

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE REFRESCOS ARTESANALES
EXPENDIDOS DE FORMA AMBULANTE EN EL CERCADO DE
AREQUIPA DURANTE LOS MESES DE ABRIL - JUNIO DEL 2019**

Tesis presentada por la Bachiller:

Yasmin Grecia Salazar Cutimbo

Para optar el Título Profesional de:

Bióloga

Asesor:

Dr. José Alberto Fernández Rivera

Arequipa – Perú

2021

DR. JOSÉ ALBERTO FERNÁNDEZ RIVERA
ASESOR

MIEMBROS DEL JURADO

MG. ADOLFO ROMÁN RAMOS PAREDES

PRESIDENTE

BLGO. WILMER JULIO PAREDES FERNÁNDEZ

SECRETARIO

DR. JOSÉ ALBERTO FERNÁNDEZ RIVERA

INTEGRANTE

DEDICATORIA

A Dios por guiarme en cada etapa de mi vida, A mis padres (Juana y Félix) por apoyarme y estar siempre a mi lado brindándome sus consejos, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, A mi tía Lucy por su apoyo incondicional, A José Alonso por sus palabras de aliento. Y a todas las personas que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

AGRADECIMIENTOS

A la universidad Nacional de San Agustín en especial a la escuela Profesional de Biología y a mis docentes por todo el conocimiento adquirido en todos estos años.

A mi asesor Dr. José Fernández Rivera quien con su experiencia, conocimiento y motivación me oriento en la investigación de este trabajo.

A mis Padres (Juana y Félix) que han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, por sus consejos, por su apoyo constante. Gracias por ser quienes son y por creer en mí.

A mi tía Lucy y a toda mi familia que de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A José Alonso por su apoyo moral, sus palabras y la ayuda en la parte experimental de este trabajo.

A mis amigos, Yeny, Marghori y Margiht quienes me acompañaron en mi formación profesional gracias por su amistad y por estar siempre conmigo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS	ix
ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS.....	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
A. OBJETIVO GENERAL.....	3
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS	3
CAPITULO I	4
MARCO TEORICO.....	4
1.1. Bebidas	4
1.2. Refrescos artesanales.....	4
1.3. Materias primas utilizadas en la elaboración de refrescos	5
1.3.1. Maíz morado:.....	5
1.3.2. Maracuyá	5
1.3.3. Piña	7
La piña (<i>Ananas comosus</i> L. Merr.) es una especie originaria de América del Sur y actualmente su cultivo se encuentra distribuido en todas las zonas tropicales del mundo.	7
1.3.4. Cebada	7
1.4. Contaminación alimentaria	8
1.4.1. Tipos de contaminación	9
1.4.2. Mecanismos de contaminación:.....	9
1.5. Bacterias indicadoras de contaminación alimentaria	10
1.6. Enfermedades transmitidas por alimentos	11
1.7. Factores físicos y químicos que inciden sobre el desarrollo de microorganismos.....	13
1.7.1. Coliformes	14
1.7.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
1.7.3. <i>Escherichia coli</i>	16
1.7.4. <i>Salmonella</i> sp.	19

1.8. Criterios microbiológicos	20
1.9. Inocuidad alimentaria	20
1.10. Venta Ambulante	21
1.11. Norma sanitaria.....	22
1.12. Prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS)...	23
1.12.1. Buenas prácticas de manipulación de alimentos (BPM).....	24
1.12.2. Manipuladores de alimentos	24
1.12.3. Higiene y presentación personal.....	25
CAPITULO II	26
MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1. METODOLOGIA	26
2.1.1. UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO.....	26
2.1.2. Lugar de Ejecución de los Análisis Microbiológicos.....	27
2.1.3. Muestra Problema	27
2.1.4. Tipo de Investigación.....	28
2.1.5. Recolección de la Muestra	28
2.1.6. Preparación de la Muestra y Diluciones	30
2.1.7. Determinación del Número más Probable NMP de Coliformes Totales e Identificación de <i>E. coli</i>	30
2.1.8. Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.1.9. Determinación de <i>Salmonella sp</i>	33
2.2. Evaluaciones.....	34
2.3. Procesamiento de datos.....	34
CAPITULO III	35
RESULTADOS	35
2.4. Determinación del número más probable de Coliformes Totales en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.....	35
2.5. Determinación de la presencia de <i>E. coli</i> en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.	45
2.6. Determinación de la Presencia <i>Salmonella Sp.</i> en Refrescos Artesanales Expendidos de Forma Ambulante en el Mercado de Arequipa.	54
2.7. Determinación de la presencia de <i>S.aureus</i> en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.	55
DISCUSIÓN	57

CONCLUSIONES.....	60
RECOMENDACIONES	61
BIBLIOGRAFIA	62
ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

Tabla N°1: Criterios Microbiológicos.....	22
--	----

CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla N°1: Diseño del Muestreo	28
---	----

CAPITULO III: RESULTADOS

Tabla N°1: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes Totales en zona de Salaverry (Log10) por tipos de Refresco.....	35
--	----

Tabla N° 2: Condición de Coliformes Totales en Refrescos para la zona de Salaverry durante los meses de Abril a Junio del 2019.....	37
--	----

Tabla N°3: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes totales en zona de Goyeneche (Log10) por tipos de Refresco.....	38
--	----

Tabla N° 4: Condición de Coliformes Totales en los diferentes tipos de refrescos analizados correspondientes a la zona de Goyeneche durante los meses de Abril a Junio del 2019.	39
--	----

Tabla N°5: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes totales en zona de Víctor Lira (Log10) por tipos de Refresco.....	40
--	----

Tabla N° 6: Condición de Coliformes Totales en los diferentes tipos de refrescos analizados correspondientes a la zona de Víctor Lira durante los meses de Abril a Junio del 2019.	41
--	----

Tabla N°7: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes totales en zona de Independencia (Log10) por tipos de Refresco.....	42
--	----

Tabla N° 8: Condición de Coliformes totales en los diferentes tipos de refrescos analizados correspondientes a la zona Independencia durante los meses de Abril a Junio del 2019.	43
Tabla N° 9: Condición de los refrescos para Coliformes totales por zona de estudio.....	44
Tabla N°10: Pruebas de Múltiple Rangos para <i>E. coli</i> en zona de Salaverry (vx+1) por tipos de Refresco.	45
Tabla N° 11: Condición de los refrescos para <i>E. coli</i> zona de Salaverry.	46
Tabla N°12: Pruebas de Múltiple Rangos para <i>E. coli</i> en zona de Goyeneche (vx+1) por tipos de Refresco.	47
Tabla N° 13: Condición de <i>E. coli</i> en los diferentes refrescos estudiados para la zona de Goyeneche.	48
Tabla N°14: Pruebas de Múltiple Rangos para <i>E. coli</i> en zona de Víctor Lira (vx+1) por tipos de Refresco.	49
Tabla N° 15: Condición de los refrescos para <i>E. coli</i> zona de Víctor Lira.....	50
Tabla N°16: Pruebas de Múltiple Rangos para <i>E. coli</i> en zona de Independencia (vx+1) por tipos de Refresco.	51
Tabla N° 17: Condición de los refrescos para <i>E. coli</i> zona de Independencia.	52
Tabla N° 18: Condición de los refrescos para <i>E. coli</i> por zona de estudio.	53
Tabla N° 19: Condición de los refrescos para <i>Salmonella sp.</i> refrescos y zonas de estudio por zona de estudio.	54
Tabla N° 20: Condición de los refrescos para <i>S. aureus</i> por refrescos en la zona de Goyeneche.	55
Tabla N° 21: Condición de los refrescos para <i>S. aureus</i> por refrescos y zonas de estudio.....	56

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

Figura N° 1: Forma del muestreo para obtención de la muestra	29
Gráfico N°1: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Salaverry.	36
Gráfico N°3: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Goyeneche.	38
Gráfico N°4: Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales en zona de Goyeneche.	39
Gráfico N°5: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Víctor Lira.	40
Gráfico N° 6: Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales en zona de Víctor Lira.	41
Gráfico N°7: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Independencia.	42
Gráfico N°8: Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales en zona de Independencia.	43
Gráfico N° 9: Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales por zona de estudio.	44
Gráfico N°10: Comparación de <i>E. coli</i> por tipos de refrescos en zona de Salaverry.	45
Gráfico N° 11: Condición de las muestras de refrescos para <i>E. Coli</i> en zona de Salaverry.	46
Gráfico N°12: Comparación de <i>E. coli</i> por tipos de refrescos en zona de Goyeneche.	47
Gráfico N° 13: Condición de las muestras de refrescos para <i>E.coli</i> en zona de Goyeneche.	48
Gráfico N°14: Comparación de <i>E. coli</i> por tipos de refrescos en zona de Víctor Lira.	49

Gráfico N° 15: Condición de las muestras de refrescos para <i>E.coli</i> en zona de Víctor Lira.	50
Gráfico N°16: Comparación de <i>E. coli</i> por tipos de refrescos en zona de Independencia.....	51
Gráfico N° 17: Condición de las muestras de refrescos para <i>E.coli</i> en zona de Independencia.....	52
Gráfico N° 18: Condición de las muestras de refrescos para <i>E.coli</i> por zonas de estudio.....	53
Gráfico N° 19: Condición de las muestras de refrescos para <i>Salmonella sp.</i> por zonas de estudio.	54
Gráfico N° 20: Condición de las muestras de refrescos para <i>S aureus</i> en zona de Goyeneche.	55
Gráfico N° 21: Condición de las muestras de refrescos para <i>S aureus</i> por zonas de estudio.....	56

ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS

°C	Grados centígrados.
ANMAT	Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.
ANOVA	Análisis de Varianza
DIGESA	Dirección General de Salud Ambiental.
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i> .
ETA	Enfermedad de Transmisión Alimentaria.
Et al	Colaboradores
g	Gramos
mL	Mililitro
MINSA	Ministerio de Salud del Perú.
NMP	Número Más Probable
NTS	Norma Técnica Sanitaria
OMS	Organización Mundial de la Salud
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> .
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la calidad microbiológica de los refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa durante los meses de Abril a Junio del 2019, para tal efecto se determinó la presencia de Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva y *Salmonella* sp. de acuerdo a la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

Se analizaron un total de 48 muestras de refrescos de diferentes sabores (Chicha morada, cebada, piña y maracuyá). Recolectadas en la Av. Independencia, Av. Goyeneche, Av. Salaverry y la Calle Víctor Lira todas estas ubicadas en el mercado de Arequipa.

Se determinó la presencia de Coliformes Totales encontrándose en condición no apto la zona de Av. Salaverry 50%, Av. Independencia 16.67% y la zona de Víctor Lira 25%, Según los criterios de la NTS. En cuanto a *Escherichia coli* se identificó que las muestras de refresco que presentaron condición no apto fueron la zona de Goyeneche 16.67% y Salaverry 8.33%. No se encontró la presencia de *Salmonella* sp. en ninguna de las zonas estudiadas.

Por último, se determinó que el 100% de muestras de refrescos de las zonas de Salaverry, Víctor Lira e Independencia se encontraron en condición aceptable para *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva. Y el 33.33% de refrescos de cebada de la zona de Goyeneche se encontraron en condición no aceptable según la NTS.

