UNIVERSIDAD DEL AZUAY

DEPARTAMENTO DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN GESTIÓN DE CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA II

“Estudio de la microbiota presente en superficies vivas e inertes en locales de venta de carnes crudas en el mercado 3 de Noviembre del cantón Cuenca”.

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÁSTER DE GESTIÓN DE CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

AUTOR:

ING. ANA CRISTINA PALACIOS AGUILERA

DIRECTOR:

MST. MÓNICA LUCIA TINOCO ALVEAR

CUENCA, ECUADOR 2017

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto, porque ha estado conmigo en cada paso que doy, cuidándome y dándome la fortaleza necesaria para continuar.

Quiero dejar también testimonio de eterna gratitud a mis padres, por ser mi soporte principal en todo este tiempo, llenándome de aspiraciones, sueños y esperanzas. A ellos les debo todo lo que soy, pese a los inconvenientes que se presentaron durante la elaboración de esta tesis, ellos estuvieron a mi lado siempre, la presente se los dedico de todo corazón.

A mis queridos hermanos por las fuerzas que me dieron cuando me veían desfallecer.

A ti Cesibel Ochoa, con todo mi cariño, respeto y admiración, tú que preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera materializar mi sueño. Ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti. Para ti siempre mi corazón y agradecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mis años de estudio, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y felicidad por sobre todas las cosas.

A mis padres por ser mi apoyo incondicional, por los valores inculcados. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanos por ser parte fundamental de mi vida, por llenarla de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

A ti Cesi querida, mil gracias por ser mi apoyo incondicional, porque siempre creíste en mí... Gracias por ser... Gracias por estar... Gracias por todo.

Gracias Ing. Mónica Tinoco por su predisposición a solventar mis inquietudes, por su tiempo y por los conocimientos transmitidos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA II

AGRADECIMIENTOS III

ÍNDICE DE CONTENIDOS V

INDICE DE TABLAS VI

INDICE DE FIGURAS VII

INDICE DE ANEXOS VIII

RESUMEN IX

ABSTRACT X

INTRODUCCIÓN 1

MARCO TEÓRICO 3

CAPÍTULO 1 13

MATERIALES Y MÉTODOS 13

1.1 Datos generales 13

1.2 Recursos 13

1.3 Universo y muestra 13

1.4 Procedimiento de la toma de muestras 13

1.5 Método de muestreo 14

1.6 Análisis Microbiológicos 14

1.7 Procedimiento para la siembra de muestras. 15

1.8 Procedimiento para el análisis e interpretación de datos 15

1.8.1 Cálculo superficies regulares 15

1.8.2 Cálculo superficies irregulares..... 15

CAPÍTULO 2 17

RESULTADOS.....17

2.1 INTERPRETACIÓN DE DATOS.....17

CAPITULO 3 26

DISCUSIÓN 26

CONCLUSIONES 31

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....32

ANEXOS 35

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados obtenidos para coliformes totales en manos, representados en Log UFC/g. 18

Tabla 2. Resultados obtenidos para coliformes totales en mesas, representados en Log UFC/g. 19

Tabla 3. Resultados obtenidos para coliformes totales en cuchillos, representados en Log UFC/g. 20

Tabla 4. Resultados obtenidos para E. Coli en manos, representados en Log UFC/g...... 21

Tabla 5. Resultados obtenidos para E. Coli en mesas, representados en Log UFC/g...... 22

Tabla 6. Resultados obtenidos para E. Coli en cuchillos, representados en Log UFC/g. 23

Tabla 7. Resultado de las primeras pruebas de Listeria y Salmonella. 24

Tabla 8. Resultado de las segundas pruebas de Listeria y Salmonella. 24

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resultados obtenidos para coliformes totales en manos. 18

Figura 2 Resultados obtenidos para coliformes totales en mesas. 19

Figura 3. Resultados obtenidos para coliformes totales en cuchillos. 20

Figura 4. Resultados obtenidos para E. Coli en manos. 21

Figura 5. Resultados obtenidos para E. Coli en mesas. 22

Figura 6. Resultados obtenidos para E. Coli en cuchillos. 23

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Kit rápido de deteccion de Salmonella. 35

Anexo 2 Kit rápido de detección de Listeria. 36

Anexo 3. Norma Peruana de Superficies. 37

Anexo 4. Fotografías. 41

Anexo 5. Firma de asistencia del personal capacitado. 43

Anexo 6. Tríptico de la capacitación. 44

RESUMEN

El presente trabajo tiene la finalidad de determinar la incidencia de microorganismos patógenos existentes en superficies de contacto vivas e inertes en los equipos y utensilios usados en el manejo de carnes crudas del mercado 3 de noviembre del cantón Cuenca. Para ello se identificaron los métodos tradicionales de limpieza utilizados; mediante recolección de muestras tanto de utensilios, equipos y manos del personal; se determinó una alta incidencia de microorganismos tales como coliformes totales *y Escherichia coli*. Con estos resultados se capacitó a los propietarios de los puestos de venta con el objetivo de reducir la presencia de estos patógenos. Ocho de los nueve establecimientos que prestan sus servicios en el mercado mejoraron sus técnicas de limpieza y desinfección. Por lo tanto una capacitación adecuada trae importantes beneficios tanto al intermediario como al consumidor final.

PALABRAS CLAVES:

Carnes, muestras, coliformes totales, *Escherichia coli*, Limpieza, Capacitación.

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the incidence of pathogenic microorganisms that exist on the contact with live and inert surfaces of equipment and utensils used for the handling of raw meat in the sales location at the *3 de noviembre* open market in Cuenca. For this purpose, the cleaning traditional methods were identified through the collection of samples obtained from utensils, equipment and workers´ hands. A high incidence of microorganisms such as total coliforms and *Escherichia coli* was determined. On the bases of these results, training was carried out with the owners of the stalls in order to reduce the presence of these pathogens. Eight of the nine venues that provided services at the market, improved their cleaning and disinfection techniques. Consequently, adequate training brought significant benefits to both the intermediary and the final consumer.

KEYWORDS: meat, samples, total coliforms, *Escherichia coli*, cleaning, training

UNIVERSIDAD DEL AZUAY
Dpto. Idiomas

Translated by
Lic. Lourdes Crespo

Ing. Ana Cristina Palacios Aguilera

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Msc. Mónica Tinoco Alvear.

Mayo, 2017.

"**Estudio de la microbiota presente en superficies vivas e inertes en locales de venta de carnes crudas en el mercado 3 de Noviembre del cantón Cuenca** "

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen uno de los problemas más importantes a nivel mundial en cuanto a salud pública se refiere, afectando de manera directa a niños, ancianos y mujeres embarazadas. El interés por la inocuidad alimentaria se ha visto en auge en estos últimos años, dentro de los cuales se ve directamente involucrada la autoridad sanitaria competente, así como el consumidor y el productor.

El Ministerio de Salud Pública (2015) según la Gaceta Epidemiológica Semanal SIVE-ALERTA N° 19, fueron reportados brotes de hepatitis A (908 casos equivalente al 38 %) siendo el grupo más afectado niños en edades de 5 a 9 años, fiebre tifoidea y paratifoidea (del total de casos reportados a nivel nacional la provincia de Loja acumula 418 casos, equivalente al 40 % y Guayas con 89 casos equivale al 8 %), salmonella (Manabí y Guayas acumula 715 casos, equivalente a 62 %), shigelosis (Imbabura con 65 casos, equivale 40 %) entre otras intoxicaciones alimentarias.

De acuerdo a la magnitud de los brotes de ETA, la cifra indica que 5093 personas estuvieron expuestas, de las cuales 562 resultaron enfermas (11,03 %) a nivel nacional, sin embargo para los cantones Mejía, Cotacachi y Santa Rosa las tasas de ataque alcanzaron el 100 %.

Según la Organización Mundial de la Salud (2012), la cifra anual de brotes de diarrea llega a los 1,500 millones de casos, con una mortalidad anual de 3 millones de niños bajo los 5 años de edad.

Algunos de los aspectos que favorecen la aparición de ETA son: los problemas de saneamiento básico (alcantarillado, desagüe, servicios básicos, etc.), manipulación incorrecta de alimentos, actividades de limpieza inadecuadas o deficientes, infraestructura en malas condiciones que pudiesen generar contaminación alimentaria, aspectos culturales, entre otros; esto favorece la aparición de nuevos agentes patógenos, resistencia antimicrobiana, etc.

La presencia de microorganismos patógenos en superficies vivas e inertes en puestos de venta de carnes y derivados en el mercado 3 de Noviembre del cantón Cuenca es un problema que podría acarrear consecuencias graves en la salud pública, alterando por completo la inocuidad y la seguridad alimentaria de los productos que expendan en dichos establecimientos.

Una mala práctica de higiene del personal y una desinfección incorrecta o deficiente tanto de equipos y utensilios podrían desencadenar en ETA, pudiendo perjudicar de manera grave la salud del consumidor.

Luego de haber realizado la capacitación por parte de la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) con el tema Manipulación de alimentos y condiciones higiénico sanitarias impartidas en el mes de julio, se vio la necesidad de verificar que las labores de limpieza y desinfección utilizadas sean las adecuadas, eficientes, y que las vendedoras estén conscientes y trabajen bajo las normas impartidas.

MARCO TEÓRICO

En este apartado se describen las bacterias que se presentan de manera más frecuente, sus características, modo de contaminación y otras manifestaciones si se encuentran en el organismo.

Salmonella Sp.

Tal como lo indica Uribe, & Suárez (2006), "el género *Salmonella* está constituido por bacilos cortos gramnegativos no formadores de esporas, anaerobios facultativos, relacionados morfológica y fisiológicamente con los otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* a la que pertenecen. Exceptuando a la variedad *Gallinarum-Pollorum*, son móviles debido a que cuentan con flagelos perítriticos, crecen a temperaturas entre (7°-48° C) a un pH entre 4 y 8, y con actividades de agua (a_w) por debajo de 0.933" (p. 45). La enfermedad causada por la ingesta de alimentos envenenados por bacterias del género salmonella es la salmonelosis (Gutiérrez, & Cogco, 2016).

La aparición de los síntomas se da entre las primeras 12 hasta las 72 horas, siendo el dolor abdominal, molestia en las articulaciones los más comunes. El factor de virulencia, el tamaño del inoculo y el estado inmunológico del paciente serán los determinantes para ocasionar una leve infección gastrointestinal hasta una enfermedad sistémica que podría poner en riesgo la vida del paciente (Insunza, & Soto, 2014).

Tipos: Existen dos tipos de afecciones ocasionadas por esta bacteria que son destacados por Patiño, Gonz, & Realpe (2014):

Fiebre Tifoidea: Es causada por el consumo de alimentos o bebidas contaminados, esta se caracteriza por ocasionar erupción cutánea, diarrea, fiebre, escalofríos y dolor abdominal. **Dosis infectiva:** Menos de 1.000 ufc/g.

Fiebre Paratifoidea: Causada por la bacteria salmonella serotipos A, B y C. Teniendo síntomas similares a la fiebre tifoidea. **Dosis infectiva:** Tan baja como una célula, dependiendo de la edad y la salud del huésped.

Seguidamente se destacan los métodos principales de ingreso por vía oral, según Insunza, & Soto (2014):

a) **Comida contaminada:** debido a la preparación incorrecta de los alimentos, puesto que al ser ingeridos el virus contagia de manera directa.
b) **Contacto directo con animales contaminados:** algunos animales son portadores de la enfermedad y por lo tanto el virus puede ser transmitido de manera directa.
c) **De persona a persona:** en algunos casos se puede transmitir el virus en el contacto físico entre dos personas, mayormente por vía oral.

