10$  a  $32 \times 10^3$  UFC/g (tarde).
5. En la determinación de la presencia de *Salmonella* sp. por Petrifilm® en la carne molida, hubo ausencia en todas las muestras de los cuatro mercados.

6. Se evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de las muestras tomadas durante la mañana y la tarde para la cuantificación de aerobios mesófilos en los mercados Ttio, Wanchaq y Rosaspata, y para *S. aureus* sólo en el mercado Rosaspata.
7. Ninguna muestra de carne molida expandida en los cuatro mercados del Cusco cumplieron con los criterios microbiológicos de la NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01.

## SUGERENCIAS

1. Realizar más estudios para la vigilancia sanitaria de otros productos cárnicos expendidos en los mercados de la ciudad de Cusco a fin de determinar si éstos también sobrepasan los límites establecidos por la Norma Sanitaria (NTS N°71-2008 MINSA/DIGESA-V 01).
2. Proponer a los municipios el mejoramiento de las instalaciones de expendio y venta de productos alimenticios para reducir los riesgos de contaminación.
3. Concientizar al personal que trabaja en la venta de carne en los mercados cusqueños sobre las buenas prácticas de manipulación e higiene para evitar futuros brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).
4. Recomendar al consumidor siempre acudir a puestos de venta que muestren buenas prácticas de higiene, así como preparar los alimentos debidamente lavados y cocidos.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Ahmad, R., Imran, A., & Hussain, M. (2018). *Meat Science and Nutrition*. Londres: IntechOpen.  
Obtenido de [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=Si-RDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA61&dq=chemical+composition+of+meat&ots=QtPKZhOBuu&sig=O\\_azk5xRbJxRgG\\_FylQ9D6J1-2U#v=onepage&q=chemical%20composition%20of%20meat&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=Si-RDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA61&dq=chemical+composition+of+meat&ots=QtPKZhOBuu&sig=O_azk5xRbJxRgG_FylQ9D6J1-2U#v=onepage&q=chemical%20composition%20of%20meat&f=false)
- Alfaro, R. (2018). Aspectos relevantes sobre *Salmonella* sp en humanos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 34(3), 111. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubmedgenint/cmi-2018/cmi1831.pdf>
- Amazará, E., & Quintero, Y. (2022). *Microbiología de alimentos recuento de los microorganismos aerobios mesófilos*. Obtenido de ResearchGate: <https://www.researchgate.net/publication/361449495>
- Araujo, Á. (2018). Presencia de *Salmonella* spp en expendios de carne de pollo de la ciudad de Valledupar. *Documentos de Trabajo ECAPMA*, 2(1). Obtenido de <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/workpaper/article/view/2777/2863>
- Ayala, C. (2018). Importancia nutricional de la carne. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 5, 54-61. Obtenido de [http://www.scielo.org.bo/pdf/riarn/v5nEspecial/v5\\_a08.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/riarn/v5nEspecial/v5_a08.pdf)
- Bakhtiary, F., Sayevand, H., Remely, M., Hippe, B., Hosseini, H., & Haslerber, A. (2016). Evaluation of bacterial contamination sources in meat production line. *Journal of Food Quality*, 39, 750-756. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfq.12243>

- Bergaglio, J. P., & Bergaglio, E. O. (2020). *Contaminación de alimentos por Escherichia coli y la inocuidad alimentaria como eje fundamental*. Obtenido de INNOVA UNTREF:  
<https://www.revistas.untref.edu.ar/index.php/innova/article/view/596/585>
- Bergey, D. H., Harrison, F. C., Breed, R. S., Hammer, B. W., & Huntoon, F. M. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Segunda ed., Vol. II). (D. J. Brenner, N. R. Krieg, & J. T. Staley, Edits.) East Lansing: Editorial Board and Trustees of Bergey's Manual Trust.
- Bergey, D. H., Harrison, F. C., Breed, R. S., Hammer, B. W., & Huntoon, F. M. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Segunda ed., Vol. III). (P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. Rainey, . . . W. Whitman, Edits.) East Lansing: Editorial Board and Trustees of Bergey's Manual Trust.
- Bhunia, A. (2018). *Foodborne Microbial Pathogens* (Segunda ed.). West Lafayette: Springer.  
Obtenido de <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-7349-1>
- Bird, P., Bastin, B., Klass, N., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., . . . Schumacher, A. (2020). Evaluation of the 3M™ Petrifilm™ Rapid *E. coli*/Coliform Count Plate for the Enumeration of *E. coli* and Coliforms: Collaborative Study, First Action: 2018.13. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 103(2), 513-522. Obtenido de <https://academic.oup.com/jaoac/article/103/2/513/5804146?searchresult=1>
- Bird, P., Flannery, J., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., & Jechorek, R. (2014). Evaluation of the 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express System for the Detection of *Salmonella* Species in Selected Foods: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 97(6), 1563-1575. Obtenido de <https://academic.oup.com/jaoac/article/97/6/1563/5654775?searchresult=1>

- Canadian Beef. (2015). *Buenas Prácticas en el Manejo de Carne de Res Molida*. Obtenido de Canadian Beef: <https://canadabeef.mx/portfolio-item/buenas-practicas-en-el-manejo-de-carne-de-res-molida/>
- Cardona, F. (11 de Junio de 2019). *Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones*. Obtenido de Universitat Politècnica de València: <https://riunet.upv.es/handle/10251/121948>
- Carroll, A., & Wong, A. (2018). Plasmid persistence: costs, benefits, and the plasmid paradox. *Canadian Journal of Microbiology*, 64, 293-304. Obtenido de <https://cdnsiencepub.com/doi/pdf/10.1139/cjm-2017-0609>
- Corporación 3M Food Safety. (2023). *Biblioteca de Documentos para Servicio de Alimentos*. Obtenido de Servicios de Alimentos: [https://www.3m.com.mx/3M/es\\_MX/servicio-alimentos-la/recursos/biblioteca-de-documentos/](https://www.3m.com.mx/3M/es_MX/servicio-alimentos-la/recursos/biblioteca-de-documentos/)
- Cruz, S., Núñez, O., Leiva, M., & Díaz, P. (2023). *Salmonella* spp como contaminante de la carne de pollo: una revisión. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(5), 187-204. Obtenido de <https://www.editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/596/1008>
- Da Silva, N., Taniwaki, M., Junqueira, V., Silveira, N., Okazaki, M., & Romeiro, R. (2018). *Microbiological Examination Methods of Food and Water* (Segunda ed.). Londres: Bioscience, Food Science & Technology. Obtenido de <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781315165011/microbiological-examination-methods-food-water-neusely-da-silva-val%C3%A9ria-junqueira-neliane-silveira-marta-taniwaki-renato-abeilar-romeiro-gomes-margarete-midori-okazaki>

- Decreto Legislativo N° 1062. (2008). *De la Inocuidad de los Alimentos*. Obtenido de Diario El Peruano: <https://www.gob.pe/institucion/senasa/normas-legales/962247-1062>
- DIGESA. (2001). *Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos*. Lima: Ministerio de Salud. Obtenido de [https://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61\\_MAN.ANA.MICROB.pdf](https://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61_MAN.ANA.MICROB.pdf)
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). *Food Microbiology, principles into Practice* (Vol. 2). Noida: John Wiley and Sons, Ltd. Obtenido de <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=pxDRCwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR15&dq=Food+microbiology&ots=vEe90X1Yor&sig=qowtbjXYVp-pCO80geXYMsGmFQ8#v=onepage&q=Food%20microbiology&f=false>
- Farfán, A. E., Ariza, S. C., Vargas, F. A., & Viviana, V. L. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista chilena de infectología*, 33(4), 438-450. Obtenido de [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182016000400009](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009)
- Farias, D., & Moran, O. (Abril de 2022). *Determinación de la Calidad Microbiológica de carne molida de res en centros de expendio de la ciudad de Guayaquil*. Obtenido de Repositorio Nacional en Ciencia y Tecnología: <https://repositorio.ug.edu.ec/items/55627c3e-64f0-4409-9869-93f6b835a2a7>
- Fernández, A., García, M., Pérez, M., & Blázquez, M. (2016). *Staphylococcus aureus*. Obtenido de <https://books.google.es/books?id=uPUzDQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Flannery, J., Bird, P., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., & Jechorek, R. (2016). Evaluation of the 3M™ Petrifilm™ Rapid Aerobic Count Plate for the Enumeration of Aerobic Bacteria:

- Collaborative Study, First Action 2015.13. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 99(3), 664-675. Obtenido de <https://academic.oup.com/jaoac/article/99/3/664/5658065?searchresult=1>
- Galli, L., Brusca, V., & Pellicer, K. (2019). *Microbiología veterinaria*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Inter-Médica. Obtenido de <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/119114#ds-main>
- Gamarra, G., Pujay, Ó., & Ventura, M. (2018). Aplicación de las pruebas estadísticas de Wilcoxon y Mann-Whitney con SPSS. *Revista de Investigación Multidisciplinaria CTSCafe*, 2(4), 4-15. Obtenido de <https://ctscafe.pe/index.php/ctscafe/article/view/51/60>
- Gomes, T., Elias, W., Scaletsky, I., Guth, B., Rodrigues, J., Piazza, R., . . . Martinez, M. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 3-30. Obtenido de <https://www.scielo.br/j/bjm/a/NRsgPypwdTXGKCCmMSjs9TR/?lang=en&format=html#>
- González, M., González, G., & Andrade, Á. (2019). Fimbrias bacterianas, nanoestructuras versátiles. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León*. Obtenido de <https://cienciauanl.uanl.mx/ojs/index.php/revista/article/view/76/66>
- Guerrero, J., Folleco, Á., Amador, N., & Montaña, L. (2016). Protocolo de Vigilancia en Salud Pública: Enfermedades Transmitidas por Alimentos. *Instituto Nacional de Salud*(2), 3-69. Obtenido de <https://www.ins.gov.co/Direcciones/Vigilancia/sivigila/Protocolos/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf>

- Gut, A., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. (2018). *Salmonella* infection – prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review. *Microbiology Society*, 164(11).  
Obtenido de  
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.000709>
- Herrera, Y., & Jabib, L. (2015). Salmonellosis, zoonosis de las aves y una patogenicidad muy particular. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(1), 1-19. Obtenido de  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63638739002>
- Jacó, L. M., Costa, A. C., Nero, L. A., Pereira, E., & Aguilar, M. (2015). Evaluation of Petrifilm™ system compared with traditional methodology in count of indicators of sanitary-hygienic quality and pathogenic microorganisms in sheep milk. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 35(2), 375-379. Obtenido de  
<https://www.redalyc.org/pdf/3959/395941535022.pdf>
- Jahan, F., Chinni, S., Samuggam, S., Reddy, L., Solayappan, M., & Yin, L. (2022). The Complex Mechanism of the *Salmonella typhi* Biofilm Formation That Facilitates Pathogenicity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 1-11. Obtenido de  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9223757/pdf/ijms-23-06462.pdf>
- Jang, J., Hur, H., Sadowky, M., Byappanahalli, M., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570-581. Obtenido de <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/123/3/570/6714054?login=false>
- Jara, H. D. (2016). *Análisis Microbiológico de las carnes molidas expendidas en el mercado la Condamine en la ciudad de Riobamba*. Obtenido de dspace:  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4977/1/56T00627%20UDCTFC.pdf>

- Komodromos, D., Kotzamanidis, C., Giantzi, V., Pappa, S., Papa, A., Zdragas, A., . . . Sergelidis, D. (2022). Prevalence, Infectious Characteristics and Genetic Diversity of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Two Raw-Meat Processing Establishments in Northern Greece. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(11), 1370. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9697755/>
- Lakhundi, S., & Zhang, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical microbiology reviews*, 31(4). Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6148192/>
- Latimer, G. W. (2023). AOAC Official Method 2003.11 Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Meat, Seafood, and Poultry: Neogen® Petrifilm® Staph Express Count Plate Method. En G. W. Latimer, *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22 ed.). New York: AOAC Publications. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.2229>
- Latimer, G. W. (2023). AOAC Official Method 2014.01 *Salmonella* in Selected Foods: Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) System. En G. W. Latimer, *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22 ed.). New York: AOAC Publications. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.2281>
- Latimer, G. W. (2023). AOAC Official Method 2018.13 Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform in a Broad Range of Foods and Select Environmental Surfaces: Neogen® Petrifilm® Rapid *E. coli*/Coliform Count Plate. En G. W. Latimer, *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22 ed.). New York: AOAC Publications. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.2217>

- Latimer, G. W. (2023). AOAC Official MethodSM 2015.13 Enumeration of Aerobic Bacteria in Food and on Selected Surfaces: Neogen® Petrifilm® Rapid Aerobic Count (RAC) Plate. En G. W. Latimer, *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22 ed.). New York: AOAC Publications. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.2184>
- Mekhloufi, O., Chieffi, D., Hammoudi, A., Bensefia, S., Fanelli, F., & Fusco, V. (2021). Prevalence, Enterotoxigenic Potential and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Algerian Ready to Eat Foods. *Toxins*, 13(12), 835. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8707561/>
- Merck. (2024). *Salmonella Detection Procedure (EN ISO 6579-1)*. Obtenido de Merck: <https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/technical-documents/protocol/food-and-beverage-testing-and-manufacturing/regulatory-compliance-for-food-and-beverage/iso-6579-1-salmonella-detection>
- Mey, A., Gómez, C., & Payne, S. (2021). Iron Transport and Metabolism in *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. *American Society for Microbiology*, 9(2). Obtenido de <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/ecosalplus.esp-0034-2020>
- MINSA. (2008). *NTS N° 071-MINSA/DIGESA-2008 Norma sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de calidad alimentaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. Obtenido de MINSA: [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM591MIN SANORMA.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MIN SANORMA.pdf)

- MINSA. (2023). *NTS N° 205-MINSA/DIGESA-2023 Norma Sanitaria para mercado de abasto de alimentos*. Obtenido de Diario El Peruano:  
<https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/4391288-631-2023-minsa>
- MINSA. (2024). Boletín Epidemiológico del Perú. *Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades*, 33(21), 16. Obtenido de  
[https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin\\_202421\\_03\\_101202.pdf](https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202421_03_101202.pdf)
- Moncayo, T. L. (2019). *Calidad Bacteriológica de Carne Molida que se comercializan en los mercados del distrito de Iquitos*. Obtenido de Repositorio de la UNAP:  
[https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6345/Tania\\_Tesis\\_Titulo\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6345/Tania_Tesis_Titulo_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Mora, F. (2023). *Detección de Escherichia coli y Staphylococcus aureus en carne molida de res del Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica*. Obtenido de Repositorio de la Universidad Técnica Nacional de Costa Rica:  
<https://repositorio.utn.ac.cr/server/api/core/bitstreams/0e58331a-4cf0-4efb-bbdb-b7d4ea591e50/content>
- Mossel, D., Moreno, B., & Struijk, C. (2003). *Microbiología de los alimentos* (Segunda ed.). Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Naciones Unidas. (2022). *Los alimentos contaminados cuestan 420.000 vidas y 95.000 millones de dólares en pérdidas al año*. Obtenido de Noticias ONU: Mirada global Historias humanas: <https://news.un.org/es/story/2022/06/1509842>
- Neogen® Corporation. (2023). *Interpretation Guide Petrifilm® E. coli/Coliform Count Plates*. Obtenido de Neogen® Petrifilm® E. coli/Coliform Count Plates:  
<https://media.neogen.com/m/3ddc380f58cfa4ed>

Neogen® Corporation. (2023). *Interpretation Guide Petrifilm® Aerobic Count Plates*. Obtenido de Neogen® Petrifilm® Aerobic Count Plates:

<https://media.neogen.com/m/7a03e221597d2cd2>

Neogen® Corporation. (2023). *Interpretation Guide Petrifilm® Salmonella Express Plates*.

