



FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE POSGRADOS

**Salmonella en comidas rápidas (Chuzos y aderezos) de venta en
la vía pública de la Ciudad de Cuenca**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN GESTIÓN
DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA**

AUTORA: Dra. Nancy Vanegas Cobeña

DIRECTORA: MSc. María Fernanda Morales R.

CUENCA ECUADOR
2013

DEDICATORIA

A mis padres, que en paz descansen

AGRADECIMIENTO

A la Universidad del Azuay en sus docentes.

A la Dra. MSc. María Fernanda Morales Romoleroux por su valiosa dirección en el desarrollo y culminación del presente estudio y a todos quienes me brindaron su apoyo.

RESUMEN

Las enfermedades gastrointestinales son la segunda causa de egresos hospitalarios del país. En la primera década del presente siglo, el número de casos de diarrea y de contaminación representan los alimentos consumidos en las calles de las ciudades, preparados sin las necesarias prácticas de higiene, lo cual afecta a la inocuidad.

El objetivo del presente estudio fue establecer la presencia o ausencia de *Salmonella spp* en estos productos al tiempo que conocer el nivel de cumplimiento de buenas prácticas de higiene, por parte de los vendedores de comidas rápidas en la ciudad de Cuenca.

No se evidenció el desarrollo de *Salmonella* en las muestras analizadas. Sin embargo microbiológicamente se comprobó la presencia de contaminación de tipo fecal en la mayoría de estos productos, razón por la cual se propone la Guía de Buenas Prácticas de Higiene adjunta, dirigida a la población que realiza esta actividad.

Palabras clave: Enterobacterias, Buenas Prácticas de Higiene, *Salmonella*, Inocuidad.

ABSTRACT

Gastrointestinal diseases are the second cause for hospital discharges in the country. During the first decade of this century the number of cases of diarrhea and gastroenteritis was one quarter of a million*. One of the main sources of contamination is food that is consumed in the street, which is not prepared according to the sanitation standards and affects safety.

The goal of the present study was to establish the presence or absence of *Salmonella spp* in these products as well as to know if good hygienic practices are employed by the street sellers of fast food in the city of Cuenca.

There was no evidence of *Salmonella* in the samples that were analyzed. However, microbiologically we evidenced the presence of fecal contamination in most of these products. Therefore, we propose a Guide of Good Hygiene Practices aimed at the people that work in this area.

Key words: Enterobacteria, Good Hygiene Practices, *Salmonella*, Safety


UNIVERSIDAD DEL
AZUAY
DPTO. IDIOMAS


Translated by,
Diana Lee Rodas

Contenido	Página
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	ix
 INTRODUCCIÓN.....	 1
Problemática.....	1
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
Fundamento teórico.....	3
Condiciones óptimas de desarrollo para <i>Salmonella</i>	4
Cultivo de <i>Salmonella spp</i>	4
Muestreo.....	5
Parroquias de El Sagrario y Gil Ramírez Dávalos. Límites.....	6
Características de la muestra	9
CAPÍTULO 1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
1.1 Materiales.....	10
1.1.1 Para muestreo.....	10
1.1.2 Para preparación de las muestras	10
1.1.3 De laboratorio.....	10
1.1.4 Medios de cultivo	10
1.2 Métodos.....	11
1.2.1 De muestreo.....	11
1.2.2 De análisis.....	13
1.2.2.1 Preparación de la muestra	13
1.2.2.2 Procedimiento microbiológico para determinar <i>salmonella</i>	13
Fundamento metabólico de las pruebas bioquímicas	14
Fundamento técnico de Reveal 2.0	19
CAPÍTULO 2: RESULTADOS	21
CAPÍTULO 3: DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	32
RECOMENDACIONES.....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

ANEXOS.....	37
Anexo 1. Resultados de Verificación cumplimiento de Buenas Prácticas de Higiene.....	37
Anexo 2. Matriz de identificación de Enterobacterias	38
Anexo 3. Fotografías.....	39
Anexo 4. Guía de buenas prácticas de higiene y manipulación.....	41
Referencia de figuras	54

Índice de tablas	Página
1. Condiciones óptimas del desarrollo de <i>Salmonella</i>	4
2. Verificación de cumplimiento de Buenas Prácticas de Higiene.....	12
3. Evaluación de características organolépticas de los chuzos.....	13
4. Interpretación de resultados de Pruebas Bioquímicas	16
5. Cumplimiento de buenas prácticas de higiene, por ítem.	21
6. Número de personas que trabajan por puestos callejeros de venta de chuzos.....	24
7. Sexo de las personas que trabajan por puestos callejeros de venta de chuzos.....	24
8. Unidades vendidas por día en los puestos callejeros de venta de chuzos.....	25
9. Cumplimiento de buenas prácticas en los puestos de venta de chuzos.....	26
10. Características organolépticas de los chuzos en los puestos de venta.....	26
11. Germen predominante en las diferentes muestras.....	27

Índice de gráficos	Página
1. Parroquias urbanas de la Ciudad de Cuenca.....	7
2. Plano de las parroquias El Sagrario y Gil Ramírez Dávalos y puntos de muestreo....	8
3. Kit de pruebas bioquímicas para identificación de Enterobacterias.....	16
4. Ensayos de pruebas bioquímicas	17
5. Ensayos de pruebas bioquímicas	17
6. Flujograma de determinación de <i>salmonella</i> en alimentos preparados.....	18
7. Kit Reveal 2.0 e interpretación de resultados	19
8. Cumplimiento de buenas prácticas de higiene, por Ítem.	23
9. Número de personas que trabajan por puesto de venta de chuzos.	24
10. Sexo de las personas que trabajan en los puestos de venta de chuzos.	25
11. Unidades vendidas por día en los puestos callejeros de venta de chuzos.....	25
12. Cumplimiento general de buenas prácticas en los puestos de venta de chuzos. ..	26
13. Características organolépticas de los chuzos en los puestos de venta.....	27
14. Germen predominante en las diferentes muestras	27

Vanegas Cobeña Nancy Esperanza

Trabajo de graduación

MSc. María Fernanda Morales Romoleroux

Julio, 2013

“SALMONELLA EN COMIDAS RÁPIDAS (CHUZOS Y ADEREZOS) DE VENTA EN LA VIA PÚBLICA DE LA CIUDAD DE CUENCA”

INTRODUCCIÓN

La venta de comida rápida en las calles puede considerarse al mismo tiempo un problema, un desafío y una oportunidad para el desarrollo de las ciudades. El problema lo constituye el control de la calidad y la inocuidad de esos alimentos. La oportunidad radica en la posibilidad de fortalecer los hábitos alimentarios tradicionales, así como el desarrollo de pequeñas industrias. El desafío es proporcionar a las autoridades las herramientas necesarias para implementar un programa que logre formalizar la situación de los vendedores callejeros al tiempo de garantizar la calidad e inocuidad de estos alimentos.

La principal preocupación como profesionales de la salud se orienta a conocer el grado de aseguramiento de la inocuidad de los alimentos y dentro de este ámbito en la seguridad microbiológica de ellos.

Problemática

“Aproximadamente un millón de casos de salmonelosis al año son causadas por alimentos que se consumen en los Estados Unidos, con costes médicos directos de alrededor de US\$ 365 millones al año” (Revista Club Darwin.NET. México DF. MX. Julio 2012)

En Ecuador, según estadísticas de salud del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), en 10 años el número de egresos hospitalarios creció en 62,4% al pasar de 635 mil en 1999 a un millón, en 2009.

Entre las 10 primeras causas se mencionan la Neumonía (24,3%), seguida de la Diarrea y Gastroenteritis 233.000 casos (23,3%), Colelitiasis con el (19,8%), Apendicitis (17,2%), Aborto no especificado (15,6%), Hernia Inguinal (9,2%), Falso trabajo de parto (8,5%), Trastornos del sistema urinario (7,8%), Traumatismo intracraneal (7,5%) e Infección de las Vías Genitourinarias en el Embarazo (6,8%). (INEC Egresos Hospitalarios por Gastroenteritis. 2009)

Y en el año 2011, se registró un número de egresos hospitalarios de 1'133.556, manteniéndose las diez principales causas, dentro de las cuales la segunda es Diarrea y gastroenteritis con 169106 casos correspondiente a 15%. (INEC Egresos Hospitalarios. 2011).

Gran parte de infecciones intestinales son producidas por el consumo de alimentos preparados adquiridos en la vía pública. El tipo de alimento, la forma de preparación, las condiciones de servicio y de consumo, y las deficientes prácticas sanitarias, sumadas a la ausencia de infraestructura observados en el sistema de venta de estos productos hacen evidente el riesgo de contraer una infección intestinal.

La salmonelosis humana es una enfermedad infectocontagiosa causada por enterobacterias del género *Salmonella*. Comprende un conjunto de cuadros clínicos cuya principal manifestación es la gastroenteritis aguda, una de las intoxicaciones alimentarias más comunes causadas por el consumo de agua y alimentos contaminados, especialmente carnes y productos elaborados con huevos y otras materias primas crudas

Las manifestaciones clínicas serán desde una gastroenteritis más o menos aguda hasta la fiebre tifoidea, incluyendo escalofríos, cefaleas, náuseas, anorexia, tos y diarrea o estreñimiento. La fiebre es prolongada y varía de 38,5 °C a 40 °C. En un gran número de casos presentan dolor abdominal.

En ocasiones también se puede encontrar hepatoesplenomegalia, epistaxis, bradicardia, delirios (recogen objetos imaginarios) y coma (*typhos*). Y complicaciones como perforaciones intestinales y enterorragias. Otras menos habituales que también pueden aparecer son abscesos, endocarditis, osteomielitis, meningitis o hepatitis. Y se asocia con neoplasia gastrointestinal y colelitiasis. □ (Farreras-Rozman. 2012).

Sin embargo, esta sintomatología no es exclusiva de infecciones por *Salmonella*. Otros géneros de enterobacterias pueden ser altamente patógenas, como son *Escherichia*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Proteus*, entre otros; los cuales producen cuadros clínicos similares que, dependiendo de la dosis infectante y de la dosis ingerida, pueden producir efectos igualmente alarmantes.

Sin lugar a dudas, una fuente importante de contaminación por alimentos, lo constituyen las comidas rápidas preparadas, vendidas y servidas en las calles y plazas, como es el caso de los llamados “chuzos” junto con sus aderezos.

Los chuzos son un alimento muy popular y apetecido por la población urbana de la ciudad de Cuenca. Está disponible en casi cualquier sector de la ciudad, se lo consigue recién preparado, nutritivo y con buen sabor. Puede ser adquirido al paso y por su precio económico está al alcance de prácticamente todas las personas. Como se notará más adelante la venta (y por tanto el consumo) de este producto es alta, por lo que se consideró útil establecer las condiciones de higiene y de seguridad con que se procesa, vende y consume, así como la posible contaminación con *Salmonella spp.*

En los últimos años se ha observado un incremento notable de vendedores callejeros de comida preparada dentro del perímetro urbano de la ciudad de Cuenca. Estos puestos de

venta son altamente frecuentados por gran parte de la población que encuentra en ellos una alternativa válida para su alimentación, ya sea por estar cerca a sus lugares de trabajo o estudio, por su bajo costo, buen sabor, o por su accesibilidad. La mayoría de individuos que ejercen la actividad de preparación y venta de comida rápida en la vía pública no cuentan con permiso ni han sido capacitados por parte de las autoridades sanitarias para tal labor, por lo que sus conocimientos en temas de Buenas prácticas de higiene, calidad y seguridad alimentarias son mínimos.

La consecuencia natural de esta falencia concierne a la inocuidad de los alimentos, acompañada de otros problemas sociales, como la necesidad de limpieza y descontaminación de las calles por la acumulación de desechos y congestión del alcantarillado, los embotellamientos de tránsito vehicular y peatonal que genera la ocupación de las aceras por los vendedores ambulantes y la ocupación ilegal del espacio público o privado.

Objetivo general

Obtener cifras actualizadas del grado de contaminación con *Salmonella spp* de alimentos preparados (chuzos y aderezos) expendidos en la vía pública a la vez que plantear una propuesta para reducir dicha contaminación.

Objetivos específicos

- Obtener una estadística de la incidencia de *Salmonella spp* en alimentos preparados (chuzos y aderezos) que se comercializan en las calles de Cuenca.
- Establecer, de acuerdo a los resultados obtenidos, si el consumo del producto (chuzo + aderezos) representa riesgo para la salud de los consumidores.
- Plantear una Guía de Buenas Prácticas de Higiene para comercializadores callejeros de comida preparada de la ciudad de Cuenca.

Fundamento teórico

Salmonella es un género bacteriano, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, integrado por gérmenes de forma bacilar, no esporulados, habitualmente móviles mediante flagelos peritricos, aunque existen mutantes inmóviles. El serotipo *pollorum-gallinarum* es siempre inmóvil. Gramnegativos, aerobios-anaerobios facultativos, fermentan la glucosa con producción de gas. No fermentan la lactosa. Reducen nitratos a nitritos. Son citocromo-oxidasa negativos, úrea negativos, indol negativos, descarboxilan la lisina y ornitina y producen gas sulfhídrico en medios con tiosulfato o aminoácidos azufrados. Forman colonias típicas sobre medios de cultivo sólidos y poseen características bioquímicas y serológicas definidas.

La familia *Salmonella* incluye sobre 2,300 serotipos de bacterias. Dos tipos, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*, son los más comunes en los Estados Unidos y América Latina y los responsables de la mitad de todas las infecciones en humanos. Los tipos que no causan síntomas en animales pueden enfermar a las personas y viceversa. Si está presente en el alimento, usualmente no afecta el sabor, olor o apariencia de los mismos.

La bacteria vive en el tracto intestinal de los animales y humanos infectados, invade los tejidos y sobrevive dentro de los macrófagos. Sensible al ácido estomacal. La **dosis infectante está entre 10^3 y 10^6 individuos.** (Bailey-Scot, 2009).