Modos de contaminación: Los principales alimentos donde las personas pueden infectarse son los de origen animal, tales como: leche, huevos, carne; e inclusive las verduras que al momento previo de ingerirlas no son lavadas y desinfectadas adecuadamente. Las personas más susceptibles a contraer esta enfermedad son niños menores a 5 años ya que siempre pasan en contacto con superficies que podrían estar contaminadas; así como las personas con su sistema inmunitario bajo pueden adquirirla (Patiño, Gonz, & Realpe, 2014).

Por otra parte, las personas portadoras de *Salmonella*, pueden transmitir la bacteria a otras personas al manipular los alimentos de manera inadecuada, o también puede darse por contacto directo con animales de compañía. Una fuente importante en la transmisión de *Salmonella sp*., lo constituyen las aguas de cursos naturales, al ser contaminadas por aguas servidas, desechos de plantas faenadoras y otros (Insunza, & Soto, 2014).

Listeria monocytogenes

L. Monocytogenes se presenta de forma oportunista, siendo más propensos a contraerla mujeres embarazadas, recién nacidos, personas de la tercera edad (López et al., 2015). Se asocia principalmente con la contaminación de alimentos lácteos y cárnicos (Muñoz et al., 2015). Es una de las ETA más letales (Torres et al., 2015). Con el paso de los años la preocupación por parte de las autoridades sanitarias e investigadores por este

patógeno se ha incrementado, debido a que no es posible su total eliminación en la industria alimentaria (Carmona, 2010).
Son microorganismos cortos. En ciertos momentos, son poco frecuentes ocasionan cocoides separados entre sí, siendo móviles a temperaturas de 25 ºC e inmóviles a 35 ºC (Carmona, 2010).

Según la Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria (2006), la temperatura ideal para la multiplicación de *Listeria monocytogenes* está entre 30-37 °C, con un pH neutro o ligeramente alcalino. Sin embargo, puede multiplicarse a temperaturas de refrigeración < 5 °C.

En los últimos diez años en Estados Unidos como en el continente Europeo han ocurrido brotes de ETA originándose en su mayoría en cárnicos y lácteos. Esto obligó a las empresas involucradas en retirar del mercado los alimentos procesados a medida de precautelar la salud de la población (Torres et al., 2015). En Chile, a partir del año 2008 se ha informado de casos de listeriosis transmitida a través de los alimentos (Ministerio de Salud de Chile, 2009). La escasa información sobre la prevalencia de este patógeno a nivel de la industria de alimentos se debe en parte a que la detección en alimentos no está incluido en los reglamentos (Morón de Salim, & Ramírez, 2013).

En las mujeres embarazadas provoca abortos espontáneos, nacimientos prematuros, y mortinatalidad en los pacientes inmunodeprimidos y los ancianos. Se manifiesta con una infección sistémica, septicemia y encefalitis (Rossi et al., 2008). Se presenta con cuadros de gastroenteritis febriles leves similares a una gripe, los mismos síntomas los presentan las mujeres embarazadas al contraer la enfermedad (en López et al., 2016).

Aún no está definido el número de células bacterianas que se deben ingerir para que el patógeno se active, sin embargo menos de 100 ufc/g no debería ser causal para la presencia del cuadro en personas que no pertenezcan a los grupos susceptibles. El tiempo que tarda en incubar va desde algunos días hasta tres meses (Morón de Salim, & Ramírez, 2013).

Ingresa al organismo a través de la vestimenta, el calzado, las manos de los operarios, como también con los utensilios, equipos y las materias primas utilizadas (Torres et

al., 2015). El contacto de los alimentos listos para el consumo con equipos, superficies y utensilios contaminados es otra de las vías de propagación (López et al., 2016). Los productos químicos utilizados, tales como ácido peracético, amonios cuaternarios, compuestos clorados, etc. no garantizan la eliminación del patógeno, o en su defecto se inactivan en presencia de materia orgánica, como el cloro. Esto se ve agravado por la facilidad que tiene para formar biofilms o biopelículas en las superficies donde han quedado residuos orgánicos (Muñoz et al., 2015).

Efectos en carnes crudas: Los productos cárnicos son los más apetecidos, a continuación, se explica ciertos datos importantes para Morón de Salim, & Ramírez (2013):

a) Carne de rumiantes, otros animales de abasto y aves: La tasa de prevalencia es del 92 % en carnes. En mataderos la presencia de *Listeria monocytogenes* puede provenir de efluentes y suelos.
b) Pescado fresco, congelado y ahumado: La presencia de esta bacteria en el pescado fresco es muy escasa; sin embargo, en el pescado ahumado es más frecuente encontrarla.

En la mayoría de los casos provoca enfermedades gastrointestinales, así como provocar una septicemia o meningitis. La última es más común en bebés y niños. En los adultos la enfermedad puede tomar muchas formas y afectar a distintos órganos (Muñoz et al., 2013).

Dosis infectiva: Es indeterminada, pero puede variar con la cepa y la susceptibilidad del huésped. La matriz alimentaria implicada también puede afectar la relación dosis-respuesta. En casos asociados con leche cruda o inadecuadamente pasteurizada es probable que menos de 1.000 ufc/g puedan causar enfermedad (López et al., 2006).

Escherichia coli

Es una bacteria gran negativa de la familia *Enterobacteriaceae*. Análisis filogenéticos moleculares indican que pertenece a la subclase "g" de las proteobacterias" (Cohen, Chang, & Hsu, 2016). Dentro de esta subclase se encuentran patógenos como: *Shigella, Salmonella, Vibrio y Haemophilus*. Respiran de manera facultativa; en el exterior son aerobias y dentro del intestino son anaerobias. Debido a esta capacidad, muchos miembros de esta familia viven libremente, mientras que otros son comensales de animales o plantas (Cohen et al., 2016).

Itzkowitz (2014), define a la *Escherichia coli* como una de las causas más comunes de diarrea en humanos. Hay 5 variedades que pueden ser: *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroinvasiva *y* enteroagregante. Este patógeno se asocia a ETA.

Fueron conocidas en humanos por primera vez en Oregón y Michigan en el año 1982 durante dos brotes de colitis hemorrágica, por consumo de hamburguesas en restaurantes de comidas rápidas (Leotta et al., 2015).

Pueden encontrarse en alimentos y agua, especialmente en países en vías de desarrollo. Luego de que la enfermedad se manifiesta, la persona experimenta diarrea acuosa con náuseas, el vómito se presenta en menor frecuencia. Puede manifestarse en menos de 24 horas y persistir hasta 4 o 5 días. Para Leotta et al. (2015), los microbios de la *Escherichia coli* están compuestos por toxinas y adhesinas, las que ayudan a superar las defensas del huésped, y así facilita la colonización, dando lugar al desarrollo de la enfermedad intestinal y extra-intestinal.

Existen varios tipos y formas por la cual el ser humano puede llegar a contagiarse de esta bacteria**,** estos diversos contagios pueden ser principalmente por el consumo de todo tipo de alimentos cárneos y lácteos contaminados, deficientemente conocidos o sin pasteurizar, o al contacto directo con los animales o con sus heces, consumo de agua, frutas o verduras contaminadas (Kadhum et al., 2013). También puede producirse contagio mediante el contacto interhumano (Echevarría-Zarate et al., 2016).

Esta bacteria habita naturalmente en los intestinos del ganado vacuno. Además, hay cepas dentro de la misma *E. coli* que son más peligrosas y pueden llegar a causar síntomas de intoxicación digestiva como calambres en el estómago, náuseas, vómitos, diarrea y fiebre. En los niños menores de 5 años, la enfermedad puede también llegar a complicar los riñones y adquirir un carácter más grave (Hernández et al., 2016).

La carne fresca y la leche cruda se consideran como los vehículos comunes de la *E. coli*, especialmente de la cepa de EHEC (0157:H7). La contaminación de la carne generalmente se produce durante el faenado de los animales, como resultado de malas prácticas de faenado, higiene de los mataderos y manipulación de los animales (Hernández, 2016). Por lo tanto, las prácticas en los mataderos que con mayor frecuencia contaminan la carne incluyen: eliminación de la piel de los animales, derrames del intestino de los animales y condiciones sanitarias generales en los mataderos (Wong et al., 2016).

Afecta el tracto gastrointestinal, produciendo varias enfermedades, pero las más comunes es la diarrea y en algunos casos las infecciones del sistema urinario afectando a los riñones, su uretra y vejiga" (Michanie, 2015).

De acuerdo a Wong et al. (2016), la dosis efectiva de acuerdo al tipo es:

a) *Escherichia coli* enterotoxigénica: Dosis Infecciosa: estudios demuestran que dosis que van de 10 millones a 10 mil millones, puede bastar para ocasionar una infección en adultos. Los niños pueden verse afectados por dosis menores.
b) *Escherichia coli* enteropatógena: es sumamente complicada en lactantes y se presume que la dosis para infectar es baja. Los adultos no son tan susceptibles a contraerla. Estudios mostraron que 10 millones a 10 billones de células son necesarias para causar diarrea en adultos, siempre que el ácido gástrico haya sido neutralizados por bicarbonato.
c) *Escherichia coli* Enterohemorrágica: se estima que la dosis infecciosa es baja, cuyo rango es de 10 a 100 células.
d) *Escherichia coli* Enteroinvasiva: la dosis infecciosa está en un rango de 200 a 5.000 células, algo más alto que el de *Shigella*.

Staphylococcus aureus

Formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm, agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas" (Cervantes-García, García-González, & Salazar-Schettino, 2014). Son bacterias aerobias y anaerobias facultativas, bacterias no móviles, no esporuladas, por lo que puede crecer hasta con un 10 % de sal común, con o sin oxígeno en cualquier atmósfera gracias a la catalasa (capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre), no presenta movilidad ni forma cápsula (Larry, Bush, & Schmidt, 2014).
S. aureus contamina mediante la piel, por contacto directo. Puede causar enfermedades, infecciones: del sistema nervioso central, del tracto urinario, tracto respiratorio, etc. Existe una especie de barrera de la piel contra la invasión de los tejidos, si esta barrera llega a romperse, el *S. aureus* lograría entrar a los tejidos generando una lesión local (García et al., 2014).

La bacteriemia estafilocócica nace, y esta produce una infección severa metastásica. Como consiguiente se genera diferentes síntomas generales como la diarrea. En la sangre, las colonias son de consistencia cremosa, brillan, tienen un color amarillento (García et al., 2014; Cervantes et al., 2014).

El *Staphylococus aureus* es una bacteria que se encuentra en la mayoría de alimentos que consumimos diariamente, teniendo en cuenta que cada día aumenta el número de personas que comen fuera de sus casas y en lugares que no tienen un buen manejo de higiene en el proceso de preparación de los alimentos (Torres, Carrera, & Lengomín, 2016). Esta bacteria se encuentra localizada en alimentos como carnes, lácteos y frutas. Esta se puede localizar en cualquier alimento y produce una intoxicación muy aguda entre las primeras horas de haberlas consumido, y la intoxicación desparece a las 24 horas, sin embargo es importante tener en cuenta que si la bacteria se reproduce y no se cura a tiempo, existen casos en que los antibióticos normales no hacen efecto y esto podría llevar a serias complicaciones e incluso a la muerte (Larry et al., 2014).

En un estudio realizado desde enero de 1995 hasta junio de 1997, un 4.8 % de los alimentos estudiados; entre ellos productos cárnicos (embutidos, ahumados y semi-elaborados), bebidas y los alimentos de repostería presentan un 6.1 % de muestras de

Staphylococcus aureus (Torres et al., 2016). Esta bacteria infecta al cuerpo humano entre 2 y 12 horas después de consumar un alimento infectado, es una bacteria resistente al calor, por lo que en alimentos cocinados se puede presentar esta bacteria (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2013).