Obtenido de Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express Plates:

<https://media.neogen.com/m/393b593734de7604>

Neogen® Corporation. (2023). *Interpretation Guide Petrifilm® Staph Express Count Plates*.

Obtenido de Neogen® Petrifilm® *Staph Express* Count Plates:

<https://media.neogen.com/m/65096d5aee1ca6f3>

Neogen® Corporation. (2024). *Product Instructions Petrifilm® Aerobic Count Plates*. Obtenido de Neogen® Petrifilm® Aerobic Count Plates:

<https://media.neogen.com/m/385bdca8bd3d871a>

Neogen® Corporation. (2024). *Product Instructions Petrifilm® E. coli/Coliform Count Plates*.

Obtenido de Neogen® Petrifilm® *E. coli/Coliform* Count Plates:

<https://media.neogen.com/m/1a1715a18d1dc1af>

Neogen® Corporation. (2024). *Product Instructions Petrifilm® Salmonella Express Plates*.

Obtenido de Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express Plates:

<https://media.neogen.com/m/3d0bcc1a8f4b3c8c>

Palacios, C. K. (2018). *Condición higiénico-sanitaria de la carne molida de res comercializada en el mercado modelo de Piura*. Obtenido de Universidad Nacional de Piura:

<https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/3064>

- Pasachova, J., Ramírez, S., & Muñoz, L. (2019). *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*, 17(32), 25-38. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-24702019000200025&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-24702019000200025&script=sci_arttext)
- Paz, J. (2023). *Análisis Microbiológico de carnes molidas expendidas en el mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba*. Obtenido de Escuela Superior Politécnica de Chimborazo: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/20448/1/56T01182.pdf>
- Pérez, J. (Abril de 2016). *Análisis fisicoquímico de proteínas, grasa y almidón incluyendo análisis microbiológico de grupo coliforme, coliformes fecales, Escherichia coli, y Salmonella spp en carne molida ordinaria empacada que se expende en los supermercados de Guatemala*. Obtenido de Biblioteca de la Universidad de San Carlos de Guatemala: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1417.pdf>
- Pokharel, P., Dhakal, S., & Dozois, C. (2023). The Diversity of *Escherichia coli* Pathotypes and Vaccination Strategies against This Versatile Bacterial Pathogen. *Microorganisms*, 11(2), 334. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9965155/>
- Ramírez, S., Solís, R., Gutiérrez, A., Martínez, G., Linares, J., & Ángel, A. (2022). Influencia del bienestar animal durante el manejo pre-sacrificio en la calidad de la carne. *Jóvenes en la Ciencia: Revista de divulgación de la ciencia*, 14, 1-13. Obtenido de <http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/6537/1/Influencia%20del%20bienestar%20animal%20durante%20el%20manejo%20pre-sacrificio%20en%20la%20calidad%20de%20la%20carne.pdf>
- Reséndris, V., Ramírez, E., & Guerrero, I. (2018). Empaque para la conservación de carne y productos cárnicos. *AgroProductividad*, 6(1), 13-18. Obtenido de <https://www.researchgate.net/profile/J-Efren-Ramirez->

Bribiesca/publication/272024167\_Empaque\_para\_la\_conservacion\_de\_carne\_y\_productos\_carnicos\_pag\_10\_Factores\_alimenticios\_que\_influyen\_en\_la\_calidad\_de\_la\_carne\_de\_rumiantes\_pag\_23/links/54d91fe90cf2970e4

Rodríguez, R. (2021). *Evaluación de la calidad de la carne de vacuno mediante parámetros fisicoquímicos, sensoriales y proteómicos*. Obtenido de Portal de Investigación

Universidad de Santiago de Compostela:

[https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/25212/rep\\_2274.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/25212/rep_2274.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Saltos, J. V., Márquez, Y. J., Bermúdez, Y. H., & López, J. C. (2019). Calidad Microbiológica de la carne de res comercializada en la ciudad de Calceta. *Espamciencia*, 10(2), 63-70.

Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8278209>

SENASA. (2016). *Método: recuento de aerobios mesófilos en alimentos, método película seca rehidratable*. Obtenido de Gob.pe: [https://senasa.gob.pe/intranet/wp-content/uploads/2016/12/MET-UCCIRT-Lma-01\\_0-Recuento-de-aerobios-mes%C3%B3filos-en-alimentos-m%C3%A9todo-de-pel%C3%ADcula-seca-rehidratable.pdf](https://senasa.gob.pe/intranet/wp-content/uploads/2016/12/MET-UCCIRT-Lma-01_0-Recuento-de-aerobios-mes%C3%B3filos-en-alimentos-m%C3%A9todo-de-pel%C3%ADcula-seca-rehidratable.pdf)

Silbernagel, K., Jechorek, R., Carver, C., Horter, B., & Lindberg, K. (2003). 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plate Method for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Types of Processed and Prepared Foods: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 86(5), 954-962. Obtenido de

<https://academic.oup.com/jaoac/article/86/5/954/5657095?login=false>

Soriano, P. S. (2018). Vida útil en carnes frescas, carnes picadas y preparados cárnicos.

*Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*(269), 83-96. Obtenido de

[https://www.researchgate.net/profile/Plinio-](https://www.researchgate.net/profile/Plinio-Simon/publication/327883563_Vida_util_en_carnes_frescas_carnes_picadas_y_preparados_carnicos/links/5bab397aa6fdccd3cb734958/Vida-util-en-carnes-frescas-carnes-picadas-y-preparados-carnicos.pdf)

[Simon/publication/327883563\\_Vida\\_util\\_en\\_carnes\\_frescas\\_carnes\\_picadas\\_y\\_preparados\\_carnicos/links/5bab397aa6fdccd3cb734958/Vida-util-en-carnes-frescas-carnes-picadas-y-preparados-carnicos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Plinio-Simon/publication/327883563_Vida_util_en_carnes_frescas_carnes_picadas_y_preparados_carnicos/links/5bab397aa6fdccd3cb734958/Vida-util-en-carnes-frescas-carnes-picadas-y-preparados-carnicos.pdf)

Thakur, N., Jain, S., Changotra, H., Shrivastava, R., Kumar, Y., Grover, N., & Vashistt, J.

(2018). Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes:

Association of virulent genes, serogroups, and antibiotic resistance among moderate-to-severe diarrhea patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 32(5). Obtenido de

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6816858/>

Tomás, D., López, N., & Prado, N. (2022). *Análisis microbiológico de los alimentos: Guía de aplicación de normas ISO*. Madrid: AENOR Internacional. Obtenido de

<https://higieneambiental.com/analisis-microbiologico-de-los-alimentos>

Tortora, G. J., Berdell, R. F., & Case, C. L. (2017). *Microbiología* (12 ed.). Santana: Simone de Fraga. Obtenido de

[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=L98\\_DQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Microbiolog%C3%ADa&ots=E4LpdmCrTB&sig=SilQuxV1K4gC9i2ONvU8DIJCf4#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=L98_DQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Microbiolog%C3%ADa&ots=E4LpdmCrTB&sig=SilQuxV1K4gC9i2ONvU8DIJCf4#v=onepage&q&f=false)

Tropera, A. (2022). Microbial Contamination and Public Health: An Overview. *International Journal of Enviromental Research and Public Health*, 19(12). Obtenido de

<https://www.mdpi.com/1660-4601/19/12/7441>

Webber, B., Borges, K., Furian, T., Rizzo, N., Tondo, E., dos Santos, L., . . . Pinheiro, V. (2019).

Detection of virulence genes in *Salmonella* Heidelberg isolated from chicken carcasses.

*Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 61(36). Obtenido de  
<https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/6QcGt7kdBnqKGxbyBxXTjtn/?lang=en#>

Zendejas, G., Ávalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista biomédica*, 25(3), 129-143. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

## ANEXOS

### Anexo 1: Preparación del material para el procesamiento de las muestras



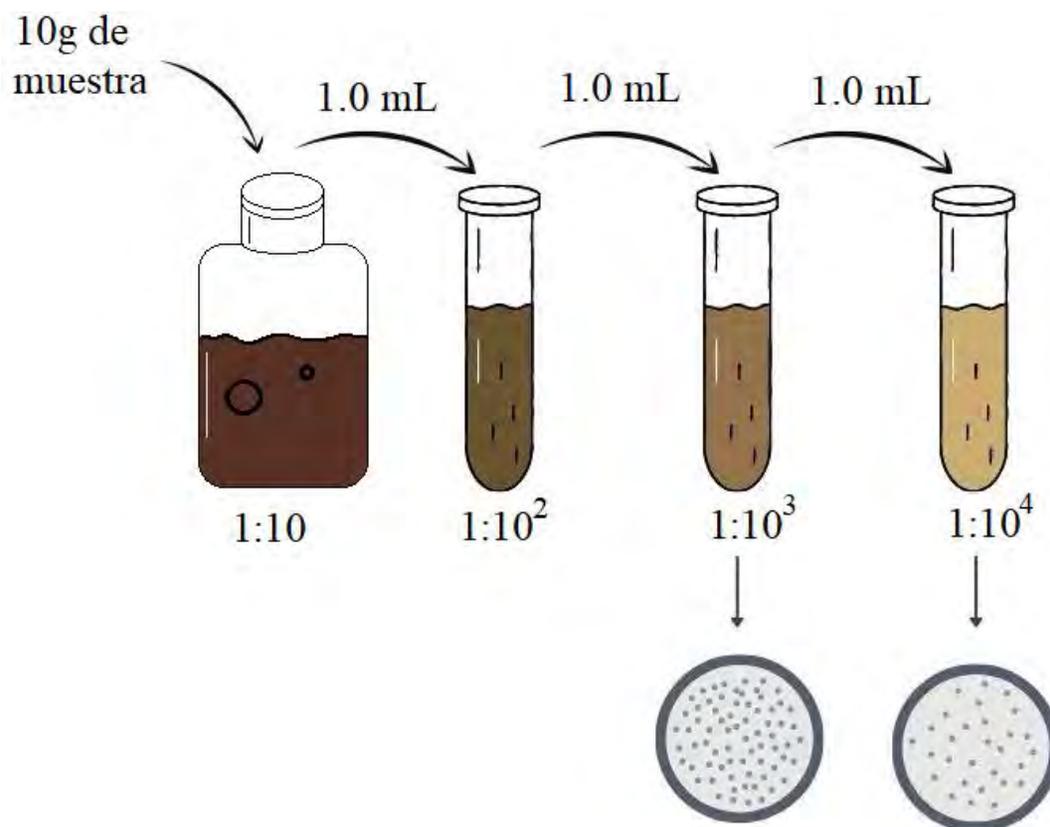
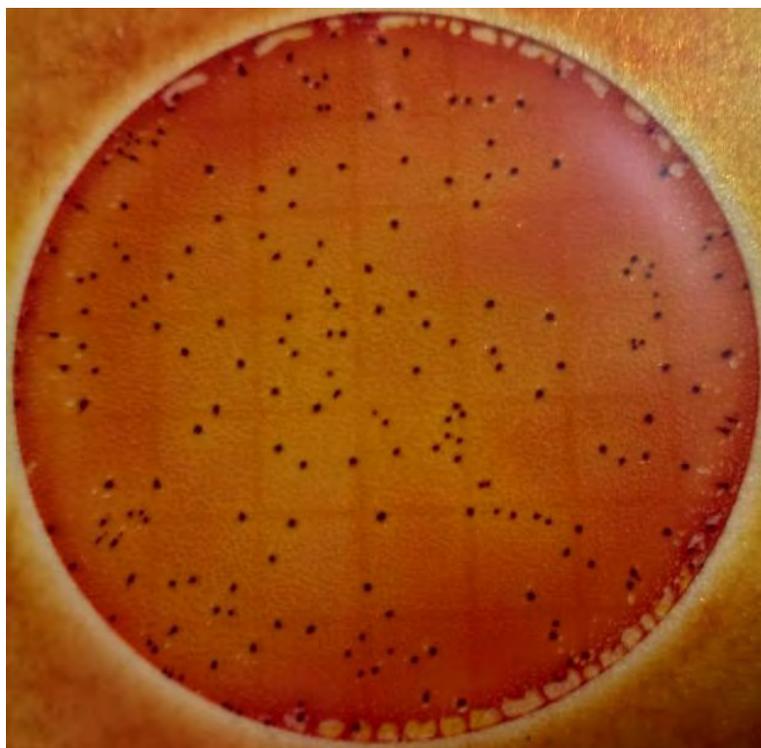
*Nota: 1. Material listo para esterilización. 2 y 3. Esterilización del material en autoclave por calor húmedo.*

## Anexo 2: Caja térmica para el transporte de la muestra

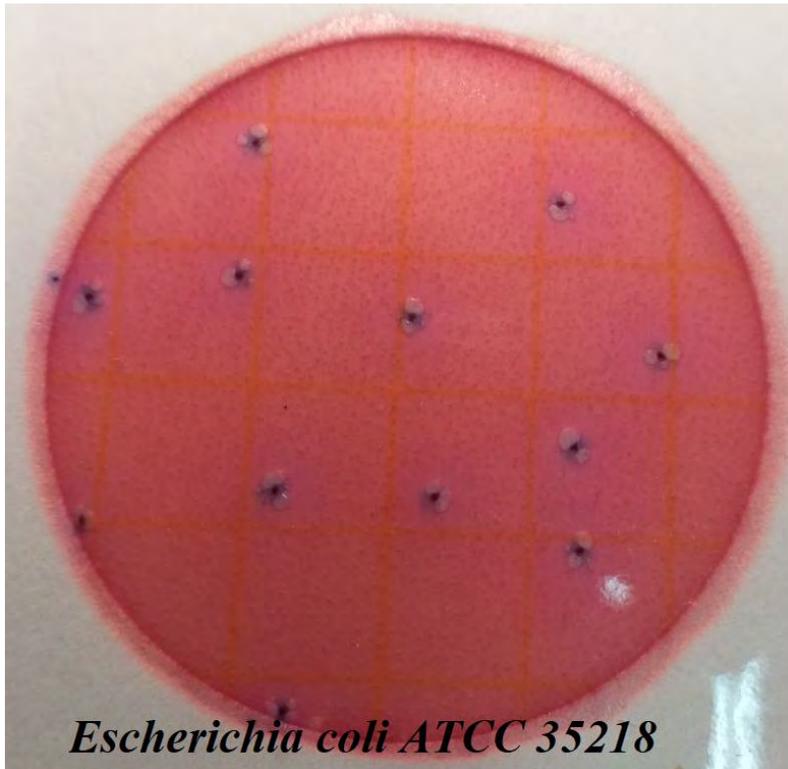


*Nota: 1 y 2. Preparación de la caja térmica con el gel refrigerante en la base. 3. Muestras depositadas para el transporte hacia el laboratorio.*