La temperatura ideal para el desarrollo de *Salmonella* está en el rango de 35 a 42°C., pero dependiendo de la carga bacteriana existente en el alimento, puede reproducirse a temperaturas mínimas de 5.2°C. o tan altas como 46.2°C. El pH del medio puede variar ampliamente entre 3.8 a 9.5, siendo el óptimo 7 a 7.5. Y requiere valores altos de actividad acuosa.

Tabla 1. Condiciones óptimas de desarrollo para *Salmonella*

Condición	Mínimo	Máximo	Óptimo
Temperatura	5.2 °C.	46.2°C.	35 – 42°C:
pH	3.8	9.5	7 - 7.5
Actividad acuosa	0.94	0.99	0.99

Fuente: Instituto de Salud Pública de Chile. Factores que afectan el desarrollo, muerte y sobrevivencia de salmonella.

Cultivo de *Salmonella* spp

Los alimentos preparados habitualmente no contienen una carga bacteriana suficientemente alta que permita lograr su desarrollo al sembrarlos directamente en medios selectivos, por lo que para recuperar un microorganismo es necesario realizar su cultivo en varias etapas: (CULTIMED, 2003)

Preenriquecimiento en medios no selectivos

1. *Preenriquecimiento en medios no selectivos*: se persigue la revivificación de los microorganismos lesionados, se incrementa su vitalidad y se consigue las condiciones fisiológicas adecuadas para su perfecto desarrollo. El medio de elección fue el agua de peptona tamponada que, al mantener un pH constante, favorece el desarrollo de la *Salmonella* y otras enterobacterias. Por otra parte, la peptona y los fosfatos revitalizan a los gérmenes debilitados

2. *Enriquecimiento en medios líquidos selectivos*: se estimula y favorece el crecimiento de las *Salmonellas* y se restringe la proliferación de la flora competitiva. El medio seleccionado fue caldo tetracionato-verde brillante (Müller Kauffmann); el tetracionato inhibe el crecimiento de coliformes y otras bacterias intestinales. El verde brillante impide

el desarrollo de la flora grampositiva y el carbonato cálcico actúa de tampón para mantener el pH. La recuperación óptima de las *Salmonellas* se obtiene entre los 42-43 °C.

3. *Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos*: en esta etapa se restringe, aun más el crecimiento de la flora competitiva y se estimula el de *Salmonella*. Por otra parte, la composición de los distintos medios permite el crecimiento de colonias con aspecto característico en cada uno de ellos. Los medios elegidos fueron dos: el agar Verde Brillante y el Agar *Salmonella-Shigella* (SS). El agar Verde Brillante es un excelente medio de gran selectividad para el aislamiento de *Salmonella*. Los fermentadores de lactosa o sacarosa que pueden crecer en este medio se diferencian rápidamente debido a la formación de colonias verde-amarillentas, rodeadas de una zona de igual color. Esto se debe a la fermentación de los azúcares que produce acidez, haciendo virar el indicador (rojo fenol) a amarillo. En medio alcalino se observa un color rojo intenso, propio de las colonias de *Salmonella* y *Shigella*. El verde brillante, tetraetil derivado del verde malaquita inhibe el desarrollo de microorganismos grampositivos. El Agar SS (*Salmonella Shigella*), selectivo para aislar géneros *Salmonella* y *Shigella* tiene en su composición sales biliares y verde brillante para impedir el crecimiento de coliformes y gérmenes Gram positivos. La presencia de lactosa y rojo de metilo permite diferenciar las colonias que fermentan la lactosa (rosas o rojas) de las que no lo hacen (incoloras). Las especies de *Salmonella* y *Shigella* no fermentan nunca la lactosa por lo que este medio es excelente para descartar todas las colonias que no cumplan este requisito. El agar SS es doblemente diferencial, ya que, además de indicar el comportamiento de los gérmenes con relación a la lactosa, muestra los gérmenes capaces de producir ácido sulfhídrico, manifestado como un precipitado de color negro en el centro de la colonia. Así, unas colonias incoloras y con un punto negro central son sospechosas de *Salmonella*, y será exclusivamente a estas colonias a las que se hagan las pruebas bioquímicas confirmatorias de este género.

4. *Confirmación de las colonias sospechosas*, mediante reacciones bioquímicas diversas, que son específicas para cada género. Se utilizó las pruebas rápidas de Himedia, que consisten de un cassette conteniendo reactivos para investigar 12 parámetros.

Muestreo

Luego de realizar un sondeo en los diferentes sectores urbanos de la ciudad, se decidió tomar como referencia las parroquias de El Sagrario y Gil Ramírez Dávalos, por ser las más centrales, y por lo tanto mantener alta circulación de transeúntes, de todas las edades y condición social y económica, pues en ellas se encuentran varias unidades educativas, templos, instituciones financieras y mucha actividad comercial. Además, en estas parroquias

se nota que los puestos de venta son más fijos, por lo que resulta más factible la localización de los vendedores para la repetición del muestreo.

Se ha recorrido las dos parroquias objeto de estudio, encontrando un número de 24 expendedores que se ubican según el plano que consta en la fig.2. Se realizó el muestreo en la totalidad de puestos de venta de las parroquias El Sagrario y Gil Ramírez Dávalos de la ciudad de Cuenca.

Parroquias de El Sagrario y Gil Ramírez Dávalos. Límites

Nombre: Ordenanza de División de las Parroquias Urbanas de la Ciudad de Cuenca 1982.

Medio de Difusión: Registro Oficial

Publicado el: 03/08/82

Parte Dispositiva:

La Ciudad de Cuenca, en su Sector Urbano, consta de las siguientes Parroquias:

1. El Sagrario
2. Gil Ramírez Dávalos
3. San Sebastián
4. Huayna-Cápac
5. Bella Vista
6. El Vecino
7. Totoracocha
8. Monay
9. Sucre
10. Cañaribamba
11. San Blas
12. El Batán
13. Yanuncay
14. Machángara

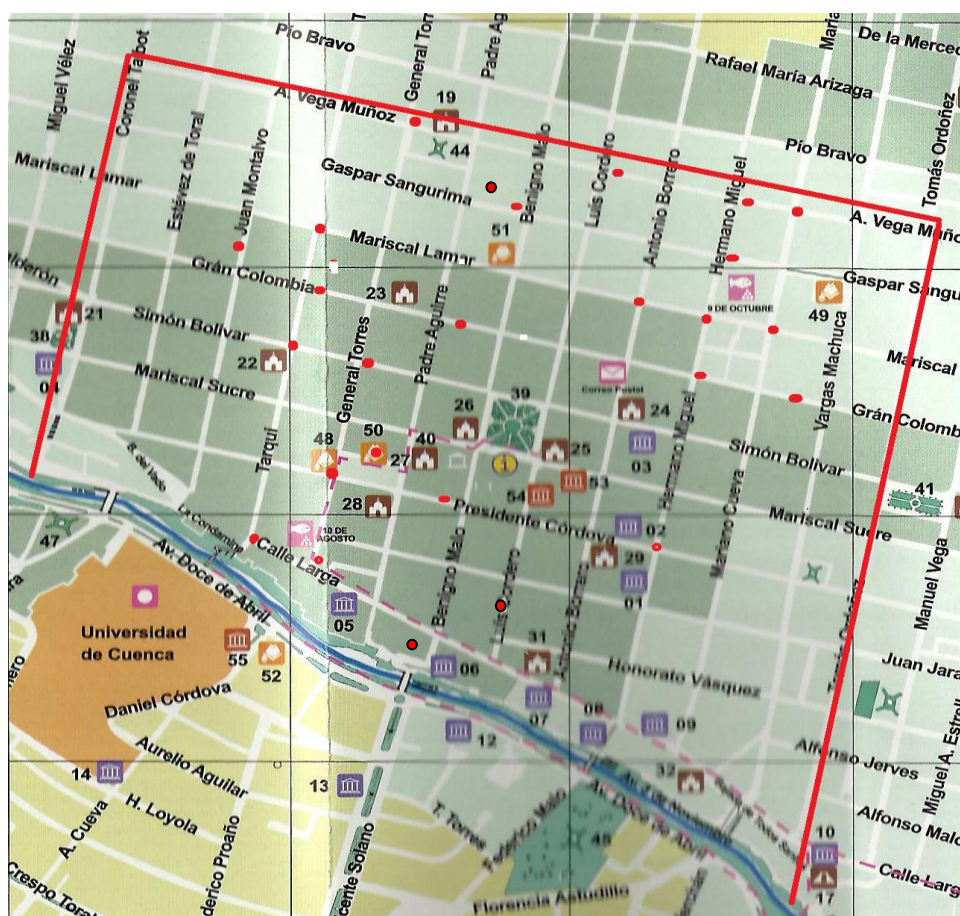
Gráfico 1 Parroquias urbanas de la Ciudad de Cuenca

Fuente: Revista Cuenca Ilustre Ecuador, Noviembre 2008

La Parroquia EL SAGRARIO, está delimitada de la siguiente manera: Parte desde la intersección de la vereda oriental de la calle Benigno Malo, con la vereda Sur de la Carrera Vega Muñoz, en sentido oriental hasta encontrarse con la vereda Occidental de la calle Tomás Ordóñez; continúa en dirección Sur por la vereda Occidental de la calle Tomás Ordóñez, hasta la Bajada de Todos Santos, continúa por la Bajada de Todos Santos hasta la intersección con la Margen Norte del Río Tomebamba, aguas arriba por dicha margen hasta el Puente del Centenario; sigue en dirección norte por la vereda oriental de la calle Benigno Malo hasta la intersección con la vereda Sur de la Carrera Vega Muñoz.

La Parroquia GIL RAMIREZ DAVALOS, se encuentra delimitada de la siguiente manera: desde el cruce de la vereda oriental de la calle Coronel Tálbot y la vereda sur de la Carrera Vega Muñoz, parte en sentido oriental por la vereda sur de la carrera Vega Muñoz, hasta llegar a la vereda occidental de la calle Benigno Malo; siguiendo en dirección sur por la vereda occidental de la calle Benigno Malo, hasta la margen Norte del Río Tomebamba; continúa aguas arriba por la margen norte del Río Tomebamba hasta la prolongación de la vereda oriental de la calle Coronel Tálbot; de este punto toma la dirección norte por la vereda oriental de la Calle Coronel Tálbot, hasta la intersección con la vereda sur de la carrera Vega Muñoz.

Gráfico 2 Plano de las parroquias El Sagrario y Gil Ramírez Dávalos y puntos de muestreo.



Fuente: Guía turística Ilustre Municipalidad de Cuenca 2012

*Leyenda: Las líneas en rojo y la línea en azul, que representa el Río Tomebamba, delimitan el área de muestreo.
 Los puntos en rojo, señalan la ubicación de los puestos muestreados
 Algunos vendedores no tienen un sitio fijo y se ubican alrededor de uno de los sitios indicados*

Características de la muestra

El tipo de muestra escogido para el estudio (chuzos y sus aderezos) constituye un agregado de varios alimentos susceptibles de contaminación parasitaria, bacteriana y/o fúngica, debido a su composición, estado de cocción nulo o parcial, y la incorrecta manipulación por parte de las personas que los preparan y expenden. Un chuzo promedio pesa alrededor de 100 g. y está formado por: Carne de res, chorizo, patata cocida, plátano maduro, cebolla y pimienta, acompañado de sus aderezos: salsa mayonesa, salsa de ají.

Generalmente, la carne, que se adquiere en los mercados de la ciudad, es cecinada, aliñada (con una mezcla de sal, ajo y cebolla) y colocada en un palillo de madera o carrizo, de extremo puntiagudo junto a los otros alimentos que conforman el chuzo, esto es, un pedazo o dos de chorizo, una patata cocida, una rodaja de maduro, un pedazo de pimienta y otro de cebolla. Se prepara con algunas horas de anticipación a la venta (4 a 6 horas) en el domicilio del vendedor y se mantiene a una temperatura ambiente promedio de 12 a 16°C. También se prepara una salsa mayonesa (con huevo crudo y aceite) y una de ají (que incluye ají y tomate de árbol, también crudos). Luego en el puesto de venta se los coloca muy cerca de la fuente de calor, en que se cuecen los chuzos (aproximadamente 30 °C) donde permanecen hasta su asado y consumo, esto es de 30 minutos hasta 5 horas después.

CAPÍTULO 1

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Materiales

1.1.1 Para muestreo

- Formularios de caracterización de ambientes y producto (verificación de Buenas Prácticas de Higiene) (Figura 3)
- Fundas plásticas estériles (marca Ziploc), para transporte de muestras
- Caja térmica con geles refrigerantes
- Cámara fotográfica

1.1.2 Para preparación de las muestras

- Tabla para picar (de vidrio)
- Cubiertos plásticos descartables
- Guantes de nitrilo
- Toallas de papel,
- papel aluminio
- Lámpara de alcohol

1.1.3 De laboratorio

- Balanza analítica
- Plato térmico
- Homogenizador de alimentos Stomacher
- Cabina de flujo laminar
- Estufa microbiológica
- Baño maría
- Autoclave
- Asas de siembra
- Tubos de ensayo,
- Frascos Erlenmeyer,
- Pipetas volumétricas y serológicas, de 1ml, 5 ml, 10 ml.
- Pipetas automáticas de 1ml. 5ml. Y 10 ml.
- Probetas graduadas de 100 ml y 500 ml.
- Cajas Petri descartables
- Mechero bunsen
- Cámara fotográfica

1.1.4 Medios de cultivo

- Medio para Salmonella Shigella, Agar SS.
- Agua de peptona lactosada
- Caldo tetrationato

- Agar Verde brillante,
- Agar nutritivo
- Solución de cloruro de sodio al 0.9%
- Pruebas bioquímicas Himedia, HiAssorted Biochemical test kit,
- Kit de pruebas confirmatorias Reveal 2.