El *Staphylococcus aureus* se reproduce con mucha rapidez debido a la falta de higiene y a los inapropiados métodos de cocción y conservación (Elika, 2013). Son muy resistentes a los antibióticos como la penicilina y la meticilina, si los enfermos toman antibióticos, estos solo eliminan las capas débiles; sin embargo, las más resistentes sobreviven y se hacen más difíciles de tratar (Cervantes-García et al., 2014).

Por ejemplo, una infección causada por ingerir alimentos contaminados es la gastrointestinal. Como Navarro (2009) menciona que las infecciones gastrointestinales por *S. aureus* son transmitidas por alimentos. La enfermedad se produce por la ingestión de alimentos contaminados con toxinas producidas por este microorganismo. El mecanismo más común por el que un alimento se contamina es por contacto con manipuladores de alimentos que portan la bacteria, ya sea de forma crónica o transitoria. El germen se multiplica en el alimento y produce la toxina, que acabará provocando la enfermedad. El carácter termoestable de la toxina la hace resistente al calor y, por tanto, a la cocción del alimento.

Los intentos por controlar la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos en los comedores colectivos se basan en dos métodos tal como lo manifiesta Larry (2014):

a) El método analítico, generalmente del producto final.
b) Los métodos basados en el autocontrol para la seguridad alimentaria, que tratan de identificar de forma precoz los peligros para poner en marcha las medidas preventivas a fin de controlarlos.

De acuerdo a la investigación realizada por Mandal (2012) hay diversas enfermedades que se pueden contraer al tener a esta bacteria presente en nuestro organismo:

a) Infecciones en la piel: Se puede tratar de ebulliciones, orzuelos, impétigo y otras infecciones superficiales de la piel de las personas.

b) Infecciones en heridas quirúrgicas y traumatológicas: Si hay la presencia de una enfermedad crónica o diabetes, daño por trauma, quemaduras o la inmunosupresión son más catalogados a infecciones más profundas del tejido y a abscesos profundos.
c) Infecciones en vías urinarias.
d) Infecciones por intoxicación alimenticia: También denominada del aparato gastrointestinal, estas pueden ser producidas al ingerir alimentos contaminados.
e) Infecciones de órganos: Dentro de estas se incluye la infección del pulmón, del hueso, del corazón, de venas y de vasos sanguíneos, del pecho y la formación de abscesos e infecciones del cerebro. Los individuos que se encuentren hospitalizados son más propensos a este tipo de daño.
f) Infecciones de los aparatos médicos que han sido dejados en un órgano: En esta clasificación está incluido la infección de prótesis, de dispositivos cardiovasculares y de válvulas de corazón.
g) Infecciones peligrosas para la vida como de la sangre o síndrome de la descarga eléctrica, bacteriemia y septicemia.

Dosis infecciosa: Según el Bad Bug Book – FDA (2012), es inferior a 1,0 microgramos. Ese nivel de toxina se alcanza cuando la población de *S. aureus* supera los 100.000 ufc/g en los alimentos. Esos niveles indican el alto grado de insalubridad presente al momento de elaborar o consumir el producto. En personas sensibles, la ingesta de 100 a 200 mg de enterotoxina puede ocasionar síntomas.

A continuación, y dada la importancia del tema, se explicitan los objetivos del presente estudio.

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la presencia de microorganismos patógenos que pudiesen estar presentes en superficies de contacto (vivas e inertes) en equipos y utensilios utilizados en los establecimientos de venta de carnes y derivados, para evitar el riesgo de aparición de ETA.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar los métodos tradicionales de limpieza, que son utilizados por el personal o propietarios de los establecimientos de venta de carnes y derivados.
- Determinar la existencia de Microorganismos Patógenos en superficies de contacto (vivas e inertes).
- Capacitar al personal y/o propietarios en Manipulación de Alimentos y Condiciones Higiénico Sanitarias.

CAPÍTULO 1

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Datos generales

El mercado 3 de noviembre de la ciudad de Cuenca, fue creado hace aproximadamente 54 años está ubicado en las calles Mariscal Lamar 12-86 y Coronel Talbot, perteneciente a la parroquia San Sebastián. Ofrece al público en general la venta de artículos de primera necesidad, cuenta con once puestos que ofrecen venta de carne de cerdo, pollo, embutidos, entre otros.

El presente estudio se realizó en los laboratorios de microbiología de la Universidad del Azuay. Las muestras fueron tomadas en el mercado 3 de noviembre,

1.2 Recursos

La toma de muestras, el análisis y procedimiento los realizo la Ing. Ana Cristina Palacios, estudiante egresada de la segunda promoción de la Maestría de Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria de la Universidad del Azuay.

Las muestras de carne se obtuvieron de los nueve puestos que expenden este producto.

1.3 Universo y muestra

El universo estuvo conformado por 36 muestras, se tomaron 3 muestras de cada puesto manos, cuchillo, mesones y carne cruda. Para la determinación de los patógenos salmonella y listeria se tomaron en dos ocasiones 25g de carne de cada uno de los establecimientos para realizar la determinación de los mismos.

1.4 Procedimiento de la toma de muestras

Se realizó 3 tomas de muestras; la primera y la segunda a manera de diagnóstico y posterior a la capacitación dictada, se realiza un tercer muestreo con datos definitivos. Para la toma de muestras se utilizó la Norma Peruana resolución ministerial Nº 461-2007 para superficies en contacto con Alimentos y Bebidas.

a) Se colocó la plantilla esterilizada (10 cm x 10 cm)· sobre la superficie a muestrear.
b) Se humedece el hisopo en la solución diluyente y se presiona ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
c) Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior, asegurándose que se cubra toda la superficie.
d) Se colocó el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual fue eliminada.
e) Se agitó el caldo con la muestra tomada.
f) Se transportó las muestras en un contenedor isotérmico con gel refrigerante para conservar las muestras a temperaturas bajas.

1.5 Método de muestreo

1.5.1 Método del hisopo.

Se utilizó en superficies vivas (palmas de mano) e inertes regulares e irregulares (utensilios, superficies de corte, equipos), se trabajó con la Norma Peruana resolución ministerial Nº 461-2007 para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.

1.6 Análisis Microbiológicos

Para la determinación de coliformes y *Staphylococcous aureus* se usaron:

- Compac Dry EC para *E. coli* y coliformes (Nissui)
  a) Del hisopado de las superficies vivas e inertes se tomó 1mL.
  b) Realizamos diluciones seriadas.
  c) Se siembra 1mL en las placas Compac Dry
  d) Se incuba a 37 ± 1° C por 24 horas.
  e) Realizamos el contaje.

- Compac Dry XSA para *Staphylococcous aureus* (Nissui).
  a) Del hisopado de las superficies vivas e inertes se toma 1mL.
  b) Realizamos diluciones seriadas.
  c) Se siembra 1mL en las placas Compac Dry
  d) Se incuba a 35 ± 2° C por 24 ± 2 horas.
  e) Realizamos el contaje.

Para la determinación de Salmonella y Listeria se utilizó las pruebas de detección cualitativas:

- REVEAL 2.0 *Listeria* Test Sistem (Neogen). (Anexo 1)
- REVEAL 2.0 para *Salmonella* (Neogen). (Anexo 2)

1.7 Procedimiento para la siembra de muestras.

a) Se prepararon tubos con 9ml con agua peptonada esterilizada.
b) Se realizó 7 diluciones para cada muestra.
c) Se efectuó la toma de muestras.
d) Se aplicó 1mL de caldo de cultivo para cada dilución en cada caja Compact Dry.
e) Se incubó por un periodo de 24 horas a 35 ± 2 ° C.
f) Pasado este tiempo se hizo el conteo respectivo de las "ufc" unidades formadoras de colonias para su respectivo análisis estadístico.

1.8 Procedimiento para el análisis e interpretación de datos

1.8.1 Cálculo superficies regulares

El número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (10 mL) y se dividió entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm^2).

1.8.2 Cálculo superficies irregulares

El número de colonias obtenido (ufc) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usado

CAPÍTULO 2
RESULTADOS

2.1 Interpretación de datos

Al realizar la toma de muestras, se obtuvieron los siguientes resultados en función de los requisitos de la norma peruana N° 461-2007, en superficies vivas e inertes.

A continuación, se presenta el contaje de las placas de los tres muestreos realizados correspondientes a los muestreos 1 y 2 que fueron de diagnóstico, y el muestreo 3 que se realizó luego la capacitación dictada a las vendedoras.

Basándonos en los resultados de la norma peruana para el análisis microbiológico de superficies en contacto con los alimentos y bebidas, el límite permisible para superficies inertes regulares es <1ufc/cm², se observa que en el muestreo 3 luego de la capacitación a las vendedoras solo en el caso del puesto tres existe una contaminación mayor a lo permitido en un cuchillo, el resto de puestos cumplen con la norma.

Los valores son representativos para *E. coli* en cuanto a la contaminación que existe en las superficies, se observa que en el muestreo uno y dos la mayoría de las muestras sobrepasan en valor permitido, pero luego de realizar la capacitación en el caso del muestreo 3 existe una disminución total como se observa en las siguientes gráficas.

Tabla 1. Resultados obtenidos para coliformes totales en manos, representados en Log UFC/g.

MANOS			
Puestos	**Muestreo 1**	**Muestreo 2**	**Muestreo 3**
P1	1,62	1,54	0
P2	0	0,14	0
P3	1,23	0	0,30
P4	0,77	0	0
P5	1,07	0	0
P6	0	0	0
P7	0	0	0
P8	1,54	1,30	0
P9	0	0	0

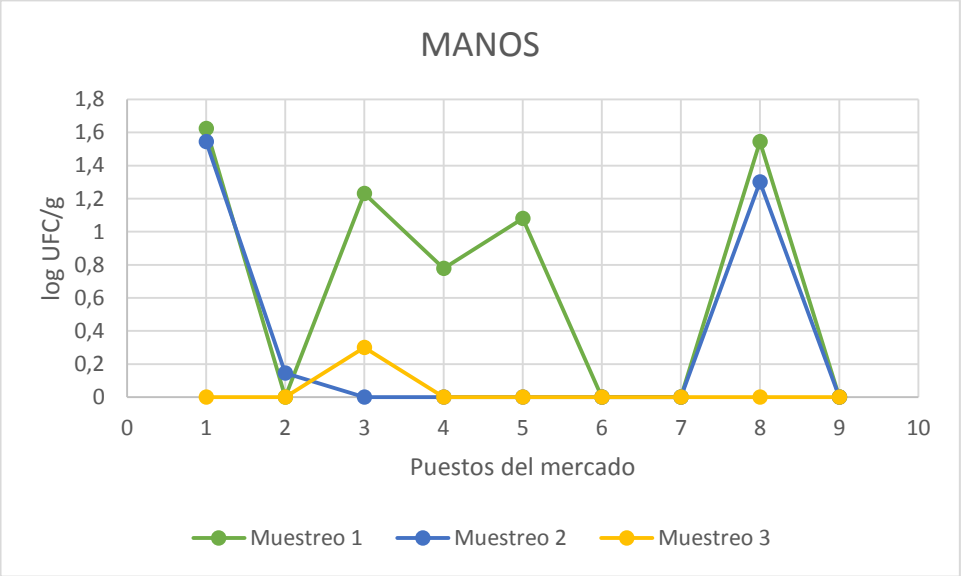


Figura 1. *Resultados obtenidos para coliformes totales en manos. En donde se*

En la Figura 1 se observa el descenso de contaminación del muestreo 3 realizado luego de la capacitación a los/as vendedores/as. Se presentó un problema de contaminación solo en el puesto 3 con respecto a los muestreos 1 y 2 en donde se observa un alto nivel de contaminación, esto se debió a la manipulación incorrecta de los productos.