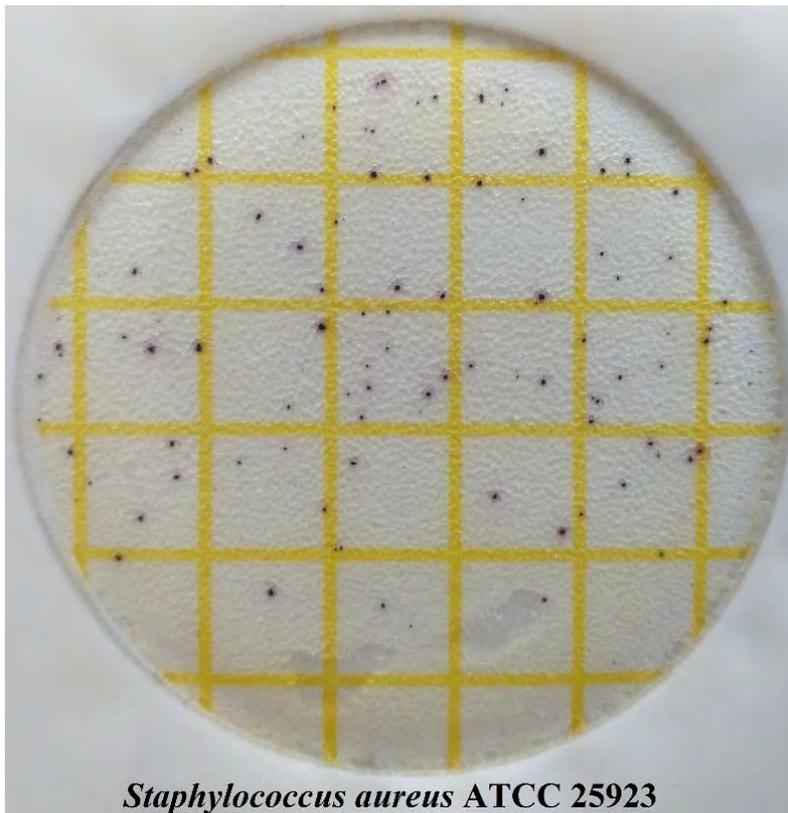
Anexo 3: Esquema de diluciones sucesivas

Anexo 4: Placa Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX)

Anexo 5: Placa Neogen Petrifilm® EC con colonias de *E. coli*



Anexo 6: Placa Neogen® Petrifilm® Staph Express (STX) con colonias de *S. aureus*



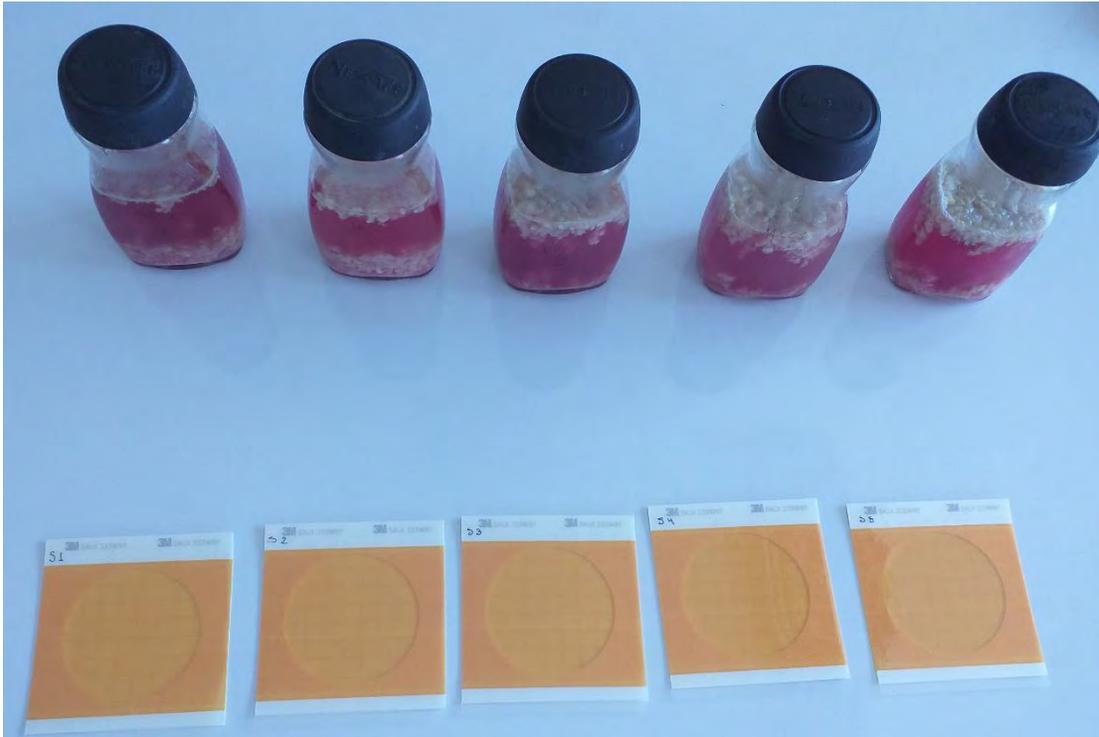
### Anexo 7: Pesado de la muestra y realización de las diluciones sucesivas



### Anexo 8: Distribución de placas Petrifilm® para cada muestra



Anexo 9: Distribución de las placas Petrifilm® *Salmonella Express* para cada muestra



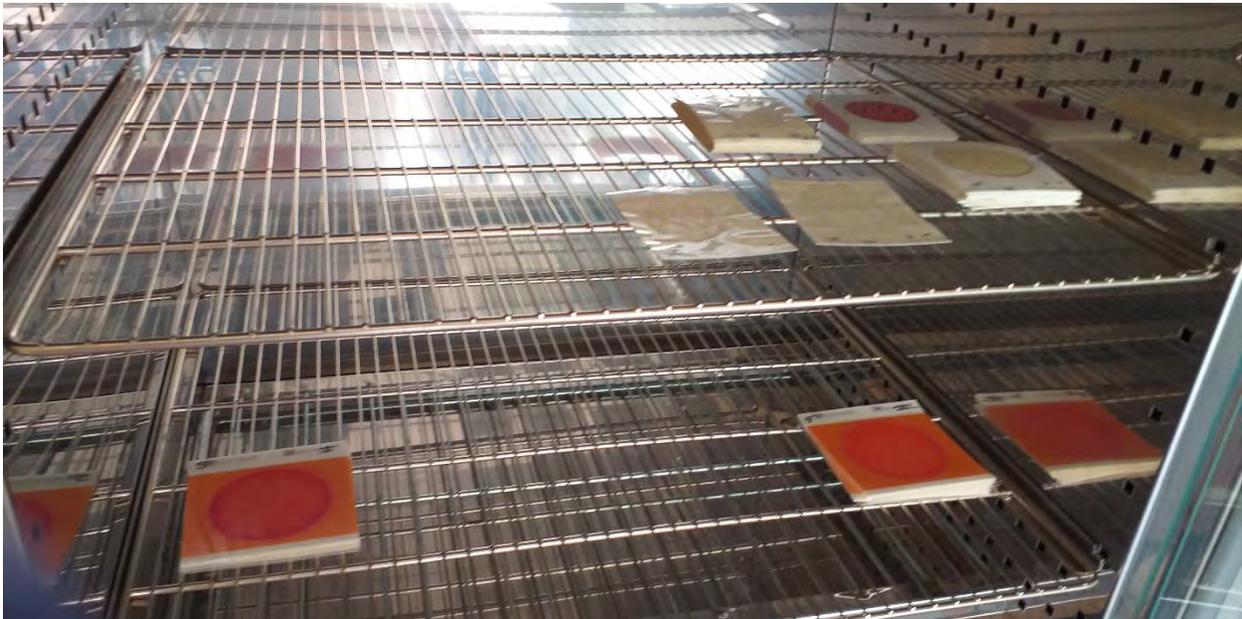
Anexo 10: Inoculación y preparación de las Placas Petrifilm®



Anexo 11: Incubación de las Placas Petrifilm® y Caldo de Pre-enriquecimiento



Anexo 12: Incubación de las Placas Petrifilm® *Salmonella Express*

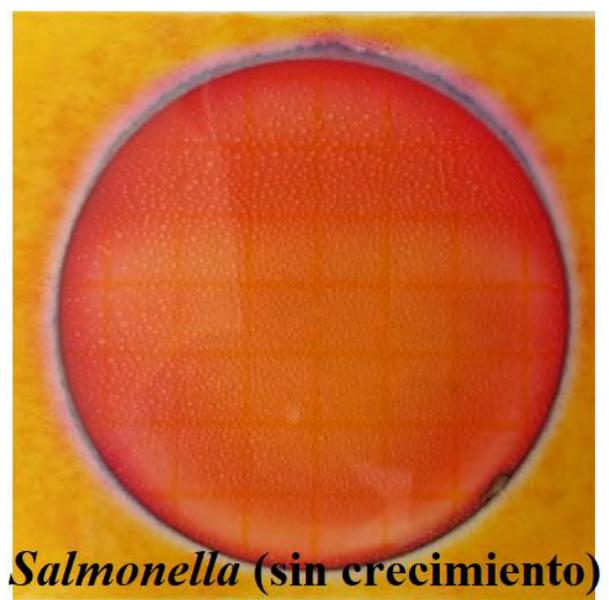
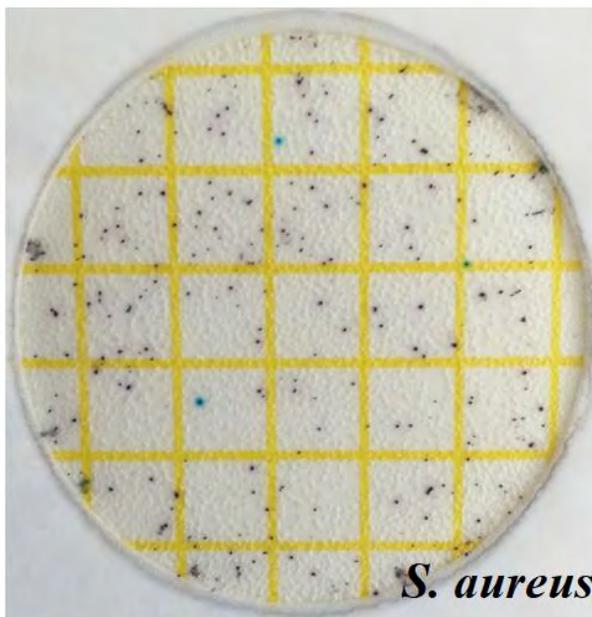
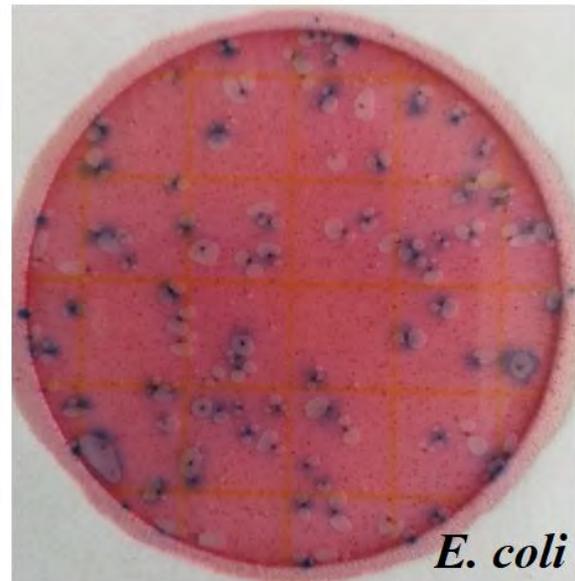
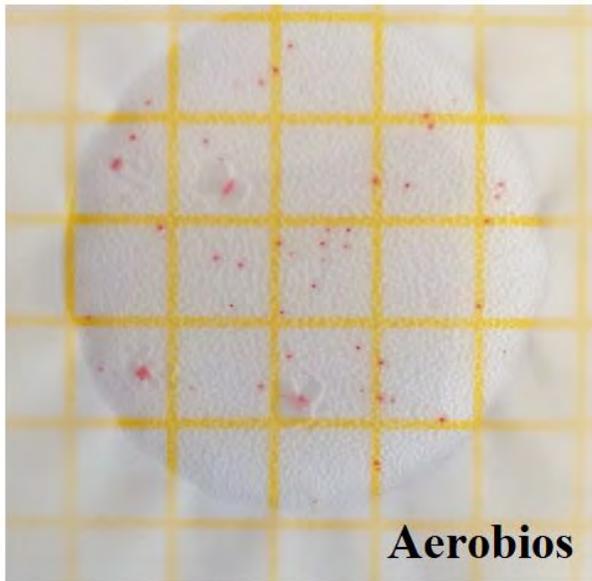


### Anexo 13: Muestreo y donación de la muestra sobrante

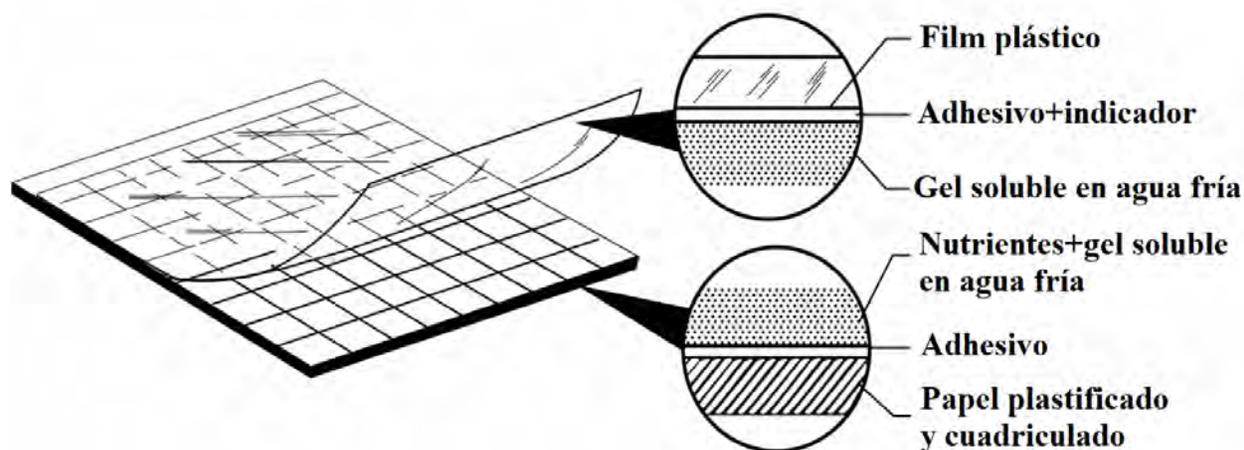


*Nota: la carne que sobrante luego del procesamiento fue donada al zoológico de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.*