1.2 Métodos

1.2.1 De muestreo

Se procedió a tomar muestras los días domingo, lunes y martes por haberse observado ser más frecuente encontrar los puestos de venta, y por factibilidad de siembra microbiológica. Hora de muestreo: entre 18h00 y 22h00, que son las horas en que con mayor seguridad se encuentra las muestras.

Se dispuso de las 4 semanas del mes de septiembre de 2012. Las dos primeras semanas se tomó las primeras muestras de los 24 puestos y las siguientes semanas se hizo una repetición del muestreo. Al momento de tomar las muestras se preguntó a los vendedores sobre algunos de los temas del cuestionario y se hizo una observación visual de las condiciones en que se realiza el expendio, respecto al carrito en que se transporta los productos, accesorios que se utilizan para servir, la higiene personal y el vestuario de las personas que venden. Se tomó nota en los respectivos formatos. Para el efecto se empleó los formularios (Tabla 2), en los que se registró los siguientes datos : Número de Personas que trabajan en el punto, sexo de los trabajadores, número de chuzos que venden al día, si tenía cubierta el carrito, si tenían o no un recipiente con agua limpia y otro para aguas utilizadas, si tenían basurero, si estaban acompañados de niños pequeños, si rondaban animales domésticos o insectos, si la temperatura de conservación de los chuzos era adecuada, sobre la limpieza de los recipientes para aderezos y los utensilios para servirlos y el uso de servilletas. Si las superficies estaban limpias, así como también las manos y uñas de los vendedores. Su vestuario de trabajo, si utilizan delantal, gorra y el cabello recogido y si manifestaban actitudes antihigiénicas.

La toma de muestras se realizó de la siguiente forma: se adquiría dos muestras de chuzos con sus aderezos, se introducía inmediatamente la una muestra en la funda de polietileno (Ziploc) previamente esterilizada mediante luz UV y se la colocaba en el recipiente térmico con geles refrigerantes, los cuales eran cambiados a las dos horas. Se mantuvo las muestras en refrigeración hasta su transporte al laboratorio para ser procesadas y analizadas. La otra muestra se sometía a evaluación por parte del grupo calificador, llenando el formulario respectivo. Si la calificación era ACEPTABLE, valía un punto; si alguna de las personas objetaba cualquiera de las características la calificación era NO ACEPTABLE y valía 0 puntos

Tabla 2. Verificación de cumplimiento de Buenas Prácticas de Higiene en los puestos callejeros de venta de chuzos

Número de muestra:

Dirección:

Marcar con una X en el casillero correspondiente

Personas que trabajan	1		2		3	
-----------------------	---	--	---	--	---	--

Sexo	H		M		HM		MM		HH		HMM	
------	---	--	---	--	----	--	----	--	----	--	-----	--

Chuzos vendidos/día	20-30		31-50		51-80	
---------------------	-------	--	-------	--	-------	--

Características sanitarias	SÍ (1)	NO (0)
Recipiente con agua potable		
Disposición de aguas servidas		
Tiene basurero cubierto		
Carrito con cubierta		
Superficies limpias		
Utensilios para servir los aderezos, apropiados		
No presencia de bebés		
No presencia de perros		
No presencia de insectos		
Temperatura de conservación de alimentos crudos ($\leq 12^{\circ}\text{C}.$)		
Adecuada higiene de los recipientes de salsas		
Uso de pincho comercial		
Uso de servilleta		

Personal	SÍ (1)	NO (0)
Manos, uñas limpias		
Uso de delantal		
Cofia/gorra		
Cabello recogido		
No actitudes antihigiénicas		

Se califica así: Respuesta afirmativa: 1 punto; respuesta negativa: 0 puntos

Elaboración: la autora

Actitudes antihigiénicas: sonarse la nariz, rascarse la cabeza, lamerse los dedos, toser sobre los alimentos, limpiarse las manos en la ropa.

Los resultados se muestran en el cuadro de anexos Pag. 37

Tabla 3. Evaluación de características organolépticas de los chuzos

Características organolépticas de los chuzos		
No. de muestra:	Aceptable	No aceptable
Aspecto		
Color		
Olor		
Sabor		

1.2.2 De análisis

Se analizó 48 muestras (2 de cada puesto de venta), en las cuales se investigó la presencia o ausencia de *Salmonella* spp como contaminante. Todas las pruebas fueron practicadas por duplicado.

El estudio de las características organolépticas del producto (tabla 3), se hizo mediante un grupo de cuatro personas que calificaron el aspecto color, olor y sabor. Para microbiología se utilizó el método tradicional (técnica microbiológica para detección de salmonella, adaptación de NTE INEN 1529-15:96), utilizando medios de cultivo selectivos: Agar Verde Brillante y Agar *Salmonella-Shigella*, marca MERCK. Para la identificación se usó las pruebas bioquímicas marca **KB002 Rapid de Himedia Laboratorios Pvt. Limited**, y para confirmación de Salmonella, la prueba de REVEAL 2.0 de Neogen.

Las muestras fueron procesadas y analizadas en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad del Azuay.

1.2.2.1 Preparación de la muestra.- Picar finamente los diferentes componentes del chuzo: carne, chorizo, patata, maduro cebolla y pimiento. Para ello se utiliza una tabla de picar de vidrio, la cual se lava y seca, se cubre con papel aluminio y se flamea con alcohol. Se corta los alimentos en pedazos muy pequeños con cubiertos desechables previamente esterilizados con luz UV. Se procede a mezclar los alimentos picados con las salsas mayonesa y/o de ají. Se pesa en la funda Ziploc esterilizada con UV.

1.2.2.2 Procedimiento microbiológico para determinar salmonella en alimentos preparados

Todos los pasos de siembra y trasposos se realizan dentro de la cabina de flujo laminar, previa esterilización de la misma mediante luz UV.

1. En una funda plástica estéril colocar 25 g de muestra preparada en 225 ml. de agua peptonada lactosada. Homogenizar en el Stomacher, por 20 seg.
2. Incubar 24 horas a 35°C.
3. Transferir al medio de enriquecimiento tetrationato, 1 ml. en 90 ml de medio.
4. Incubar 24 horas a 35°C.
5. Sembrar en Agar S.S. y en Agar verde brillante por estriado
6. Incubar 24 horas a 42°C. y observar

7. Si hay desarrollo, tomar con un asa para microbiología colonias de aspecto típico aisladas y suspenderlas en solución de cloruro de sodio 0.9% estéril (2ml), proceder a inocular los medios en los diferentes compartimentos del cassette para realizar las pruebas bioquímicas de identificación de *Salmonella* spp, a saber: utilización de citrato, utilización de lisina, utilización de ornitina, detección de ureasa, desaminación de fenilalanina, reducción de nitrato a nitrito, producción de gas sulfhídrico, y utilización de carbohidratos: glucosa, adonitol, lactosa, arabinosa, sorbitol.
8. Incubar 24 horas a 35°C.
9. Leer e identificar.
10. Se trabajó con blancos, utilizando suero fisiológico estéril en lugar de la suspensión de bacterias. Se hizo un blanco en cada batería de pruebas.

Fundamento de pruebas bioquímicas: según Bailey y Scott ,2009.

Utilización de Citrato

En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarboxílico. El desdoblamiento del citrato da progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa.

Utilización de Lysina y Ornitina

La descarboxilación de aminoácidos es llevada a cabo por descarboxilasas dando lugar a la formación de aminas y CO₂. Cada descarboxilasa es específica para un aminoácido y la reacción es completa e irreversible. Los aminoácidos ensayados habitualmente para la identificación son ornitina, lisina y arginina.

Por decarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta .La decarboxilación de la lisina se produce en medio ácido , por lo que es necesario que la glucosa sea previamente fermentada.

La ornitina descarboxilasa es una enzima que actúa a pH 6.5. Si la bacteria tiene ésta enzima descarboxila al aminoácido ornitina. Los productos son CO₂ + H₂O + AMINA (putrescina o cadaverina) los cuales son compuestos alcalinos, que producen un color violeta.

Detección de Ureasa

Algunas bacterias son capaces de emplear la urea como única fuente de nitrógeno. En tal caso la bacteria ha de poseer un enzima, la ureasa, capaz de atacar la urea.

La hidrólisis de la urea por la enzima ureasa libera dos moléculas de amoníaco que alcaliniza el medio, entonces se vira el indicador de pH, en el caso del rojo de fenol una prueba positiva es color buganvilla.

Desaminación de fenilalanina

Determina la capacidad de la bacteria para desaminar el aminoácido fenilalanina en un cetoácido, el ácido pirúvico por acción de la enzima Fenilalanina desaminasa, que se va a poner de manifiesto mediante la aplicación de 0.2 a 0.3 ml de Cloruro férrico al 10%; si hay en el medio ácido fenilpirúvico aparece una coloración verde-azulada.

Sólo los géneros *Proteus* y *Providencia* poseen la fenilalanina desaminasa, lo que permite diferenciarlas del resto de las enterobacterias.

Reducción de nitrato a nitrito

Va a poner de manifiesto la capacidad de los microorganismos de transformar los Nitratos en Nitritos. En esta prueba se detecta una respiración anaerobia: la que utiliza nitrato como aceptor final de electrones. Los nitratos se reducen a nitritos y algunas bacterias reducen los nitritos a productos gaseosos (N_2 y N_2O). Las enzimas responsables de ambas reducciones se denominan nitrato y nitrito reductasa, respectivamente. La prueba detecta nitritos en los cultivos con reactivos que originan una coloración roja

Producción de gas sulfhídrico

En presencia de tiosulfato en el medio o la degradación de proteínas liberando aminoácidos azufrados, algunos microorganismos forman H_2S gaseoso por medio de las enzimas tiosulfato reductasa y cisteína desulfurilasa. El gas incoloro H_2S reacciona con el citrato de amonio férrico para producir un precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso metálico.

Utilización de carbohidratos

Las enterobacterias son anaerobios facultativos que usan la glucosa en dos fases:

- Degradan la glucosa por la vía oxidativa hasta que consumen el oxígeno del medio.
- Metabolizan la glucosa mediante fermentación ácido mixto con producción de ácidos orgánicos, etanol, H_2 y CO_2 , que disminuyen el pH del medio, lo que se manifiesta con el viraje de color del rojo de metilo, del rojo al amarillo.

Utilización de Adonitol. La peptona de caseína proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos y el adonitol es el carbohidrato fermentable. Se manifiesta por un cambio de color del indicador el rojo de fenol que vira de rojo a amarillo.

Las pruebas escogidas para la presente investigación fueron las de Hi Media HiAssorted, que es un sistema estandarizado de identificación colorimétrica que utiliza siete pruebas bioquímicas convencionales y cinco pruebas de utilización de carbohidratos.

Las pruebas se basan en el principio de cambio de pH y la utilización de sustratos. En incubación los microorganismos experimentan cambios metabólicos que están indicados por un cambio de color en los medios que puede ser interpretado ya sea visualmente o después de la adición de un reactivo, según el cuadro presentado a continuación. (Neogen, 2012)

Tabla 4. Interpretación de resultados de Pruebas Bioquímicas

Result Interpretation chart						
No.	Test	Reagents to be added after incubation	Principle	Original colour of the medium	Positive reaction	Negative reaction
1	Citrate utilization	—	Detects capability of organism to utilize citrate as a sole carbon source	Green	Blue	Green
2	Lysine utilization	—	Detects Lysine decarboxylation	Olive green to Light Purple	Purple / Dark Purple	Yellow
3	Ornithine utilization	—	Detects Ornithine decarboxylation	Olive green to Light Purple	Purple / Dark Purple	Yellow
4	Urease	—	Detects Urease activity	Orangish yellow	Pink	Orangish yellow
5	Phenylalanine Deamination	2-3 drops of TDA reagent	Detects Phenylalanine deamination activity	Colourless	Green	Colourless
6	Nitrate reduction	1-2 drops of sulphanilic acid and 1-2 drops of N, N-Dimethyl-1-Naphthylamine	Detects Nitrate reduction	Colourless	Pinkish Red	Colourless
7	H ₂ S production	—	Detects H ₂ S production	Orangish yellow	Black	Orangish yellow
8	Glucose	—	Glucose utilization	Pinkish Red / Red	Yellow	Red / Pink
9	Adonitol	—	Adonitol utilization	Pinkish Red / Red	Yellow	Red / Pink
10	Lactose	—	Lactose utilization	Pinkish Red / Red	Yellow	Red / Pink
11	Arabinose	—	Arabinose utilization	Pinkish Red / Red	Yellow	Red / Pink
12	Sorbitol	—	Sorbitol utilization	Pinkish Red / Red	Yellow	Red / Pink