PALABRAS CLAVE: Refrescos artesanales, Calidad microbiológica, Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, *Salmonella* sp

INTRODUCCIÓN

La venta ambulante responde a una necesidad de sustento que no ha sido posible cubrir en el mercado laboral formalizado en un territorio. Las personas acceden a este tipo de economía por diversos motivos, entre ellos, la búsqueda de una mejor calidad de vida para ellos y sus familias, las facilidades de entrada (ya que el capital inicial es bajo y asequible para cualquier persona), los rápidos ingresos que reciben en corto tiempo y en algunos casos porque es su única oportunidad para satisfacer sus necesidades básicas. (Saldarriaga J., *et al.*, 2015)

La venta callejera de alimentos constituye una importante fuente de nutrición para los residentes de muchas ciudades y su preparación y venta proporcionan a los vendedores ambulantes una valiosa base de ingresos, ya que con el continuo crecimiento y expansión de muchas ciudades es probable que este sector siga adquiriendo importancia (Osorio N. 2012).

Uno de estos productos de venta ambulante son los refrescos artesanales preparados a base de: Maíz morado, Maracuyá. Piña y Cebada. Estas bebidas poseen gran aceptación por parte de la población Arequipeña ya que estos puestos ambulantes están disponibles en cualquier punto de la ciudad por lo general bastante cercanos a colegios, universidades, centros de trabajo, calles y avenidas con un alto tráfico urbano.

Fácil de preparar y de vender, estos alimentos ambulantes son apetecibles y económicos. Pero también son una vía rápida para intoxicaciones alimentarias. Los puestos callejeros a menudo carecen de condiciones adecuadas de almacenamiento, refrigeración y de medios para cocinar los alimentos e impedir que se contaminen de bacterias, como la salmonella. La falta de agua potable y de medios adecuados para eliminar los desechos incrementa el peligro de contaminación para los clientes (FAO 2002).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), señala que la ausencia de control sanitario por parte de las autoridades respectivas y la falta de conocimientos en materia de manipulación de alimentos por parte de los vendedores ambulantes, dan origen con frecuencia a riesgos potencialmente peligrosos para la salud, tanto por la contaminación microbiológica como por la contaminación química (Arroyo A., *et al.*, 2011).

Existen numerosos microorganismos patógenos que pueden contaminar los alimentos, ocasionando cuadros clínicos diferentes según el agente involucrado. Se han descrito más de 250 enfermedades diferentes transmitidas por los alimentos, la mayoría de las cuales son infecciones ocasionadas por bacterias, virus y parásitos. La presencia de toxinas o de productos químicos nocivos pueden provocar un cuadro clínico de envenenamiento (Moreno M. & Alarcón A. 2010).

La distinción en la forma de propagación de los agentes patógenos es importante para las autoridades de salud pública quienes necesitan conocer cómo se está propagando una determinada enfermedad para Adoptar las medidas sanitarias necesarias para detenerla (Moreno M. & Alarcón A. 2010).

Es por ello que se se realizó la presente investigación para determinar la calidad microbiológica de los refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el cercado de Arequipa en cuanto a Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva y *Salmonella sp* y así dar a conocer a la población y a las autoridades pertinentes si estos alimentos son aptos o no para el consumo según la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008.

OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad microbiológica de refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa durante los meses de Abril - Junio del 2019.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el número más probable de Coliformes totales en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.
- Identificar la presencia de *E. coli* y *Salmonella sp.* en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.
- Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Bebidas

Las bebidas se definen como todos aquellos líquidos que ingieren los seres humanos, incluida el agua. (Rivera J.A., et. al., 2008). Las bebidas a base de concentrado o extractos, son las bebidas elaboradas con base de extractos de fruta, agua y edulcorantes, permite la presencia de sustancias autorizadas dentro de los márgenes establecidos, las bebidas de disgregados de frutas, tubérculos y semillas son emulsionados o interpuestos con agua, azúcar y productos autorizados, entre ellas se incluye las horchatas y las bebidas de frutas disgregadas (Cordero B.C., et. al., 2018).

1.2. Refrescos artesanales

Una bebida artesanal es producida previa manipulación directa o con la ayuda de herramientas manuales e incluso medios mecánicos, siempre que la contribución manual directa de la persona siga siendo el componente más importante del producto acabado utilizando materias primas, procedentes de recursos sostenibles como la naturaleza (Bardales M.P. & Rojas A.B. 2016). La

producción artesanal además excluye el uso masivo de aditivos y conservadores, estando estos restringidos a lo estrictamente necesario. Esta “filosofía” de producción acerca lo artesanal al concepto de productos naturales (Lancibidad G. 2004).

1.3. Materias primas utilizadas en la elaboración de refrescos

1.3.1. Maíz morado:

El maíz morado (*Zea mays* var. subnigroviolaceo C.Linneo) es un cereal oriundo del Perú y México. Este fruto contiene el pigmento denominado antocianina, que se encuentra en mayor cantidad en la coronta y en menor proporción en el pericarpio (cáscara) del grano, siendo uno de los principales alimentos en la dieta peruana, utilizado frecuentemente en la preparación de bebidas como la chicha morada y postres como la mazamorra morada. (Guillen J., et al., 2014)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Poales
Familia:	Poaceae
Tribu:	Andropogoneae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Zea mays</i> var. subnigroviolaceo C.Linneo
Nombre común:	Maíz morado

1.3.2. Maracuyá

El maracuyá (*Passiflora edulis* J. Sims. forma flavicarpa) es una fruta tropical de una planta que crece en forma de enredadera y que pertenece a la familia de las Passifloras, de la que se conoce más de 400 variedades, Su jugo es ácido y aromático; se obtiene del arilo, tejido que rodea a la semilla, y es una excelente

fuelle de vitamina A, niacina, riboflavina y ácidu ascórbicu. La cáscara y las semillas también pueden ser empleados en la industria, por los componentes que tienen. El maracuyá es fuente de proteínas, minerales, vitaminas, carbohidratos y grasa, se consume como fruta fresca, o en jugo. Se utiliza para preparar refrescos, néctares, mermeladas, helados, pudines, conservas, etc.

La composición general de la fruta de maracuyá es la siguiente: cáscara 50-60%, jugo 30-40%, semilla 10-15%, siendo el jugo el producto de mayor importancia. La coloración amarillo anaranjada del jugo se debe a la presencia de un pigmento llamado caroteno ofreciendo al organismo que lo ingiere una buena cantidad de vitamina A y C, además de sales minerales, como calcio, fierro y fibras. Cada 100 ml de jugo contiene un promedio de 53 cal, variando de acuerdo con la especie (Gerencia Regional Agraria La Libertad., 2009).

El maracuyá es originario de la región amazónica del Brasil, de donde fue difundida a Australia, pasando luego a Hawái en 1923. En la actualidad se cultiva en Australia, Nueva Guinea, Sri Lanka, Sudáfrica, India, Taiwán, Hawái, Brasil, Perú, Ecuador, Venezuela y en Colombia. El fruto está compuesto de 50% a 60 % de cáscara, 30% a 40% de jugo y de 10% a 15% de semillas. Es rico en ácido ascórbico y carotenos. El fruto madura cuando ha concentrado los azúcares en su totalidad y cambiado su color (INIA. 2010).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

División:	Espermatofita
Subdivisión:	Angiosperma
Clase:	Dicotiledónea
Subclase:	Arquiclamídea
Orden:	Perietales
Suborden:	Flacourtiinae
Familia:	Plassifloraceae
Género:	Passiflora
Especie:	<i>Passiflora edulis</i> J.Sims. forma flavicarpa

1.3.3. Piña

La piña (*Ananas comosus* L. Merr.) es una especie originaria de América del Sur y actualmente su cultivo se encuentra distribuido en todas las zonas tropicales del mundo.

En nuestro país Las principales variedades cultivadas son la `Samba de Chanchamayo´ orientada a jugos, la `Hawaiana´ orientada a consumo en fresco y jugos, la `Golden´ o `MD-2´ y la `Cayena lisa´, son orientadas a consumo en fresco e industria (Munive L.,2015)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino:	Vegetal
División:	Monocotiledóneas
Clase:	Liliopsida
Orden:	Bromeliales
Familia:	Bromeliaceae
Género:	Ananas
Especie:	<i>Ananas comosus</i> L. Merr

1.3.4. Cebada

La cebada (*Hordeum vulgare* C. Linneo) es un cultivo que presenta múltiples usos. Se emplea como alimento, especialmente por los pobladores de la región de la sierra sur y norte del Perú quienes la consume bajo la forma de grano pelado, tostado, perlado, hojuelas y harinas. Además, se emplea en el área ganadera cosechándose para grano, forraje henificado o se usa para pastoreo. Cabe resaltar que la producción nacional de cebada no se emplea en la industria maltera por no contar con la calidad que ésta requiere y es así que se debe importar el volumen requerido para la elaboración de malta y cerveza.

En el Perú la cebada tiene una apreciable aceptación, sobre todo en la región altoandina por ser un cultivo rústico, de ciclo vegetativo corto, con gran capacidad de adaptación, de buen rendimiento en condiciones agrestes y por requerir un nivel tecnológico bajo. Tanto la producción como el rendimiento por hectárea de cebada en el Perú se han ido incrementando en los últimos años. Además, este cultivo presenta una importancia estratégica en el desarrollo de la agricultura en los Andes, gracias a su notable rusticidad y resistencia a plagas y enfermedades al igual que a factores adversos (sequías, heladas, granizadas, etc.), así como a su rol en la alimentación y bajo costo (Aldaba G.L. 2013).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino:	Plantae.
División:	Magnoliophyta.
Clase:	Liliopsida.
Orden:	Poales.
Familia:	Poaceae.
Género:	Hordeum.
Especie:	<i>Hordeum vulgare</i> C. Linneo.

1.4. Contaminación alimentaria

Cuando se habla de contaminación de alimentos se habla de la modificación que estos sufren por la presencia de gérmenes o elementos extraños y que suponen un riesgo para la salud del consumidor. (Garcinuño R. M. 2012)

Así un alimento se puede contaminar en cualquiera de las fases de la cadena alimentaria, ya que los microorganismos pueden transportarse a través de una persona, utensilios, trapos, superficies o equipos contaminados (DIF 2015).

1.4.1. Tipos de contaminación

Según MINSA 2018 se reconocen tres tipos de contaminación:

- **Contaminación biológica:** Cuando es causada por bacterias y/o sus toxinas; parásitos en su forma adulta o forma larvaria; virus; hongos y sus toxinas naturales (hongos venenosos) y, toxinas en productos marinos (biotoxinas).
- **Contaminación química:** Cuando la contaminación es causada por sustancias químicas que llegan a los alimentos en forma accidental, o por malas prácticas de los productores, comercializadores o manipuladores en general, entre los principales peligros de este tipo se pueden señalar: Productos de limpieza, plaguicidas, metales tóxicos, nitratos y aditivos químicos.
- **Contaminación física:** Cuando es ocasionada por la presencia de cuerpos extraños al producto, por lo general visibles como: esquirlas de vidrio, trozos de madera, virutas de metal, piedras entre otros.