## Anexo 14: Crecimiento de colonias en las placas Petrifilm® a partir de las muestras

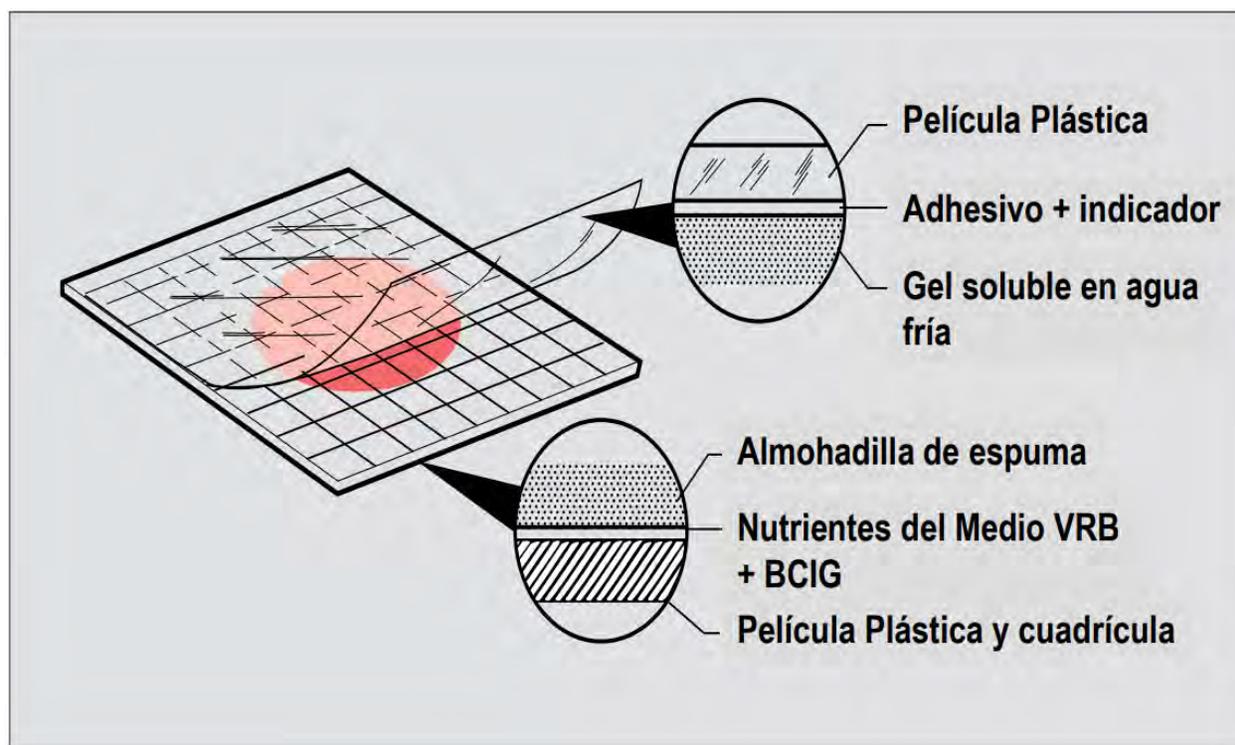


Anexo 15: Esquema de una Placa Petrifilm® para el recuento de Aerobios mesófilos

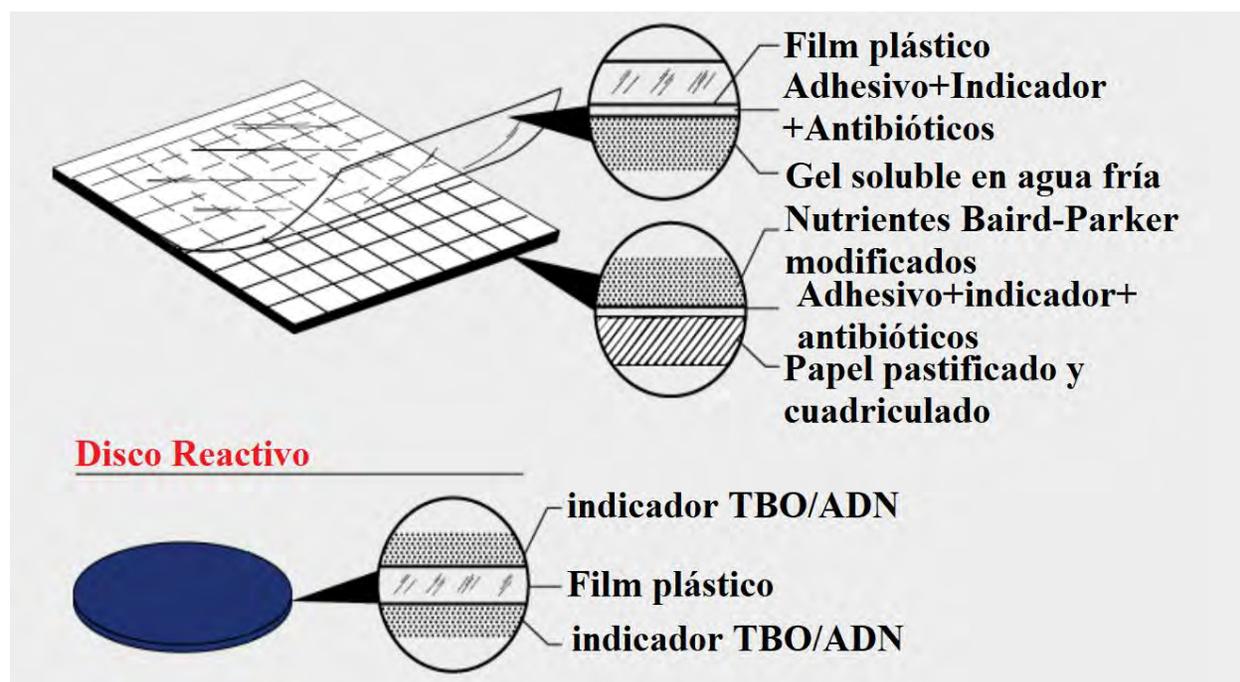


*Fuente: (Corporación 3M Food Safety, 2023)*

Anexo 16: Esquema de una Placa Petrifilm® para el recuento de *E. coli* y Coliformes

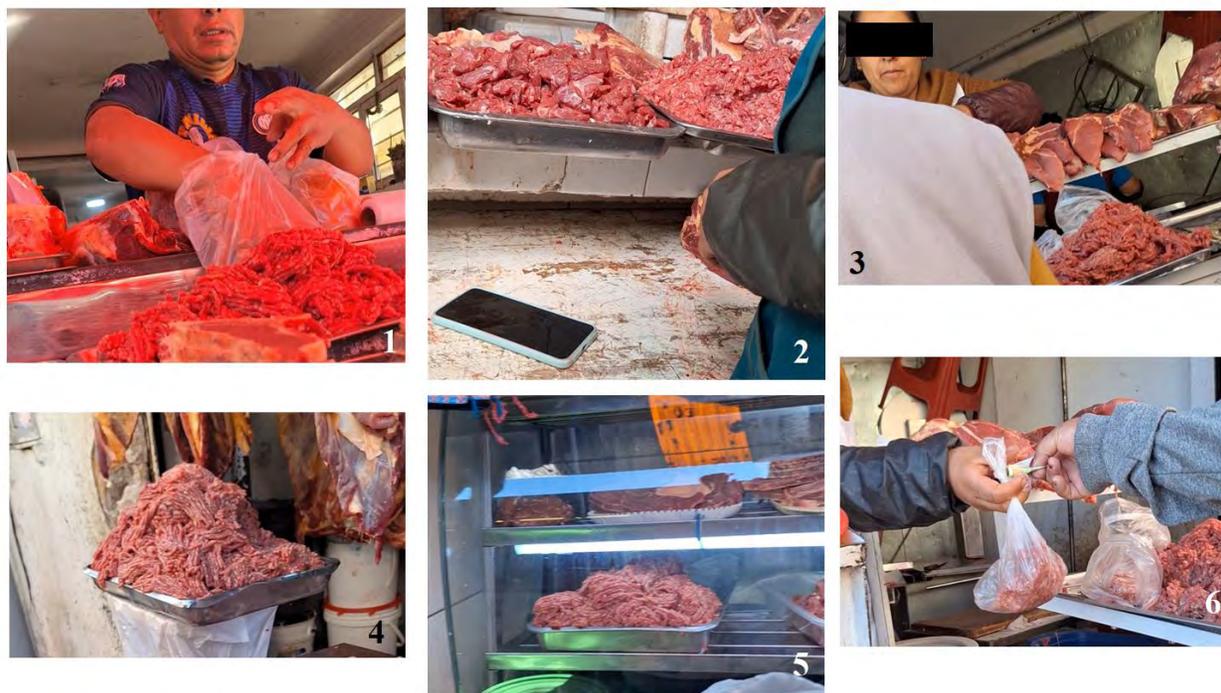


*Fuente: (Corporación 3M Food Safety, 2023)*

Anexo 17: Esquema de una Placa Petrifilm® *Staph Express*

*Fuente: (Corporación 3M Food Safety, 2023)*

Anexo 18: Productos cárnicos expendidos en el mercado Ccascaparo



*Nota: 1 y 4. carne molida expendida a la intemperie. 2. Manipulación del producto y teléfono celular sin guantes, permitiendo la contaminación cruzada. 3 y 6. Manipulación del producto con la misma mano con la que se recibe el dinero. 5. Carne expuesta dentro de vitrina.*

Anexo 19: Productos cárnicos expendidos en el mercado Wanchaq



*Nota: 1 y 2. Manipulación del producto sin guantes.*

Anexo 20: Productos cárnicos expendidos en el mercado Rosaspata



*Nota: 1, 2 y 3. Lavado de la boca del molino en el baño. 4 y 5. Presencia de insectos en los productos.*

## Anexo 21: Productos cárnicos expandidos en el mercado Ttio



*Nota: Los productos se exhiben a la intemperie. Se manipulan teléfonos celulares o dinero al mismo tiempo que los alimentos.*

## Anexo 22: Prueba de Wilcoxon utilizada para el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos de las muestras de carne molida de los mercados del Cusco

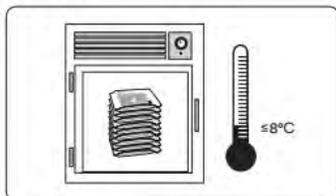
Prueba estadística	Definición	Criterio de decisión
Wilcoxon	Prueba equivalente a T de Student utilizada para comprobar la diferencia de datos no paramétricos. Con las siguientes hipótesis: $H_0: Me_1 = Me_2$ $H_a: Me_1 \neq Me_2$	Para un nivel de confianza del 95%: $p \geq 0,05$ : se acepta la $H_0$ y rechaza la $H_a$ $p < 0,05$ : se rechaza la $H_0$ y acepta la $H_a$

*Fuente: (Gamarra, Pujay, & Ventura, 2018)*

## Anexo 23: Inserto de Neogen® Petrifilm® Recuento de Aerobios Mesófilos

## Reminders For Use

## Storage



01

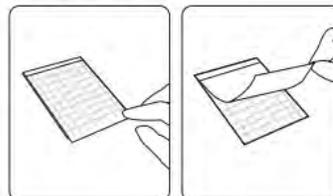
Store unopened pouches of plates refrigerated or frozen at temperatures lower than or equal to 8°C (46°F). Use before expiration date on package. Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening.



02

Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store resealed pouches in a cool, dry place for no longer than four weeks. Avoid exposure of plates to temperatures >25°C (>77°F) and/or relative humidity >50%.

## Inoculation



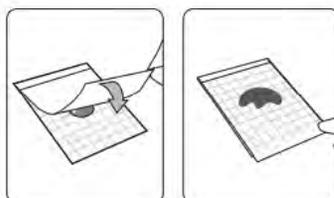
03

Place Petrifilm Aerobic Count Plate on level surface. Lift top film.



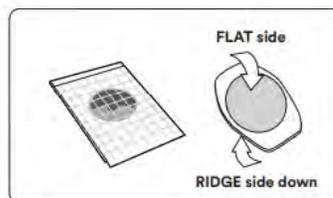
04

With Pipettor held perpendicular to plate, place 1 mL of sample or diluted sample onto center of bottom film.



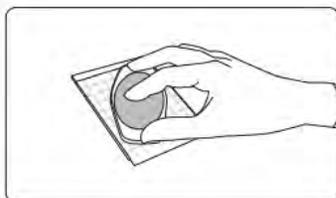
05

Drop the top film down onto the sample.



06

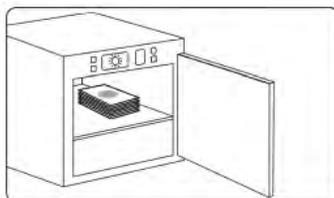
With ridge side down, place Petrifilm Spreader on top film over inoculum.



07

Gently apply pressure on Petrifilm Spreader to distribute inoculum over circular area before gel is formed. Do not twist or slide the spreader. Lift Petrifilm Spreader. Wait a minimum of 1 minute for gel to solidify.

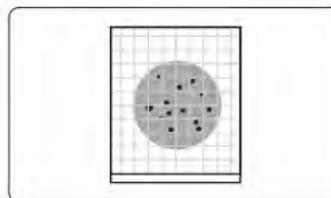
## Incubation



08

Incubate plates with clear side up in stacks of up to 20. It may be necessary to humidify incubator to minimize moisture loss. **Please refer to the product instructions for third party validated methods.**

## Interpretation



09

Petrifilm Aerobic Count Plates can be counted with the Petrifilm Plate Reader Advanced, on a standard colony counter or other illuminated magnifier.

## Use Appropriate Sterile Diluents

Butterfield's phosphate buffered dilution water, 0.1% peptone water, peptone salt diluents, buffered peptone water, saline solution (0.85–0.90%), Wide-Spectrum Neutralizer, bisulfite-free letheen broth or distilled water.