Gráfico3. Kit de pruebas bioquímicas para identificación de Enterobacterias

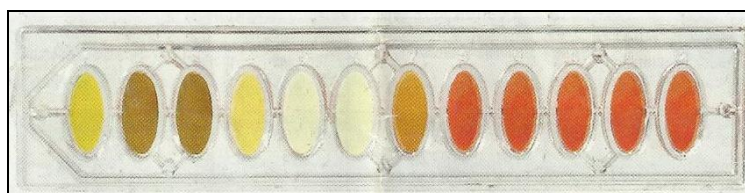


Gráfico 4. Ensayos de pruebas bioquímicas

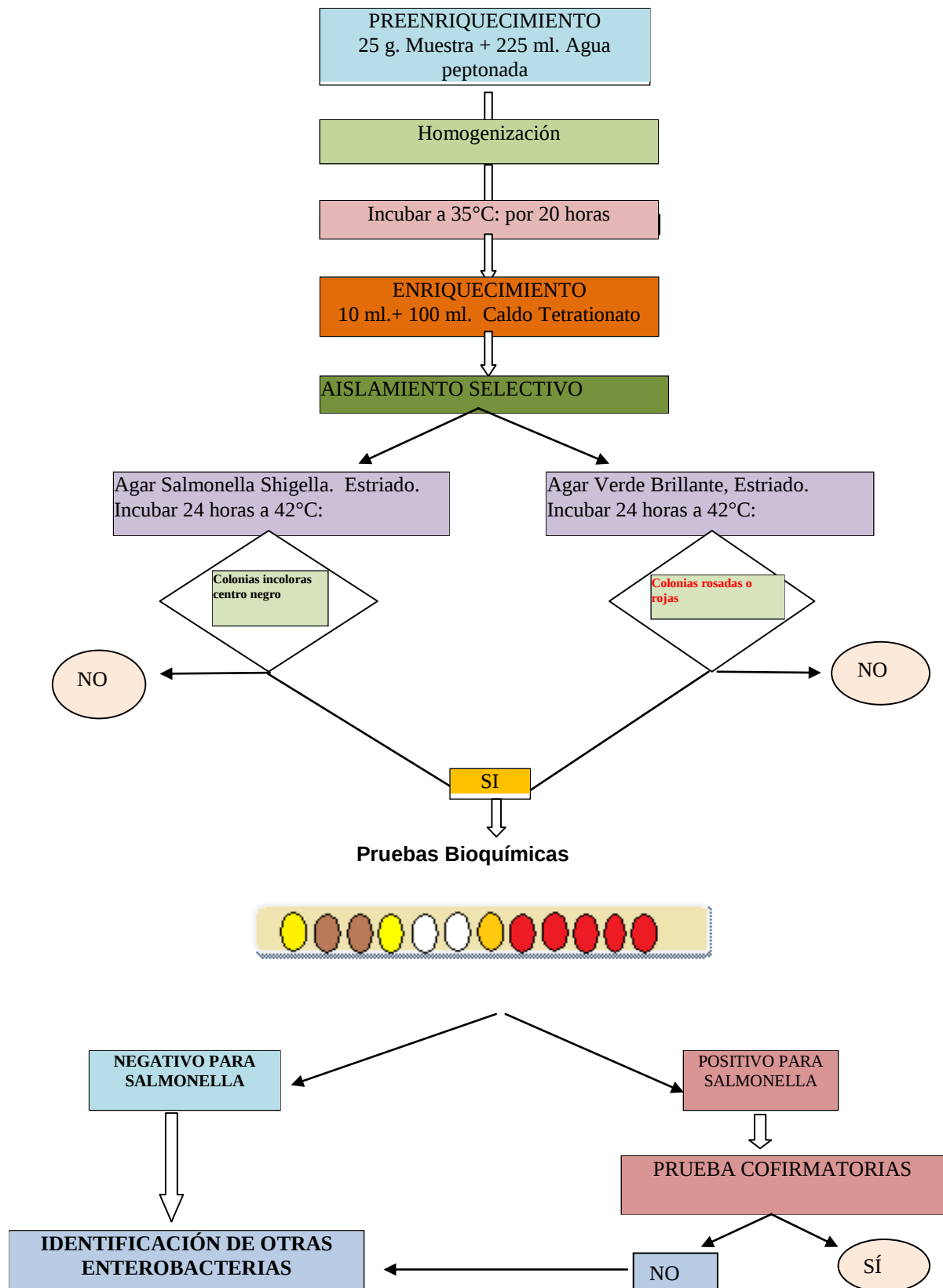


Gráfico 5. Ensayos de pruebas bioquímicas



Los resultados obtenidos de la identificación bioquímica de enterobacterias, se muestran en la matriz, en anexos pág. 37

Gráfico 6. Flujograma de determinación de salmonella en alimentos preparados



Fuente: Adaptación de la técnica NTE INEN 1529-15:1996

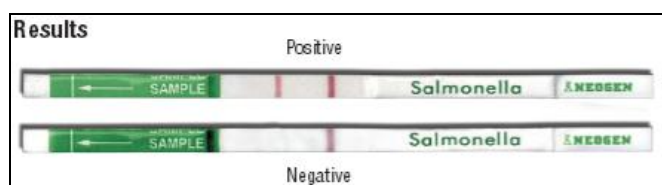
Elaboración: la autora

En las muestras cuyos resultados presuntivos fueron positivos para *Salmonella* (2 de las 48), se procedió a realizar la prueba confirmatoria. Se utilizó para el efecto el ensayo de REVEAL 2.0 (Neogen), que es un sistema basado en la técnica de Inmunocromatografía de Flujo Lateral.

Fundamento técnico de Reveal

- El sistema Reveal está formado por un conjunto de medios de cultivo selectivos predosificados (para realizar el enriquecimiento selectivo de la muestra se utiliza el medio RV Rappaport-Vasiliadis), y un cassette inmunocromatográfico en el que se realiza la detección inmunológica del patógeno.
- Una porción de la muestra enriquecida se dispensa en el “pocillo de muestra” del cassette inmunocromatográfico. La muestra fluye a través de una membrana que contiene anticuerpos específicos contra el patógeno a analizar (zona de reactivos).
- Estos anticuerpos están conjugados a partículas de látex de color. Si el patógeno está presente en la muestra, los anticuerpos conjugados con las partículas coloreadas se fijan a la fracción antigénica del patógeno, formando un inmunocomplejo migrado por difusión a través de la membrana hasta una zona (zona de reacción) en la que se haya fijado un segundo anticuerpo anti-patógeno específico. Este anticuerpo fijado captura el inmunocomplejo, mostrándose una línea coloreada producida por la concentración de las partículas de látex que incorpora el inmunocomplejo.
- En la zona de reactivos, está presente al mismo tiempo, un inmunocomplejo de control que migra conjuntamente con la muestra dispensada. Cuando este complejo control alcanza la “zona de reacción”, se forma una segunda línea coloreada que indica que el procedimiento se ha realizado correctamente.

Gráfico 7. Kit Reveal 2.0 e interpretación de resultados



El kit Reveal Salmonella ha sido validado por :

-AOAC-RI Certified and Performance Tested™ - Licencia número: 960801

-AFNOR – Certificado

El método se utiliza por el Ministerio de Agricultura de USA (USDA(FSIS)

Cabe recalcar que el reporte de Salmonella es cualitativo, lo cual es válido para nuestro estudio porque el requisito en las normas INEN para alimentos en general es Salmonella ausencia en 25 g de muestra. Los productos alimenticios preparados, no cuentan con una norma ecuatoriana establecida por lo que para la presente tesis se tomo como referencia MINSA PERU.

A las muestras cuyo resultado fue negativo para Salmonella, se procedió a resembrarlas en Agar nutritivo, se incubó a 35°C, por 24 horas y se siguió los pasos 7, 8 y 9 para identificar qué gérmenes predominaban en las muestras estudiadas. Igual tratamiento se les dio a las muestras que en la prueba confirmatoria resultaron negativas.

CAPÍTULO 2

RESULTADOS

De acuerdo al cuadro de resultados de verificación de Buenas Prácticas de Higiene (Ver anexo 1).

En lo que se refiere a cumplimiento de Buenas prácticas de higiene se encontró los siguientes resultados:

Tabla 5. Cumplimiento de buenas prácticas de higiene, por ítem

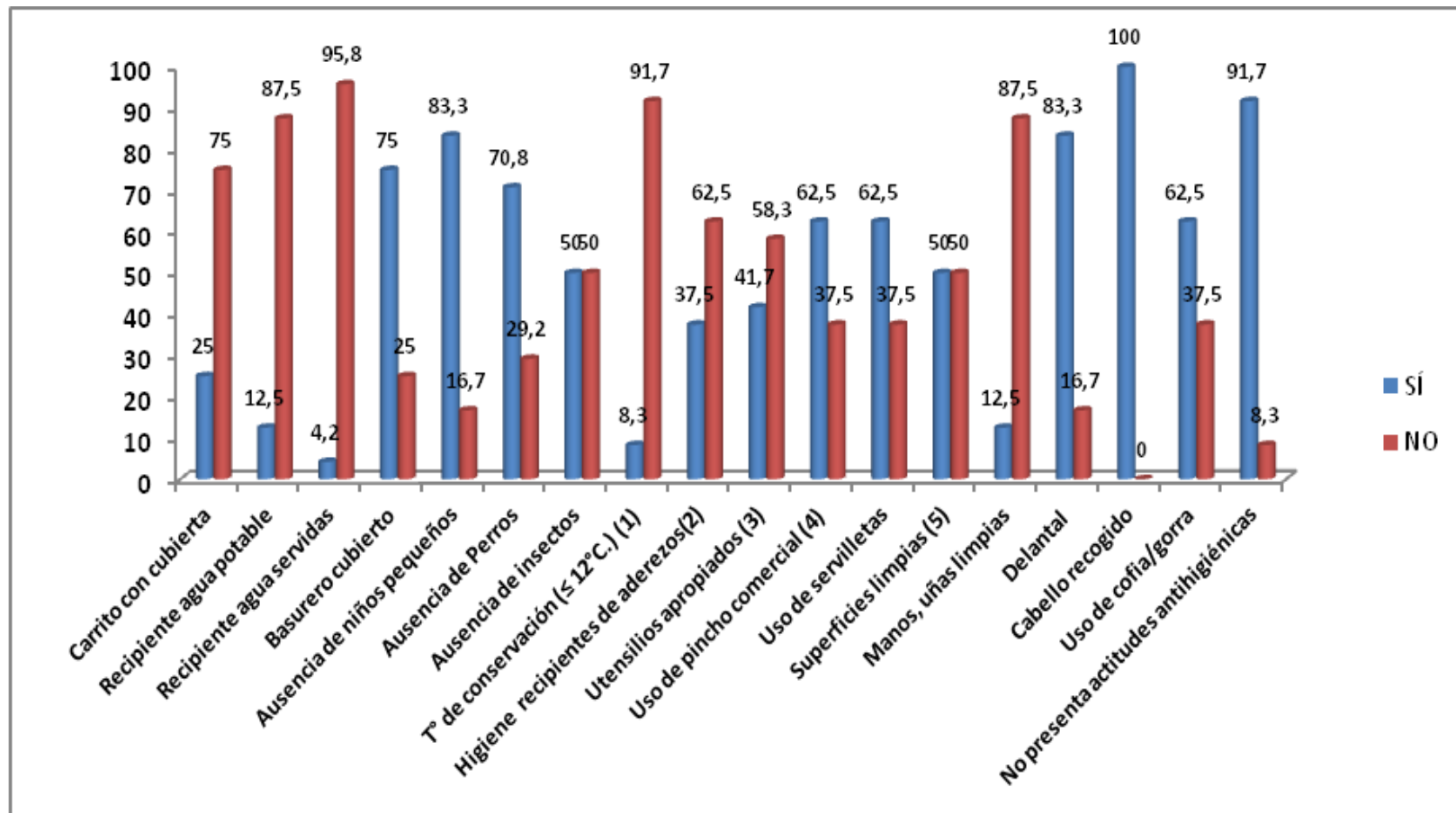
Item	SI %	NO %
Carrito con cubierta	25	75
Recipiente agua potable	12,5	87,5
Recipiente agua servidas	4,2	95,8
Basurero cubierto	75	25
Ausencia de niños pequeños	83,3	16,7
Ausencia de Perros	70,8	29,2
Ausencia de insectos	50	50
T° de conservación ($\leq 12^{\circ}\text{C.}$)	8,3	91,7
Higiene recipientes de aderezos	37,5	62,5
Utensilios apropiados	41,7	58,3
Uso de pincho comercial	62,5	37,5
Uso de servilletas	62,5	37,5
Superficies limpias	50	50
Manos, uñas limpias	12,5	87,5
Delantal	83,3	16,7
Cabello recogido	100	0
Uso de cofia/gorra	62,5	37,5
No presenta actitudes antihigiénicas	91,7	8,3

Fuente: Formulario de verificación de cumplimiento de BPH

Elaboración: la autora

- El número de personas que trabajan por puesto de venta varía de 1 a 3, En promedio son dos personas.
- De las 40 personas que venden chuzos, el 60% son mujeres y el 40% hombres.
- El promedio de unidades vendidas por día es de 65, en el 63% de los casos; 40, en el 29% y 25 unidades en el 8% de los casos.
- El 25% de los carritos en que se transporta los productos tienen cubierta protectora.
- El 8% dispone de agua limpia y un 4%, de un recipiente para eliminar el agua sucia.
- El 75% de vendedores poseen un tacho para basura.
- El 17% de vendedores estaban acompañados de niños pequeños
- En el 29% de los casos se pudo observar la presencia de perros junto al puesto de venta. Y en un 50% se encontró insectos.
- La temperatura de conservación era en el 8.3% menor a 12°C.
- La higiene de los recipientes se cumplía en el 37.5%
- Se utilizaba utensilios apropiados en el 41.7% y servilletas en el 62.5%.
- Uso de pincho comercial, 62.5%.
- Las superficies limpias se cumple en el 50%.
- Manos y uñas limpias 12.5%.
- Cabello recogido en el 100% y uso de cofia el 62%.
- No se observó actitudes antihigiénicas en el 91.7% de las personas

Gráfico 8. Cumplimiento de buenas prácticas de higiene, por Item.



Elaboración: la autora

Respecto al personal que comercializa los chuzos y las unidades vendidas por día, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 6. Número de personas que trabajan por puestos callejeros de venta de chuzos.

Número de personas	1	2	3
Porcentaje	37.5	58.3	4.2

Fuente: observaciones realizadas

Elaboración: la autora

- En el 37.5% de los puestos de venta trabaja una sola persona, mientras que en el 58.3% trabajan 2 personas y en el 4.2% de los puestos lo hacen tres personas.

Gráfico 9. Número de personas que trabajan por puesto de venta de chuzos.



Elaboración: la autora

Tabla 7. Sexo de las personas que trabajan por puestos callejeros de venta de chuzos.