1.4.2. Mecanismos de contaminación:

Según la FAO 2016

- **Contaminación primaria o de origen:** Ocurre en el proceso mismo de producción primaria de alimentos. Por ejemplo: Cosecha, faena, ordeño, pesca. Un típico ejemplo es cuando el huevo se contamina por las heces de la gallina otro ejemplo son los campos que se rocían con agua contaminada que se usa para el riego de las frutas y las verduras.
- **Contaminación directa:** Los contaminantes llegan al alimento por medio de la persona que los manipula. Este tipo de contaminación posiblemente

es la forma más simple y común de contaminación de los alimentos. Un típico ejemplo es cuando estornudamos sobre la comida

- **Contaminación cruzada:** Esta contaminación se entiende como el paso de un peligro presente en un alimento a otro que se encontraba inocuo, utilizando como vehículo superficies o utensilios que han estado en contacto con ambos alimentos sin la debida limpieza y desinfección requerida. Las formas más frecuentes de contaminación cruzada ocurren cuando el manipulador permite el contacto de un alimento crudo con uno cocido listo para consumir, a través de tablas para cortar o utensilios de cocina. Otro ejemplo de este tipo de contaminación ocurre cuando asamos carne a la parrilla y utilizamos la bandeja donde se encuentran los alimentos crudos para cortar los alimentos cocinados.

1.5. Bacterias indicadoras de contaminación alimentaria

Generalmente, cuando hablamos de calidad de un alimento debemos considerar el aspecto microbiológico que resulta fundamental porque influye en la conservación y la vida útil del producto, pero, además, porque los microorganismos pueden ser causantes de enfermedades conocidas como enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's). Para garantizar inocuidad del alimento, se requiere la determinación de criterios para los microorganismos patógenos y/o toxinas y en algunos casos la utilización de microorganismos indicadores (relacionados con la presencia de un patógeno). Estos microorganismos indicadores tienen la ventaja de que su detección puede resultar adecuada desde un enfoque de prevención de riesgos, indicando un manejo inadecuado o presencia de contaminación. También, su detección puede resultar más sencilla, rápida y económica, pudiendo brindar información de manera oportuna (Andino F. & Castillo Y. 2010).

Los microorganismos relacionados con los alimentos se agrupan en tres clases dependiendo del riesgo que implique.

El grupo 1

Corresponde a microorganismos que no implican riesgo para la salud, pero sí para la vida útil del producto.

El grupo 2

Incluye microorganismos de riesgo indirecto bajo (indicadores)

El grupo 3

Incorpora a microorganismos de riesgo directo para la salud (patógenos).

Bajo un enfoque preventivo, la selección de indicadores en un alimento depende fundamentalmente de los riesgos implicados y de lo que se requiera saber para liberar, controlar o mejorar el alimento (Andino F. & Castillo Y. 2010).

1.6. Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) se producen por la ingestión de alimentos y/o bebidas contaminadas con microorganismos patógenos que afectan la salud del consumidor en forma individual o colectiva. Sus síntomas más comunes son diarreas y vómitos, pero también se pueden presentar otros como choque séptico, hepatitis, cefaleas, fiebre, visión doble, etcétera. (Gonzales T. & Rojas R.A. 2005)

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) son un problema de salud pública y una causa importante de morbilidad, que ocasiona una carga económica significativa para las naciones, perjuicios para los consumidores y un impacto al comercio internacional de productos alimenticios. Más de 250 enfermedades se transmiten a través de los alimentos y su incidencia ha aumentado considerablemente durante las últimas décadas por la globalización del mercado de alimentos y los cambios en los hábitos alimenticios. (Palomino C., et al., 2018)

Un brote de ETA es definido como un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo

alimento, y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad. Para que ocurra una ETA, el patógeno o sus toxinas deben estar presentes en el alimento. Sin embargo, la sola presencia del patógeno no significa que la enfermedad ocurrirá.

En la mayoría de los casos de ETA:

- El patógeno debe estar presente en cantidad suficiente como para causar una infección o para producir toxinas.
- El alimento debe ser capaz de sustentar el crecimiento de los patógenos, o sea, debe presentar características intrínsecas que favorezcan el desarrollo del agente.
- El alimento debe permanecer en la zona de peligro de temperatura durante tiempo suficiente como para que el organismo patógeno se multiplique y/o produzca toxinas. Otras condiciones extrínsecas deben prevalecer para que esta multiplicación y/o producción de toxinas sea favorecida.
- Debe ingerirse una cantidad (porción) suficiente del alimento conteniendo el agente, para que la barrera de susceptibilidad del individuo sea sobrepasada. La detección y la investigación de los brotes de ETA constituye uno de los principales retos para el Sistema de Salud Pública, pues requiere obtener, de manera oportuna y eficaz, información médica (datos personales, síntomas, etc.) y análisis de laboratorio de los restos de alimentos o de las materias primas empleadas en su elaboración e, incluso, de las manos de las personas involucradas en la manipulación del alimento. (Gonzales T., & Rojas R.A., 2005)

Las ETA pueden clasificarse en

- **Infección alimentaria:** La infección transmitida por alimentos es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos conteniendo

microorganismos patógenos vivos, como *Salmonella*, *Shigella*, el virus de la hepatitis A, *Trichinella spirallis*, *Staphylococcus aureus* y otros.

- **Intoxicación alimentaria:** La intoxicación causada por alimento ocurre cuando las toxinas producidas por bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido o elementos químicos en cantidades que afecten la salud. Ej. *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, etc. Las toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar la enfermedad incluso después de la eliminación de los microorganismos (PAHO. 2015)

1.7. Factores físicos y químicos que inciden sobre el desarrollo de microorganismos

Ciertos factores influyen en el desarrollo de microorganismos. Para impedir o inhibir su desarrollo, que provoca alteraciones en los alimentos que pueden ser perjudiciales y dañinas para el hombre, es importante conocer los factores que favorecen el desarrollo o la destrucción de los microorganismos.

- a) **Temperatura:** Muchos microorganismos son destruidos por las temperaturas elevadas. Según las condiciones de temperatura necesaria para su desarrollo. Las bacterias se reproducen en una amplia variedad de temperaturas, pero a temperaturas cercanas a las del cuerpo humano alcanzan su mayor reproducción. Por eso, los alimentos a temperatura ambiente permiten un rápido crecimiento de bacterias y tienen mayor riesgo de producir enfermedades.
- b) **Agua:** Los microorganismos necesitan agua para vivir y desarrollarse. Los alimentos, según su tipo y su naturaleza, contienen una cantidad variable de agua.
- c) **Oxígeno:** La presencia o ausencia de oxígeno es también un factor de selección de microorganismos. Con respecto a este factor, se puede clasificar a los microbios en tres 3 grupos: aquellos que requieren de

oxígeno para poder multiplicarse, los “aerobios” (ej. *Bacillus*); aquellos que no pueden desarrollarse en presencia de oxígeno, los “anaerobios” (ej. *Clostridium*) y aquellos que son capaces de desarrollarse en diversas situaciones de oxigenación, los “facultativos”. En los alimentos, por lo general se encuentra una mezcla de estos tres tipos de microbios que viven en perfecta simbiosis. Su acción combinada puede traer modificaciones nefastas sobre los jugos de frutas, los vegetales en conserva, etc., debido a la fuerte producción de gas que altera y por lo general hace explotar los recipientes que contienen los productos en conserva.

- d) La acidez del medio:** La acidez (medida por el pH, o la concentración de iones de hidrógeno) de los productos alimentarios, es un factor determinante para el desarrollo de microorganismos. Los agentes patógenos no se desarrollan en alimentos muy ácidos, pero pueden sobrevivir.
- e) La composición química y nutricional del medio:** Como todos los seres vivos, los microorganismos necesitan nutrientes para su desarrollo. La composición química de los alimentos es, por tanto, un factor poderoso de inhibición o de desarrollo para los microorganismos. Mientras más rico en nutrientes (proteínas, vitaminas y sales minerales) y en agua sea el alimento, más se favorece el crecimiento de microorganismos, y por ello más altos son los riesgos de alteración y de contaminación del alimento. (MINISTERIO DE SALUD 2018)

1.7.1. Coliformes

Los Coliformes totales se definen como bacterias Gram negativas en forma bacilar que fermentan la lactosa a temperatura de 35 a 37 ° C y producen ácido y gas (CO₂) en 24 h, aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática β-galactosidasa. Entre ellas se encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. (Larrea J.A. & et al., 2012).

Tienen una importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales (Campuzano S. & et al., 2015).

1.7.2. *Staphylococcus aureus*

Los estafilococos son un amplio grupo de bacterias Gram-positivas, cuyo diámetro oscila entre 0.5 y 1.5 micras. Se caracterizan porque se dividen en agrupaciones que asemejan racimos de uva. (Zendejas G.S. et al., 2014). Presentan metabolismo respiratorio y fermentativo, actúan sobre los carbohidratos con producción de ácido, siendo facultativos aeróbicos y anaeróbicos. Pueden crecer a temperaturas de 7 a 48 ° C, con un óptimo de 30 a 37 ° C. (Cunha-Neto et al., 2002)

Staphylococcus aureus es un microorganismo capaz de producir componentes superficiales llamados toxinas y producir enzimas extracelulares. En general, estos componentes son capaces de provocar severas intoxicaciones alimentarias dependiendo de la cantidad ingerida de alimento (Zendejas G. S. et al., 2014).

Los daños provocados por la toxina de *Staphylococcus aureus* tienen características específicas que las diferencian de otras IAE. Tales manifestaciones clínicas abarcan: náuseas, dolor abdominal, emesis, diarrea y postración. En los casos más graves se pueden presentar cefalea y choque. Cabe destacar que la intensidad de los síntomas depende de la cantidad de alimento contaminado ingerido, de la concentración de la toxina y de la susceptibilidad individual, la cual está mediada por la edad y por el estado inmunológico de la persona. (Zendejas G.S. et al., 2014).

Además, se sabe que la mayoría de los brotes son originados por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, ya que muy pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas.

- **Enterotoxinas estafilocócicas (SE)**

El principal factor de virulencia de *Staphylococcus spp.* involucrado en la intoxicación alimentaria estafilocócica (IAE) es la producción de enterotoxinas termorresistentes. *S. aureus* produce cinco toxinas típicas: SEA, SEB, SEC, SED y SEE las cuales producen emesis en primates. Adicionalmente, *S. aureus* puede producir otros tipos de SE, igualmente super-antigénicas, pero que no producen emesis en primates y son: SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ y SEU. Una misma cepa puede producir más de un tipo de enterotoxina. (Instituto Nacional de Salud 2010). Las enterotoxinas más frecuentes en brotes de ETAs son la SEA y la SEB (Herrera F. & Santos J., 2015)

La cantidad de SE que debe ser ingerida para causar IAE no se conoce exactamente, pero se reportan rangos entre 0,1 – 1,0 µg/kg, esta concentración de SE es alcanzada con cargas microbianas superiores a 105 UFC/g. (Instituto Nacional de Salud 2010).

1.7.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Aparecen aislados o en parejas, no forman esporas y pueden ser móviles gracias a flagelos peritricos. Son aerobios y anaerobios facultativos por lo que disponen de metabolismo respiratorio y fermentativo. Son oxidasa-negativo y forman ácidos y gas a partir de la mayor parte de los hidratos de carbono fermentables. Son mesófilos típicos, ya que puede crecer a temperaturas comprendidas entre 7°C y 50°C, alcanzando su crecimiento óptimo a 37°C, con valores de pH próximos a la neutralidad. (Ripodas A. et al., 2017).