For optimal growth and recovery of the microorganisms, adjust the pH of the sample suspension to 6.6–7.2.

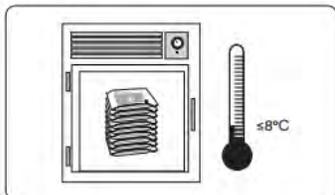
**Do not use diluents containing citrate, bisulfite or thiosulfate with the Petrifilm Coliform Count Plates; they can inhibit growth.**

If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to 40–45°C.

Anexo 24: Inserto de Neogen® Petrifilm® Recuento de *E.coli*/Coliformes

## Reminders For Use

## Storage



01

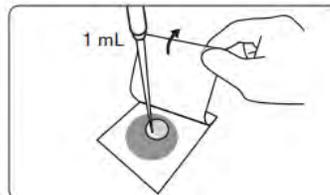
Store the unopened pouches of plates at frozen or refrigerated temperatures  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Use before expiration date on package. It is best to allow pouches to reach room temperature before opening.



02

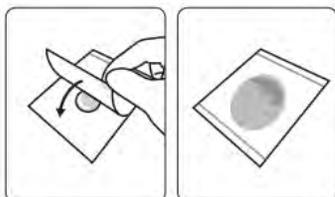
Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store sealed pouches in a cool dry place for no longer than four weeks.

## Inoculation



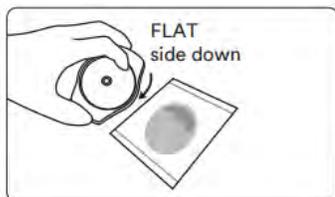
03

Place the Petrifilm *E.coli*/Coliform Count Plate on a level surface. Lift the top film and, with the pipette perpendicular to the inoculation area, dispense 1 mL of sample suspension onto the center of the bottom film.



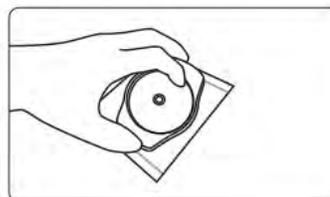
04

Roll the top film down onto sample gently to prevent pushing sample off film and to avoid entrapping air bubbles.



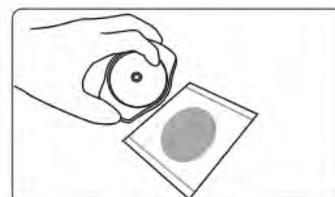
05

With flat side down, place Petrifilm Spreader on the center of the Petrifilm *E.coli*/Coliform Count Plate.



06

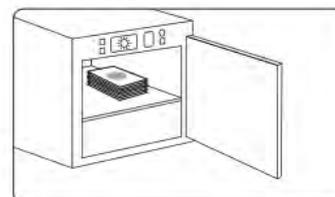
Press firmly on the center of the spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the growth area before the gel is formed.



07

Remove the spreader and leave the plate undisturbed for one minute to permit the gel to form.

## Incubation



08

Incubate Petrifilm *E.coli*/Coliform Count Plates with clear side up in stacks of up to 20. It may be necessary to humidify incubator to minimize moisture loss. **Please refer to the product instructions for third party validated methods.**

## Interpretation



09

Petrifilm *E.coli*/Coliform Count Plates can be counted using the Petrifilm Plate Reader Advanced, on a standard colony counter or other illuminated magnifier. Colonies may be isolated for further identification. Lift top film and pick the colony from the gel.

## Use Appropriate Sterile Diluents

Butterfield's phosphate buffered dilution water, 0.1% peptone water, peptone salt diluent, quarter-strength Ringer's solution, saline solution (0.85–0.90%), Wide-Spectrum Neutralizer, bisulfite-free letheen broth or distilled water.

For optimal growth and recovery of the microorganisms, adjust the pH of the sample suspension to 6.6–7.2.

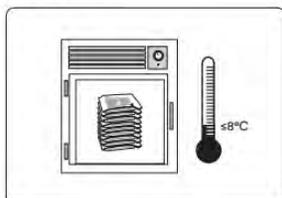
**Do not use diluents containing citrate, bisulfite or thiosulfate with the Petrifilm *E.coli*/Coliform Plates, they can inhibit growth.**

If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to 40–45°C.

Anexo 25: Inserto de Neogen® Petrifilm® Sistema *Staph Express*

## Reminders For Use

## Storage

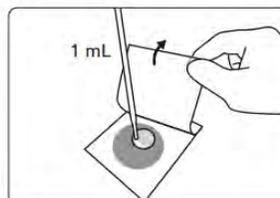


**01**  
Store **unopened** Petrifilm Staph Express Count Plates and Petrifilm Staph Express Disks frozen or refrigerated temperatures  $\pm 8^{\circ}\text{C}$  ( $46^{\circ}\text{F}$ ). Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening. Return unused plates to pouch.

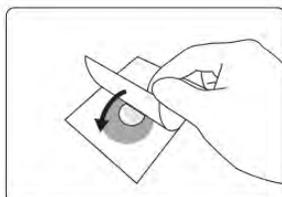


**02**  
Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store resealed pouches in a cool dry place. Use plates within four weeks. Use disks within six months.

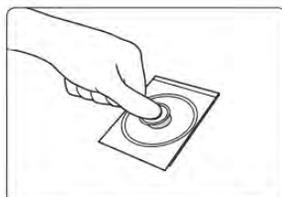
## Inoculation



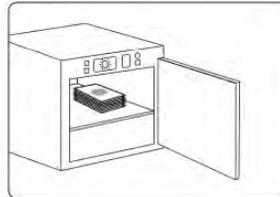
**03**  
Place the Petrifilm Staph Express Count Plates on a flat, level surface. Lift the top film and with the pipette perpendicular dispense 1 mL of sample suspension onto the center of bottom film.



**04**  
Roll the top film down onto the sample to prevent trapping air bubbles.

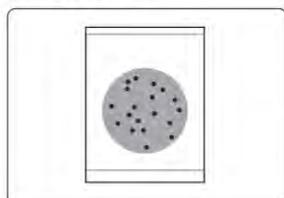


**05**  
Place the Petrifilm Flat Spreader with the flat side down on the center of the plate. Press gently on the center of the spreader to distribute the inoculum over the circular area. Do not twist or side the spreader. Remove the spreader and leave the Petrifilm Staph Express Plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

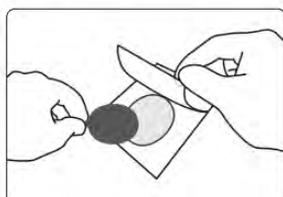


**06**  
Incubate Petrifilm Staph Express Plates with the clear side up in stacks of no more than 20 plates. **Please refer to the product instructions for third party validated methods.**

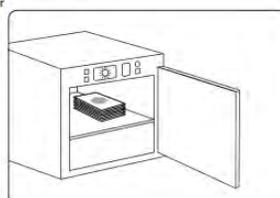
## Interpretation



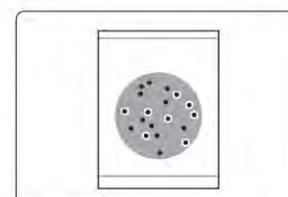
**07**  
Count Petrifilm Staph Express Plates with a standard colony counter or other illuminated magnifier. Do not count colonies on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium.



**08**  
Lift the top film of the Petrifilm Staph Express Count Plate and place the Petrifilm Staph Express Disk in the well of the plate so that the tab remains outside the well. Apply gentle pressure to the disk area.



**09**  
Incubate plates with inserted disks in stacks of no more than 20 plates. **Please refer to the product instructions for third party validated methods.**



**10**  
Count all pink zones whether or not a colony is visible.

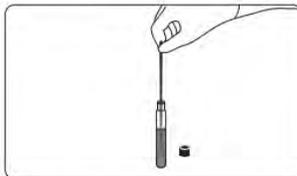
Anexo 26: Inserto de Neogen® Petrifilm® Sistema *Salmonella* Express

## Reminders For Use

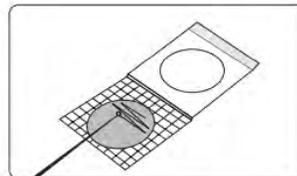
## Plate Inoculation, Incubation and Interpretation

**13a**

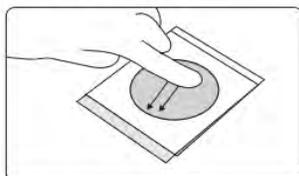
For low microbial background samples, use a sterile 10µL loop to withdraw a full loop of sample. Use a smooth loop (one that does not have jagged edges and is not distorted) to prevent the gel surface from breaking.

**13b**

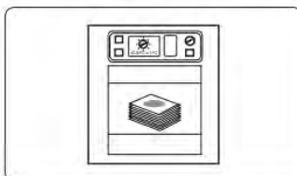
For high microbial background samples, use a sterile 10µL loop to withdraw a full loop of sample for streaking the plate. Use a smooth loop (one that does not have jagged edges and is not distorted) to prevent the gel surface from breaking.

**14**

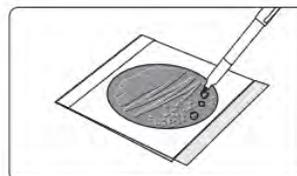
Perform a single streak, top of plate to bottom of plate, to obtain isolated colonies.

**15**

Roll down the top film to close the Petrifilm *Salmonella* Express Plate. Using a gloved hand (while practicing good laboratory practices to avoid cross contamination and/or direct contact with the plate), gently apply a sweeping motion with even pressure onto the top film to remove any air bubbles in the inoculation area.

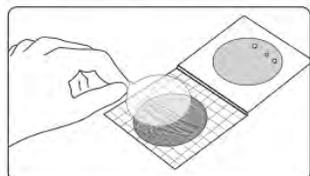
**16**

Incubate plates at 41.5±1°C for 24±2 hours in a horizontal position with the colored side up in stacks of no more than 20 plates.

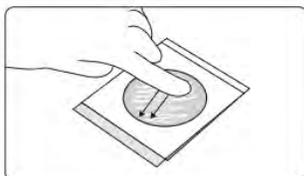
**17**

On the Petrifilm *Salmonella* Express Plate top film, circle a minimum of five isolated presumptive positive *Salmonella* colonies (if present), using a permanent, ultra fine tip marker. Biochemically confirm all *Salmonella* presumptive positive results using the Petrifilm *Salmonella* Express Confirmation Disk.

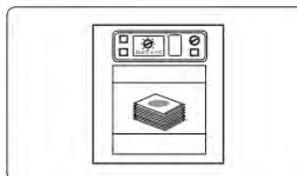
## Biochemical Confirmation

**18**

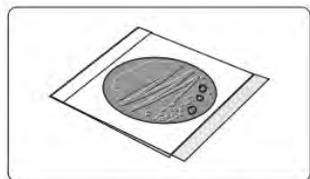
Remove an individually packaged Petrifilm *Salmonella* Express Confirmation Disk from its pouch and allow it to come to room temperature. Peel the package to expose the disk's tab, grasp the tab, and remove the disk. Lift the top film (with the already circled presumptive *Salmonella* colonies) of the Petrifilm *Salmonella* Express Plate and insert the disk by rolling it onto the gel to avoid entrapping air bubbles. Close the plate.

**19**

Using a gloved hand, gently apply a sweeping motion with even pressure onto the top film to remove any air bubbles in the inoculation area and assure good contact between the gel and the Petrifilm *Salmonella* Express Confirmation Disk.

**20**

Incubate the Petrifilm *Salmonella* Express System (plate and disk) at 41.5±1°C for 4–5 hours.

**21**

Remove the Petrifilm *Salmonella* Express System from the incubator and proceed with reading the results. Look only at the circled colonies.

**Salmonella Express System**

Fuente: (Neogen® Corporation, 2023)