Tabla 2. Resultados obtenidos para coliformes totales en mesas, representados en Log UFC/g.

	MESAS		
Puestos	**Muestreo 1**	**Muestreo 2**	**Muestreo 3**
P1	3,26	3,20	0,00
P2	3,54	3,38	0,00
P3	0,00	1,26	0,60
P4	0,00	0,23	0,00
P5	3,30	3,11	0,00
P6	1,75	1,38	0,00
P7	1,08	0,00	0,00
P8	1,56	1,15	0,00
P9	0,48	0	0

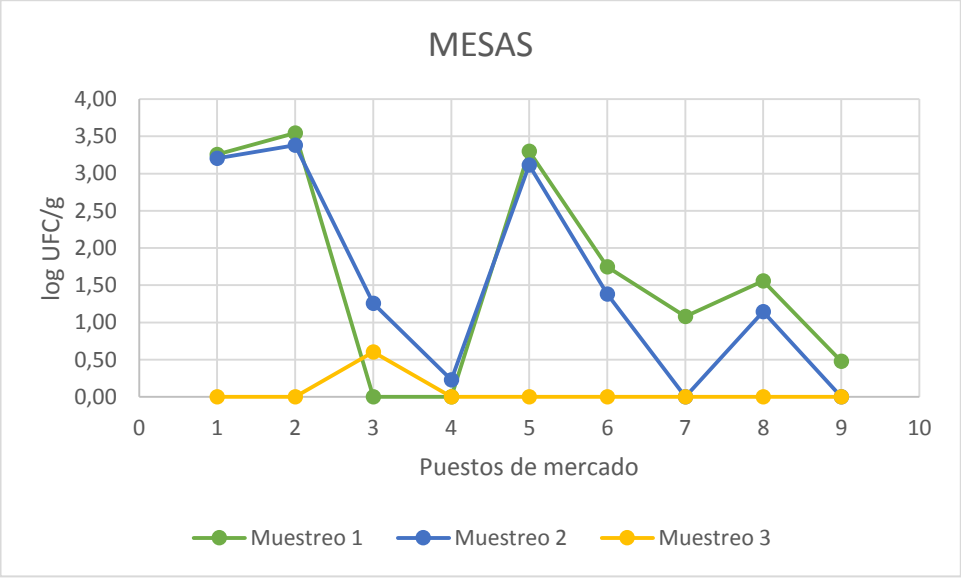


Figura 2 *Resultados obtenidos para coliformes totales en mesas.*

En la Figura 2 se aprecia el descenso de contaminación del muestreo 3 en relación a los muestreos 1 y 2. Se observa un problema de contaminación en el puesto Nro. 3, este problema se presentó debido a que en este puesto se utilizaban tablas de madera para picar la carne.

Tabla 3. Resultados obtenidos para coliformes totales en cuchillos, representados en Log UFC/g.

CUCHILLOS			
Puestos	**Muestreo 1**	**Muestreo 2**	**Muestreo 3**
P1	1,30	1,28	0,00
P2	4,26	4,21	0,00
P3	2,01	1,66	1,25
P4	1,00	1,04	0,00
P5	3,48	3,60	0,00
P6	1,65	1,20	0,00
P7	2,01	2,00	0,00
P8	1,71	1,00	0,00
P9	1,99	1,89	0,00

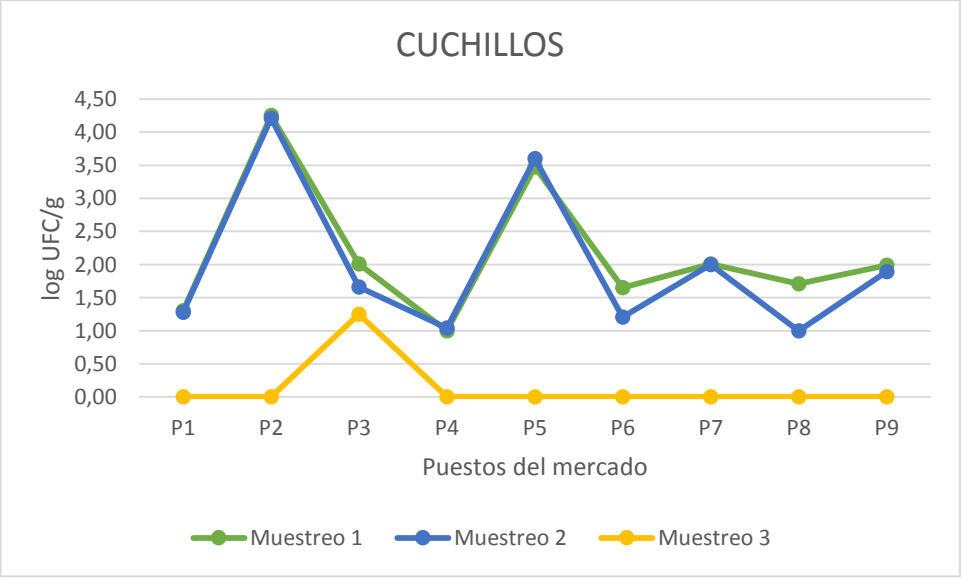


Figura 3. *Resultados obtenidos para coliformes totales en cuchillos.*

En la Figura 3 se puede observar el descenso de contaminación en el muestreo 3 en relación a los muestreos 1 y 2. El puesto 3 presenta un problema de contaminación en un cuchillo debido a una incorrecta limpieza y desinfección posterior a su uso.

Tabla 4. Resultados obtenidos para *E. coli* en manos, representados en Log UFC/g.

MANOS			
Puestos	**Muestreo 1**	**Muestreo 2**	**Muestreo 3**
P1	0	0	0
P2	0	0	0
P3	0	0	0
P4	0	0	0
P5	0	0	0
P6	0	0	0
P7	0	0	0
P8	0	0	0
P9	0	0	0

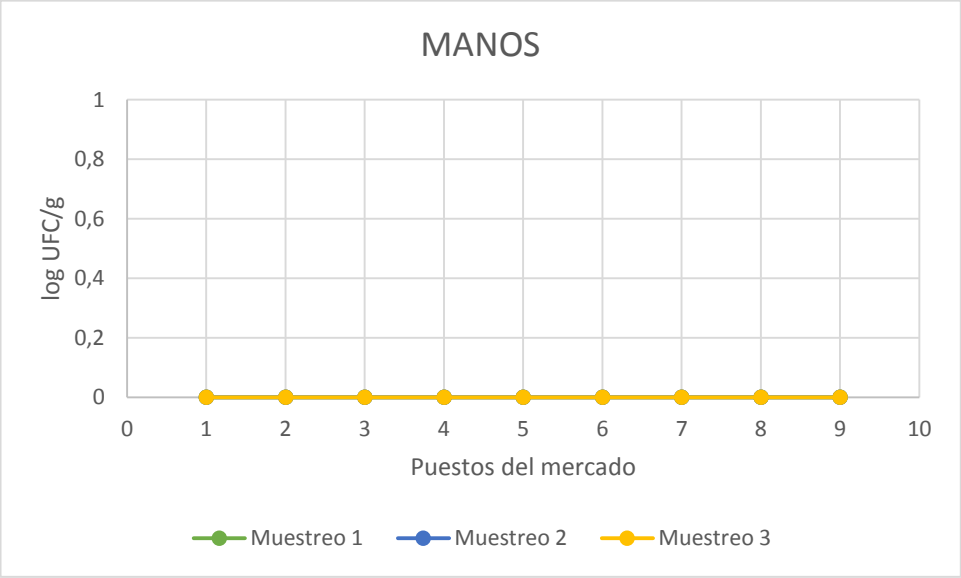


Figura 4. *Resultados obtenidos para E. coli en manos.*

En la Figura 4 se observa que en los muestreos 1, 2 y 3 no se presentó ningún problema de contaminación de *E. coli* en la manos de las vendedoras.

Tabla 5. Resultados obtenidos para *E. coli* en mesas, representados en Log UFC/g.

MESAS			
Puestos	**Muestreo 1**	**Muestreo 2**	**Muestreo 3**
P1	0	0	0
P2	0,69	0,30	0
P3	0,30	0	0
P4	0	0	0
P5	0,47	0	0
P6	0	0	0
P7	0,30	0	0
P8	0	0	0
P9	0	0	0

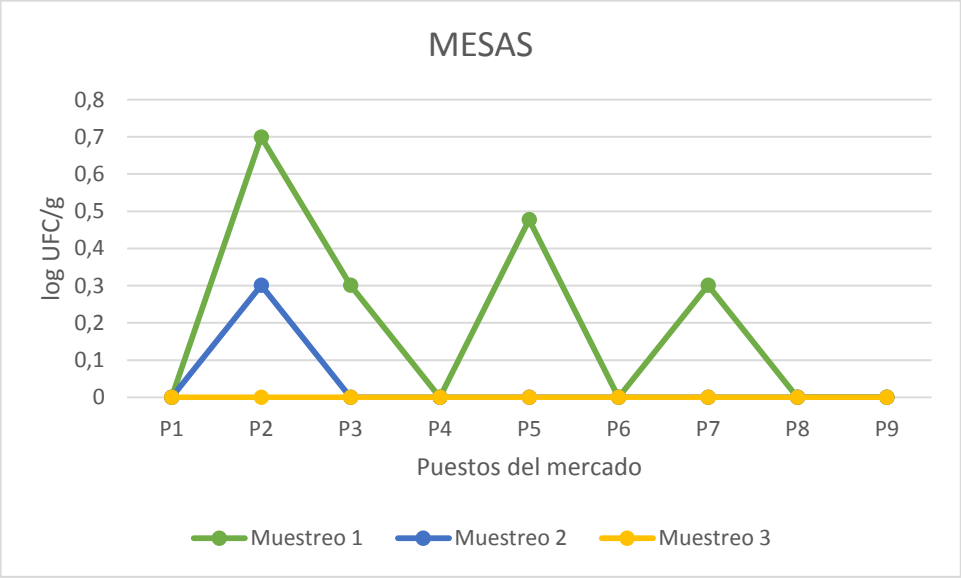


Figura 5. *Resultados obtenidos para E. coli en mesas.*

En la Figura 5 se observa que en el muestreo 3 no se presentó ningún problema de contaminación en comparación a los muestreos 1 y 2.

Tabla 6. Resultados obtenidos para *E. coli* en cuchillos, representados en Log UFC/g.