Este microorganismo es un habitante normal en el intestino de los seres humanos y de los animales, principalmente los de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, sin embargo, hay un grupo de *E. coli*, consideradas como patógenas que causan enfermedades diarreicas en los seres humanos. Las cepas de *E. coli* pueden ser clasificadas como comensales, patógenos extra-

intestinales (ExPEC) y patógenos intestinales (entéricos o diarreicos). Las cepas consideradas como patógenas intestinales, y que son reconocidos por transmitirse a través de agua o alimentos contaminados a su vez han sido clasificadas en seis grupos dependiendo de los factores de virulencia y su interacción con las células del hospedero: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* verotoxigénica (VTEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (CEEA) y *E. coli* adherencia difusa (DAEC). De éstos, los cuatro primeros grupos son reconocidos por transmitirse a través de agua o alimentos contaminados. (Instituto Nacional de Salud 2015).

- ***E. coli* enterotoxigénica (ETEC):** Produce gastroenteritis esta afecta principalmente a niños en países en desarrollo o viajeros a estas regiones. En promedio el período de incubación es de 26 horas, los síntomas que se presentan son diarrea acuosa explosiva, dolor abdominal, sin fiebre, sin moco y sin pus. En algunas ocasiones puede presentarse diarrea con sangre después de 1 a 4 días; generalmente es auto limitada, en general los síntomas duran una semana y rara vez causa complicaciones. ETEC produce una o dos enterotoxinas, la enterotoxina lábil al calor (LT) y la enterotoxina estable al calor (ST). Se reconocen como factores de virulencia la presencia de las toxinas termolábiles LT-I y LT II Existen también dos toxinas termoestables: STa y la toxina STb. La gastroenteritis causada por ETEC se produce luego del consumo de 10⁶ a 10¹⁰ UFC/gr que deben colonizar el intestino delgado y producir las enterotoxinas. (Instituto Nacional de Salud 2015).
- ***E. coli* enteropatógena (EPEC):** El período de incubación es de 3 a 24 h y el cuadro diarreico puede tornarse persistente y acompañarse de fiebre y vómito, Las cepas de ECEP se dividen en típicas y atípicas, por la presencia (típicas) o ausencia (atípicas) de un plásmido de virulencia llamado factor de adherencia de ECEP, En la infección intestinal por ECEP se producen cambios en la actividad fisiológica normal del enterocito debido al aumento de la secreción de electrolitos por parte de las células hacia el espacio extracelular, al aumento de la permeabilidad

de las uniones intra e intercelulares y al cambio estructural, en la forma, de la región apical del enterocito. Éste pierde su capacidad absorbente y los solutos se acumulan en el lumen intestinal, lo que conduce a diarrea acuosa. (Farfán A.E. et. al., 2016).

- ***E. coli* verotoxigénica (VTEC):** El grupo *E. coli* verotoxigénica (VTEC) o productora de toxinas Shiga es el grupo patogénico más importante en humanos, por la frecuencia y severidad de la enfermedad que causa; VTEC es considerado un problema de salud pública debido a que puede producir una enterocolitis hemorrágica que algunas veces desencadena en pacientes pediátricos y de edad avanzada el Síndrome Urémico Hemolítico. El serotipo más prevalente es *E. coli* O157:H7. La colitis hemorrágica causada por VTEC usualmente tiene un período de incubación de 3 a 4 días la diarrea producida por VTEC inicialmente es acuosa y puede ir o no acompañada de vómito (30-60% de los casos), dolor abdominal y fiebre; después de 1 o 2 días la diarrea se torna sanguinolenta y se aumenta el dolor abdominal presentando calambres abdominales intensos y náuseas se han reportado dosis infectivas de menos de 10 UFC/ml de *E. coli* VTEC y de 1 a 100 células viables. (Instituto Nacional de Salud 2015).

- ***E. coli* enteroinvasiva (EIEC):** Los síntomas característicos en personas infectadas por ECEI son diarrea acuosa, con sangre, moco y dolor abdominal, pero en algunos casos sólo se presenta diarrea, lo cual la hace indistinguible de la producida por ECET, ECEI se asocian más a brotes que a casos aislados, en los que la transmisión puede ser de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada. En los individuos infectados, ECEI evade la respuesta inmune porque entra fácilmente a las células epiteliales del colon por medio de adhesinas, moviéndose lateralmente para invadir otras células¹⁰⁵. *Escherichia coli* enteroinvasora, al igual que *Shigella spp*, posee un plásmido de virulencia pINV. (Farfán A.E. et. al., 2016).

1.7.4. *Salmonella* sp.

Salmonella es un género de bacterias, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, integrado por células en forma de bacilo, no esporuladas y habitualmente móviles mediante flagelos peritricos. Son bacterias Gram-negativas, de metabolismo anaerobio facultativo, que reducen los nitratos a nitritos y que fermentan la glucosa produciendo ácido y gas. (Robledo A. 2015)

Infectan muchas especies animales distintas, la humana entre ellas, y algunas pueden invadir otros tejidos aparte de los del tracto intestinal ya sean como patógenos o como comensales. Las colonias son grandes (de 2-4mm) y tienen una textura rugosa o lisa. No fermentan la lactosa (excepto *Salmonella entérica subesp. arizonae* y *Salmonella enterica subesp. diarizonae*), fermentan glucosa con producción de gas (excepto *Salmonella Typhi*); no producen indol; no degradan urea; decarboxilan lisina y ornitina. (ANMAT sin año).

Las bacterias *Salmonella* spp. Viven en el tracto intestinal de animales sanos, principalmente, aves de corral, ganado vacuno y porcino, y animales domésticos (tortugas, perros, gatos, roedores) sin provocar problemas para su salud. En el medio ambiente (heces), esta bacteria sobrevive durante mucho tiempo debido a su gran resistencia a la baja actividad de agua. Asimismo, puede permanecer viable en productos ricos en proteínas y grasas (Elika 2013).

La dosis infectiva es de 10^5 a 10^8 UFC/g, pero puede ser tan baja como 1 UFC/g dependiendo de la edad, la salud del huésped y características de la cepa. *Salmonella* spp se transmite principalmente por la ruta fecal-oral, es eliminada con los excrementos de las especies susceptibles y/o reservorios infectados. Las *Salmonella* pueden contaminar muchos tipos de alimentos desde carne y huevos a frutas y vegetales, también productos secos como especias y nueces. Sobreviven durante mucho tiempo en los alimentos. (ANMAT sin año).

Salmonella produce, al menos, tres toxinas: enterotoxina, endotoxina y citotoxina y parece ser que, además de otros factores, son la causa de diarreas y septicemias, síntomas que se expresan pocas horas después del contacto de la bacteria con la célula hospedadora. Durante el proceso de infección,

Salmonella induce la liberación de citocinas proinflamatorias que intervienen en el proceso diarreico. (Robledo A. 2015)

1.8. Criterios microbiológicos

Define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada, en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote. (DIGESA 2008).

1.9. Inocuidad alimentaria

La inocuidad podría ser evaluada en términos de un aceptable nivel de riesgo. Así mismo, cada persona tiene el derecho a acceder a alimentos nutricionalmente adecuados e inocuos, es decir con garantía de que los mismos no le causarán daño a la salud, cuando se preparen y/o se consuman de acuerdo con el uso al que se destinen. La inocuidad de los alimentos está asociada a todos los riesgos, ya sean crónicos o agudos debido a la presencia en ellos de patógenos microbianos, biotoxinas y/o contaminantes químicos o físicos que puedan afectar la salud de los consumidores, de allí que la obtención y garantía de la inocuidad es y debe ser un objetivo no negociable.

A menudo tiende a confundirse la inocuidad con la calidad. El concepto de calidad abarca una compleja gama de atributos que influyen en su valor o aceptabilidad para el consumidor. Estas características incluyen: el valor nutricional; las propiedades sensoriales, tales como la apariencia, color, aroma, textura y gusto; así como los métodos de elaboración y propiedades funcionales. Muchas de estas características consideradas de calidad pueden estar sujetas a condiciones regulatorias, normativas o contractuales (Arispe I. & Tapia M.S. 2007).

1.10. Venta Ambulante

La venta ambulante se define como aquel intercambio económico que se realiza de manera irregular y oculta. Irregular porque no sigue los procesos fiscales y de permisos requeridos por las autoridades para ejercer esa actividad. Y oculta porque es precisamente esa irregularidad la que provoca que esos intercambios sean difíciles de cuantificar para su estudio. Aunque esto no quiere decir que el comerciante informal no pague nada por la ocupación de los espacios en donde ejerce su actividad. Los comerciantes informales pagan su “derecho de piso” a las personas que controlan los espacios de venta legalmente (delegaciones o municipios) y en otras ocasiones a quien controla de manera ilegal el espacio público. (Salazar D.G. & Vargas F.E. 2018).

Además, esta actividad constituye un medio importante para obtener ingresos, ya que los alimentos de venta ambulatoria s *Escherichia coli* on de bajo costo, siendo objeto de un amplio consumo y, a menudo, representan una parte importante de la ingesta diaria de alimentos de niños y adultos. No obstante, las características culturales y limitadas condiciones de higiene generan factores de riesgo potencial para la salud (Quispe J.J. & Sánchez V. 2001).

El comercio informal de alimentos, genera muchos puntos de venta y mercados secundarios en los barrios más alejados del centro. Permite, por lo tanto, suplir las insuficiencias de la cadena de distribución formal, ya que numerosos puestos de venta se sitúan en las calles, cerca de las escuelas, oficinas, paradas de autobuses y en la cercanía de estaciones de trenes. Estos facilitan la alimentación de los consumidores y les ahorran tiempo y costos de transporte (FAO 2003).

Límites de la venta ambulante:

- las condiciones de venta en la calle, la salud y la higiene personal de los vendedores, la contaminación microbiológica del agua empleada, acarrear muchos problemas de higiene y de salud.
- La calidad nutritiva y sanitaria de los alimentos y de las comidas preparadas y vendidas en la calle es baja.

- Las ventas no autorizadas en lugares de paso y ejes ya sobrecargados, acarrean problemas de congestión, de seguridad, de medio ambiente y de contaminación (FAO 2003).

1.11. Norma sanitaria

La NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V01 Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria para los alimentos y bebidas de consumo humano. Tiene por objetivo establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaboradas o procesadas, para ser considerados aptos para el consumo humano (DIGESA 2008).

Tabla N°1: Criterios Microbiológicos

XV. ALIMENTOS ELABORADOS						
XV.1. Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesa, salsa de papa huancaína, ocopa, aderezos, postres, jugos, yogurt de fabricación casera, otros). Alimentos preparados que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwich, cebiche, postres, refrescos, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g o mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^5	10^6
Coliformes	5	3	5	2	10^2	10^3
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10^3
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----

Fuente: DIGESA, 2008.

Donde:

- "**n**" (**minúscula**): Número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se analizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo.

- **"c"**: Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre "m" y "M" en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a "c" se rechaza el lote.
- **"m" (minúscula)**: Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a "m", representa un producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes aceptables o inaceptables.
- **"M" (mayúscula)**: Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud (DIGESA, 2008).