Sexo	H	M	HM	MM	HH	HMM
Porcentaje	29.2	8.3	20.8	29.2	8.3	4.2

H = 1 hombre

M = 1 mujer

HM= 1 hombre y 1 mujer

MM = 2 mujeres

HH = 2 hombres

HMM = 1 hombre y 2 mujeres

Fuente: observaciones realizadas

Elaboración: la autora

- Se puede observar en la tabla que en el 29.2 % de los puestos de venta trabaja un solo hombre; en un porcentaje igual se encontró que trabajan dos mujeres; en un 20.8% de los puestos trabajan una pareja, generalmente esposos; en un 8.3% trabaja una mujer sola y en igual porcentaje de casos se encontró a dos hombres y en un 4.2% encontramos a tres personas, dos mujeres y un varón.

Gráfico 10. Sexo de las personas que trabajan en los puestos de venta de chuzos.



Elaboración: la autora

Tabla 8. Unidades vendidas por día en los puestos callejeros de venta de chuzos.

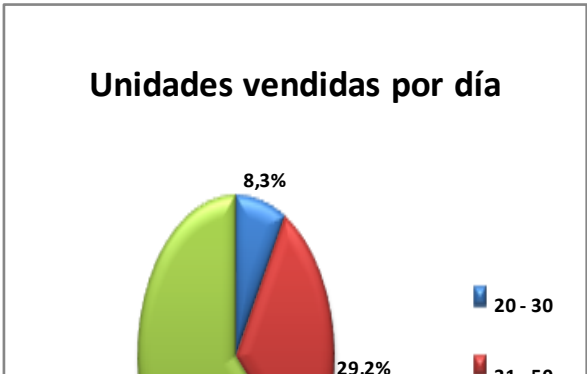
Unidades vendidas por día	20-30	31-50	51-80
Porcentaje	8.3	29.2	62.5

Fuente: observaciones realizadas

Elaboración: la autora

En un porcentaje de 8.3% la venta de chuzos y aderezos es entre 20 a 30 diarios, mientras que en el 29.2% está entre 31 y 50, en tanto que el 62.5% de puestos venden entre 51 y 80 unidades por día.

Gráfico 11. Unidades vendidas por día en los puestos callejeros de venta de chuzos.



Elaboración: la autora.

Tabla 9. Cumplimiento general de buenas prácticas en los puestos de venta de chuzos.

Cumplimiento de buenas prácticas	SÍ	NO
Porcentaje	51.2	48.8

Fuente: observaciones realizadas

Elaboración: la autora

- El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Higiene por parte de los vendedores de chuzos y aderezos es del 51.2% frente a un 48.8% de no cumplimiento.

Gráfico 12. Cumplimiento general de buenas prácticas en los puestos callejeros de venta de chuzos.

Elaboración: la autora

Tabla 10. Características organolépticas de los chuzos en los puestos de venta

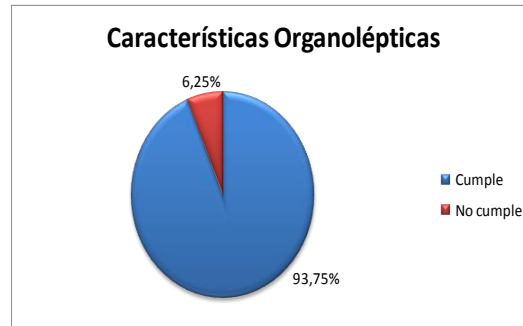
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS CHUZOS																								
No. de muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
ASPECTO	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
COLOR	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
OLOR	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
SABOR	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1

Se califica así: Aceptable : 1 punto; No aceptable: 0 puntos

Fuente: Formulario de evaluación de características organolépticas

Elaboración: la autora

- De acuerdo al formulario de evaluación de características organolépticas (Tabla 8) se obtuvo los siguientes resultados: El 83% de las muestras fueron calificadas como aceptables y sólo al 17% se le objetó aunque en bajo grado el color, el olor y/o sabor.

Gráfico 13. Características organolépticas de los chuzos en los puestos de venta

Elaboración: la autora

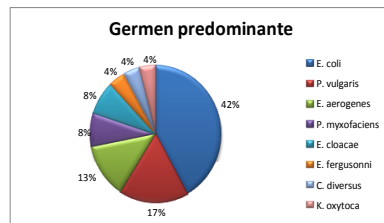
Tabla 11. Germen predominante en las diferentes muestras en los puestos callejeros de venta de chuzos.

GERMEN PREDOMINANTE EN MUESTRAS DE CHUZOS + ADEREZOS																										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	No.	PORCENT.
Escherichia coli						X	X	X		X			X	X	X					X	X		X		10	42%
Proteus vulgaris					X				X							X	X								4	17%
Enterobacter aerogenes	X				X																			X	3	13%
Proteus myxofaciens		X	X																						2	8%
Citrobacter diversus																							X		1	4%
Escherichia fergusonii												X													1	4%
Enterobacter cloacae											X								X						2	8%
Klebsiella oxytoca																									1	4%
TOTAL: 24 PUESTOS																								24	100%	

Fuente: matriz de identificación de enterobacterias en muestras de chuzos
Elaboración: la autora

- De acuerdo a la Matriz de identificación de enterobacterias en muestras de chuzos (Anexo 3) se obtuvo los siguientes resultados: Del 42% de las muestras analizadas se aisló *Escherichia coli*; del 17%, *Proteus vulgaris*; del 13%, *Enterobacter aerogenes* y del 8%, *Enterobacter cloacae*. En un menor porcentaje de muestras se obtuvo crecimiento de otras especies de Enterobacterias. (tabla 9)

Gráfico 14. Germen predominante en las diferentes muestras en los puestos callejeros de venta de chuzos.



Elaboración: la autora

CAPÍTULO 3

DISCUSIÓN

El número de personas que trabajan en los puestos ambulantes varía de 1 a 3, siendo siempre miembros de una misma familia. En promedio son dos personas. De las 40 personas que venden chuzos, el 60% son mujeres y el 40% hombres. La razón podría ser que las personas no tienen un empleo fijo, por tanto tampoco sus ingresos lo son, por lo que se ayudan entre el núcleo familiar (esposos, padres, hijos).

El promedio de unidades vendidas por día varía desde 25 (en el 8% de los casos); 40 (en el 29%) y 65 (en el 63%), obteniéndose un aproximado de 1305 unidades vendidas en un día promedio, en la zona estudiada. Esto representa el número de personas que estarían en riesgo de contraer una ETA en un día en el sector descrito, por ingestión de estos alimentos.

En cuanto a las características organolépticas en general se encontró que eran aceptables. Sólo en dos casos se objetó el color del aderezo (mayonesa con aspecto de muy guardada) y en otros dos casos el olor y sabor fueron ligeramente extraños (referido al chorizo, pero los consideraron todavía aptos para el consumo)

El despacho es al aire libre, los carritos en que transportan los productos y que además sirven para el asado de los chuzos no tienen cubierta protectora en un 75% y de los que sí lo tienen el 50% se mantiene sumamente sucio y cubierto de grasa, lo cual más bien lo convierte en una fuente de contaminación. Después de la jornada de trabajo se guarda los carritos generalmente en un patio, sin protección, por lo que el riesgo de estar en contacto con roedores, insectos y otras plagas es alto, así el riesgo de contaminación a los alimentos por esta vía es también alto.

Sólo 2 personas (8%) disponen de agua limpia y una (4%), de un tacho para eliminar el agua sucia. Se comprende entonces que más del 90% de los vendedores no se lavan las manos ni lavan los utensilios durante la jornada de trabajo. Y referente a las aguas sucias sólo en el 4% de los casos son recogidas en recipiente apropiado.

El 75% de vendedores poseen un tacho para basura. En los demás casos, se arroja los desechos en la vía pública.

El 17% de vendedores trabajan acompañados de niños pequeños, lo cual permite suponer que realizan por momentos tareas de aseo de los bebés en el área misma de venta y consumo de chuzos, actividad reñida con las Buenas Prácticas de Higiene.

En el 29% de los casos se pudo observar la presencia de animales domésticos (perros) junto al puesto de venta. Y en un 50% se encontró la presencia de insectos, vectores de microorganismos. Esto constituye también un riesgo inminente de contaminación de los alimentos.

Sólo en un 4% se constató que los chuzos se conservaban lejos de la fuente de calor. En la gran mayoría de los casos permanecen muy cerca de la parrilla de asado, a una temperatura media de 30°C., ideal para el desarrollo de los gérmenes. Esto se debe en parte a que los carritos son de dimensiones muy pequeñas, por lo que no se dispone de un espacio lejos del fuego, donde conservar los chuzos crudos.

Un 37% mantiene una apariencia higiénica aceptable de los recipientes de salsas y el 42% utilizan dispensadores propios para el efecto. El 58% usan para las salsas recipientes inadecuados como botellas de gaseosas o de desinfectantes recortadas a la mitad; y para servir las salsas, brochas (de las que se utilizan para pintar) cuya limpieza deja mucho que desear. Las salsas, en el 8% de los casos tienen un color extraño y han formado natas en la superficie, lo que sugiere haber sido guardadas demasiado tiempo y a temperaturas mayores a la requerida para estos productos (refrigeración).

El 62.5% utiliza pinchos comerciales. El 37.5% prepara los chuzos en fragmentos de carrizo con astillas y partículas de suciedad. Quizá la razón sea económica, ya que los carrizos no tienen costo.

Las servilletas que ofrecen a los consumidores son las apropiadas (58%), mas, en el 42%, son pedazos de papel despacho o papel periódico y no se ven completamente limpias, presentan manchas de grasa, manteca de color y ceniza. Las superficies donde reposan los chuzos y aderezos son aceptablemente limpias en un 50%. Las demás presentan salpicaduras de aderezos, ceniza, grasa y polvo.

Tres personas (12.5%) presentan sus uñas recortadas y limpias. El restante 87.5% las mantiene muy sucias. Se manipula el producto con las manos desnudas y sucias a causa del contacto con las materias primas, el carbón, las salsas y el dinero que se maneja. También se observó que todos los vendedores portaban anillos en sus dedos. El 83% de los vendedores utiliza delantal.

Todas las mujeres llevan su cabello recogido (100%). Y el 37.5% de vendedores, entre hombres y mujeres utiliza gorra (no cofia). Ninguno utiliza guantes de látex pues, manifiestan, resulta muy incómodos ya que manipulan objetos calientes.

Se puede detectar otro riesgo aún más grande, si se toma en cuenta que no usan guantes, tampoco se lavan las manos durante la jornada de trabajo y se manipula los alimentos en esas condiciones, los chuzos se los sirve directamente de las manos del vendedor a las del consumidor, en ocasiones sin siquiera una servilleta o son éstas de papel empaque o periódico, por lo tanto, la posibilidad de contaminación microbiológica es inminente.

Se observó actitudes antihigiénicas, como sonarse la nariz, toser, limpiarse las manos en el vestido, rascarse la cabeza, y en algunos casos se encontró bebés que permanecen todo el

tiempo con sus madres, las cuales deben asearlos y al no contar con agua con que lavarse sus manos, puede producirse una contaminación cruzada.

Ninguna de las muestras analizadas dio un resultado positivo en la investigación de *Salmonella spp.*, lo que podría explicarse asumiendo que los vendedores y manipuladores de chuzos de los puestos de venta estudiados no son portadores de la bacteria. A pesar de haberse encontrado pobres condiciones de higiene en la manipulación y despacho de chuzos, el riesgo de contraer una salmonelosis en las condiciones actuales se puede considerar nulo. Sin embargo, la mayoría de las muestras contienen bacterias de alguno de los géneros de la familia enterobacteriaceae, lo que permite deducir que hay contaminación de tipo fecal en este tipo de alimentos, por lo tanto el riesgo potencial de contraer salmonelosis existe y esto se produciría el momento en que el peligro (la bacteria) estuviera presente en el intestino de las personas que manipulan los alimentos.

La contaminación microbiana encontrada en las muestras estudiadas (chuzos), podría provenir de varias fuentes: la carne, el chorizo, las salsas, cebollas y pimienta, el material de que está fabricado el pincho en que se arma el chuzo, o el ambiente en que se expenden (polvo, humo), las superficies del carrito en que permanecen hasta ser consumidos y las manos de los manipuladores. Esto podría ser objeto de una investigación complementaria posterior.

Quizá otro de los factores que inciden en el resultado negativo sea la condimentación de las carnes con sal, ajo y cebolla, cuyos principios activos antimicrobianos (flavonoides de la cebolla y ajo, quercetina, miricetina, furanonas, Aliína (S-alil cisteína) y otros aminoácidos sulfurados) protegerían en parte al producto, del desarrollo de microorganismos patógenos. Y teniendo en cuenta la carga más bien baja que se espera contenga este tipo de alimento, podría dar lugar a que no se detecte su presencia por los medios tradicionales.