CUCHILLOS			
Puestos	**Muestreo 1**	**Muestreo 2**	**Muestreo 3**
P1	0,69	0	0
P2	0,60	0	0
P3	0,47	0	0
P4	0	0	0
P5	0	0	0
P6	0	0	0
P7	0	0	0
P8	0	0,30	0
P9	0,47	0	0

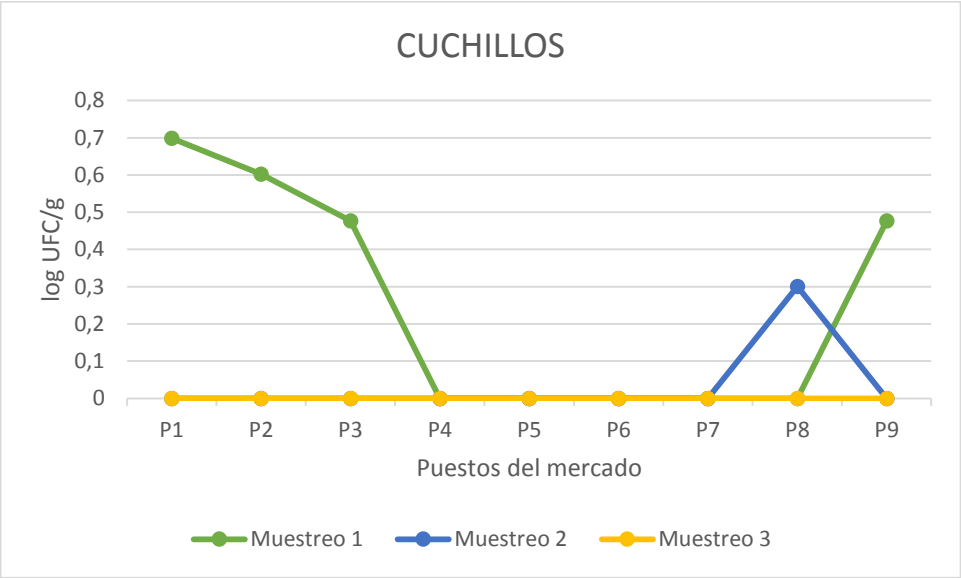


Figura 6. *Resultados obtenidos para E. coli en cuchillos.*

En la Figura 6 se observa que en el muestreo 3 no se presentó ningún problema de contaminación en relación a los muestreos 1 y 2 realizados antes de la capacitación a los/as vendedores/as.

Se realizaron las pruebas respectivas para ***Staphylococcus aureus*** pero no se presentó contaminación en ninguna de las tres muestras.

Tabla 7. Resultado de las primeras pruebas de *Listeria* y *Salmonella*.

Muestra de carne	Prueba Listeria	Prueba Salmonella
P1	Negativo	Negativo
P2	Negativo	Negativo
P3	Negativo	Negativo
P4	Negativo	Negativo
P5	Negativo	Negativo
P6	Negativo	Negativo
P7	Negativo	Negativo
P8	Negativo	Negativo
P9	Negativo	Negativo

Al analizar las muestras de carne para *Listeria* y *Salmonella*, se determinó que en los dos casos las pruebas fueron negativas.

Tabla 8. Resultado de las segundas pruebas de *Listeria* y *Salmonella*.

Muestra de carne	Prueba Listeria	Prueba Salmonella
P1	Negativo	Negativo
P2	Negativo	Negativo
P3	Negativo	Negativo
P4	Negativo	Negativo
P5	Negativo	Negativo
P6	Negativo	Negativo
P7	Negativo	Negativo
P8	Negativo	Negativo
P9	Negativo	Negativo

Para realizar una comprobación de los resultados obtenidos en los primeros análisis, se repitió el proceso para la determinación de *Salmonella spp.* y *Listeria spp.*, y en este caso los valores también fueron negativos.

Se desarrollaron dos charlas de capacitación, la primera se la realizó en el mes de julio del 2015, a la que asistieron todos/as los/as propietarios/as de los puestos de venta de carnes del mercado, los temas tratados fueron condiciones higiénico sanitarias y manipulación de alimentos. Posterior se realizan dos muestreos de diagnóstico, cuyos resultados indicaban la necesidad urgente de dictar una nueva capacitación, la misma que se llevó a cabo en meses posteriores, es decir el 13 de Octubre del 2016 en donde se refuerzan los temas tratados con anterioridad y se recalca la importancia de realizar las acciones correctivas pertinentes, asistiendo los propietarios de los 9 puestos. (Anexo 4)

El objetivo de la segunda charla fue la de incentivar a los propietarios/as de los establecimientos a realizar mejoras en las labores de limpieza y desinfección de equipos y utensilios, así como en manipulación de alimentos, favoreciendo de esta manera a la disminución de la carga microbiana en el muestreo final. A su vez se realizó un folleto informativo que fue impartido a las vendedoras del mercado. (Anexo 5 y 6)

Luego de la segunda capacitación se pudo constatar el cambio en los métodos de limpieza y desinfección, puesto que si existió disminución considerable de la carga microbiana, ajustándose los resultados obtenidos a la Norma Peruana para superficies vivas e inertes. (Anexo 3).

CAPITULO 3

DISCUSIÓN

Para la realización de este trabajo investigativo, se decidió hacer el estudio de las superficies de contacto de los puestos que expenden carne en el mercado 3 de Noviembre. La carne es un alimento susceptible a contaminación y, por lo tanto, se debe usar las medidas adecuadas para poderla manipular. Para tal efecto, se utilizó la Norma Peruana de Superficies Nº 461-2007 y se realizó el procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del hisopo. Durante los primeros análisis se pudo observar la contaminación existente en cada uno de los puestos, tanto en la manos de las vendedoras como en las mesas de trabajo y los cuchillos, existiendo una contaminación mayor en las cuchillos, a su vez se observó la presencia de *E. coli* en cantidades considerables.

Luego de haber realizado la capacitación correspondiente se observó cómo disminuyó la carga microbiana, teniendo un problema de contaminación de un cuchillo en uno de los puestos. Esto se dio debido a la falta de limpieza después de cada uso, así como a la desinfección.

Seguidamente, se detallan varios estudios que rescatan procedimientos similares que han dado frutos sobre el buen manejo de los alimentos, específicamente carnes, que dan como resultado que trabajar sobre este aspecto es fundamental, tomando en cuenta que en nuestro medio no se evidencian mayores estudios referentes al tema

Tal como lo demuestra el presente estudio, la capacitación en el buen manejo de los alimentos es fundamental, es por ello que **v**arias industrias alimenticias guardan extrema precaución al momento de elaborar sus productos, debido a la alta probabilidad de contagio de salmonella por prácticas incorrectas de limpieza y desinfección de equipos y utensilios, así como mala higiene del personal o simplemente por materia prima contaminada (Patiño et al, 2014). Por esta razón las empresas alimenticias realizan operaciones de limpieza, desinfección y prácticas correctas de higiene del personal para el control de patógenos de manera continua (Insunza, & Soto, 2014).

Según el estudio de Tadesse, & Gebredhin (2015), la presencia de microoganismos en los alimentos provenientes de animales se da como consecuencia de los malos hábitos de higiene al tratar las carnes. Las carnes o embutidos que se consumen crudos o que se expenden en mercados aumentan el riesgo de contagio por su mala manipulación.

Para Realpe et al. (2016), este fenómeno se da por malas prácticas de higiene, encontrándose pruebas en las manos y materia fecal de los trabajadores. La falta de reconocimiento médico de los empleados en el último año constituye un posible factor de riesgo para la portación a lo largo de la cadena productiva.

Al ser considerada a la *Salmonella* un patógeno complejo, se han determinado controles microbiológicos importantes tanto en materia prima, producto terminado y medio ambiente como un asunto crítico (Gutiérrez, & Cogco, 2016). Este patógeno no se evidenció en los lugares donde se recolectaron las muestras.

Según el análisis de Wang et al. (2015), dentro de los alimentos que se distribuyen al por menor en China, se detectó la presencia de Salmonella y E Coli. en el 7.6 % de las muestras, siendo mayor la presencia de estas bacterias en los alimentos que se mantienen a temperaturas ambientes de aproximadamente 15.7 %.

A la *Salmonella* en algunas ocasiones se la considera con un PCC (punto crítico de control), el mismo que es eliminado o controlado desde la materia prima, proveedores, temperaturas del proceso de elaboración de los alimentos, métodos de limpieza y desinfección de equipos, utensilios, prácticas correctas de higiene del personal de planta y mantenimiento y limpieza de pisos, paredes, techos, drenajes, etc. (Patiño, Gonz, & Realpe, 2014). Por esa razón se debería continuar con su valoración, porque para Uribe, & Suárez (2016), en varias empresas la presencia de *Salmonella* es causal suficiente para que exista un paro total de la producción, pudiendo darse hasta el cierre de la misma. Si bien sabemos que la *Salmonella* puede darse por contaminación fecal, esta puede llegar a los alimentos por el personal que los manipula, o al ser elaborados sobre superficies contaminadas (ej., tablas de picar en donde previamente se colocó pollo crudo).

Según Cabrera et al. (2013) se puede decir que el contenido de Salmonella y otras bacterias existente en la carne que se comercializa en el estado de Jalisco, se debe a las malas prácticas de higiene al momento de realizar la molienda, provocando la presencia de Salmonella en el 56.7 % de las muestras.

Con el paso de los años la preocupación por parte de las autoridades sanitarias e investigadores por este patógeno se ha incrementado, debido a que no es posible su

total eliminación en la industria alimentaria (Carmona, 2010), por lo que se deben implementar medidas más eficaces para su control a nivel general. Esto obligó a las empresas involucradas a retirar del mercado los alimentos procesados a medida de precautelar la salud de la población, este evento significo pérdidas económicas y desprestigio para las marcas implicadas (Torres et al., 2015).

En la presente investigación, tanto antes, como después de la capacitación, las pruebas de listeria y salmonella resultaron negativas.

Sin embargo, cabe mencionar estudios como los realizados en la Universidad Austral de Chile Álvarez (2007) y Concha (2008), quienes diseñaron una película en base a alginato a la cual incorporaron cepas de bacterias ácido lácticas (BAL), logrando inhibir el desarrollo del patógeno sobre salmón almacenado a 4º C durante 28 días. Estos resultados permitirán en un futuro próximo contar con barreras adicionales para inhibir el desarrollo de *L. monocytogenes* en los alimentos, ya sea a través del uso de envases bioactivos o por aspersión de productos antimicrobianos directamente sobre el alimento (en Morón de Salim, & Ramírez, 2013).

Para reducir la contaminación de los alimentos con *L. monocytogenes* el patógeno también debe ser atacado con higienizantes o biocontroladores en los lugares donde se procesen alimentos. La industria, en estos días, sin embargo, enfrenta el problema de que los higienizantes, que son de amplio espectro antimicrobiano, son poco efectivos en contra de *L. monocytogenes*. Es por ello, que se están estudiando nuevos productos como higienizantes de superficie, con mayor especificidad frente a determinados patógenos comunes en alimentos, como son los extractos de aceites esenciales de plantas (de Ancos et al., 2006) y el ácido hipocloroso (Stones, 2009).

En la Universidad Austral de Chile se diseñó un biocontrolador a base de cuatro bacteriocinas de BAL. Este producto se puede utilizar en forma líquida por aspersión en superficies de trabajo y equipos, o en forma encapsulada para desagües y otros lugares de difícil acceso (Nahuelquín, 2008). Este producto ha resultado efectivo para eliminar al patógeno de biofilm formados sobre distintos tipos de superficies (en Morón de Salim, & Ramírez, 2013). Para incentivar un mejor manejo de los productos de expendio deberían tomarse en cuenta a estos estudios, replicarlos e identificar su efectividad en la zona Austral y en el Ecuador.

Según (Izquierdo, 2016) nos dice que los comerciantes de los mercados tiene conocimientos muy básicos en cuanto a la presencia de plagas y la manipulación de los alimentos y que por ello no se aplica correctamente los procedimientos de limpieza almacenamiento y manejo adecuado de desechos.

El número de casos de la enfermedad podría reducirse mediante diversas estrategias paliativas en el caso de la carne picada (por ejemplo, cribando a los animales antes de sacrificarlos para reducir el número de agentes patógenos en el entorno del matadero). Tal como se evidencia en este estudio, la aplicación de unas buenas prácticas de higiene durante el tratamiento de las carnes no garantiza la ausencia de *E. coli* tal como lo indican estudios de Leotta et al. (2015) y Michanie (2015) quienes sostienen que el manejo higiénico de los alimentos para los trabajadores de granjas, mataderos y para todos los que participan en la producción de alimentos es esencial si se quiere reducir al mínimo la contaminación microbiológica.