1.12. Prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS)

La detección y la prevención de ETA dependen del esfuerzo conjunto de las autoridades normativas, sanitarias, industriales y educativas, cuyas investigaciones objetivas y detalladas conlleven a una disminución en los riesgos de contaminación de los alimentos. Para garantizar a los consumidores un alimento seguro e higiénico, es necesario el control de los microorganismos patógenos en todas las etapas de la producción. (Gonzales T. & Rojas R.A. 2005)

La higiene alimentaria se define como un conjunto de condiciones y medidas que se consideran necesarias para garantizar la inocuidad sanitaria de los alimentos, manteniendo a la vez el resto de cualidades que les son propias, con especial atención al contenido nutricional. Estas condiciones deben estar presentes en todas las etapas de producción, almacenamiento, transformación, transporte, conservación y preparación doméstica de los alimentos, para garantizar la salubridad de estos (Moreno M. & Alarcón A. 2010)

1.12.1. Buenas prácticas de manipulación de alimentos (BPM)

Conjunto de disposiciones reglamentadas para la buena manipulación de los alimentos y bebidas en toda la cadena alimentaria (obtención de la materia prima, almacenamiento, recepción, preparación previa, preparación final, almacenamiento, distribución, servido y consumo final), que garantizan su seguridad para el consumo humano. Incluye cualquier tipo de prevención de contaminación (MINSA 2018).

Ya que durante la manipulación de los alimentos se evitará que éstos entren en contacto directo con sustancias ajenas a los mismos, o que tengan daños físicos o de otra índole capaces de contaminarlos o deteriorarlos (Zúñiga I.R. & Caro J. 2017).

1.12.2. Manipuladores de alimentos

Según MINSA 2018 se considera manipulador de alimentos, a todas aquellas personas que, en razón de su actividad laboral, entran en contacto directo con los mismos. Se considera manipulador de alimentos a todo aquel que:

- a) Interviene en la distribución y venta de productos frescos sin envasar.
- b) Interviene en cualquiera de las etapas que comprenden los procesos de elaboración y envasado de alimentos, cuando estas operaciones se realicen de forma manual sin posterior tratamiento que garantice la eliminación de cualquier posible contaminación proveniente del manipulador.
- c) Intervienen en la preparación culinaria y el servido de alimentos para el consumo directo.

1.12.3. Higiene y presentación personal

- **Prácticas de higiene personal**

Los buenos hábitos higiénicos de los operarios que trabajan con alimentos repercuten significativamente en la inocuidad de los productos alimenticios. El uso de uniformes, delantales, gorros, guantes, manos limpias, cabello cubierto, barba y bigotes recortados, uso de cubre bocas, trabajo sin joyas como anillos, pulseras, relojes o collares debe ser una práctica obligatoria, como tampoco utilizar el teléfono celular en el área. La higiene personal cotidiana, lavarse las manos con jabón desinfectante y secárselas cada vez que se usan los sanitarios durante la jornada de trabajo debe ser una práctica de rigor que cada operario debe cumplir. Es necesario tener presente que los alimentos son sensibles a la contaminación, por tanto, se debe tener una actitud de pulcritud y nitidez en las actividades que se lleven a cabo en los ambientes de trabajo (Zúñiga I.R. & Caro J. 2017).

- **Vestimenta**

El personal debe contar con ropa de trabajo de colores claros proporcionada por el empleador, y dedicarla exclusivamente a la labor que desempeña la ropa constará de: gorra, zapatos, overol o chaqueta y pantalón y deberá mostrarse en buen estado de conservación y aseo. Además, el personal debe presentar mascarilla (cubriendo boca y nariz) y guantes. El uso de guantes no exime el lavado de manos. (MINSA 2018).

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. METODOLOGIA

2.1.1. UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

El presente trabajo se realizó en el cercado de Arequipa; en las Avenidas Independencia, Goyeneche, Salaverry y en la Calle Víctor Lira.

- Avenida Independencia cuenta con la presencia de un total de 8 puestos de venta de refrescos artesanales de distintos sabores distribuidos desde la intersección de la Av. Independencia con La Salle hasta la intersección de la Av. Independencia con Víctor Lira.
- Avenida Goyeneche Cuenta con la presencia de un total de 3 puestos de venta de refrescos artesanales de distintos sabores distribuidos desde la intersección de la Av. Goyeneche con Paucarpata hasta la intersección de Av. Goyeneche con San Camilo.
- Avenida Salaverry cuenta con la presencia de 3 puestos de venta de refrescos artesanales de distintos sabores distribuidos en la intersección de la Av. Salaverry con San Juan de Dios.

- Calle Víctor Lira cuenta con la presencia de 4 puestos de venta de refrescos artesanales de distintos sabores distribuidos entre la Av. Jorge Chávez y la Calle Mayta Cápac.

2.1.2. Lugar de Ejecución de los Análisis Microbiológicos

Los análisis microbiológicos fueron realizados en el laboratorio de Microbiología del Dpto. de Microbiología y Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Agustín, ubicado en el Cercado de Arequipa, provincia y departamento de Arequipa.

2.1.3. Muestra Problema

Se analizaron un total de 48 muestras el muestreo se realizó una vez por semana y en total se realizaron 6 salidas en cada salida se analizaron 8 muestras, las tres primeras salidas se realizó el muestreo en la Av. Goyeneche y en la calle Víctor Lira, las tres posteriores semanas se realizó el muestreo en la Av. Independencia y la Av. Salaverry.

Tabla N°1: Diseño del Muestreo

AVENIDAS Y CALLES	TIPOS DE REFRESCOS	SEMANAS						TOTAL
		1	2	3	4	5	6	
SALAVERRY	Chicha morada	1	1	1				12
	Maracuyá	1	1	1				
	Cebada	1	1	1				
	Piña	1	1	1				
VICTOR LIRA	Chicha morada	1	1	1				12
	Maracuyá	1	1	1				
	Cebada	1	1	1				
	Piña	1	1	1				
GOYENECHE	Chicha morada				1	1	1	12
	Maracuyá				1	1	1	
	Cebada				1	1	1	
	Piña				1	1	1	
INDEPENDENCIA	Chicha morada				1	1	1	12
	Maracuyá				1	1	1	
	Cebada				1	1	1	
	Piña				1	1	1	
TOTAL		8	8	8	8	8	8	48

Fuente: Elaboración propia

2.1.4. Tipo de Investigación

Es una investigación de tipo no experimental, transversal, analítica y comparativa.

2.1.5. Recolección de la Muestra

Las muestras fueron obtenidas en su envase original en las cuales son expendidas (Botellas de plástico de 500 mL). Para la evaluación de la calidad microbiológica de refrescos artesanales se tomaron 4 sub muestras de refrescos

artesanales correspondientes a (1 R. de Chicha morada, 1 R. de Maracuyá, 1 R. de Piña y 1 R. de Cebada) de cada uno de los puestos de venta presentes en la Avenida Independencia (8 puestos), Goyeneche (3 puestos), Salaverry (3 puestos) y en la Calle Víctor Lira (4 puestos). Los cuales posteriormente fueron depositados en un frasco de plástico estéril de acuerdo al sabor para luego ser homogenizado y posteriormente analizado en el laboratorio.

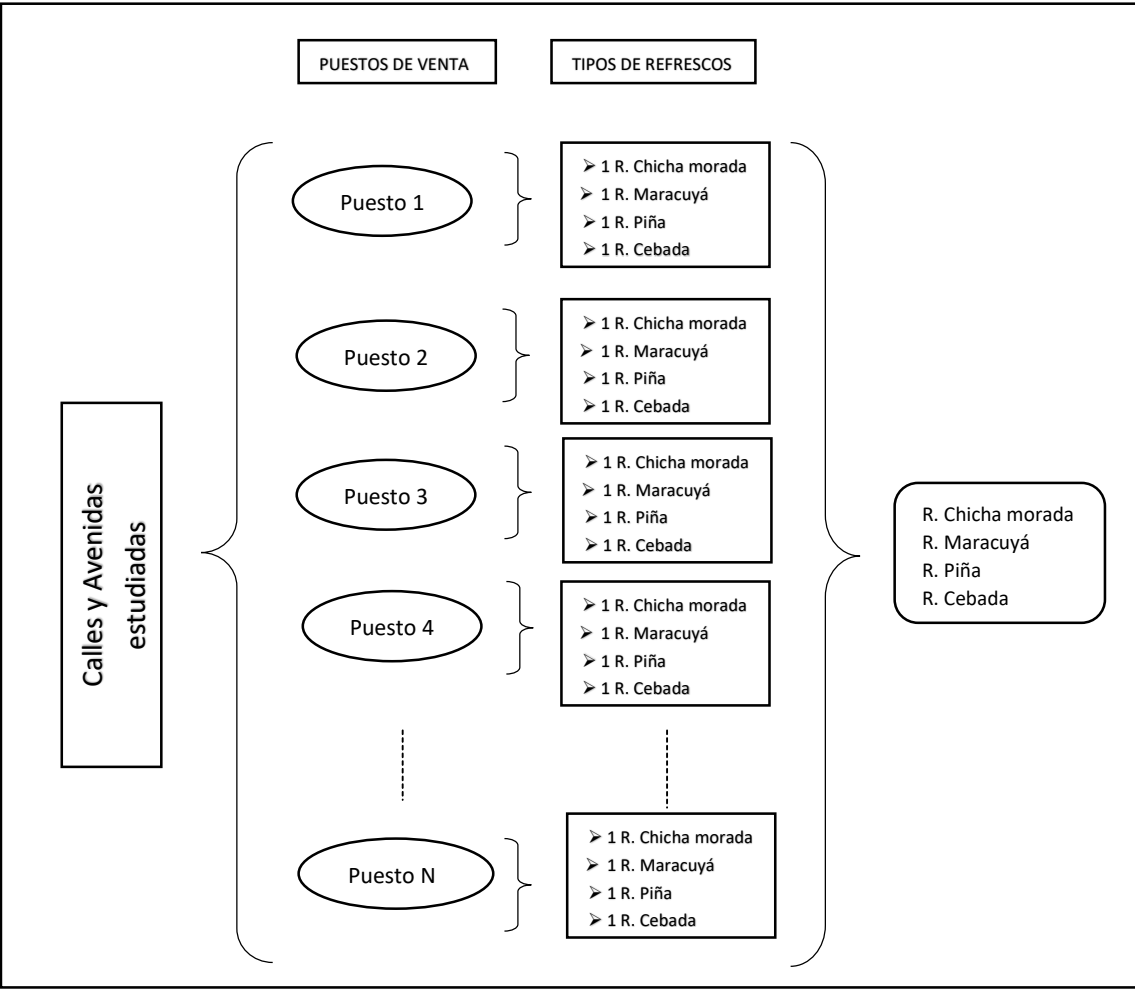


Figura N° 1: Forma del muestreo para obtención de la muestra

Fuente: Elaboración propia

2.1.6. Preparación de la Muestra y Diluciones

Las diluciones se prepararon de acuerdo al Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos de DIGESA 2001.

Para lo cual se agito la muestra para homogenizarla, luego se procedió a preparar las diluciones.

- Para la dilución 10^{-1} se pipeteo 10 mL de la muestra y se transfirió a 90 mL de agua peptonada al 0.1% y luego se procedió a homogenizar.
- Para la dilución 10^{-2} , se pipeteo 1 mL de la dilución 10^{-1} con una pipeta estéril y se transfirió a un tubo de dilución que contenía 9 mL de agua peptonada al 0.1% y se homogenizo.
- Por último, para la dilución 10^{-3} se pipeteo 1 mL de la dilución 10^{-2} con una pipeta estéril y se transfirió a un tubo de dilución que contenía 9 mL de agua peptonada al 0.1% y se mezcló.