CONCLUSIONES

1. La venta de chuzos en la vía pública de la ciudad de Cuenca, es una actividad familiar, en que participan los esposos y a veces los hijos. Constituye, para estas familias, una alternativa de solución para el desempleo y la posibilidad de obtener algún ingreso. También resulta, en alguna medida, una solución económica de alimentación para personas que trabajan en horario vespertino y los estudiantes de la jornada nocturna, siendo un alimento que está al alcance de todos por su amplia distribución, su agradable sabor, alto contenido nutricional y bajo costo. Sin embargo, las condiciones precarias de higiene en que son dispensados junto a los insuficientes conocimientos en buenas prácticas de higiene y manipulación por parte de quienes realizan esta actividad, lo convierten en un problema social y de salud pública. Así, se conoce que ninguna de estas personas tiene un carnet de salud, ni ha sido capacitada por autoridad alguna para realizar su trabajo, carecen de información acerca de normas elementales como el lavado de manos, mantener las uñas cortas y limpias o el uso del delantal, así como conservación de alimentos, lo que se refleja en el bajo grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Higiene, de sólo el 51.13%.
2. Los carritos en que transportan, preparan y despachan sus productos no son funcionales. El estado de higiene, la mayoría de las veces, deplorable, los constituye más bien en un foco de contaminación.
3. En la casi totalidad de los casos, los chuzos crudos se mantienen depositados muy cerca de la fuente de calor, a una temperatura aproximada de 30°C. que junto con las características altamente nutritivas del alimento proveen el medio óptimo para el desarrollo microbiano.
4. El material de los pinchos frecuentemente es una fuente de riesgo físico y biológico, al ser confeccionados de carrizo, presentan astillas que podrían producir heridas en las manos y la boca de los consumidores, con restos de polvo adheridos a ellos, que podría contener formas vegetativas o esporas bacterianas y fúngicas. El uso de servilletas de papel empaque o periódico y los recipientes para las salsas, que a veces son envases de productos químicos reusados, unido a la defectuosa higiene personal, resultan también un peligro químico y biológico. Los resultados del análisis microbiológico permiten concluir que es evidente el riesgo de los alimentos callejeros de estar contaminados con los patógenos transmitidos por alimentos.
- 5.- Si bien, el objetivo central de esta investigación fue determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp* en los alimentos estudiados y el resultado obtenido fue de 0%, se evidenció la presencia de gérmenes como *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Enterobacter cloacae*, indicadores de que la mayoría de estos alimentos están contaminados por bacterias patógenas de tipo fecal, que en condiciones determinadas podrían ser las causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

RECOMENDACIONES

1. Es imperiosa la necesidad de regular, por parte de las autoridades municipales y de salud, la actividad de los vendedores informales de comida rápida en las calles de la ciudad, haciendo un diagnóstico previo de la situación social, y de las repercusiones que tiene su presencia en el desarrollo de la comunidad. Es necesario tener una base de datos de todas las personas que realizan esta actividad para poder implementar una capacitación gradual con un seguimiento de sus avances en materia de inocuidad a todos los vendedores callejeros de comida rápida, respecto de lo cual se propone una Guía de Buenas Prácticas de Higiene. Esta capacitación se llevaría a cabo mediante charlas y talleres y la entrega de folletos que deberán mantener en su lugar de trabajo, además tendría que realizarse una evaluación periódica de las condiciones en que realizan su labor. Esto, mientras se planifica una solución definitiva.
2. Se sugiere reunir a los vendedores de alimentos que se encuentran en las vías públicas en centros especialmente concebidos para ello. Reagruparlos de esta forma permitiría ofrecer instalaciones y comodidades comunes (agua potable, electricidad, material de evacuación de desechos, alcantarillado, baños, estacionamientos, etc.).
3. En cuanto a los carritos, se requeriría un estudio de las características que debería reunir esta herramienta de trabajo e implementar un modelo adecuado a la función que va a cumplir. También se debería estandarizar un modelo de recipientes para salsas y otros utensilios apropiados, que garanticen su limpieza y por ende la inocuidad de los alimentos que se sirven.
4. Por otra parte, los utensilios comunes se pueden proveer y limpiar desde un punto central.
5. Al disponer de estos servicios básicos en estos centros, sería mucho más factible aplicar las disposiciones en materia de inocuidad de los alimentos.
6. Mientras se implemente esta solución, la alternativa podría ser la capacitación gradual a todos los vendedores callejeros de comida rápida, respecto de lo cual se propone una Guía de Buenas Prácticas de Higiene.
7. La capacitación a los vendedores informales sería certificada con el carnet de salud, documento que avalaría el haber aprobado el curso taller sobre Buenas prácticas de higiene, haber pasado la inspección sanitaria de sus implementos de trabajo (carrito) a la vez que gozar de un perfecto estado de salud (no padecer de enfermedades infecto-contagiosas). Sería obligatorio exhibir este documento en los sitios de trabajo.
8. La actualización de Leyes y Reglamentos de Seguridad Alimentaria.
9. La ejecución de un plan de Seguridad Alimentaria con la implementación de un laboratorio de Bromatología que trabaje conjuntamente con las autoridades encargadas del control de los puestos callejeros de venta de alimentos.

10. La educación y difusión en los consumidores de la importancia de la seguridad alimentaria.
11. Complementar este estudio con una investigación a profundidad y cuantitativa de los enterobacterias, presentes en los chuzos de venta en la vía pública, para establecer el grado de riesgo que representa el consumo de este tipo de alimentos de producir enfermedades en la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAILEY & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana, Decimosegunda edición. 2009.
2. BARRIGA, Casali, Casanova, Silva. Universidad Andrés Bello. Microbiología y Parasitología,. 2007. Visitado el 15/08/2012
3. Codex Alimentarius. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. Alinorm 99/13 Appendix IV en: www.fao.org visitada el 12/10/2012.
4. Codex alimentarius: Directrices para el diseño de las medidas de control para alimentos de venta callejera (AFRICA) CAC / GL 22R – 1997 Adoptado en 1997, Revisión 1999.
www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/esns_txt.html . Visitado el 21/11/2012
5. CULTIMED. Manual Básico de Microbiología, 4º Edición. 2003
6. Decreto N° 33724-COMEX-MEIC-SALUD (2007, 30 abril) Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.33:06 INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y BEBIDAS PROCESADOS. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA.PRINCIPIOS GENERALES. La Gaceta, N°82.
www.cacia.org/documentos/MANUAL_CACIA_BPM
7. FAO Buenas prácticas de Higiene en la preparación y venta de alimentos en la vía pública en América Latina y El Caribe. 2009.
www.rlc.fao.org/.../publicacoes.../buenas-practicas-higiene-alimentos. Visitado el 30/11/2012.
8. FAO. La aplicación del análisis de riesgos a los programas de control de la inocuidad de los alimentos. www.rcl.fao.org/prior/comagric/codex/pdf/manual/anex02.pdf . Visitado el 15/07/2012
9. Farreras-Rozman Medicina interna 17ª edición, Editorial CIB, Medellín Colombia. 2012
10. ICMSF. Microorganismos de los alimentos, Análisis microbiológico en la gestión de Seguridad Alimentaria. Editorial Acribia S.A. 2002, Zaragoza, España.
11. Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 1529-15. Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección. Primera edición.1996.
www.inen.gob.ec . Visitado el 17/08/2012.
12. Instituto de Salud Pública de Chile. www.ispch.cl/lab_amb/serv_labsalmonella.html . Visitado el 17/06/2012
13. MacFaddin, Jean F. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias e importancia clínica*. Editorial Médica Panamericana. 2003. Estados Unidos.
14. MADIGAN, Michael, MARTIN John, PARKER Jack. Biología de los Microorganismos. Décima edición 2004.
15. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación El Codex alimentarius y su importancia para la salud pública. Dr. Juan Cuellar (FAO). /OPS/OMS-INPPAZ Santo Domingo, República Dominicana 02-06 de Abril fr 2001, en www.rcl.fao.org/prior/comagric/codex/pdf/salud.pdf visitada el 22/04/02
16. OPS organización panamericana de la salud. Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina y características

- socio-económicas de sus vendedores y consumidores.
www.paho.org/spanish/Hcp/HCV/doc216.pdf Visitada el 27 /12/2012
17. Panreac Química S.A. Manual Básico de Microbiología CULTIMED. Cuarta edición 2003.
 18. PARK Talaro Kathleen, TALARO Arthur. Foundations in Microbiology. Cuarta edición 2002. Editorial Mc Graw Hill Higher Education. USA.
 19. PARRA M, Durango J, Mattar S. Microbiología, 1. patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por Salmonella. MVZ-Córdoba. 2002.
 20. PASCUAL Anderson, María de Rosario, CALDERÓN Y PASCUAL, Vicente. Microbiología Alimentaria. Ediciones Díaz de Santos S.A. 2000. Segunda Edición.

ANEXO 1

Cuadro de resultados de Verificación del cumplimiento de Buenas Prácticas de Higiene

	CONDICIONES AMBIENTALES Y DEL PERSONAL																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
No. Personas trabajan	B	B	B	B	C	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A
Sexo	HM	MM	HM	MM	HM	MM	H	H	H	HM	M	MM	MM	H	H	HH	HM	HM	MM	HH	MM	H	H	M
No. Unidades venta/día	B	C	C	C	B	C	B	C	C	B	B	B	A	C	C	C	C	C	C	C	B	A	C	C
Carrito con cubierta	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Recipiente agua potable	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Recipiente agua servidas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Basurero cubierto	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Presencia de niños pequeños	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Presencia de animales	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1
Presencia de insectos	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1
T° de conservación ($\leq 12^{\circ}\text{C.}$) (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Higiene recipientes de aderezos(2)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1
Utensilios apropiados (3)	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Uso de pincho comercial (4)	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1
Uso de servilletas	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1
Superficies limpias (5)	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1
Manos, uñas limpias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Delantal	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Cabello recogido	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Uso de cofia/gorra	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
Actitudes antihigiénicas	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
% de cumplimiento	61	56	61	50	39	39	72	39	28	44	50	56	33	44	33	44	56	28	33	89	44	67	67	94

Sexo de las personas que venden Mujeres: 24 (60%); Hombres: 16 (40%)

Personas que comen/día

A= 20 - 30 (PROMEDIO 25) ; B= 30- 50 (PROMEDIO 40) ; C= 50-100 (PROMEDIO 75)

OBSERVACIONES

- (1) La temperatura es superior a 20°C. si los chuzos crudos se encuentran muy cerca a la fuente de calor
- (2) Se refiere a si se utiliza recipientes a simple vista limpios
- (3) Algunos vendedores presentan sus salsas y aderezos en recipientes inapropiados como frascos cortados.
- (4) Algunos vendedores arman los chuzos en pedazos de carrizo, en lugar de los que se consigue en el comercio
- (5) Se refiere a ausencia de restos de comida, cenizas, papeles o salpicaduras de salsas

Anexo 2

Matriz de identificación de enterobacterias en muestras de chuzos y aderezos

Muestra	Citrato	Lysina	Ornitina	Ureasa	TDA	Nitrato	H2S	Glucosa	Adonitol	Lactosa	Arabinosa	Sorbitol	Germen
1	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i>
2	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	V	-	<i>Proteus mixofaciens</i>
3	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	<i>Proteus mixofaciens</i>
4	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i>
5	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>
6	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
7	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
8	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
9	+	-	-	+	+	+	V	+	-	-	-	-	<i>Proteus Vulgaris</i>
10	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
11	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Citrobacter diversus</i>
12	+	+	+	-	-	+	-	V	+	-	+	-	<i>Escherichia fergusonii</i>
13	V	+	+	+	+	V	+	+	V	V	+	V	<i>Escherichia coli</i>
14	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
15	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
16	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Proteus Vulgaris</i>
17	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Proteus Vulgaris</i>
18	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i>
19	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
20	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
21	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
22	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Citrobacter diversus</i>
23	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>
24	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i>

Anexo 3.

Fotografías



Carrito en regulares condiciones de higiene. El personal sin delantal. Los chuzos sin ninguna protección



La presencia de niños pequeños. Riesgo para la integridad del niño y para la inocuidad de los alimentos.



El tipo de recipientes no es adecuado. Las salsas tienen aspecto de guardadas. Se utiliza brochas para servir los aderezos



Superficies sucias. Brocha para servir la salsa. La vendedora cuenta el dinero mientras manipula los chuzos. Servilleta de papel empaque.

Anexo 4. Guía de buenas prácticas de higiene y manipulación

GUÍA DE BUENAS PRÁCTICAS DE HIGIENE Y MANIPULACIÓN

(Adaptación del Manual de la FAO BUENAS PRÁCTICAS DE HIGIENE EN LA PREPARACIÓN Y VENTA DE LOS ALIMENTOS EN LA VÍA PÚBLICA EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE)

MICROORGANISMOS

Microorganismos o gérmenes, son seres vivos de tamaño tan pequeño que no pueden verse a simple vista. Para observarlos se debe utilizar un microscopio. Viven muy cerca o en el interior de los seres humanos y algunos pueden beneficiarlo pero otros son capaces de producir enfermedades. Este grupo de microorganismos incluye, los parásitos, hongos, las bacterias y los virus.



A

ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR ALIMENTOS

Las enfermedades más frecuentes causadas por alimentos contaminados, se presentan después de algunas horas o hasta días de haber ingerido el alimento, generalmente con dolor abdominal, diarrea, vómitos y/o fiebre. Estos síntomas pueden conducir a deshidratación, shock y, en algunos casos, la muerte.

Ejemplos de intoxicaciones

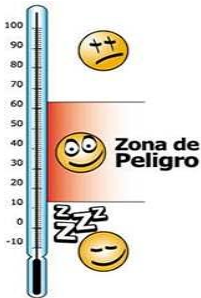
- ⚠ Hay bacterias que se encuentran en el intestino de las personas y pueden contaminar los alimentos, produciendo serias infecciones intestinales, por ejemplo *Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella*. La infección por estas enterobacterias produce síntomas gastroentéricos más o menos agudos, pudiendo llevar al paciente a una deshidratación seria y a la muerte.
- ⚠ *Staphylococcus aureus* es una bacteria que puede encontrarse en la garganta sin producir mayores síntomas, en el pus de heridas, espinillas, etc. Puede contaminar el alimento, se multiplica y produce una toxina muy agresiva.
- ⚠ Muchos mohos y levaduras producen toxinas muy peligrosas, entre ellos tenemos el moho del pan y otros cereales (Aflatoxina), de algunas frutas (Patulina), o del cacao y café (Ocratoxina).
- ⚠ La más peligrosa de las intoxicaciones es el botulismo. La toxina es producida por la bacteria *Clostridium botulinum*, que es un germen anaerobio, es decir es capaz de vivir en productos que no tienen oxígeno como los enlatados y conservas. La toxina es una de las más potentes que se conocen y causa la muerte por parálisis respiratoria. Se presenta especialmente en conservas que no han sido adecuadamente esterilizadas. Las carnes, los vegetales o verduras y toda combinación de estos productos necesita procesarse a altas temperaturas.