El único método eficaz para la eliminación de *E. coli* productora de toxina Shiga de los alimentos es la aplicación de un tratamiento bactericida, como el calentamiento (como por ejemplo mediante cocción o pasteurización) o la irradiación (Kadhum et al., 2013).

En varios estudios se confirma que los principales factores que afectan a la manipulación de alimentos, haciéndolos problemáticos para la salud humana, es la inexistencia de un vestuario especial, la presencia de insectos y roedores como los causantes de proliferación de bacterias en alimentos y comidas. (Tessema, Gelaye & Chercos, 2014).

Lo preocupante del caso es que se encuentran presentes en el aire, la leche, el agua potable, las aguas residuales, alimentos o en el equipo donde han sido elaborados (Tessema et al., 2014; Zendejas et al., 2014), tal como lo confirman los resultados de esta investigación, que ha notado una alta incidencia de *E. Coli*, microrganismo que pone en riesgo la salud de las personas.

Frente a esta situación, la Organización Mundial de la Salud elaboró una directriz con 10 medidas de control para reducir la transmisión de múltiples bacterias presentes en los alimentos que se expenden en los mercados de escasos recursos. Las recomendaciones más importantes fueron la limpieza y las prácticas adecuadas de

almacenamiento, así como las necesidades de infraestructura para la zonificación y el suministro de agua y otros servicios de tratamientos de las carnes, en el enfoque participativo que incluía consultas mensuales y sesiones educativas; esto facilitó la adopción de prácticas adecuadas de manipulación e higiene de alimentos y saneamiento (en Samaan et al., 2012).

El presente estudio confirma que la implementación de buenas prácticas mejora significativamente el manejo del producto de tal forma que los usuarios consuman alimentos de calidad y a su vez inocuos; así como lo concluye Achón (2012) cuando manifiesta que la creación programas educacionales dirigidos a las personas encargadas de la manipulación de alimentos disminuye notablemente la presencia de estas bacterias en los locales de expendio pequeños o en mercados.

Como limitación del presente estudio se puede citar la falta de compromiso por parte de las personas que expenden productos cárnicos en el medio, puesto que de esa manera la incidencia de *E. Coli* hubiese sido inferior a lo encontrado. Esto puede ser motivo de futuras investigaciones en las que se sugiere una mayor capacitación a los organismos competentes sobre la manipulación de los alimentos y condiciones higiénico-sanitarias, entre otras derivadas de este proyecto.

CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia de microorganismos patógenos como *Escherichia coli* presentes en las superficies de contacto inertes principalmente. El problema surgió en los cuchillos y mesas de trabajo, ya que no se realizaba una adecuada limpieza y desinfección, además se usaba tablas de picar de madera para efectuar el corte de la carne.
- Se identificó que se usa el método tradicional de limpieza como es el uso de agua fría y de detergentes para realizar la limpieza de superficies y utensilios que son utilizados por el personal.
- Se determinó la existencia de microorganismos patógenos en superficies de contacto (vivas e inertes) como es el caso de *Escherichia coli*. En cuanto a los resultados de presencia de *Salmonella* y *Listeria*, resultaron negativos.
- Se realizó la capacitación al personal sobre la Manipulación de Alimentos y Condiciones Higiénico Sanitarias, se obtuvieron resultados favorables luego de realizar los análisis respectivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achón, F., Cabral, L., & Walde, J. (2012). Portación nasal de Staphylococcus aureus en manipuladores de alimentos del Mercado Nº 4 de Asunción, Paraguay. *ANACEM*, *1*(6).

Cabrera, C. E., Gómez, R. F., & Zúñiga, A. E. (2013). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Disponible en: http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/4679

Cabrera-Díaz, E., Barbosa-Cárdenas, C., Pérez-Montaño, J., A., González-Aguilar, D., Pacheco-Gallardo, C., & Barba, J. (2013). Occurrence, serotype diversity, and antimicrobial resistance of salmonella in ground beef at retail stores in Jalisco state, México. *Journal of Food Protection*, *76*(12), 2004-10. Recuperado de: https://search.proquest.com/docview/1464995725?accountid=36552

Carmona, M. D. (2010). Listeriosis. Una zoonosis emergente de transmisión alimentaria. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*. Disponible en: http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1112/1129

Cervantes-García, E., García-González, R., & Salazar-Schettino, P. M. (2014). Características generales del Staphylococcus aureus. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, *61*(1), 28-40. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf.

Cohen, S. N., Chang, A. C., & Hsu, L. (2016). Nonchromosomal antibiotic resistance in bacteria: genetic transformation of Escherichia coli by R-factor DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *69*(8), 2110-2114.

Echevarría-Zarate, J., Sarmiento Aguilar, E., & Osores-Plenge, F. (2016). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta médica peruana*, *23*(1), 26-31.

Fundación Eroski Consumer. (2012) Staphylococcus aureus, el patógeno de los manipuladores. España. Disponible en: http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2003/11/22/9514.php

Fundación Vasca para la seguridad Agroalimentaria. (2013). *Ficha staphylococcus auerus*. España, País Vasco: Disponible en: http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf

Gutiérrez, M. Cogco, L. (2016) Serotipos de salmonella identificados en los servicios de salud: Disponible en: http://www.msal.gob.ar/index.php/component/content/article/48/241-salmonella

Hernández, A. M. G., Vázquez, E. G., Torres, A. H., Ruiz, J., Yagüe, G., Martínez, J. A. H., & Gómez, J. G. (2015). Bacteriemias por Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Revista Española de Quimioterapia*, *24*(2), 57-66.

Insunza B., M., & Soto C. (2014). *Salmonelosis: Una enfermedad que se transmite por alimentos*. Disponible en: www.tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/view/6249/6105

Itzkowitz, S, (2014). Question 49: What Are The Various Manifestations of E. Coli Infection Of The Colon And How Should It Be Treated? Thorofare: SLACK INCORPORATED. Disponible en: http://search.proquest.com/docview/1328880625?accountid=36552

Izquierdo M, (2016). *Diagnóstico inicial de la presencia de plagas asociadas a la pérdida de inocuidad alimentaria y su propuesta para la implementación de un manejo integrado de plagas en el mercado de la ciudad de Sigsig*. Disponible en: http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/6140

Kadhum, H. J., Finlay, D., Rowe, M. T., Wilson, I. G., & Ball, H. J. (2013). Occurrence and characteristics of cytotoxic necrotizing factors, cytolethal distending toxins and other virulence factors in escherichia coli from human blood and faecal samples. *Epidemiology and Infection*, *136*(6), 752-60. doi.org/10.1017/S0950268807009247

Larry, M. Bush, MD, Charles, E. Schmidt, D. (2014). *College of Medicine*. Florida Atlantic University;University of Miami-Miller School of Medicine/JFK Medical Center

Leotta, G. A., Chinen, I., Epszteyn, S., Miliwebsky, E., Melamed, I. C., Motter, M., ... & Rivas, M. (2015). Validación de una técnica de PCR múltiple para la detección de Escherichia coli productor de toxina Shiga. *Rev Argent Microbiol*, *37*, 1-10.

López, V., Suárez, M., Chico-Calero, I., Navas, J., & Martínez-Suárez, J. V. (2006). Listeria monocytogenes en alimentos: son todos los aislamientos igual de virulentos. *Rev. Arg. Microbiol*, *38*, 224-234. Disponible de https://www.researchgate.net/profile/Victoria_Lopez-Alonso/publication/6436062_Foodborne_Listeria_monocytogenes_Are_all_the_isolates_equally_virulent/links/0046352d506690078d000000.pdf

Mandal, A. (2012). News Medical Life Science. Disponible en: http://www.news-medical.net/health/Staphylococcus-Aureus-and-Disease-(Spanish).aspx

Michanie, S. (2015). Escherichia coli O157: H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. *Énfasis alimentos*, *9*(3), 1-7.

Morón de Salim, A. R., & Ramírez Mérida, L. G. (2013). Efecto bacteriostatico y/o bactericida del xilitol sobre cultivos de listeria monocytogenes. *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, *63*(2), 173. Disponible en: http://search.proquest.com/docview/1685878196?accountid=36552

Muñoz, Á. B., Chaves, J. A., Rodríguez, E. C., & Realpe, M. E. (2013). Listeria monocytogenesin food handlers: a new approach to address the dangers in food industry. *Biomédica*, *33*(2), 283-291. Disponible de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572013000200014&script=sci_arttext&tlng=en

Navarro (2015). Staphylococcus aureus en la industria alimentaria. Beltegeux. Disponible en: http://www.betelgeux.es/blog/2015/07/09/staphylococcus-aureus-en-la-industria-alimentaria/

Patiño, G.,Gonz, I., & Realpe, M. E. (2014). Caracterización fenotípica y genotípica de salmonella typhimurium variante 5- asociada a un brote de enfermedad transmitida por alimentos en el municipio de Paz de Río, Boyacá, 2010. *Iatreia*, *27*(1), 23-30. Disponible en: http://search.proquest.com/docview/1501535292?accountid=36552

Samaan, G., Hendrawati, F., Taylor, T., Pitona, T., Marmansari, D., Rahman, R., ... & Kelly, P. M. (2012). Application of a healthy food markets guide to two Indonesian markets to reduce transmission of" avian flu". *Bulletin of the World Health organization*, *90*(4), 295-300.

Tadesse, G., & Gebremedhin, E. (2015). Prevalencia de Salmonella en productos animales crudos en Etiopía: un metanálisis. *BMC Research Notes 54*(3), 450-460.

TeensHealth. (junio de 2014). Infecciones por estafilococo. TeensHealth from Nemours. Disponible en: http://kidshealth.org/es/teens/staph-esp.htmL

Tessema, A. G., Gelaye, K. A., & Chercos, D. H. (2014). Factors affecting food handling Practices among food handlers of Dangila town food and drink establishments, North West Ethiopia. *BMC Public Health*, *14*(1), 571.

Torres, A., Carrera, J., & Lengomín, M. (2016). Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles. *Rev Cubana Aliment Nutr*, *12*(1), 7-10.

Torres, K., Sierra, S., Poutou, R., Carrascal, A., & Mercado, M. (2015). Pathogenesis of Listeria monocytogenes, microorganism zoonotic emergent. *Revista MVZ Córdoba*, *10*(1), 511-543. Disponible de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682005000100003&script=sci_arttext&tlng=en

Uribe, M., Suárez.C., (2006). Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Revista de salud humana 37*, 151-158.

Wang, Y., Liu, C., Zhang, Z., Hu, Y., Cao, C., Wang, X., . . . Meng, J. (2015). Distribution and molecular characterization of salmonella enterica hypermutators in retail food in china. *Journal of Food Protection*, *78*(8), 1481-1487. Retrieved from https://search.proquest.com/docview/1700941619?accountid=36552

Wong, C. S., Jelacic, S., Habeeb, R. L., Watkins, S. L., & Tarr, P. I. (2016). The risk of the hemolytic–uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157: H7 infections. *New England Journal of Medicine*, *342*(26), 1930-1936.

Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H., & Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, *25*(3), 129-143.

ANEXOS

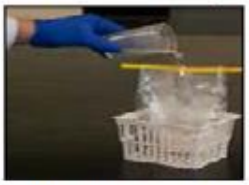
Anexo 1 *Kit rápido de deteccion de Salmonella.*

Anexo 2 *Kit rápido de detección de Listeria.*

#9806: Para Muestras Ambientales

Reveal 2.0 for *Listeria* Procedure

Environmental Samples



1. Rehidratar 7.8g del medio LESS con 100mL de agua esterilizada

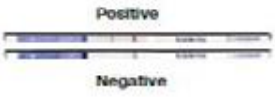
2. Coloque la muestra ambiental en el medio rehidratado e incubar 27-48 horas a 30 °C ± 1 °C

3.Retirar la muestra de la incubadora mezclar y transferir 2mL en un tubo de vidrio pequeño.