2.1.7. Determinación del Número más Probable NMP de Coliformes Totales e Identificación de *E. coli*

a) Determinación de Coliformes totales

Para la determinación de coliformes totales se siguió la técnica del Numero Más Probable (NMP) el cual se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa. Para lo cual se siguió las técnicas para análisis microbiológicos de alimentos de Camacho A. et. al. 2009.

Fase presuntiva

Este examen es denominado presuntivo a causa de que las reacciones observadas pueden ser provocadas por otros organismos no coliformes,

por lo que la presunción de que la reacción es debido a organismos coliformes debe ser confirmada.

Para esta fase se tomó 1 mL de la dilución 10^{-1} y se inoculo a tres tubos cada uno con 10 mL de caldo Lauril sulfato con su respectiva campana de Durham invertida, se realizó el mismo procedimiento con la dilución 10^{-2} y 10^{-3}

Posteriormente los tubos de ensayo fueron llevados a la estufa a 37°C por 24-48 horas. Al cabo de ese tiempo los tubos de ensayo fueron examinados y se observó aquellos que presentaban producción de gas y turbidez como resultado de la fermentación, siendo estos positivos. Se registraron los tubos positivos y se procedió con la siguiente fase.

Fase confirmativa

De los tubos que dieron positivo en la fase presuntiva se transfirió de 2 a 3 asadas con una asa de siembra bacteriológica a otro tubo que contenía caldo Lactosado Verde Brillante Bilis (brila), con campana de Durham invertida. Se agitaron los tubos para su homogeneización luego se incubo en estufa a 37°C por 24-48 horas.

Se registraron como positivos aquellos tubos en donde se observó turbidez y producción de gas.

Se calculó el NMP de organismos coliformes totales por mL basándose en las combinaciones de tubos positivos y negativos, para lo cual se comparó los resultados obtenidos con la tabla del NMP (Ver ANEXO N° 11)

b) Identificación de *Escherichia coli*

Para la identificación de *E. coli* se transfirió una asada de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva (Caldo Lauril Sulfato) a un tubo con 10 mL de caldo EC con campana de Durham posteriormente se agitaron los tubos para su homogeneización y se incubaron a 44°C durante 24 horas.

Se registró como positivos todos los tubos en donde se observó turbidez y producción de gas, a los cuales se les añadió entre 0.2 y 0.3 mL de reactivo de Kovacs. La presencia de una coloración roja en la superficie del tubo se consideró una prueba positiva lo cual evidencio la presencia de *E. coli* posteriormente comparó los resultados obtenidos con la tabla del NMP (Camacho A. et al 2009). (Ver ANEXO N° 11)

2.1.8. Determinación de *Staphylococcus aureus*

De cada dilución 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} se midió 1 mL y se procedió a transferirla a cada una de las placas Petri estériles ya rotuladas con su correspondiente dilución, posteriormente se agregó de 15 a 20 mL de agar Manitol salado a cada placa estéril, por último, se procedió a homogenizar las placas con la muestra cuidadosamente realizando movimientos en forma de ocho y se llevó a estufa a 35 o 37 ° C por 24.

El agar manitol salado contiene una concentración de cloruro sódico de 7.5%, el cual es el agente activo del medio e inhibe parcial o completamente a los organismos bacterianos diferentes de los estafilococos. Las placas que presenten crecimiento de colonias amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla serán separadas ya que indican la presencia de *S. aureus*. Para su confirmación se realizará la prueba de Coagulasa (Zendejas G.S. et. al. 2014).

Prueba de Coagulasa

Con una asa de siembra se tomaron colonias sospechosas de las placas con agar Manitol salado y se pasaron a tubos estériles que contenían 0.5 mL de plasma el cual fue obtenido de sangre humana con anticoagulante. Se incubaron en la estufa a 37°C, luego de 3 horas los tubos fueron examinados para registrar si alguno de ellos presentaba algún grado de coagulación, esto confirmaría la presencia de *S. aureus*, ya que la coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble, la cual tiende a formar depósitos donde los estafilococos pueden agregarse (Zendejas G.S. et. al. 2014).

En caso de no presentarse formación del coágulo, se prolongó el período de observación hasta por 24 horas (Camacho A. et al 2009). (Ver ANEXO N° 13).

2.1.9. Determinación de *Salmonella* sp

Para determinar la presencia de *Salmonella* se siguió el Manual de Análisis Microbiológicos de Alimentos de DIGESA 2001.

Se midió 25 mL de muestra asépticamente y se inoculó a frascos de vidrio que contenían 225 mL de agua peptonada, posteriormente se dejó incubar a 37 ° C por 24 horas.

Pasado este tiempo se tomó 1 mL del preparado anterior y se sembró en tubos de ensayo que contenían 10 mL de Caldo Selenito cistina, este medio inhibe el crecimiento de bacterias Coliformes y Enterococos, por el contrario, *Salmonella*, *Proteus* y *Pseudomonas* no son inhibidas. Los tubos se incubaron a 37 ° C durante 24 horas, luego se tomó una gota de las muestras incubadas en Caldo Selenito cistina con la ayuda de una asa de siembra bacteriológica y se procedió a sembrar por agotamiento en agar *Salmonella* – *Shigella* (SS), la presencia de verde brillante, bilis de buey, la elevada concentración de tiosulfato y de citrato inhiben considerablemente la flora acompañante. Las placas se llevaron a estufa a 37°C durante 24 horas, teniendo en conocimiento que las colonias de salmonella en agar SS son incoloras, rosa pálida, opacas y translúcidas y algunas colonias tienen una pigmentación negra en el centro por la formación de sulfuro, por último, se procedió a realizar las pruebas bioquímicas de las colonias sospechosas (Ver ANEXO N° 12)

- **Pruebas bioquímicas:** Las colonias sospechosas de ser salmonella, se sembraron con la ayuda de una asa bacteriológica en medios de cultivo para realizar pruebas bioquímicas como el Triple azúcar Hierro (TSI), Lisina (LIA) y Caldo Peptonado para la prueba de (INDOL) y se incubaron a 37°C por 24 horas.

2.2. Evaluaciones

Las evaluaciones fueron realizadas de acuerdo a la Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01 del 2008) del Grupo XV. Alimentos Elaborados.

2.3. Procesamiento de datos

Los datos obtenidos fueron consignados en una matriz de datos del programa Microsoft Excel. Para luego ser procesados mediante el programa estadístico SPSS 20.0. Se realizó el análisis estadístico de Distribución de frecuencias y la prueba de Chi Cuadrado.

CAPITULO III

RESULTADOS

2.4. Determinación del número más probable de Coliformes Totales en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el cercado de Arequipa.

Tabla N°1: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes Totales en zona de Salaverry (Log10) por tipos de Refresco.

Refresco	Casos	Media (Transf. Log 10)	Media	Grupos Homogéneos
Cebada	3	1	0	a
Maracuyá	3	2.25599	424.33	ab
Piña	3	2.53639	741	b
Chicha morada	3	3.04532	1100	b
Prueba de Fc= 6.67 p:0.0144 (p>0.05)				

En la presente tabla (Tabla N°1) se muestran los resultados para la determinación de Coliformes Totales en refrescos para la zona de Salaverry. Los resultados del ANOVA muestran que las diferencias son significativas ($p < 0.05$). Según el test de Tukey el refresco de cebada tuvo un promedio de Coliformes Totales de 0 y muestra diferencias con los demás refrescos. Que obtuvieron promedios de 1100 para el refresco de chicha morada, 741 para el refresco de piña y 424.33 para el refresco de maracuyá. Estos resultados se muestran en el Grafico N° 1.

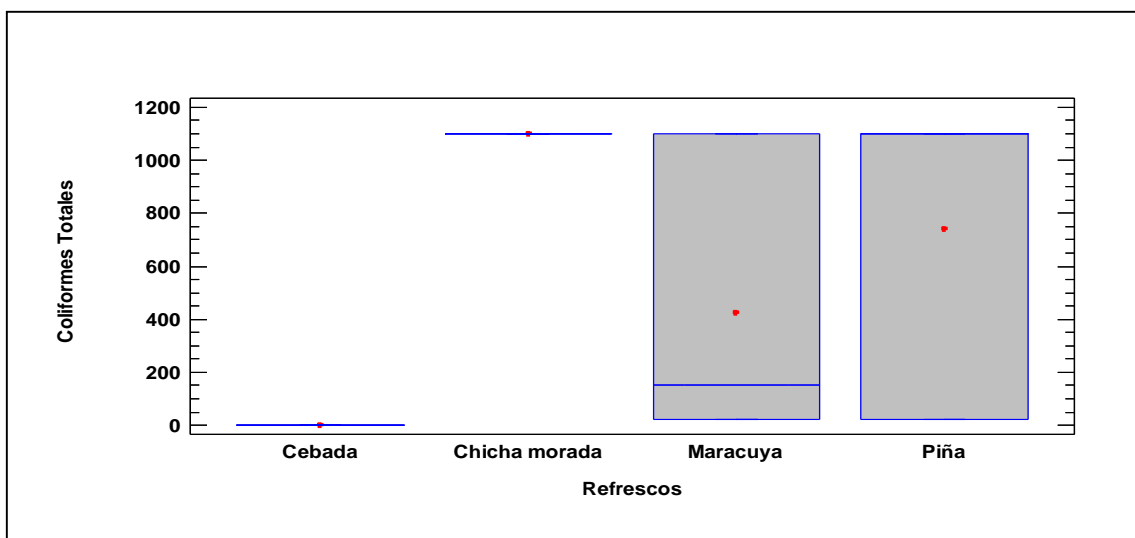


Gráfico N°1: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Salaverry.