## Anexo 27: Ley de la Inocuidad de los Alimentos

375002	NORMAS LEGALES	El Peruano Lima, sábado 28 de junio de 2008
<p>realizada la difusión, caso contrario se presumirá, sin prueba en contrario, que los gastos de difusión han sido asumidos por la sociedad."</p>	<p>económica para su aprovechamiento, encontrándose dentro de las materias comprendidas en dicha delegación la mejora del marco regulatorio, así como la mejora de la competitividad de la producción agropecuaria y de la actividad pesquera y acuícola;</p>	<p>De conformidad con lo establecido en el Artículo 104° de la Constitución Política del Perú; Con el voto aprobatorio del Consejo de Ministros; y Con cargo de dar cuenta al Congreso de la República; Ha dado el Decreto Legislativo siguiente:</p>
<p><b>"Artículo 262°-I.- Obligación de los fiduciarios a efectuar difusiones para proteger a los accionistas minoritarios.</b></p>	<p><b>DECRETO LEGISLATIVO QUE APRUEBA LA LEY DE INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS</b></p>	
<p>Los fiduciarios de los patrimonios fideicometidos constituidos con arreglo a lo dispuesto en el Subcapítulo II del Título III, Sección Segunda, de la Ley N° 26702, Ley General del Sistema Financiero, del Sistema de Seguros y Orgánica de la Superintendencia de Banca y Seguros, que tengan por finalidad realizar todas las acciones necesarias para proteger los derechos de los accionistas y promover la entrega de acciones y/o dividendos a sus propietarios, están obligados a difundir, con cargo a dicho patrimonio, la relación de los accionistas que no hubieren reclamado sus acciones y/o de aquellos que no hubieren cobrado sus dividendos o de aquellos cuyas acciones se hubieran encontrado en situación de canje.</p>	<p><b>TÍTULO PRELIMINAR</b></p>	
<p>Dicha difusión deberá ser efectuada anualmente y durante el segundo trimestre de cada año en la página web de la sociedad y del fiduciario, así como en el Portal del Mercado de Valores de CONASEV.</p>	<p><b>Artículo I.- Finalidad</b></p>	
<p>En caso que la sociedad no cuente con página web necesariamente deberá efectuar la difusión en el Portal antes mencionado."</p>	<p>La presente Ley tiene por finalidad establecer el régimen jurídico aplicable para garantizar la inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano con el propósito de proteger la vida y la salud de las personas, reconociendo y asegurando los derechos e intereses de los consumidores y promoviendo la competitividad de los agentes económicos involucrados en toda la cadena alimentaria, incluido los piensos, con sujeción al ordenamiento constitucional y jurídico.</p>	
<p><b>QUINTA.- Derogatorias</b> Deróguense los artículos 120°, 132° incisos i) y j), 146° inciso b), e) y f), 161°, 344°, 345° y 346° de la Ley del Mercado de Valores, Decreto Legislativo N° 861, y numeral 5 del artículo 262°-A y el artículo 262°-J de la Ley General de Sociedades, así como cualquier otra disposición legal que se oponga a lo establecido en la presente norma.</p>	<p><b>Artículo II.- Principios que sustentan la política de inocuidad de los alimentos</b></p>	
<p><b>SEXTA.- Vigencia</b> El presente Decreto Legislativo entrará en vigencia al día siguiente de su publicación, excepto las modificaciones de los artículos 87°, 209°, 354° y 355° contenidas en la presente norma, así como las modificaciones a la Ley General de Sociedades, las que regirán a partir del 1 de enero de 2009. Asimismo, lo referente a las facultades de autorregulación y administración del fondo de garantía entrará en vigencia conforme a los plazos establecidos en la Única Disposición Transitoria de la presente norma.</p>	<p>1. La política de inocuidad de los alimentos se sustenta fundamentalmente en los siguientes principios, sin perjuicio de la vigencia de otros principios generales del Derecho:</p>	
<p><b>POR TANTO:</b> Mando se publique y cumpla, dando cuenta al Congreso de la República.</p>	<p><b>1.1. Principio de alimentación saludable y segura.-</b> Las autoridades competentes, consumidores y agentes económicos involucrados en toda la cadena alimentaria tienen el deber general de actuar respetando y promoviendo el derecho a una alimentación saludable y segura, en concordancia con los principios generales de Higiene de Alimentos del Codex Alimentarius. La inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano es una función esencial de salud pública. y, como tal, integra el contenido esencial del derecho constitucionalmente reconocido a la salud.</p>	
<p>Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los veintisiete días del mes de junio del año dos mil ocho.</p>	<p><b>1.2. Principio de competitividad.-</b> Todos los actores de la cadena alimentaria y las autoridades competentes deben procurar la búsqueda de un desarrollo competitivo y responsable, basado en la inocuidad de los alimentos tanto de consumo interno como de exportación, por ser condición indispensable para la competitividad.</p>	
<p>ALAN GARCÍA PÉREZ Presidente Constitucional de la República</p>	<p><b>1.3. Principio de colaboración integral.-</b> Las autoridades competentes de nivel nacional, regional y local, los consumidores y los agentes económicos que participan en cualquiera de las fases de la cadena alimentaria tienen el deber de colaborar y actuar en forma integrada para contar con alimentos inocuos.</p>	
<p>JORGE DEL CASTILLO GÁLVEZ Presidente del Consejo de Ministros</p>	<p><b>1.4. Principio de responsabilidad social de la industria.-</b> Los agentes económicos involucrados en cualquiera de las fases de la cadena alimentaria son los responsables directos de la producción, elaboración y comercialización de alimentos inocuos, saludables y aptos para el consumo humano.</p>	
<p>LUIS CARRANZA UGARTE Ministro de Economía y Finanzas</p>	<p><b>1.5. Principio de transparencia y participación.-</b> Todos los actores de la cadena alimentaria y, en especial, los consumidores, deben disponer de mecanismos de participación adecuados y de fácil acceso en temas de inocuidad de los alimentos.</p>	
<p>219809-4</p>	<p><b>DECRETO LEGISLATIVO N° 1062</b></p>	
<p>EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA</p>	<p><b>POR CUANTO:</b></p>	
<p>El Congreso de la República, mediante Ley N° 29157, ha delegado en el Poder Ejecutivo la facultad de legislar sobre determinadas materias, con la finalidad de facilitar la implementación del Acuerdo de Promoción Comercial Perú - Estados Unidos y apoyar la competitividad</p>		

*Fuente: (Decreto Legislativo N° 1062, 2008)*



Es deber de las autoridades competentes de nivel nacional, regional y local brindar de manera oportuna, confiable y transparente, toda la información necesaria para que los actores de la cadena alimentaria puedan ejercer dicha participación.

**1.6. Principio de decisiones basadas en evidencia científica.-** Las decisiones en materia de inocuidad de los alimentos y las medidas para la gestión de los riesgos alimentarios deben estar sustentados en la evaluación de los riesgos de manera objetiva, transparente e independiente.

**1.7. Principio de cautela o de precaución.-** cuando, con respecto a la inocuidad de los alimentos, los datos científicos son insuficientes, no concluyentes o inciertos, o cuando una evaluación científica preliminar hace sospechar que existen motivos razonables para temer efectos potencialmente peligrosos para la salud humana, se podrá adoptar medidas provisionales de gestión del riesgo, las cuales no restringirán el comercio más que lo indispensable para lograr su objetivo, debiendo ser revisadas en un plazo razonable,.

**1.8. Principio de facilitación del comercio exterior.-** Las autoridades competentes y todos los actores de la cadena alimentaria deben asegurar la inocuidad de los alimentos que son objeto del comercio internacional y, al mismo tiempo, favorecer el libre comercio, evitando crear obstáculos innecesarios al intercambio comercial.

**1.9. Principio de simplicidad.-** Todos los procedimientos administrativos relacionados con inocuidad de los alimentos tanto para el comercio nacional como para el comercio exterior, seguidos ante las autoridades competentes de nivel nacional, regional y local, deberán ser sencillos y dinámicos, debiendo eliminarse toda complejidad o formalidad innecesaria, siendo los requisitos exigidos únicamente aquellos indispensables y proporcionales a los fines de salud pública que se persigue cumplir.

**1.10. Principio de enfoque preventivo.-** Las autoridades competentes privilegiarán las actividades educativas y de difusión de la política y legislación de inocuidad de los alimentos, así como las actividades de promoción de sistemas de aseguramiento de la calidad. Para ello, podrán celebrar convenios con las asociaciones de consumidores, colegios profesionales, gremios, universidades, y otras instituciones educativas.

2. Los principios señalados servirán también de criterio interpretativo para resolver las cuestiones que puedan suscitarse en la aplicación de las normas en materia de inocuidad de los alimentos, como parámetros para la generación de disposiciones complementarias de carácter general, y para suplir los vacíos en el ordenamiento.

3. La relación de principios anteriormente enunciados no tiene carácter taxativo.

#### TÍTULO I DISPOSICIONES GENERALES

##### Artículo 1°.- Objeto

La presente Ley tiene por objeto garantizar la inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano, a fin de proteger la vida y la salud de las personas, con un enfoque preventivo e integral, a lo largo de toda la cadena alimentaria, incluido los piensos.

##### Artículo 2°.- Definiciones

Para efectos de la interpretación y aplicación de la presente Ley, sus Reglamentos y disposiciones

complementarias, se utilizarán las definiciones contenidas en el Anexo de la presente Ley.

##### Artículo 3°.- Ámbito de Aplicación

La presente Ley es de aplicación a toda persona natural o jurídica, sociedades de hecho o patrimonios autónomos, de derecho público o privado, con o sin fines de lucro, que directa o indirectamente participe en alguna de las fases de la cadena alimentaria de consumo humano en todo el territorio nacional.

#### TÍTULO II DE LA INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS

##### CAPÍTULO I DE LOS DERECHOS DE LOS CONSUMIDORES Y OBLIGACIONES DE LOS PROVEEDORES

##### Artículo 4°.- Derechos de los consumidores

Toda persona tiene derecho a:

1. Consumir alimentos inocuos. En el caso de alimentos de procedencia extranjera, únicamente se permitirá la importación de aquellos cuya producción, comercialización y consumo estén permitidos en el país de origen por no constituir riesgo para la salud.
2. Recibir de los proveedores la información necesaria para tomar una decisión o realizar una elección adecuadamente informada en la adquisición de alimentos, así como para efectuar un uso o consumo adecuado de éstos.
3. Recibir protección contra las prácticas fraudulentas o engañosas.
4. Recibir protección contra la producción, importación, fraccionamiento, comercialización o traspaso a título gratuito de alimentos alterados, contaminados, adulterados, falsificados o que hayan sido declarados no aptos para el consumo humano por el organismo correspondiente.
5. La reparación por daños y perjuicios, como consecuencia del consumo de los alimentos que se ofrecen en el mercado.

##### Artículo 5°.- Obligaciones de los proveedores

Los proveedores deben suministrar alimentos sanos y seguros, siendo responsables directos por la inocuidad de los alimentos, en tal sentido están obligados a:

1. Cumplir con las normas sanitarias y de calidad aprobadas por la Autoridad de Salud de nivel nacional, las normas de la presente Ley, su Reglamento y disposiciones complementarias y, en lo que corresponda, las normas de rotulado.
2. Asegurar que el personal que intervenga en todas y cualquiera de las fases de la cadena alimentaria, cumpla con realizarlo conforme a los Principios Generales de Higiene del Codex Alimentarius
3. Asegurar que el manejo poscosecha, la fabricación, elaboración, fraccionamiento, almacenamiento y expendio de alimentos se realice en locales que reúnan las condiciones de ubicación, instalación y operación sanitaria y de inocuidad adecuadas, conforme a los Principios Generales de Higiene del Codex Alimentarius.
4. Garantizar y responder, en el caso de alimentos elaborados industrialmente envasados, por el contenido y la vida útil del producto indicado en el envase. Dichos envases deben ser inocuos.
5. Brindar información, en el caso de alimentos elaborados industrialmente de manufactura nacional, en términos comprensibles en idioma castellano y de conformidad con el sistema legal de unidades de medida. Tratándose de alimentos elaborados industrialmente de manufactura extranjera, deberá brindarse en idioma castellano la información relacionada con el producto, las condiciones de las garantías, las advertencias y riesgos previsibles, así como los cuidados a seguir en caso se produzca un daño.

6. Adoptar, en caso que se coloque en el mercado alimentos en los que posteriormente se detecte la existencia de peligros no previstos, las medidas razonables para eliminar o reducir el peligro, tales como notificar a las autoridades competentes esta circunstancia, retirar los alimentos, disponer su sustitución, e informar a los consumidores oportunamente las advertencias del caso.

## CAPÍTULO II DE LA VIGILANCIA Y CONTROL DE LA INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS

### Artículo 6º.- Vigilancia higiénica y sanitaria

La producción, importación y comercio de alimentos destinados al consumo humano está sujeta a la vigilancia sanitaria, a fin de garantizar su inocuidad, en protección de la salud.

Los estándares de límites máximos de residuos (LMR) de plaguicidas y fármacos de uso veterinario contaminantes químicos, físicos y microbiológicos para alimentos destinados al consumo humano, establecidos por la Autoridad de Salud de nivel nacional, son de cumplimiento obligatorio, en salvaguarda de la vida y la salud humana.

Cada sector deberá realizar la vigilancia higiénica sanitaria de la cadena alimentaria, según su competencia, incluyendo los piensos.

### Artículo 7º.- Seguridad de los Alimentos

1. Sólo se puede comercializar alimentos inocuos.
2. Se considera que un alimento es inocuo cuando:
  - a) No sea nocivo para la salud;
  - b) Sea calificado como apto para el consumo humano por la autoridad sanitaria competente; y,
  - c) No cause daño al consumidor cuando se prepare y/o consuma de acuerdo con el uso a que se destina.
3. Cuando un alimento no inocuo pertenece a un lote o a una remesa de alimentos de la misma clase o descripción, se presume que todos los alimentos contenidos en ese lote o en esa remesa son no inocuos, salvo que una evaluación detallada demuestre lo contrario.
4. Se prohíbe la distribución, comercialización o consumo de alimentos de procedencia desconocida o dudosa, siniestrados o declarados no aptos para consumo humano por la autoridad sanitaria competente.

### Artículo 8º.- Seguridad de los piensos

1. Está prohibida la comercialización y uso de piensos no inocuos en la alimentación de animales destinados a la producción de alimentos.
2. Se considera que un pienso es inocuo cuando no tenga un efecto perjudicial para los animales destinados al consumo humano.
3. Cuando un pienso no inocuo pertenece a un lote o a una remesa de alimentos de la misma clase o descripción, se presume que todos los alimentos contenidos en ese lote o en esa remesa son no inocuos, salvo que una evaluación detallada demuestre lo contrario.

### Artículo 9º.- Rastreabilidad

En todas las etapas de la producción, transformación, distribución y comercialización deberá asegurarse la rastreabilidad de los alimentos, los piensos, los animales destinados a la producción de alimentos y de cualquier otra sustancia destinada a ser incorporada en un alimento o un pienso o con probabilidad de serlo.

Como parte de un control integrado de la inocuidad de los alimentos, se pueden utilizar medidas de rastreabilidad para mejorar la gestión de los riesgos y proporcionar información fidedigna a los consumidores.

Además, dichas medidas pueden ayudar a garantizar la autenticidad de un producto y al mismo tiempo contribuir a mejorar su calidad.

### Artículo 10º.- Vigilancia y Control de la Inocuidad de Alimentos

Los lugares de producción e instalaciones relacionadas con la producción de alimentos podrán ser objeto, en cualquier momento, de vigilancia y control sanitario para verificar la aplicación de un sistema de aseguramiento de la calidad basado en análisis de peligros y control de puntos críticos (HACCP).

### Artículo 11º.- Certificación Oficial de Inocuidad de Alimentos Agropecuarios de producción o de procesamiento primario

1. Los alimentos agropecuarios de producción o de procesamiento primario de origen nacional podrán contar con un certificado oficial expedido por la Autoridad Nacional en Sanidad Agraria o por un organismo de certificación, conforme a los requisitos que establezca el Reglamento Sectorial.
2. Los alimentos agropecuarios de producción o de procesamiento primario procedentes del extranjero deberán contar con un certificado oficial expedido por la Autoridad Competente del país exportador o por un organismo de certificación autorizado, conforme a los requisitos que establezca el Reglamento Sectorial.

### Artículo 12º.- Registro Sanitario de alimentos elaborados industrialmente

Todo alimento elaborado industrialmente, de producción nacional o extranjera, sólo podrá expendirse previo Registro Sanitario otorgado por la Dirección General de Salud Ambiental.

## TÍTULO III DE LAS AUTORIDADES COMPETENTES

### Artículo 13º.- Comisión Multisectorial Permanente de Inocuidad Alimentaria

Créase la Comisión Multisectorial Permanente de Inocuidad Alimentaria, con el objeto de coordinar las actividades sectoriales y con la sociedad civil que garanticen la inocuidad de los alimentos de consumo humano a lo largo de toda la cadena alimentaria, en todo el territorio nacional; con la finalidad de proteger la vida y la salud de las personas, con un enfoque preventivo.

La Comisión Multisectorial Permanente de Inocuidad Alimentaria está constituida por los ministerios de Salud (quien la preside), Agricultura y Producción, encontrándose adscrita al Ministerio de Salud, el cual se encargará de proponer el reglamento de funcionamiento de la Comisión.

La Comisión Multisectorial Permanente de Inocuidad Alimentaria coordinará y efectuará el seguimiento de la aplicación de la presente Ley con los diferentes niveles de gobierno. Asimismo, coordinará e intercambiará información con los consumidores y los agentes económicos involucrados en cualquiera de las etapas de la cadena alimentaria.

La Comisión Multisectorial Permanente de Inocuidad Alimentaria velará porque las autoridades de todos los niveles de gobierno apliquen procedimientos exhaustivos que contemplen el retiro rápido de los productos alimenticios alterados, contaminados, adulterados, falsificados o que hayan sido declarados no aptos para el consumo humano por el organismo correspondiente.