La mejor protección es el manejo correcto de los alimentos.

Cómo llegan estos gérmenes a nuestros alimentos?

Por medio de:

- ⚠ Las manos y uñas sucias
- ⚠ La saliva de los humanos y los animales domésticos
- ⚠ El cabello
- ⚠ El vestuario sucio
- ⚠ La piel de los humanos y los animales domésticos
- ⚠ Las heridas infectadas
- ⚠ Los utensilios de cocina contaminados
- ⚠ Los excrementos humanos y de los animales
- ⚠ El aire
- ⚠ El agua contaminada
- ⚠ La basura y los restos de comida
- ⚠ Las moscas, cucarachas y roedores

CONDICIONES IDEALES PARA LA SOBREVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS	
1. Tipo de alimentos: Todos: leche y sus derivados, las carnes, frutas, las salsas y los mariscos, agua...	 1
2. Actividad de agua Mientras más agua disponible hay en el alimento, más apto para el desarrollo de los microorganismos es. En alimentos congelados, el agua disponible es muy poca y no permite el crecimiento de gérmenes	 2  3
3. Temperatura Las temperaturas entre 25 - 30 grados C. son óptimas para el crecimiento rápido de los microbios. Temperaturas muy bajas inhiben el desarrollo bacteriano y muy altas matan a los gérmenes.	 4
4. Tiempo A temperatura óptima, la multiplicación de los gérmenes es logarítmica, o sea que una bacteria se divide en dos y cada una de estas dos se subdivide a su vez en otras dos y así sucesivamente, siendo capaz de formar una colonia de 281 billones de miembros en sólo 24 horas. Este proceso se repite aproximadamente cada 20 minutos	 5  5

Mientras más microbios contiene el alimento, mayor es la capacidad de enfermar. En algunos casos, sólo unos pocos microbios pueden causar enfermedades. En otros casos son las toxinas producidas las que enferman.

TEMPERATURA DE CONTROL DE DESARROLLO DE LOS MICROBIOS - LAS ZONAS DE CONTROL

El control de la temperatura del alimento es otro factor importante para controlar los microbios. Como demuestra el dibujo, los cambios en temperatura afectan la vida de los microbios.

ZONA FRIA

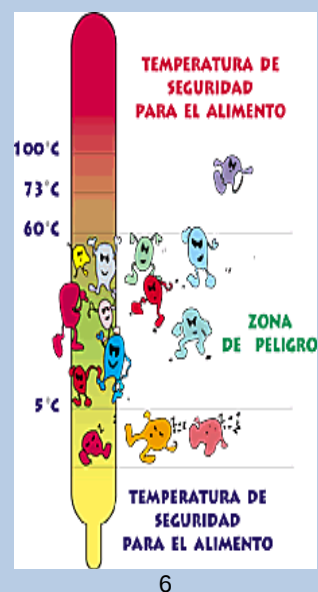
Es una zona de seguridad para los alimentos. En el congelador, a temperaturas entre -24 y -18°C , los microbios no están activos y no pueden reproducirse. Aun así, continúan presentes en el alimento. El refrigerador debe mantenerse entre 1 y 4°C .

ZONA DE PELIGRO

A temperaturas entre 5 y 60°C , los microbios están más activos y se reproducen más rápidamente **¡LOS ALIMENTOS NO DEBEN PERMANECER EN ESTA ZONA POR MAS DE 2 HORAS!**

ZONA CALIENTE

A temperaturas sobre los 60 grados C , los microbios mueren. Los alimentos que se sirven calientes deben mantenerse sobre esta temperatura



6

FAO, 1990

NIVEL DE RIESGO

No todos los alimentos presentan el mismo riesgo para causar enfermedades. El riesgo depende del **contenido nutritivo** del alimento, la **cantidad de agua disponible** en el alimento, la **temperatura** y cuánto **tiempo** se mantiene el alimento en la zona de peligro.

Alto Riesgo

Es importante que los alimentos de alto riesgo se manipulen con cuidado. Recordar que estos alimentos no deben de estar en la zona de peligro por más de 2 horas

- ⤴ Alimentos cocidos que se consumen fríos o recalentados
- ⤴ Carnes, pescados y mariscos crudos
- ⤴ Carnes molidas o en picadillo
- ⤴ Leche y productos lácteos sin pasteurizar
- ⤴ Crema agria o natilla
- ⤴ Flanes y postres con leche y huevos
- ⤴ Cremas
- ⤴ Huevos y alimentos con huevos
- ⤴ Cereales y legumbres cocidas, como arroz y frijoles
- ⤴ Melones cortados
- ⤴ Aderezos con huevo crudo para ensaladas
- ⤴ Aderezos con caldo de carne
- ⤴ Productos de pastas, tales como macarrones y fideos cocidos
- ⤴ Papas horneadas, hervidas o fritas

Bajo Riesgo

- Sopas y caldos mantenidos en la zona caliente
- ⤴ Carnes cocidas o a la parrilla que se consumen de inmediato
- ⤴ Alimentos fritos que se consumen de inmediato
- ⤴ Alimentos secos, salados, con ácido natural o añadido o preservados con azúcar
- ⤴ Nueces
- ⤴ Panes, galletas dulces o saladas
- ⤴ Mantequilla, margarina o aceite de cocinar
- ⤴ Cereales secos
- ⤴ Leche en polvo hasta que se le añada agua
- ⤴ Alimentos enlatados hasta que se abre la lata
- ⤴ Productos de panadería
- ⤴ Productos de confitería, con alto contenido de azúcar



7

PREVENCIÓN	
Una de las medidas más sencillas para evitar la enfermedades transmitidas por alimentos es lavarse las manos. Lavarse las manos correctamente consiste de una serie de pasos.	
 8	
Adaptado de la FAO, 1990	
Lávese las manos frecuentemente. ▲ Antes de tocar los alimentos ▲ Después de manipular alimentos crudos ▲ Después de ir al servicio sanitario ▲ Después de soplarse la nariz ▲ Después de jugar con los animales domésticos ▲ Después de cambiar el pañal al bebé ▲ Después de manipular sustancias tóxicas como plaguicidas o insecticidas	
Recordar siempre: si se sospecha de que un alimento se ha echado a perder, no probarlo. Colocarlo en la basura o en un lugar donde los niños o los animales domésticos no lo encuentren.	
Mantener los alimentos fríos entre 1 y 4 grados C.	
Mantenga los alimentos calientes a 60 grados C. o más	
Los alimentos no deben permanecer en la zona de peligro, entre 5 y 60 grados C. por más de dos horas.	
Descongelar las carnes y otros alimentos en el refrigerador y no en el mesón de la cocina.	
Mantener la cocina y los utensilios de cocina limpios.	

Evitar que los alimentos entren en contacto con un medio sucio (agua, aire, suelo) con el fin de disminuir los riesgos de contaminación por microorganismos.	 9
Evitar exponer los alimentos a la contaminación de los gases que emanan los vehículos para disminuir los riesgos de contaminación química y las afecciones subsecuentes al consumidor.	 10
MATERIAS PRIMAS. Cualquiera que sea el modo de abastecimiento de materias primas e ingredientes escogerlos entre los comerciantes del mercado que ofrezcan garantías de inocuidad	
Asegurarse de que los productos han sido protegidos de todos los tipos de contaminación y que se han mantenido al resguardo del sol y la intemperie.	 11

- No comprar materias primas expuestas a un ambiente insalubre.

Controlar visualmente los alimentos que se vaya a utilizar para preparar las comidas; rechazar todos los productos que estén dañados o expirados.

Verificar siempre la calidad de los alimentos (aspecto, olor, presencia de insectos, etc.) y el lugar en que están expuestos.



12

CARNE Debe tener un color rojo vivo, no verdoso, negruzco o rojo oscuro; no debe tener mal olor; No debe haber moscas sobre el mostrador; evitar comprar la carne manipulada con la mano desnuda pues corre el riesgo de haber sido contaminada. Comprar la carne en un establecimiento con su correspondiente permiso de funcionamiento al día.



13

VERDURAS Su piel no debe estar cortada ni dañada. Las verduras cultivadas con abono orgánico mal tratado presentan una cantidad excesiva de microorganismos, lo que también ocurre cuando son regadas con aguas servidas. Por otra parte, el uso inadecuado de los plaguicidas deja residuos en las verduras cultivadas.



14

HUEVOS. En el mercado, no se debe comprar huevos expuestos al sol; un buen huevo, si se le mira a contraluz, no tiene manchas negras.



15

ETIQUETADO DE MATERIAS PRIMAS E INGREDIENTES: INFORMACIÓN OBLIGATORIA A CONTROLAR

Los productos procesados deben llevar las siguientes indicaciones:

- la denominación del producto;
- lista de ingredientes;
- contenido;
- nombre del productor, distribuidor o vendedor y su dirección;
- fecha hasta donde el producto conserva sus propiedades sanitarias y de sabor
- las instrucciones para el almacenamiento;
- el número de identificación del lote.



16

Tener proveedores que conozcan bien los criterios de calidad exigidos para asegurar la inocuidad de las materias primas y los ingredientes.

En particular, se debe abastecer en locales que tengan permiso de funcionamiento que garanticen la calidad e inocuidad de los productos que tienen en venta.



17

CÓMO TRATAR LA CARNE- Evitar congelar la carne antes de que esté totalmente rígida. Además, nunca se debe cocinar la carne en estado de rigor mortis. Cabe señalar que, a medida que pasa el tiempo, la carne se envejece y disminuye su dureza: esto es la maduración de la carne. En estas condiciones, la textura de la carne es mejor después de la cocción.	
Sin embargo, la carne fresca se descompone fácilmente. Mantener la Cadena de frío en todas las etapas de faenamiento, cortes, almacenamiento, transporte y distribución. Al momento de comprar la carne, es indispensable verificar que no exuda (presencia de jugo de carne): su presencia indica una degradación que puede originar una pérdida de sabor.	
No mezclar los productos de origen animal con los de origen vegetal, con el fin de evitar la contaminación cruzada. Separarlos por medio de recipientes herméticos. Cuando amerite, mantener la cadena de frío.	 18

Normas de Higiene Personal

El manipulador ambulante de alimentos debe estar limpio y siempre mantener su cuerpo, manos y uñas aseados durante todo el proceso de producción y venta a fin de no contaminar los alimentos. Debe dejar inmediatamente de trabajar en caso de diarreas o vómitos o si presenta forúnculos, heridas o lesiones en las partes expuestas de la piel.	
Lavarse las manos cuando y como se indicó anteriormente	
En caso de tener heridas (cortes) en las manos, emplear protección adecuada (guantes de goma, vendajes).	 19
Utilizar gorro o malla protectora para mantener el cabello recogido	 20
Cuidar la higiene personal y usar ropa siempre impecable, limpia, y delantal completamente blanco	 21  22

No usar joyas mientras trabaja, pues pueden retener fragmentos de alimentos o suciedad. También pueden ensartarse y provocar accidentes.	 23
No fumar cuando se manipulan alimentos	 24
• No peinarse, rascarse la cabeza ni acomodarse el cabello o los aretes mientras manipula los alimentos.	
No estornudar o toser sobre los alimentos, ni limpiarse la nariz	 25
- Cuando atienda a los clientes, hable lo menos posible por encima de los alimentos, PARA EVITAR SALPICADURAS DE SALIVA	
NO! • masticar chicle • probar los alimentos con los dedos • probar los alimentos con el mismo cucharón con que se preparan. • limpiarse los dientes; • servir a los clientes con la mano, • conversar durante la venta. • Tocarse la boca, la lengua, la nariz, los ojos, etc., durante la preparación y la venta; • escupir, sonarse, estornudar o toser encima o cerca de los alimentos	 26  27
Por razones de seguridad y de higiene de los alimentos se debe evitar en la medida de lo posible la presencia de niños pequeños o mascotas en el local de venta de comida	 28
Trabajadores con enfermedades diarreicas no deben manipular alimentos.	

Normas para la preparación

Disponer de agua potable suficiente para el día de trabajo.	 29
Abastecerse de agua potable en fuentes seguras, como la red de agua potable. Mantener tapado el recipiente donde tiene el agua para beber y sacarla con un tazón limpio, o disponer de botellas selladas con agua.	 30
• Cocinar bien las carnes, sobre todo las carnes molidas ya que son un medio frecuente de transmisión, sobre todo cuando no está bien cocida o ha sido manipulada sin la debida higiene. • Asegurarse de que las carnes rojas estén de color pardo por dentro. Cocinar por más tiempo si las carnes tienen sangre o color rosado. • Pinchar el pollo con un tenedor. Si los jugos son claros es señal de que ya está bien cocido. Si el color es rosado, cocinar por más tiempo • Al cocinar huevos, las yemas y las claras deben estar firmes en vez de líquidas.	 31  32  33
Es importante que los productos básicos se procesen muy rápidamente para que los microbios que ellos contienen no tengan tiempo de reproducirse y provocar daños. Cabe recordar a este respecto que a una temperatura de 37°C, la población microbiana de un producto alimentario se duplica cada 20 minutos; un germen se reproduce haciendo mil millones de gérmenes en 10 horas	
Los alimentos no deben recalentarse más de una vez y, únicamente, debe recalentarse la porción de alimentos que vaya a servirse. Los utensilios que se empleen para probar los alimentos debe lavarse inmediatamente después de cada uso	 34

Lavar bien los alimentos con agua potable y en el caso verduras o frutas, desinfectar.	 35
VERIFICAR LA FECHA DE CADUCIDAD DE LOS ALIMENTOS.	
La descongelación debe hacerse cumpliendo los siguientes requisitos: - En un refrigerador o un armario de descongelación a una temperatura de 4°C; - Con agua potable corriente a una temperatura no superior a 21°C, durante no más de cuatro horas; - En un horno microonda, pero trasladar inmediatamente al recipiente en que continuará cocinándose.	
Mantener los alimentos cocinados en buenas condiciones higiénicas y a temperaturas adecuadas (los que se sirven fríos a 4°C en el refrigerador o los que sirven calientes a más de 60°C, según sea el tiempo de conservación y tipo de alimento).	 36 Mantener a >60°C. Mantener a < 4°C.
Para la preparación de alimentos a base de hielo, preparar éste con agua potable.	 37
Evitar probar los alimentos ya preparados con las manos	 38
Usar siempre guantes desechables mientras esté en su puesto de Trabajo	 39

Normas para el almacenamiento

Cada producto debe estar bien identificado con nombre y fecha de caducidad.
Comprar salsas industrializadas que tengan preservantes, como mayonesa, salsa de tomate, mostaza etc. O prepararlas con materias primas en buen estado. Mantener en refrigeración.
Las hortalizas y frutas deben estar limpias y desinfectadas.
Lavar siempre los huevos por que tienen bacterias propias del excremento de las gallinas.
Para alimentos que no necesitan de refrigeración conservar en lugar limpio, fresco y fuera de la luz solar.
Deberá mantenerse en refrigeración adecuada los alimentos más susceptibles de contaminación, a menos de 5 °C.