Tabla N° 2: Condición de Coliformes Totales en Refrescos para la zona de Salaverry durante los meses de Abril a Junio del 2019.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Chicha morada	0	0.00	3	100.00	3	100.00
Maracuyá	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Piña	1	33.33	2	66.67	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X^2=6.667$ Gl=3 p:0.0833 ($p>0.05$)						

En la Tabla N° 2 se muestra la relación entre los refrescos y la calificación de Coliformes Totales en los refrescos analizados para la zona de Salaverry tomando en cuenta los criterios de la NTS N° 071 MINSA/DIGESA. Se determinó que no existen diferencias significativas según el test de Chi Cuadrado ($p>0.05$). Sin embargo, se encontró que en cebada el 100% de las evaluaciones son aptas y en maracuyá el 66.67% también son aptas y el 33.33% no apto, para el refresco de Piña se encontró que el 33.33% de las muestras fue apta y el 66.67% no apto. Mientras que el 100 % de las muestras analizadas del refresco de Chicha morada se encontraban en condición no apta. (Grafico N°2)

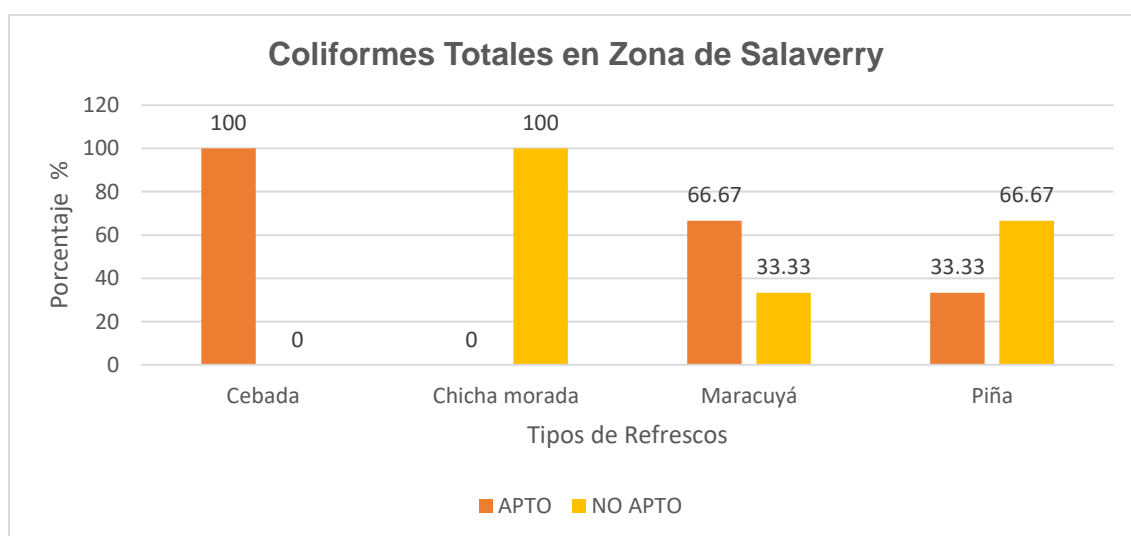


Gráfico N°2 Condición de las muestras de refrescos para Coliformes Totales en la zona de Salaverry.

Tabla N°3: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes totales en zona de Goyeneche (Log10) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media (Transf Log 10)	Media	Grupos Homogéneos
Chicha morada	3	1.04451	1.2	a
Maracuyá	3	1.44245	30	a
Piña	3	2.0184	381.33	a
Cebada	3	2.40806	734.53	a
Prueba de Fc= 1.96 p:0.1983 (p>0.05)				

Los resultados en la evaluación de Coliformes Totales presentes en la zona de Goyeneche muestran diferencias no significativas ($p>0.05$). Sin embargo, según el Test de Tukey el promedio mayor de Coliformes Totales fue para el refresco de cebada que obtuvo un promedio de 734.53, seguido por el refresco de piña y luego el refresco de maracuyá con promedios de 381.33 y 30 respectivamente por último el menor promedio lo obtuvo el refresco de chicha morada con un valor de 1.2 (Tabla N°3 y gráfico N°3).

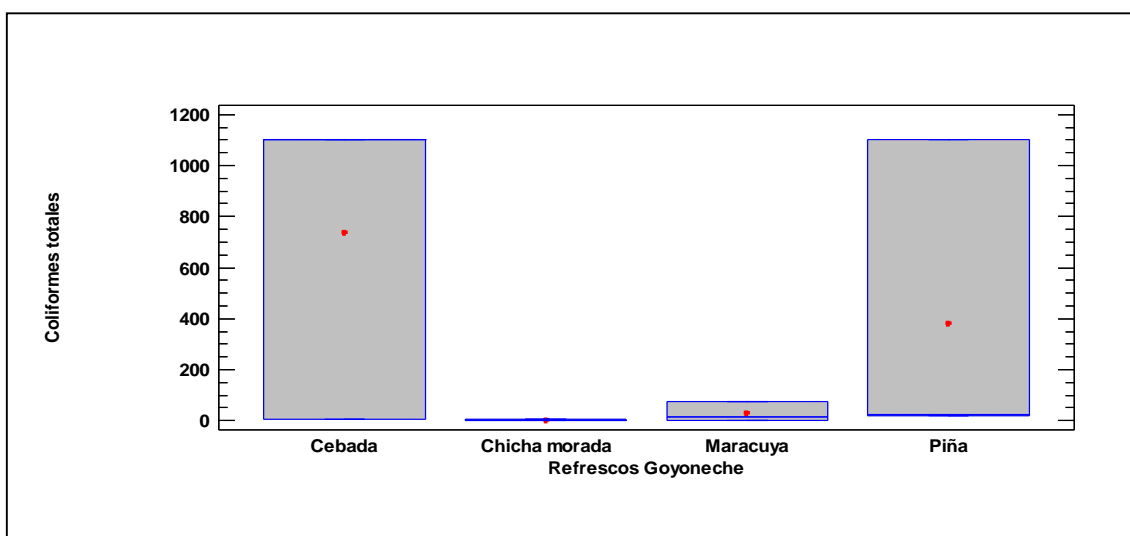


Gráfico N°3: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Goyeneche.

Tabla N° 4: Condición de Coliformes Totales en los diferentes tipos de refrescos analizados correspondientes a la zona de Goyeneche durante los meses de Abril a Junio del 2019.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	1	33.33	2	66.67	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=4.889$ $Gl=3$ $p:0.1801$ ($p>0.05$)						

En la Tabla N° 4 se muestra la condición de Coliformes Totales presentes en los diferentes tipos de refrescos estudiados en la zona de Goyeneche según los parámetros de la NTS N° 071 MINSA/DIGESA. Según el test de chi cuadrado las diferencias en la condición para los refrescos son no significativa ($p>0.05$), sin embargo es necesario remarcar que en los refrescos de chicha morada y maracuyá el 100% de las muestras estuvieron con una condición apta, lo que no sucede con los refrescos de piña y cebada. (Grafico N°4).

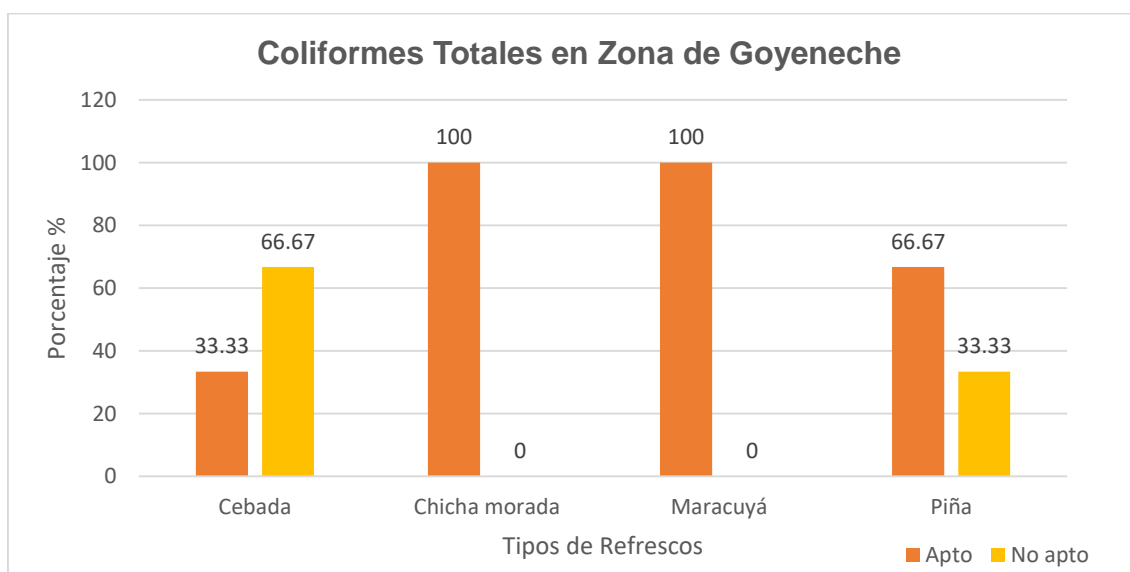


Gráfico N°4: Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales en zona de Goyeneche.

Tabla N°5: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes totales en zona de Víctor Lira (Log10) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media (Transf Log 10)	Media	Grupos Homogéneos
Maracuyá	3	1.46851	22.4	a
Cebada	3	1.68177	366.67	a
Piña	3	1.72629	367.87	a
Chicha morada	3	2.08315	416.67	a
Prueba de Fc= 0.2 p:0.08904 (p>0.05)				

Con respecto a los Coliformes Totales presentes en los diferentes tipos de refrescos estudiados en la zona de Víctor Lira, no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$), presentándose el menor promedio en el refresco de maracuyá con 22.4 y los mayores promedios en los refrescos de cebada con 366.67, Piña con 367.87 y chicha morada con un promedio de 416.67. (Tabla N° 5 y Grafico N° 5)

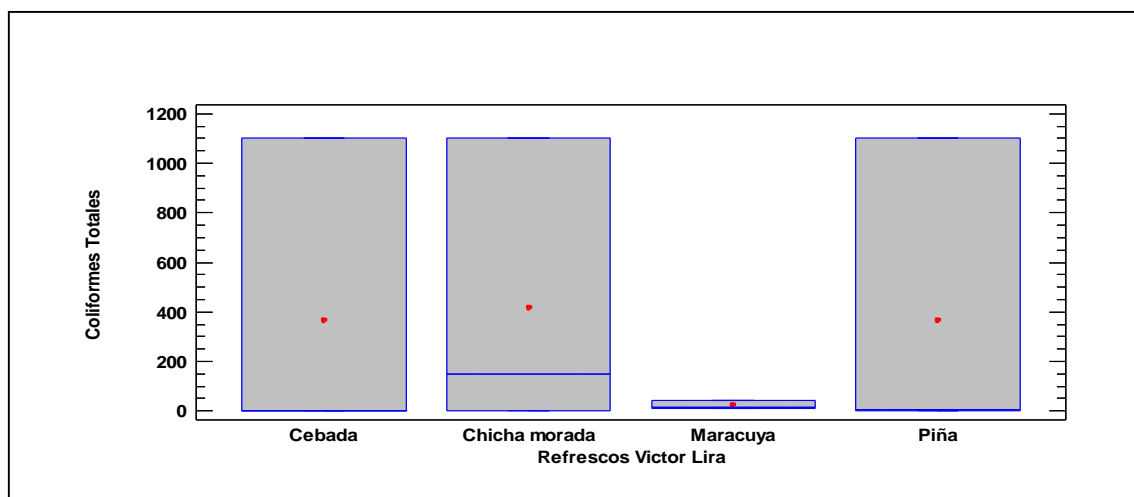


Gráfico N°5: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Víctor Lira.

Tabla N° 6: Condición de Coliformes Totales en los diferentes tipos de refrescos analizados correspondientes a la zona de Víctor Lira durante los meses de Abril a Junio del 2019.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Chicha morada	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=1.333$ $Gl=3$ $p:0.7212$ ($p>0.05$)						

La condición de Coliformes Totales en los diferentes tipos de refrescos para la zona de Víctor Lira indica diferencias no significativas según el test de Chi-Cuadrado ($p>0.05$), sin embargo, es necesario resaltar que el refresco de maracuyá presentó el 100% de muestras aptas, lo que no sucede con los demás refrescos que solo llegaron a tener un 66.67% de muestras aptas siguiendo los criterios de la NTS N° 071 MINSA/DIGESA (Tabla N° 6 y Grafico N° 6).