Los demás aspectos no contemplados en el presente artículo, serán regulados en el Reglamento de la presente ley.

### Artículo 14º.- Autoridad competente de nivel nacional en salud

El Ministerio de Salud a través de la Dirección General de Salud Ambiental es la Autoridad de Salud de nivel nacional y tiene competencia exclusiva en el aspecto

técnico, normativo y de supervigilancia en materia de inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano, elaborados industrialmente, de producción nacional o extranjera, con excepción de los alimentos pesqueros y acuícolas.

La Autoridad Nacional en Salud ejerce sus competencias en inocuidad de alimentos de consumo humano de procedencia nacional, importados y de exportación, contribuyendo a la protección de la salud de los consumidores, promoviendo la disminución de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs).

**Artículo 15°.- Funciones de la Autoridad competente de nivel nacional en salud**

Son funciones de la Autoridad de Salud de nivel nacional en materia de inocuidad alimentaria en alimentos elaborados industrialmente, con excepción de los alimentos pesqueros y acuícolas:

1. Establecer las normas generales de higiene en toda la cadena de alimentos y bebidas de consumo humano
2. Establecer las condiciones, requisitos y procedimientos para el registro sanitario, habilitación de plantas y certificado sanitario de exportación de alimentos y bebidas destinados al consumo humano
3. Establecer las normas para la vigilancia sanitaria, medidas de seguridad, infracciones y sanciones de los establecimientos de fabricación, almacenamiento y fraccionamiento de alimentos de consumo humano, y de los servicios de alimentación colectiva, hospitales y de pasajeros en los medios de transporte, con excepción de los dedicados al procesamiento de productos hidrobiológicos.
4. Normar el sistema nacional de Rastreabilidad y conducir lo que le corresponde del ámbito de su competencia, en el sistema de rastreabilidad en coordinación con las demás autoridades competentes.
5. Establecer los estándares de límites máximos de residuos (LMR) de plaguicidas y fármacos de uso veterinario contaminantes químicos, físicos y microbiológicos para alimentos destinados al consumo humano, en salvaguarda de la vida y la salud humana.
6. Gestionar la equivalencia y armonización internacional de la normativa alimentaria, para un reconocimiento de los países con los que se comercializa alimentos elaborados industrialmente, impulsando la aplicación de la normativa del *Codex Alimentarius*.
7. Resolver las alertas sanitarias nacionales y las procedentes del exterior respecto de alimentos industrializados y autorizar su consumo.
8. Efectuar el análisis de riesgo de los alimentos industrializados, que hayan sido señalados como riesgosos para la salud por entidades científicas y autorizar su consumo y proponer las actividades de gestión y comunicación de riesgos respecto al producto.
9. Conducir la vigilancia sanitaria de los establecimientos de fabricación, almacenamiento y fraccionamiento de alimentos de consumo humano y los servicios de alimentación colectiva, de hospitales y de los medios de transporte de pasajeros, con excepción de los dedicados al procesamiento de los productos hidrobiológicos
10. Otras que el Ministerio de Salud establece en los Reglamentos y disposiciones complementarias de la presente Ley.

**Artículo 16°.- Autoridad competente de nivel nacional en sanidad agraria**

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA es la Autoridad Nacional en Sanidad Agraria y tiene competencia exclusiva en el aspecto técnico, normativo y de vigilancia en materia de inocuidad de los alimentos agropecuarios de producción y procesamiento primario

destinados al consumo humano y piensos, de producción nacional o extranjera.

La Autoridad Nacional en Sanidad Agraria ejercerá sus competencias en inocuidad agroalimentaria de producción y procesamiento primario contribuyendo a la protección de la salud de los consumidores y promoviendo la competitividad de la agricultura nacional, a través de la inocuidad de la producción agropecuaria.

**Artículo 17°.- Funciones de la Autoridad competente de nivel nacional en sanidad agraria**

Son funciones de la Autoridad Nacional en Sanidad Agraria en materia de inocuidad alimentaria en alimentos agropecuarios de producción y procesamiento primario:

1. Promover y facilitar la implementación y ejecución de un sistema de aseguramiento de la calidad sanitaria basado en análisis de peligros y control de puntos críticos (HACCP) y sus requisitos, con la finalidad de asegurar productos inocuos y fomentar la competitividad de la agricultura nacional.
2. Emitir los protocolos técnicos relacionados con el cumplimiento de las normas de inocuidad alimentaria de producción y procesamiento primario.
3. Conducir y mantener, dentro del ámbito de su competencia, el sistema de rastreabilidad en coordinación con las demás autoridades competentes.
4. Certificar, a solicitud de parte, la inocuidad de los alimentos de producción y procesamiento primario para el mercado nacional y para el comercio exterior.
5. Gestionar la equivalencia internacional de la normativa alimentaria, para un reconocimiento de los países con los que se comercializa alimentos agropecuarios de producción y procesamiento primario.
6. Otras que se establezcan en los reglamentos y disposiciones complementarias de la presente Ley.

**Artículo 18°.- Autoridad competente de nivel nacional en sanidad pesquera**

El Instituto Tecnológico Pesquero del Perú - ITP es la Autoridad de Sanidad Pesquera de nivel nacional y tiene competencia exclusiva en el aspecto técnico, normativo y de vigilancia en materia de inocuidad de los alimentos pesqueros y acuícolas destinados al consumo humano y animal.

**Artículo 19°.- Funciones de la Autoridad competente de nivel nacional en sanidad pesquera**

Son funciones de la Autoridad de Sanidad Pesquera de nivel nacional en materia de inocuidad alimentaria en alimentos pesqueros y acuícolas:

1. Realizar la vigilancia sanitaria de la captura, extracción o recolección, transporte y procesamiento de productos hidrobiológicos así como de las condiciones higiénicas de los lugares de desembarque de dichos productos.
2. Otorgar la Certificación Oficial Sanitaria de los alimentos pesqueros y acuícolas.
3. Emitir los protocolos técnicos relacionados con el cumplimiento de las normas sanitarias, así como para los permisos, licencias, autorizaciones y concesiones en los ámbitos pesquero y acuícola.
4. Conducir y mantener, dentro del ámbito de su competencia, el sistema de trazabilidad en coordinación con las demás autoridades competentes.
5. Gestionar la equivalencia internacional de la normativa sanitaria, para el reconocimiento por parte de los países con los que se comercializa alimentos pesqueros y acuícolas.
6. Otras que se establezcan en los Reglamentos y disposiciones complementarias de la presente Ley.

**Artículo 20°.- Rol de los Gobiernos Regionales y de los Gobiernos Locales**

Los Gobiernos Regionales y los Gobiernos Locales deberán aplicar la presente ley, dentro del ámbito de su circunscripción territorial y de acuerdo con sus leyes orgánicas.

Los Gobiernos Regionales y los Gobiernos Locales deberán realizar las acciones necesarias para implementar y difundir la Política Nacional de Inocuidad de los Alimentos, así como coordinar y colaborar con las autoridades competentes de nivel nacional para el funcionamiento del sistema de vigilancia y control.

El control y la vigilancia del comercio interno de alimentos agropecuarios de producción y procesamiento primario están a cargo de los Gobiernos Locales, de conformidad con lo dispuesto en la Ley N° 27972 - Ley Orgánica de Municipalidades, los cuales ejecutarán los procedimientos emanados de las reglamentaciones específicas que emita la Autoridad Nacional en Sanidad Agraria en esta materia.

El control y vigilancia del transporte de alimentos, así como la vigilancia de los establecimientos de comercialización, elaboración y expendio de alimentos, con excepción de los establecimientos dedicados a su fraccionamiento y de los servicios de alimentación de pasajeros en los medios de transporte, están a cargo de los Gobiernos Locales, de conformidad con lo dispuesto en la Ley N° 27972 - Ley Orgánica de Municipalidades.

**TÍTULO IV  
DE LAS INFRACCIONES Y SANCIONES****Artículo 21°.- Potestad reglamentaria sancionadora**

Las infracciones y sanciones a las disposiciones de la presente Ley, su Reglamento y disposiciones complementarias serán conocidas y aplicadas por la Autoridad de Salud de nivel nacional, la Autoridad Nacional en Sanidad Agraria, la Autoridad de Sanidad Pesquera de nivel nacional, los Gobiernos Regionales y los Gobiernos Locales, dentro del ámbito de su competencia. Asimismo, les corresponde la ejecución coercitiva de las obligaciones derivadas de la presente Ley.

Por vía reglamentaria se tipificarán las infracciones a las disposiciones de la presente Ley y se establecerán las correspondientes sanciones.

**Artículo 22°.- Sanciones y medidas complementarias**

Las infracciones a la presente Ley establecidas en sus reglamentos y disposiciones complementarias serán sancionadas con multa expresada en fracciones o enteros de la Unidad Impositiva Tributaria (UIT) vigente y calculados al momento del pago efectivo de la misma. Asimismo, conjuntamente con la sanción, podrá disponerse con carácter complementario:

1. La denegación, suspensión o cancelación de los registros, permisos, certificados o autorizaciones correspondientes.
2. El comiso, destrucción o disposición final de los productos objetos de la infracción.
3. La clausura de establecimientos.
4. La publicación de las sanciones impuestas en el Diario Oficial El Peruano u otro medio de comunicación escrita de circulación nacional o regional.

En caso de reincidencia, se duplicará la multa impuesta y, de ser el caso, se aplicarán medidas complementarias adicionales.

Las autoridades competentes están facultadas, para la ejecución de las medidas complementarias, imponer multas coercitivas, reiteradas por períodos suficientes para cumplir lo ordenado, de conformidad con lo dispuesto en sus reglamentos y disposiciones complementarias. Las multas coercitivas son independientes de las sanciones que puedan imponerse con tal carácter y compatible con ellas, por lo cual no impiden a las autoridades competentes imponer una sanción distinta al final del procedimiento, de ser el caso.

Cada reglamento sectorial establecerá los procedimientos para la aplicación de las sanciones en su ámbito de competencia teniendo obligatoriamente en cuenta la gravedad de la infracción y los daños producidos a la salud de las personas, la capacidad económica del infractor y la condición de reincidencia o reiterancia. Asimismo, cada reglamento sectorial establecerá la escala de multas a aplicar.

**DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS  
FINALES****PRIMERA.- Entrada en vigencia**

La presente Ley entrará en vigencia a partir del día siguiente de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

La falta de reglamentación de alguna de las disposiciones de esta Ley no será impedimento para su vigencia y exigibilidad.

**SEGUNDA.- Delegación participativa**

Las autoridades competentes de nivel nacional, regional o local, por acuerdo o decisión de su máxima autoridad, podrán delegar y autorizar el ejercicio de sus facultades a otras instituciones públicas o privadas, para optimizar y dinamizar la aplicación de la presente ley.

**DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS  
TRANSITORIAS****PRIMERA.- Reglamentación**

Mediante Decreto Supremo refrendado por los Ministros de Agricultura, Salud y Producción y en un plazo de noventa (90) días hábiles contados a partir de la fecha de entrada en vigencia de la presente Ley, se aprobará su Reglamento.

Los reglamentos sectoriales serán expedidos por los sectores correspondientes, en un plazo de sesenta (60) días hábiles contados a partir de la publicación del Reglamento de la presente Ley.

**SEGUNDA.- Regulación transitoria**

Los procedimientos iniciados antes de la entrada en vigencia de la presente Ley, se regirán por la normativa anterior hasta su conclusión. No obstante, son aplicables a los procedimientos en trámite, las disposiciones de la presente Ley que reconozcan derechos o facultades a los administrados frente a la administración.

**TERCERA.- Autorizaciones y registros otorgados bajo la normatividad preexistente**

Las autorizaciones, certificados, permisos y registros otorgados bajo la normatividad preexistente no se verán afectados por la vigencia de la presente Ley.

**CUARTA.- Refrendo de la autoridad de salud**

Las autoridades competentes en inocuidad de alimentos de consumo humano, adecuarán sus reglamentos a las disposiciones de la presente ley, los que deberán ser refrendados por la autoridad de salud, de acuerdo a lo establecido en el artículo 126° de la Ley N° 26842.

**QUINTA.- Vigencia del Reglamento de vigilancia y control sanitario de alimentos y bebidas**

Precítese que el Reglamento de vigilancia y control sanitario de alimentos y bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007-98-SA y sus modificatorias, mantiene su vigencia, exceptuándose los artículos 88° literal c) y 93° relacionados a los productos de origen hidrobiológico, por estar regulados por la Ley N° 28559.

Asimismo, en tanto se expidan los reglamentos y disposiciones complementarias de la presente Ley, continuarán aplicándose las normas contenidas en el Decreto Supremo N° 040-2001-PE, el Decreto Supremo N° 007-2004-PRODUCE y sus correspondientes modificatorias, ampliatorias y normas complementarias, con las sanciones que contienen, en todo lo que no se opongan a la presente Ley.

**SEXTA.- Referencias a dispositivos derogados**

Las referencias contenidas en el ordenamiento jurídico a la normatividad preexistente que queda derogada en virtud de la presente Ley, se entienden sustituidas por ésta para todos los efectos legales.

**DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS DEROGATORIAS****ÚNICA.- Derogación genérica**

Esta Ley es de orden público y deroga todas las disposiciones legales, reglamentarias o administrativas, de igual o inferior rango, que se le opongan o contradigan, así como por absorción, aquellas disposiciones que regulen idéntica materia de algún precepto de esta Ley.

**POR TANTO:**

Mando se publique y cumpla, dando cuenta al Congreso de la República.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los veintisiete días del mes de junio del año dos mil ocho.

ALAN GARCÍA PÉREZ  
Presidente Constitucional de la República

JORGE DEL CASTILLO GÁLVEZ  
Presidente del Consejo de Ministros

LUIS CARRANZA UGARTE  
Ministro de Economía y Finanzas

ISMAEL BENAVIDES FERREYROS  
Ministro de Agricultura

RAFAEL REY REY  
Ministro de la Producción

VERÓNICA ZAVALA LOMBARDI  
Ministra de Transportes y Comunicaciones  
Encargada del despacho del Ministerio de Salud

**ANEXO**

**Acuerdo de medidas sanitarias y fitosanitarias de la OMC.-** Establece las reglas básicas para la normativa sobre inocuidad de los alimentos y salud de los animales y preservación de los vegetales.

**Alimento.-** 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 fabricación, preparación o tratamiento de los alimentos, pero no incluye los cosméticos, ni el tabaco ni las sustancias utilizadas solamente como medicamentos.

**Alimento Agropecuario.-** Alimento de origen vegetal o animal producidos tradicional o convencionalmente en el campo, excepto los de origen pesquero y acuícola.