Al recalentar los alimentos, la temperatura deberá estar sobre los 60°C para que los microbios no proliferen.

La carne cruda o aliñada las carnes mantener en refrigeración

Mantener separado los alimentos crudos de los cocidos.
Los alimentos crudos debe guardarse envueltos en fundas y colocados en recipientes para evitar que sus jugos contaminen los demás productos.



40

Proteger los alimentos de insectos, roedores y otros animales.
Mantenerlos a cierta altura del piso



41

Los elementos de desinfección deben guardarse cuidadosamente, etiquetados y apartado de los alimentos.



42.

Normas para la venta

Mantener escurpulosamente limpias todas las superficies del carro móvil, es decir evitando que existan desperdicios de alimentos o polvo.



43

Para proteger los alimentos de insectos, del humo y de las personas que van a consumir, usar una caja de cristal o plástico para evitar que estornuden, hablar o tosan sobre los alimentos.



44

Los alimentos para llevar deben envolverse en papel, plástico o en cualquier otro material adecuado y limpio. El papel periódico, el papel para cemento, el papel que se haya utilizado como material de envolver, no higiénico no debe reutilizarse para este fin.

Mientras llegan los clientes y al no disponer de un refrigerador en el punto de venta, se debe mantener los alimentos preparados en el fuego, a una temperatura elevada (60-65°C) para servirlos calientes.
Los alimentos crudos deben mantenerse alejados de la fuente de calor.



45

En los lugares de venta, se debe tener los materiales y productos necesarios para un lavado cuidadoso de las manos. Se ha de tener:
Una cubeta de agua con detergente para lavarse las manos.
Otra cubeta con agua limpia para enjuagarse las manos



46

Es menester estar equipados con un sistema de evacuación de desechos líquidos. Puede ser un recipiente con tapa, en donde se colectarán las aguas servidas.

Normas para el servicio

Los alimentos ya preparados deben servirse en vajillas limpias o recipientes descartables, los cuales deben mantenerse bien cubiertos y protegidos del polvo.



47

El sitio donde el cliente consuma el alimento debe estar en buen estado y bien limpio es decir sin basura y fuera del alcance de animales.

Las cucharas, cubiertos y platos deben estar bien lavados con desinfectantes. Deben estar almacenados en cajas de acero inoxidable o de plástico, no se deben depositar en cajas de madera porque no se pueden lavar.
En el caso de venta de chuzos utilizar pinchos de madera fabricados para el efecto. Nunca utilizar pedazos de otros materiales, que pueden producir heridas y enfermedades en quienes consumen su producto. Disponer de servilletas desechables.



48

Equipos y utensilios.- Limpieza y desinfección

Cada vez que sea necesario, limpiar las superficies de trabajo (carrito) con toallas desechables



49

Usar agua potable

Los platos deben almacenarse en gabinetes cerrados y sobre papel absorbente.	
Limpiar diariamente el carrito, que debe ser de material inoxidable, con agua potable y desinfectante. Así también todos los utensilios y vajilla.	
- A fin de evitar la pérdida de los productos que no se venden, regular su producción de forma que no quede ningún producto preparado al término de la jornada. No obstante, puede suceder que a pesar de las precauciones adoptadas, no se venda toda la producción. En tal caso, si no se dispone de refrigeradora, se deberá eliminar los productos que no se hubiesen vendido, o utilizarlos como alimentos para animales - Es muy peligroso y formalmente está prohibido mezclar los alimentos que no se han vendido el día anterior con las nuevas preparaciones del día.	
Tener un basurero con tapa hermética de apertura automática, y provisto de una funda resistente. Colocar la funda con basura en el contenedor de basuras de la Municipalidad o en otro lugar adecuado, y después lavar el basurero, desinfectarlo y dejarlo ordenado.	 50
Las fundas de basura deben depositarse en el carro recolector al final de cada jornada de trabajo y luego lavarse las manos	 51
AGUA: De ser posible tener un sistema que proporcione un flujo continuo, sin introducir utensilios que pueden estar contaminados. No debe haber reutilización del agua y el agua de lavado debe almacenarse en un balde y ser eliminada constantemente, o recogerse para ser eliminada en una alcantarilla al final de la jornada. El balde debe ser lavado diariamente.	 52

INSTALACIÓN Y ORGANIZACIÓN DEL LUGAR DE TRABAJO

El punto de venta debe estar instalado de forma que no entorpezca la circulación de los vehículos o peatones y no exponga a la clientela a peligros de circulación. Debe estar diseñado e instalado para facilitar el mantenimiento y la limpieza; debe estar bien ordenado, las materias primas e ingredientes deben estar colocados cuidadosamente sobre una mesa o una repisa de cocina limpias, no a ras del suelo.	 53
Los alimentos deben ser preparados en un lugar limpio y bien mantenido, resguardado del polvo, sol, lluvia y viento, lejos de todas las fuentes contaminantes tales como los residuos sólidos (cáscaras de todo tipo, restos alimentarios, etc.) y líquidos (aguas residuales, exudado de carnes); evitar la presencia de animales domésticos o de objetos inútiles y potencialmente peligrosos.	
El lugar de trabajo debe estar organizado de tal manera que la evacuación de los desechos se realice lejos del punto donde se preparan los alimentos; Se debe limpiar diariamente; evitar barrer el piso en seco, debido a que se corre el riesgo de levantar polvo que podría contaminar los productos; al final de la jornada, desinfectar el piso con agua con cloro. Preparación de la solución de cloro: 1 cucharada de cloro comercial (3.5 – 4%) en un galón de agua. Prepare la mezcla y póngala en un envase marcado "Solución para Desinfectar." Mantenga la solución fuera del alcance de los niños.	
Nunca tirar los residuos alimentarios al suelo, Eliminar por separado los residuos sólidos de los residuos líquidos; Limpiar a diario los cubos de basura	

Evitar que los animales laman los platos y otros materiales de preparación de alimentos.

La presencia de comida y agua favorece la instalación de plagas. Los alimentos que pueden atraer roedores deben estar en recipientes herméticos, en altura y alejados de las paredes.

Almacenar los desechos en recipientes con cubierta e inaccesibles a los roedores.

Las invasiones de roedores se deben controlar inmediatamente. El tratamiento químico, físico, o biológico para eliminarlos debe realizarse sin poner en riesgo la seguridad y la inocuidad de los alimentos.



Referencia de Figuras

A www.canstockphoto.es

1 <http://es.123rf.com//imagenes-de-archivo/bacterias.html> . Visitado el 21/01/2013

2 <http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/eb1785/eb1785.html>. Visitado el 21/01/2013

3 <http://cl.vendebien.com/fruta-fina-mejor-que-la-fruta-planta-4160650>. Visitado el 21/01/2013

4 http://www.educ.ar/dinamico/UnidadHtml__get__7bbf9ea5-7a0b-11e1-8176-ed15e3c494af/index.html. Visitado el 21/01/2013

5 <http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/eb1785/eb1785.html>. Visitado el 21/01/2013

6 <http://www.imchef.org/por-que-no-se-debe-volver-a-congelar-un-alimento-descongelado/>. Visitado el 21/01/2013

7 www.glogster.com. Visitado el 21/01/2013

8 http://ganzo15.blogspot.com/2010_11_01_archive.html. Visitado el 21/01/2013

9 <http://www.comunidaddigital.info/2011/08/alimentos-contaminados-por-bacterias.html>. Visitado el 21/01/2013

10 <http://es.dreamstime.com/fotos-de-archivo-libres-de-regal%C3%ADas-caricatura-del-servicio-de-comida-calleimage8989918>. Visitado el 21/01/2013

11 http://elsonidodelahierbaelcrecer.blogspot.com/2009_12_01_archive.html. Visitado el 21/01/2013

12 <http://noticias.es.msn.com/nacional/andaluc%C3%ADa-y-madrid-las-regiones-que-tiran-m%C3%A1s-comida-a-la-basura>. Visitado el 21/01/2013

13 www.gastronomiaycia.com. Visitado el 21/01/2013

14 <http://cocina.decocasa.com.ar/tag/ideas/>. Visitado el 21/01/2013

15 http://es.123rf.com/photo_7759258_verduras-mixtas-en-un-dibujo-de-color-verde-brillante-sobre-fondo-blanco.html. Visitado el 21/01/2013

16 <http://tortassachi.com/alimentos-nutricionales-para-bajar-el-colesterol-colombia-productos-sachi.html>. Visitado el 21/01/2013

17 <http://www.quierodibujos.com/sobre/pueblo>. Visitado el 21/01/2013

18 es.123rf.com. Visitado el 21/01/2013

19 <http://illusionails.wordpress.com/category/paso-a-paso/>. Visitado el 21/01/2013

20 <http://doocab.com/galera-fotos-imgenes-muecos-animados-graciosos-pic-14.html>. Visitado el 21/01/2013

21 <http://galeria.dibujos.net/profesiones/cocineros/cocinero-cocinando-pintado-por-cocinero-8454697.html>. Visitado el 21/01/2013

22 http://es.123rf.com/photo_8492573_ilustracion-de-un-chef-sucio-preparacion-de-alimentos.html. Visitado el 21/01/2013

23 happybakeryperu.blogspot.com. Visitado el 21/01/2013

24 http://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-426372000-senalamiento-no-fumar-40x40-_JM. Visitado el 21/01/2013

25 blog.enfemenino.com. Visitado el 21/01/2013

26 <http://www.canstockphoto.es/sabor-prueba-5089603.html>. Visitado el 21/01/2013

27 <http://galeria.colorir.com/festas/dia-da-mae/cozinheiro-mama-pintado-por-familia-na-cozinha-2011-522441.html>. Visitado el 21/01/2013

28 http://es.123rf.com/imagenes-de-archivo/ama_de_casa.html. Visitado el 21/01/2013

29 <http://galeria.colorir.com/festas/dia-da-mae/cozinheiro-mama-pintado-por-familia-na-cozinha-2011-522441.html>. Visitado el 21/01/2013

30 <http://lauraquintero3c.blogspot.com/2013/01/botella-de-ag.html>. Visitado el 21/01/2013

31 <http://m.telemundochicago.com/noticias/salud/149254175>. Visitado el 21/01/2013

32 <http://www.recetasdiarias.com/recetas/ave/pollo-al-horno/>. Visitado el 21/01/2013

33 <http://www.gastronomiaycia.com/2009/05/04/huevo-duro/>. Visitado el 21/01/2013

34 <http://galeria.dibujos.net/profesiones/cocineros/chef-degustando-pintado-por-valerialin-9719854.html>. Visitado el 21/01/2013

35 <http://comunidadbutulsaludable.blogspot.com/2012/06/butul.html>. Visitado el 21/01/2013

36 www.buscalapalma.comwww.coldkit.com. Visitado el 21/01/2013

37 www.prowellness.es. Visitado el 21/01/2013

38 <http://www.canstockphoto.es/sabor-prueba-5089603.html>. Visitado el 21/01/2013

- 39** www.margaritagastronomica.com.ve. Visitado el 21/01/2013
- 40** saludpreventiva.blogspot.com. Visitado el 21/01/2013
- 41** <http://elmundoenbici.com>. Visitado el 21/01/2013
- 42** www.limpiezaselglobo.com. Visitado el 21/01/2013
- 43** www.regionsalud.com. Visitado el 21/01/2013
- 44** <http://www.solostocks.com/venta-productos/equipamientos-hoteles-restaurantes/otros-articulos-hoteles-restaurantes/carrito-rojo-grande-con-toldo-para-maquina-de-palomitas-de-8-y-16-oz-6439233>. Visitado el 21/01/2013
- 45** Autora. Visitado el 21/01/2013
- 46** <http://tareabacterias.blogspot.com/2010/05/prevencion.html>. Visitado el 21/01/2013
- 47** <http://orihuela.mundoanuncio.es>. Visitado el 21/01/2013
- 48** hoynoguiso.es. Visitado el 21/01/2013
- 49** www.ecologiaverde.com. Visitado el 21/01/2013
- 50** www.cuentosmix55.com. Visitado el 21/01/2013
- 51** [http:// guayas.quebarato.com.ec](http://guayas.quebarato.com.ec). Visitado el 21/01/2013
- 52** www.diarioanuncio.cl. Visitado el 21/01/2013
- 53** <http://locosporlamochila.blogspot.com>. Visitado el 21/01/2013
- 54** www.xn--peamercado-u9a.cl. Visitado el 21/01/2013