4. Coloque el tubo de vidrio en un baño de agua a 80°C por 20 minutos

5.Transferir 200 µL de muestra enriquecida con calor a la copa de muestras Reveal

6. Colocar el dispositivo con las flechas de muestra hacia abajo en la copa de muestra e incubar a temperatura ambiente por 20 minutos



7. Leer y grabar resultados luego de 20 minutos.

Anexo 3. *Norma Peruana de Superficies.*

El Peruano
Lima, sábado 14 de julio de 2007

2. Objetivos

2.1. Uniformizar los procedimientos que se deben aplicar en la selección, toma de muestras y para los análisis microbiológicos de superficies vivas e inertes.

2.2. Establecer los límites microbiológicos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas.

2.3. Proporcionar a la Autoridad Sanitaria un instrumento para evaluar la efectividad de los Programas de Higiene y Saneamiento (PHS) y de Buenas Prácticas de Higiene en la manipulación de los alimentos.

3. Ámbito de aplicación

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

4. Procedimientos a estandarizar

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

5. Definiciones Operativas

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

6. Conceptos Básicos

6.1. Operaciones en campo

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

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

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

6.2. Operaciones analíticas

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

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

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

7. Consideraciones Específicas: Operaciones en Campo

7.1. Procedimiento para la selección de la muestra

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

En fábricas de alimentos y bebidas

a) Superficies inertes

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

b) Superficies vivas

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

En establecimientos de elaboración y expendio

a) Superficies inertes

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

b) Superficies vivas

Se seleccionarán las manos de los manipuladores, con o sin guantes, que estén en contacto con los alimentos destinados al consumo directo.

7.2. Selección del método de muestreo

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

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

7.3. Procedimiento para la toma de muestra

7.3.1. Método del hisopo

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

b) Materiales:

o Hisopos de algodón u otro material equivalente, de largo aproximado de 12 cm.
o Tubo de ensayo con tapa hermética conteniendo 10 mL de solución diluyente estéril. Se agregará una solución diluyente con neutralizante como alternativa. (Ver Anexo 1).
o Plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 100 cm2 (10cm x 10cm) o alternativamente, plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 25 cm2 (5 cm x 5 cm).
o Guantes descartables de primer uso.
o Protector de cabello.
o Mascarillas descartables.
o Plumón marcador indeleble (para vidrio).
o Caja térmica.
o Refrigerantes.

c) Procedimiento:

1. Colocar la plantilla (10cm x 10cm) sobre la superficie a muestrear.
2. Humedecer el hisopo en la solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
3. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30º, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior. Asegurar el hisopado en toda la superficie.
4. En el caso de utilizar la plantilla de 5cm x 5cm, repetir esta operación 3 veces más, en lugares diferentes de la misma superficie, para obtener 100 cm2.
5. Colocar el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual debe ser eliminada.
6. Para superficies irregulares, en el caso de utensilios, se repetirá la operación con 3 utensilios más (total 4 como máximo), con el mismo hisopo, considerando el área que está en contacto con el alimento o con la boca.
7. Si no se toman las 4 muestras, se debe anotar en la Ficha de Toma de Muestra.

d) Conservación y Transporte de la muestra
Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.
Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

7.3.2. Método de la esponja

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

b) Materiales:

o Esponja estéril de poliuretano o de celulosa, de 5cm x 5 cm.
o Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm2 (10 cm x 10 cm).
o Frascos con tapa rosca de 250 mL de capacidad, con 100 mL de solución diluyente estéril.
o Pinzas estériles.
o Bolsas de polietileno de primer uso.
o Guantes descartables de primer uso.
o Protector de cabello.
o Mascarillas descartables.
o Plumón marcador indeleble (para vidrio).
o Caja térmica.
o Refrigerantes.

c) Procedimiento:

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

d) Conservación y Transporte de la muestra
Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.
Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10 °C invalidan la muestra para su análisis.

7.3.3. Método del enjuague

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

b) Materiales:

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

c) Procedimiento:

Para manos

1. Vaciar el diluyente del frasco (100 mL) en una bolsa plástica de primer uso.
2. Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.
3. Solicitar al manipulador que realice un frotado de los dedos y particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano; adicionalmente el muestreador deberá realizar la misma operación a través de las paredes de la bolsa, durante un (1) minuto aproximadamente.
4. Luego de retirar las manos se regresa el líquido al frasco o se anuda la bolsa y ésta se coloca en otra bolsa para que esté segura; en este caso, la bolsa que se utilice debe ser estéril.

.

Para recipientes (frascos, jarras, otros)

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

Para objetos pequeños (piezas de equipos, otros)

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

d) Conservación y Transporte de la muestra

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

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

8. Consideraciones Específicas: Operaciones Analíticas

8.1. Selección de ensayos

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

ENSAYOS	SUPERFICIES VIVAS	SUPERFICIES INERTES
Indicadores de Higiene	Coliformes totales	Coliformes totales
	Staphylococcus aureus(*)	—

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

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

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

Procedimiento de análisis microbiológicos

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

Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 mL) y se dividirá entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm2).

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

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares en: ufc / cm2:
- Para superficies irregulares en: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cuchara, etc.). Se deberá expresar la cantidad de superficies muestreadas. (ej. ufc/ 4 cucharas).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
MÉTODO HISOPO	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 0,1 ufc /cm²	< 1 ufc / cm²	< 10 ufc / superficie muestreada	< 10 ufc / superficie muestreada
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm² (**)	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

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

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

Procedimiento de análisis microbiológico

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

Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL) y se dividirá entre el área de la superficie muestreada (100 cm2).

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

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares: ufc/ cm2
- Para superficies irregulares: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cubierto, etc).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
MÉTODO ESPONJA	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 1 ufc / cm²	< 1 ufc / cm²	< 25 ufc / superficie muestreada (**)	< 25 ufc / superficie muestreada (**)
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm² (***)	Ausencia / superficie muestreada en cm² (***)	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.
(**) Para 4 utensilios.
(***) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm2.

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

Procedimiento de análisis microbiológico

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

Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

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

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

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

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

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES				
MÉTODO ENJUAGUE	Vivas		Pequeñas o Internas	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 100 ufc/ manos	< 100 ufc/ manos	< 25 ufc / superficie muestreada (**)	< 25 ufc/ superficie muestreada (**)
Staphylococcus aureus	< 100 ufc /manos	< 100 ufc /manos	——	——
Patógeno	Ausencia / manos	Ausencia / manos	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.
(**) Para 4 utensilios.

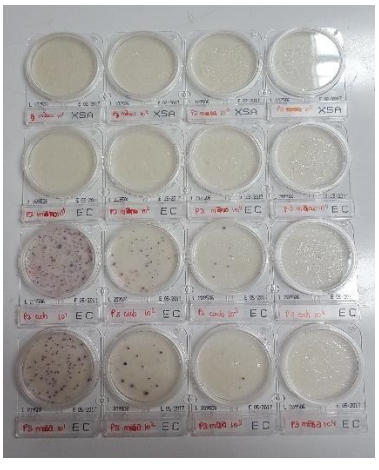
9. ANEXO 1

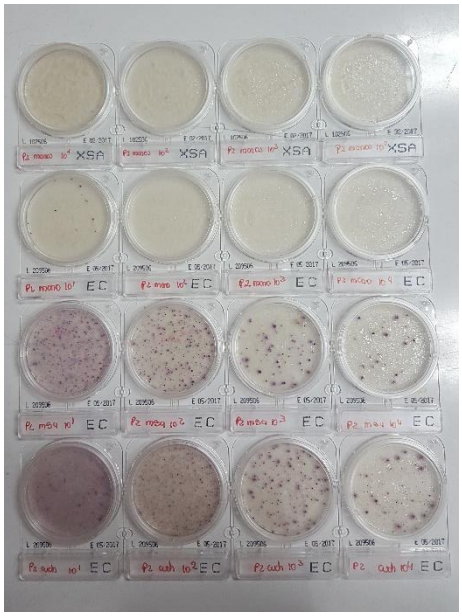
Cuadro Referencial sobre Preparación de Medios de Cultivo

Los siguientes son los medios de uso más frecuente. Existen otros medios reconocidos y validados por organismos internacionales que podrán ser utilizados.

NOMBRE:	AGAR BAIRD - PARKER		
Descripción y Uso:	Para el aislamiento y la diferenciación de Estafilococos en alimentos y materiales farmaceúticos, según Baird-Parker (1962).		
Forma de actuación:	Este medio de cultivo contiene cloruro de litio y telurito para la inhibición de la flora acompañante, en tanto que el piruvato y la glicocola actúan favoreciendo selectivamente el crecimiento de Estafilococos. Sobre el medio de cultivo, opaco por su contenido en yema de huevo, las colonias de Estafilococos muestran dos características diagnósticas por lipólisis y proteólisis, se producen halos y anillos característicos y, debido a la reducción del telurito a teluro, se desarrollan una colonia negra. La reacción con la yema de huevo y la reducción del telurito se presentan con notable paralelismo con la coagulasa-positiva, y por tanto, pueden utilizarse como índice de esta última. Para una desmostración directa de Estafilococos coagulasa-positiva, ha sido recomendado por Stadhouders y col. (1976) el incorporar al medio de cultivo plasma sanguíneo en lugar de yema de huevo. Smith y Baird-Parker (1964) recomiendan añadir sulfametacina para inhibir el crecimiento de Proteus.		
Composición: (g/L)	Peptona de caseína 10,0 Extracto de carne 5,0 Extracto de levadura 1,0 Piruvato sódico 10,0 Glicina 12,0 Cloruro de litio 5,0 Agar - agar 15,0 58,0 **Aditivos** Emulsión de yema de huevo telurito (mL) 50,0 eventualmente, sulfametacina (g) 0,05	**Preparación:**	Disolver 58 g en 0,95 litros, esterilizar en autoclave (15 min. a 121ºC), enfriar a 45-50 ºC, añadir mezclando 50 mL de emulsión de yema de huevo telurito y, eventualmente, 50 mg/ litro de sulfametacina. Verter en placas pH: 6,8 ± 0,2 En tanto que el medio de cultivo basal puede guardarse de 1 a 2 meses a 4ºC, el medio de cultivo completo, vertido en placas ha de ser utilizado dentro de las 24 horas siguientes a su preparación.
Empleo e interpretación:	Diluir convenientemente el material a investigar y extenderlo finamente sobre la superficie del medio de cultivo Incubación: Desde 24 hasta 48 horas a 37ºC. Las colonias de *Staphylococcus aureus* se presentan negras, lustrosas, convexas, de 1 a 5 mm de diámetro, con borde estrecho blanquecino, rodeado por un halo claro de 2 a 5 mm de anchura. Dentro del halo claro presencia de anillos opacos no visibles antes de las 48 horas de incubación.		