**Alimento de origen Pesquero.-** Es la especie extraída del medio acuático, destinado al consumo humano o animal, o como materia prima para la industria.

**Alimento de origen Acuícola.-** Son todos los productos pesqueros, nacidos y criados bajo control humano o capturado durante la fase de juveniles y mantenidos en cautividad, hasta alcanzar tamaños comerciales y puestos en el mercado como productos alimenticios.

**Alimento elaborado.-** Son todos aquellos preparados culinariamente, en crudo o precocinado o cocinado, de uno o varios alimentos de origen animal o vegetal, con o sin la adición de otras sustancias, las cuales deben estar debidamente autorizadas. Podrá presentarse envasado o no y dispuesto para su consumo.

**Alimento elaborado industrialmente (alimento fabricado).-** Se refiere a todos aquellos alimentos transformados a partir de materias primas de origen vegetal, animal, mineral o combinación de ellas, utilizando procedimientos físicos, químicos o biológicos o combinación de estos y que contienen aditivos alimentarios, para obtener alimentos destinados al consumo humano.

**Análisis de riesgos -** Un proceso que consta de tres (03) componentes: evaluación de riesgos, gestión del riesgo y comunicación del riesgo.

**Cadena alimentaria.-** Fases que abarcan los alimentos desde la producción primaria hasta el consumo final.

**Codex Alimentarius.-** El *Codex Alimentarius* es un código de alimentación y es la compilación de normas, códigos de prácticas, directrices y recomendaciones de la Comisión del Codex Alimentarius.

**Comunicación del riesgo -** Intercambio interactivo de información y opiniones sobre el riesgo entre los evaluadores del riesgo, los encargados de la gestión del mismo, los consumidores y otros interesados.

**Evaluación de riesgos -** Un proceso con base científica que consta de las siguientes fases: i) identificación del peligro, ii) caracterización del peligro, iii) evaluación de la exposición, y iv) caracterización del riesgo.

**Fase.-** Cualquier procedimiento, operación o etapa de la cadena alimentaria, incluidas las materias primas, desde la producción primaria hasta el consumo final.

**Gestión del riesgo -** El proceso de ponderar las distintas políticas posibles a la luz de los resultados de la evaluación del riesgo y, si procede, elegir y aplicar opciones de control apropiadas, incluidas las medidas reglamentarias.

**Higiene de alimentos.-** Todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria.

**Inocuidad de los alimentos.-** La garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

**Peligro.-** Cualquier agente de naturaleza biológica, química o física presente en el alimento o bien la condición en la que éste se halla, que puede causar un efecto adverso para la salud.

**Pienso (alimento para animales):** todo material simple o compuesto, ya sea elaborado, semielaborado o sin elaborar, que se emplea directamente en la alimentación de animales destinados al consumo humano.

**Proceso.-** Conjunto de las fases sucesivas en la elaboración o transformación de una sustancia.

**Procesamiento primario.-** Es la fase de la cadena alimentaria aplicada a la producción primaria, de alimentos no sometidos a transformación. Esta fase incluye: dividido, partido, seccionado, rebanado, deshuesado, picado, pelado o desollado, triturado, cortado, limpiado, desgrasado, descascarillado, molido, pasteurizado, refrigerado, congelado, ultracongelado o descongelado.

**Producción primaria.-** Las fases de la cadena alimentaria hasta alcanzar, por ejemplo, la cosecha, el sacrificio, la caza, el ordeño, la pesca inclusive.

**Rastreabilidad/rastreo de productos en la cadena alimentaria.-** la capacidad para seguir el desplazamiento de un alimento a través de una o varias etapas especificadas de su producción, transformación y distribución.

## Anexo 28: NTS N°205 MINSA/DIGESA-2023

NTS N° 205 -MINSA/DIGESA-2023  
NORMA SANITARIA PARA MERCADOS DE ABASTO DE ALIMENTOS**5.2. Generalidades sobre ubicación, infraestructura e instalaciones**

- a) Los mercados de abasto deben contar con un local exclusivo para su funcionamiento, y ser independientes de viviendas, talleres de mecánica, fábricas, salas de juego o cualquier otro establecimiento en el que se desarrollen actividades que sean fuentes de contaminación hacia los alimentos que comercializan.
- b) Los locales de los mercados deben estar situados en lugares autorizados por la municipalidad respectiva.
- c) Las zonas circundantes y alrededores del mercado de abasto deben mantenerse libres de focos de contaminación, tales como acumulación de basura, chatarra, escombros, maleza, entre otros, que impliquen riesgos de contaminación cruzada hacia los alimentos.
- d) Se prohíbe la venta ambulatoria de alimentos al interior y en las zonas circundantes del mercado, que no estén autorizadas por la municipalidad.
- e) La infraestructura debe ser de construcción sólida y mantenerse en buen estado de conservación e higiene, previniéndose el ingreso de roedores, insectos y otros animales que representen riesgo de contaminación de los alimentos.
- f) Los techos deben asegurar que no hayan filtraciones de agua ni humedad que pongan en riesgo la inocuidad de los alimentos, no tener acumulación de objetos inservibles o en desuso que pueden ser focos de contaminación (cajones, bolsas, maderas, material de construcción, equipos inoperativos u obsoletos, entre otros) que puedan favorecer la presencia de roedores y otros animales, y mantenerse en buen estado de conservación e higiene.
- g) Se debe contar con un ambiente o área identificada para el embarque y desembarque de los alimentos.
- h) La distribución de los puestos de venta, servicios higiénicos, almacenes, vías de acceso, entre otras, debe permitir que las operaciones con los alimentos se realicen respetando el flujo desde la recepción hasta su comercialización, en condiciones que no generen riesgos de contaminación cruzada.
- i) Los pisos y paredes deben ser lisos a fin de facilitar su limpieza, estar en buen estado de conservación e higiene; la unión entre los pisos y las paredes debe tener curva sanitaria y continua para facilitar la limpieza. Los pisos deben permitir el escurrimiento de líquidos hacia los sumideros. Los techos y toldos deben mantenerse limpios y en buen estado de conservación.
- j) Debe haber ventilación suficiente que asegure la circulación del aire, a fin de evitar la concentración de olores indeseables, humedad e incremento de la temperatura de los alimentos.
- k) Las ventanas y otras aberturas deben tener un diseño que evite la acumulación de suciedad, debiéndose mantener en buen estado de conservación y limpieza. Deben estar provistas de mallas o medios que impidan el ingreso de insectos, aves u otros animales, y ser desmontables a fin de facilitar su limpieza.
- l) La iluminación debe permitir la visibilidad para el correcto desempeño de las operaciones con los alimentos, y que los consumidores puedan observar con claridad las características y las condiciones sanitarias de los alimentos que adquieren. Las fuentes de luz suspendidas sobre los alimentos deben estar protegidas a fin de prevenir la contaminación de los alimentos en caso de rotura.
- m) Los almacenes de alimentos deben ser de uso exclusivo y cumplir la normativa sanitaria vigente sobre la materia.
- n) La presencia de animales de compañía no es permitida en los mercados. Se colocarán carteles visibles advirtiendo sobre la prohibición de traer consigo perros,

*Fuente: (MINSA, 2023)*

**NTS N° 205 -Minsa/DIGESA-2023**  
**NORMA SANITARIA PARA MERCADOS DE ABASTO DE ALIMENTOS**

gatos u otro animal, o la presencia de estos en el interior del local.

- o) Los pasadizos del mercado y alrededores de los puestos de venta deben estar libres de acumulación de objetos y permitir el adecuado tránsito de las personas.
- p) Queda prohibido realizar el faenado de cualquier especie de origen animal dentro de las instalaciones del mercado.
- q) No se permite realizar actividades de procesamiento de productos hidrobiológicos dentro de las instalaciones del mercado, salvo que se cuente con instalaciones especialmente diseñadas y construidas para el caso, y que se cumplan con los requerimientos exigidos para las plantas de procesamiento establecidos en la normativa sanitaria vigente. El procesamiento incluye las actividades de refrigerado, congelado, salado, secado, marinado, ahumado, conservas, producción de concentrados proteínicos, u otras técnicas dirigidas a la preservación o transformación del pescado destinado al consumo humano.
- r) No deben encontrarse en el mercado lugares donde se almacenen etiquetas o se realicen operaciones de etiquetado o re etiquetado de alimentos.
- s) La planificación de la infraestructura e instalaciones de los mercados de abasto (construcción, modificación, reestructuración, ampliación u otro) debe considerar las facilidades para el cumplimiento de las condiciones sanitarias establecidas en la presente Norma Sanitaria.

**5.5. Generalidades sobre los puestos de venta de alimentos**

- a) La infraestructura de los puestos de venta debe ser de material de fácil limpieza, mantenerse en buen estado de conservación e higiene.
- b) La distribución de los puestos debe ser ordenada y agrupada según los giros de alimentos considerando el riesgo sanitario. Se tiene al menos la siguiente zonificación:

Puestos de venta de carnes y menudencias de animales de abasto y pescados/mariscos.	
Puestos de vegetales y frutas	Mediano riesgo
Puestos de alimentos preparados	Mediano riesgo
Puestos de abarrotes	

- c) Los puestos de venta que requieran agua para la manipulación de los alimentos deben contar en el propio puesto con puntos de agua que permitan un uso fluido de la misma y en la cantidad requerida para la actividad.
- d) Los puestos de venta que requieran conservar los alimentos en refrigeración o congelación, deben contar con fluido eléctrico y con equipos operativos para tal fin, mantenidos en buen estado de conservación e higiene.
- e) Los puestos deben estar libres de elementos en desuso y que no se requieran para la manipulación de los alimentos según el giro.
- f) El empaque de expendio de los alimentos debe ser de material de primer uso y para ese fin.
- g) Los productos certificados como orgánicos, para su comercialización, tienen que estar separados de los alimentos convencionales (no orgánicos), para evitar su mezcla y contaminación; asimismo, deben estar certificados y debidamente etiquetados y rotulados, según la norma nacional vigente.

*Fuente: (Minsa, 2023)*

NTS N° 205 -MINS/DIGESA-2023  
NORMA SANITARIA PARA MERCADOS DE ABASTO DE ALIMENTOS

## VI. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

### 6.1. PUESTOS DE VENTA

#### 6.1.1. Para los puestos de venta de carnes, menudencias de animales de abasto, y puestos de venta de pescados y mariscos

- a) Las carnes y menudencias de animales de abasto deben proceder de establecimientos autorizados por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) y contar con la licencia de funcionamiento otorgada por la municipalidad correspondiente.
- b) Está prohibido el faenamiento de aves y de cualquier especie de origen animal en los puestos de venta.
- c) Todo puesto debe tener un anuncio en forma expresa, clara y visible que indique el tipo de carne que se comercializa en ese puesto.
- d) Está prohibido el uso de superficies de madera, sea para corte, acondicionamiento o exhibición de los alimentos. Tienen que emplearse superficies de corte, utensilios y equipos de fácil higienización y en buen estado de conservación.
- e) Se debe contar con un espacio suficiente para los vendedores u operadores del puesto y para realizar con facilidad y bajo condiciones higiénicas las actividades de almacenamiento, exhibición y expendio, incluyendo lo necesario para la disposición de los residuos.
- f) Deben estar provistos de instalaciones de agua y desagüe y contar con lavaderos de material liso, sin grietas, en buen estado de conservación e higiene. Los puntos de agua, de preferencia, deben contar con llave de cierre que no implique el uso de las manos.
- g) La iluminación debe permitir una buena visualización de los alimentos, así como de la higiene del puesto de venta. Las luminarias deben estar protegidas a fin de evitar que, en caso de rotura, los vidrios puedan caer sobre los alimentos.
- h) Las superficies que entran en contacto con el pescado, sean mesas de exposición, recipientes, cajas, bandejas, tableros de corte, cuchillos, entre otros, deben ser de materiales lisos, resistentes, no corrosibles, que puedan ser fácilmente limpiados y desinfectados. No se permite el uso de la madera.
- i) Los utensilios y equipos que contactan con los alimentos para su pesado, corte, exhibición, conservación, acopio u otro, deben ser de material de fácil lavado y desinfección, y mantenerse en buen estado de conservación e higiene.
- j) Está prohibido colocar recipientes (jabas, cajones, canastos u otros) con carnes, menudencias, pescado, mariscos, directamente sobre el suelo.
- k) Los moluscos bivalvos deben proceder de mercados mayoristas pesqueros que cuentan con Declaración de Extracción (DER); los caracoles desvalvados deben proceder de mercados mayoristas que cuentan con Declaración de Gasterópodos Marinos desvalvados (DGaD), según lo dispuesto por el Organismo Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES).
- l) Deben contar con medios de refrigeración o congelación, mantenidos en buen estado de conservación e higiene, que aseguren las temperaturas de seguridad (refrigeración 0 a 4°C; congelación 0 a -18°C). El hielo para conservación de productos hidrobiológicos debe proceder de fábricas de hielo autorizadas por la autoridad competente (Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria - DIGESA o SANIPES, según corresponda)
- m) La exhibición y venta del pescado fresco debe efectuarse bajo condiciones de refrigeración. En este caso, el pescado se coloca sobre una capa de hielo que asegure preservar el pescado durante su exposición a la venta. Debe incluirse en los dispositivos de exposición del pescado un drenaje del hielo fundido.
- n) El manipulador de alimentos debe llevar un mandil o similar de superficie impermeable sobre la ropa de trabajo, llevar cubierto el cabello, y utilizar calzado impermeable, todo lo cual debe ser preferentemente blanco y ser mantenido en buen estado de conservación y limpio.

*Fuente: (MINS, 2023)*

## Anexo 29: NTS N°071-2008 MINSA/DIGESA

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



<b>X. CARNES Y PRODUCTOS CÁRNICOS.</b>						
<b>X.1 Carne cruda de ave refrigerada y congelada (pollo, gallina, pavo, pato, avestruz, otras).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<b>X.2 Carne de ave precocida congelada, que requiere tratamiento térmico antes de su consumo.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<b>X.3 Carne cruda, de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, camélidos, equinos, otros; refrigerada o congelada.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<b>X.4 Visceras de aves, bovinos, ovinos, caprinos; refrigeradas y congeladas.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5 x 10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<b>X.5 Apéndices de aves, bovinos, porcinos, caprinos, ovinos, refrigerados y congelados (cabeza, lengua, patas y cola).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	1	3	5	3	5 x 10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<b>X.6 Carnes crudas picadas y molidas.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	2	3	5	2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5 x 10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<b>X.7 Carnes procesadas refrigeradas o congeladas (hamburguesas, milanesas, croquetas y otros empanizados o aderezados).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	2	3	5	2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	1	50	5 x 10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Clostridium perfringens</i> (*)	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
(*) Sólo para productos con embalaje, película impermeable o atmósfera modificada o al vacío en lugar de aerobios mesófilos.						



Fuente: (MINSA, 2008)