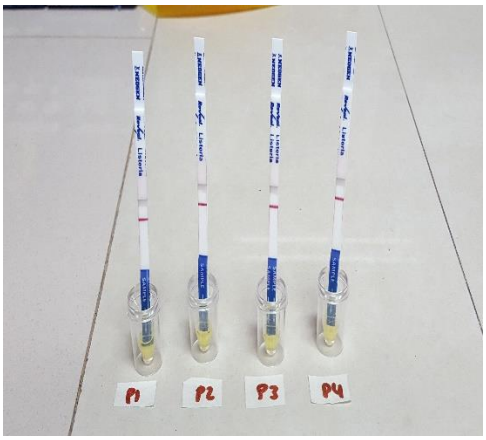
Anexo 4. *Fotografías.*

<table>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td> </td><td>  </td></tr>
</table>


XSA
EC

WHIRL-PAK
muestra 1
muestra 2
muestra 3
muestra 4
P4

26.5
CIMAREC
HEAT
STIR


P1
P2
P3
P4

P1
P2
P3
P4

Anexo 5. *Firma de asistencia del personal capacitado***.**

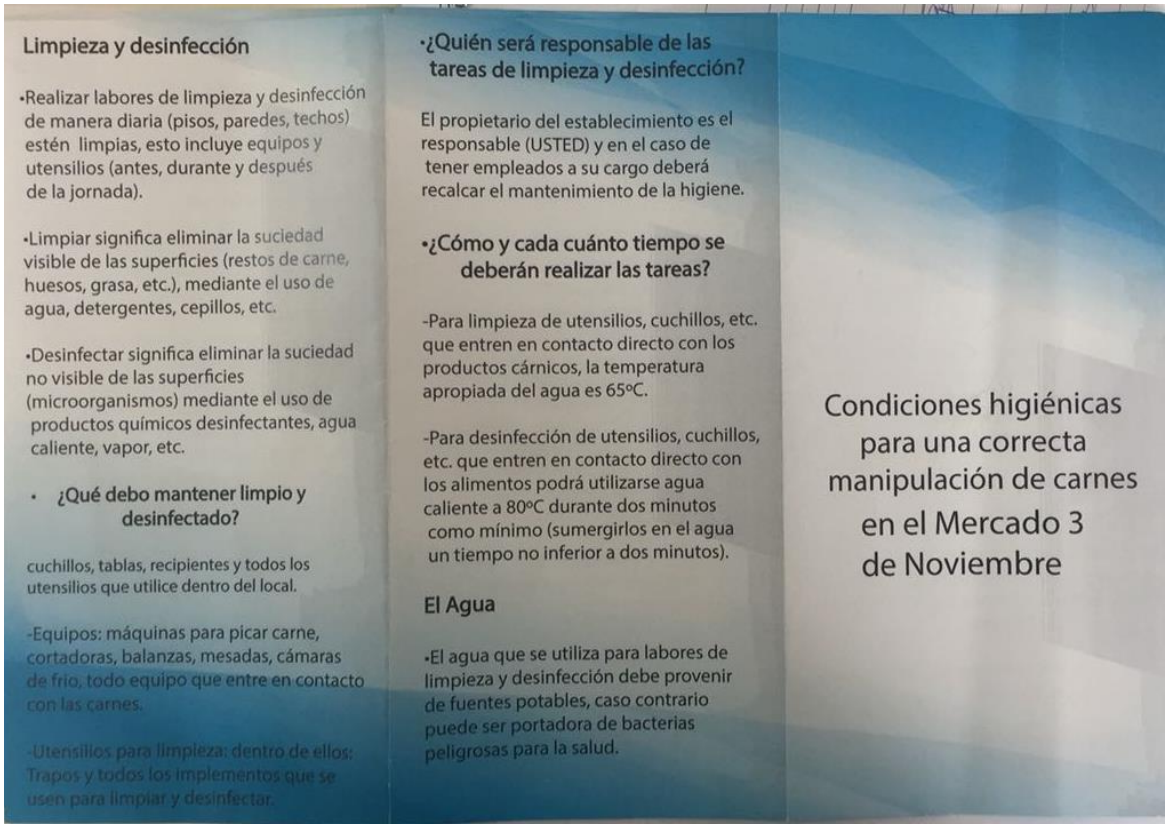
HOJA DE ASISTENCIA

Asunto:	***CHARLA SOBRE CONDICIONES HIGIENICAS PARA UNA CORRECTA MANIPULACION DE CARNES.***
Fecha:	Jueves, 13 de octubre de 2016.
Hora:	15h30
Lugar de la charla	Oficina Administración del Mercado 3 de Noviembre
Capacitador:	Ing. Ana Cristina Palacios Aguilera.

Listado de asistencia

Nombres	C.I	Teléfono	e-mail	Firma
Hilda Olalla		0993941003		
Isabel Tacuri	0103974275	0999486907		
Aura Samaniego	1104461460	0994864367		
Rosa Anchatoma	0 1P3167-19			
Janeth Barros	0103062683	0984391849		
Luz Guncay	0102220340	0994623588		
Elena Morales	0102315912	0992726077		
Rosa Natalia		2 854/83		
Carmen Chimbo	0103035598			
Rosa Chicaiza	0100745538-9	2849-471		
Rosa León	0101129062	281662		

Anexo 6. *Tríptico de la capacitación.*



Limpieza y desinfección

•Realizar labores de limpieza y desinfección de manera diaria (pisos, paredes, techos) estén limpias, esto incluye equipos y utensilios (antes, durante y después de la jornada).

•Limpiar significa eliminar la suciedad visible de las superficies (restos de carne, huesos, grasa, etc.), mediante el uso de agua, detergentes, cepillos, etc.

•Desinfectar significa eliminar la suciedad no visible de las superficies (microorganismos) mediante el uso de productos químicos desinfectantes, agua caliente, vapor, etc.

- **¿Qué debo mantener limpio y desinfectado?**

cuchillos, tablas, recipientes y todos los utensilios que utilice dentro del local.

-Equipos: máquinas para picar carne, cortadoras, balanzas, mesadas, cámaras de frio, todo equipo que entre en contacto con las carnes.

-Utensilios para limpieza: dentro de ellos: Trapos y todos los implementos que se usen para limpiar y desinfectar.

•¿Quién será responsable de las tareas de limpieza y desinfección?

El propietario del establecimiento es el responsable (USTED) y en el caso de tener empleados a su cargo deberá recalcar el mantenimiento de la higiene.

•¿Cómo y cada cuánto tiempo se deberán realizar las tareas?

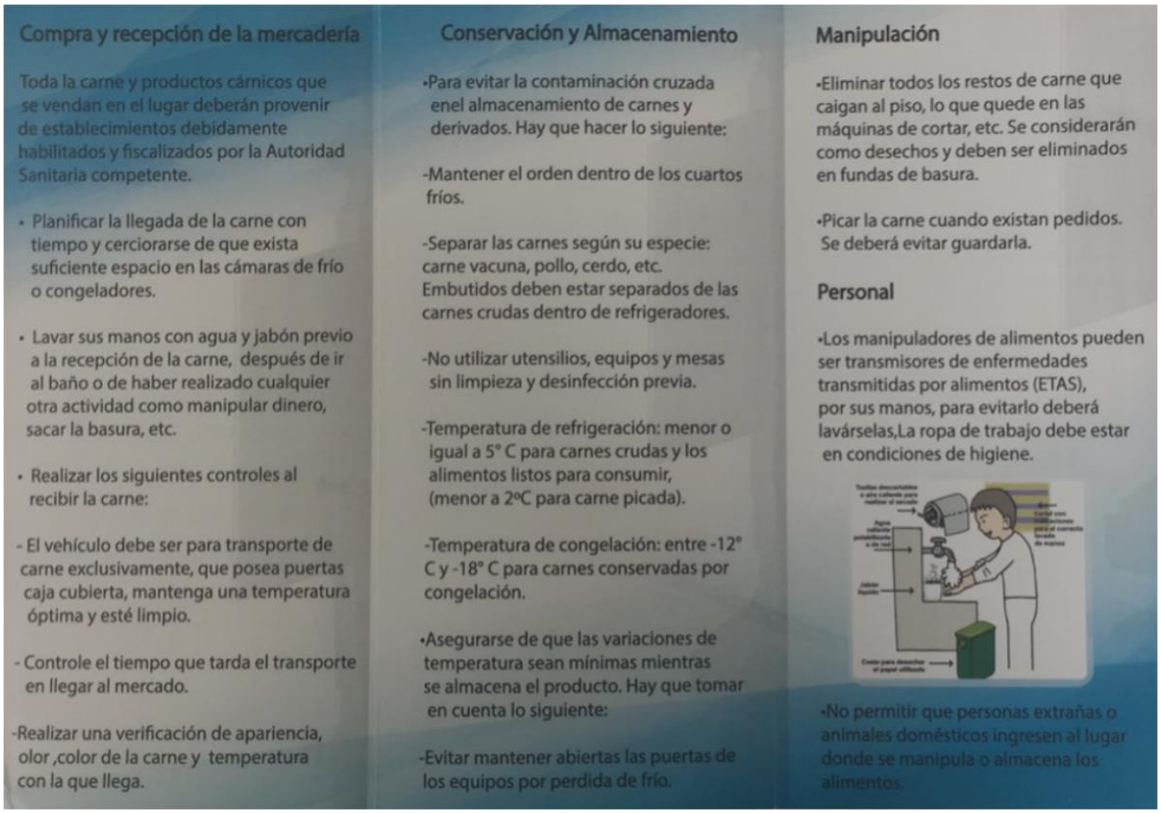
-Para limpieza de utensilios, cuchillos, etc. que entren en contacto directo con los productos cárnicos, la temperatura apropiada del agua es 65ºC.

-Para desinfección de utensilios, cuchillos, etc. que entren en contacto directo con los alimentos podrá utilizarse agua caliente a 80ºC durante dos minutos como mínimo (sumergirlos en el agua un tiempo no inferior a dos minutos).

El Agua

•El agua que se utiliza para labores de limpieza y desinfección debe provenir de fuentes potables, caso contrario puede ser portadora de bacterias peligrosas para la salud.

Condiciones higiénicas para una correcta manipulación de carnes en el Mercado 3 de Noviembre



Compra y recepción de la mercadería

Toda la carne y productos cárnicos que se vendan en el lugar deberán provenir de establecimientos debidamente habilitados y fiscalizados por la Autoridad Sanitaria competente.

- Planificar la llegada de la carne con tiempo y cerciorarse de que exista suficiente espacio en las cámaras de frío o congeladores.
- Lavar sus manos con agua y jabón previo a la recepción de la carne, después de ir al baño o de haber realizado cualquier otra actividad como manipular dinero, sacar la basura, etc.
- Realizar los siguientes controles al recibir la carne:

- El vehículo debe ser para transporte de carne exclusivamente, que posea puertas caja cubierta, mantenga una temperatura óptima y esté limpio.

- Controle el tiempo que tarda el transporte en llegar al mercado.

-Realizar una verificación de apariencia, olor ,color de la carne y temperatura con la que llega.

Conservación y Almacenamiento

•Para evitar la contaminación cruzada enel almacenamiento de carnes y derivados. Hay que hacer lo siguiente:

-Mantener el orden dentro de los cuartos fríos.

-Separar las carnes según su especie: carne vacuna, pollo, cerdo, etc. Embutidos deben estar separados de las carnes crudas dentro de refrigeradores.

-No utilizar utensilios, equipos y mesas sin limpieza y desinfección previa.

-Temperatura de refrigeración: menor o igual a 5° C para carnes crudas y los alimentos listos para consumir, (menor a 2ºC para carne picada).

-Temperatura de congelación: entre -12° C y -18° C para carnes conservadas por congelación.

•Asegurarse de que las variaciones de temperatura sean mínimas mientras se almacena el producto. Hay que tomar en cuenta lo siguiente:

-Evitar mantener abiertas las puertas de los equipos por perdida de frío.

Manipulación

•Eliminar todos los restos de carne que caigan al piso, lo que quede en las máquinas de cortar, etc. Se considerarán como desechos y deben ser eliminados en fundas de basura.

•Picar la carne cuando existan pedidos. Se deberá evitar guardarla.

Personal

•Los manipuladores de alimentos pueden ser transmisores de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), por sus manos, para evitarlo deberá lavárselas,La ropa de trabajo debe estar en condiciones de higiene.

•No permitir que personas extrañas o animales domésticos ingresen al lugar donde se manipula o almacena los alimentos.