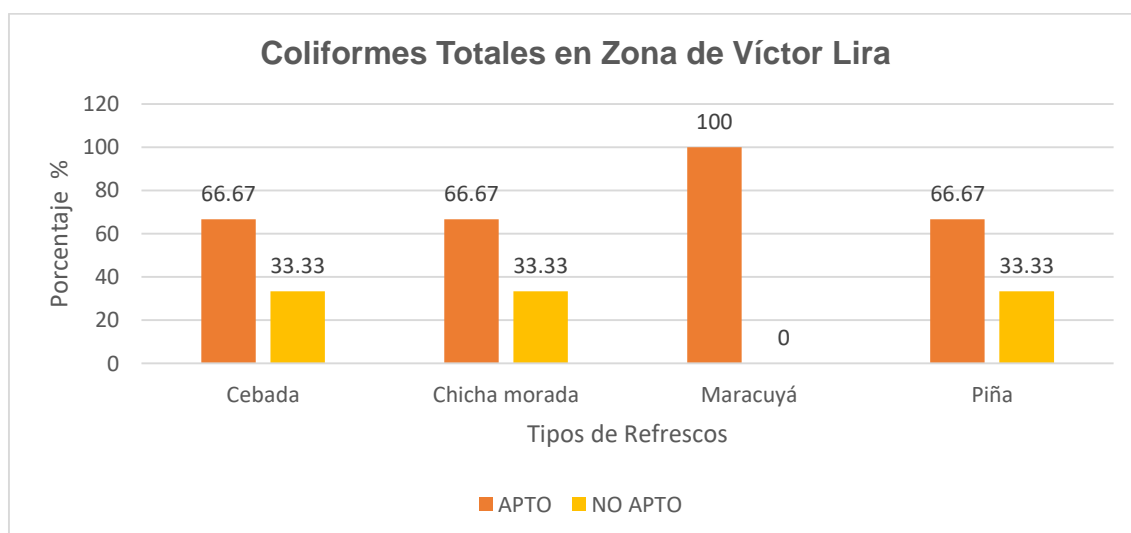


Gráfico N° 6 Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales en zona de Víctor Lira.

Tabla N°7: Pruebas de Múltiple Rangos para Coliformes totales en zona de Independencia (Log10) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media (Transf Log 10)	Media	Grupos Homogéneos
Chicha morada	3	1.13895	4.26	a
Cebada	3	1.80359	111	a
Maracuyá	3	1.82464	164.07	a
Piña	3	2.70116	764.33	a
Prueba de Fc= 3.4 p:0.08904 (p>0.05)				

La presente tabla muestra los resultados de Coliformes Totales presentes en los diferentes tipos de refrescos para la zona de Independencia. Según el ANOVA y test de Tukey no existe diferencias significativas de Coliformes Totales por tipos de refrescos ($p>0.05$). Donde el promedio mayor de Coliformes Totales fue para el refresco de piña con un valor de 764.33 seguido por el refresco de maracuyá y el de cebada con promedios de 164.07 y 111 respectivamente, el menor promedio lo obtuvo el refresco de chicha morada con 4.26 (Tabla N°7 y grafico N°7).

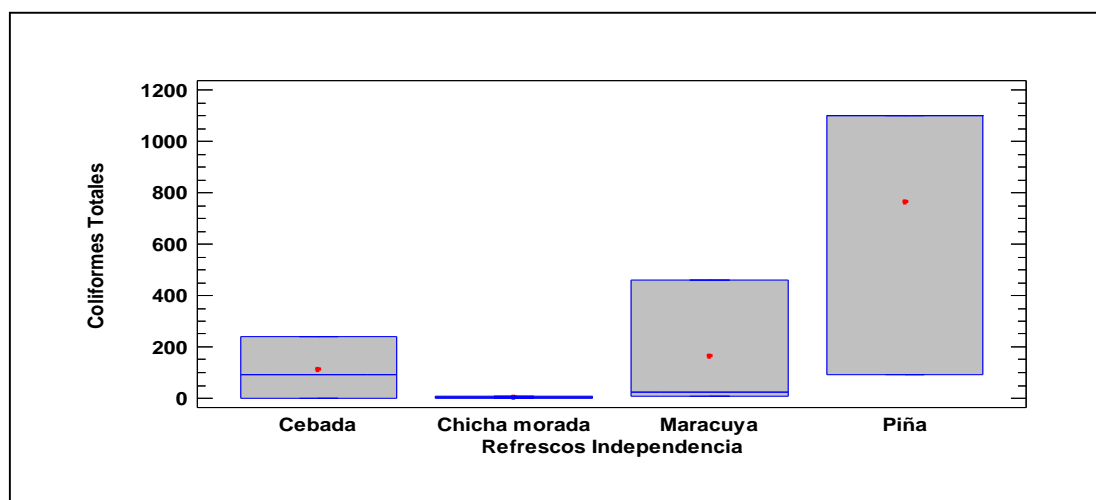


Gráfico N°7: Comparación de Coliformes Totales por tipos de refrescos en zona de Independencia.

Tabla N° 8: Condición de Coliformes totales en los diferentes tipos de refrescos analizados correspondientes a la zona Independencia durante los meses de Abril a Junio del 2019.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	1	33.33	2	66.67	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=7.2$ $Gl=3$ $p:0.0658$ ($p>0.05$)						

Según el test de Chi-Cuadrado no existen diferencias significativas en la condición de Coliformes totales presentes en los diferentes tipos de refrescos analizados ($p>0.05$). Los refrescos de cebada, chicha morada y maracuyá presentaron el 100% de sus muestras en condición apta, en cambio en el refresco de piña solo el 33.33% de sus muestras fueron aptas según los criterios microbiológicos de la NTS (Tabla N° 8 y Grafico N°8).

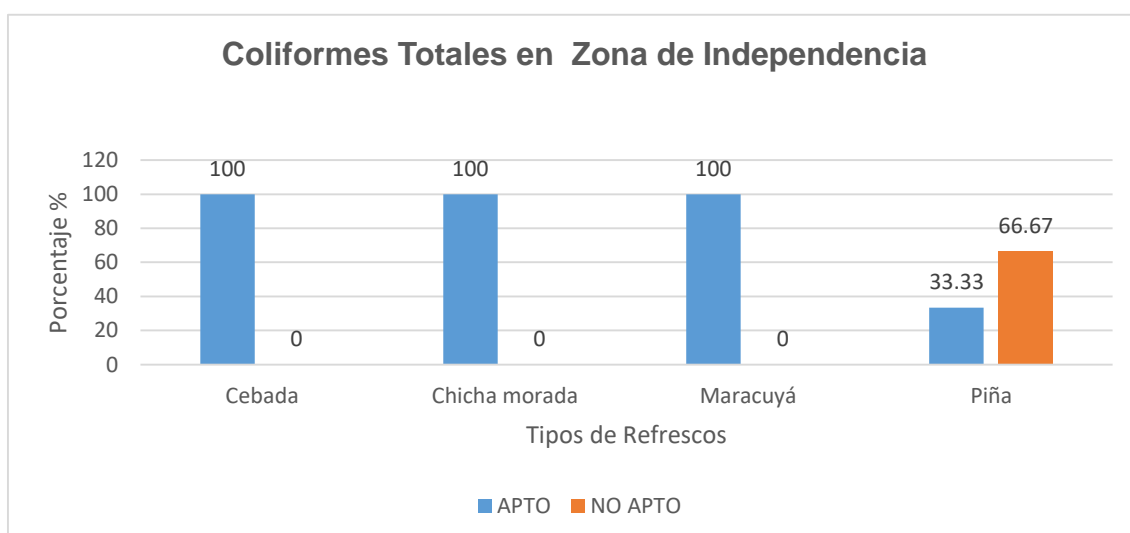


Gráfico N°8 Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales en zona de Independencia.

Tabla N° 9: Condición de los refrescos para Coliformes totales por zona de estudio.

Zonas de Estudio	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
AV. Independencia	10	83.33	2	16.67	12	100.00
Av. Goyeneche	9	75.00	3	25.00	12	100.00
Av. Salaverry	6	50.00	6	50.00	12	100.00
Víctor Lira	9	75.00	3	25.00	12	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=3.63$ $Gl=3$ $p:0.3043$ ($p>0.05$)						

La condición de Coliformes Totales presentes en los distintos refrescos estudiados por zonas de estudio mostró significación estadística no significativa según el test de Chi-Cuadrado ($p>0.05$). En la zona de Salaverry es donde se encontró un 50% de refrescos no aptos, en las demás zonas hubo mayor porcentaje de refrescos aptos con 83.33% en Independencia y 75% en Goyeneche y Víctor Lira respectivamente. (Tabla N° 9 y Grafico N°9)

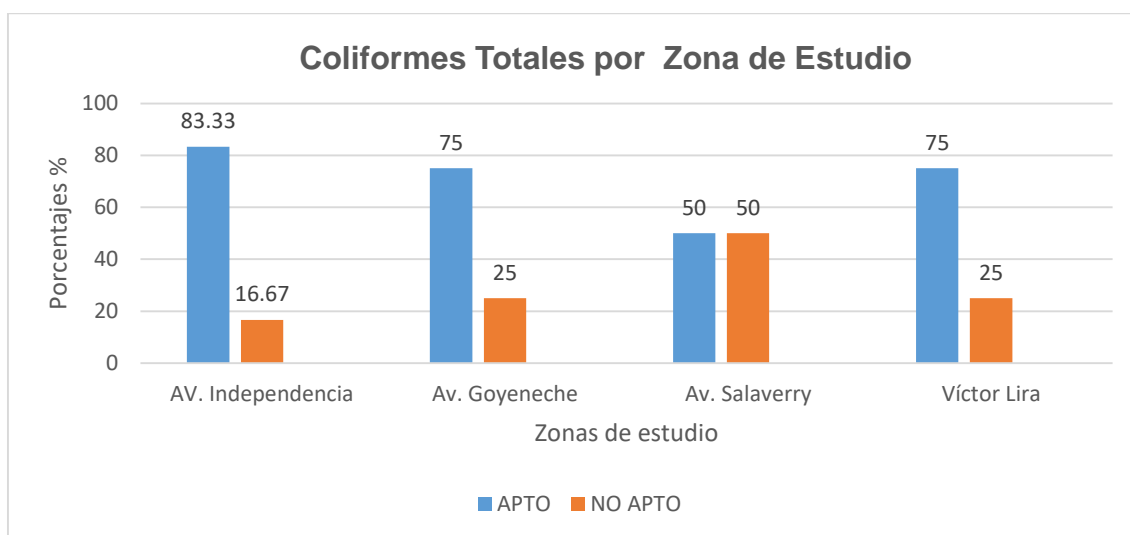


Gráfico N° 9: Condición de las muestras de refrescos para Coliformes totales por zona de estudio.

2.5. Determinación de la presencia de *E. coli* en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa.

Tabla N°10: Pruebas de Múltiple Rangos para *E. coli* en zona de Salaverry (vx+1) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media (vx+1)	Media	Grupos Homogéneos
Cebada	3	1	0	a
Maracuyá	3	1	0	a
Piña	3	1.30525	11.73	a
Chicha morada	3	1.55737	153.33	a

Los resultados para *E. coli* presentes en los distintos refrescos analizados para la zona de Salaverry evidenciaron diferencias no significativas entre los tipos de refrescos ($p > 0.05$). Los refrescos de Cebada y de Maracuyá obtuvieron un promedio de 0, el refresco de Piña un promedio 11.73 y por último el refresco de chicha morada obtuvo el mayor promedio con 153.33. (Tabla N° 10 y Grafico N°10)

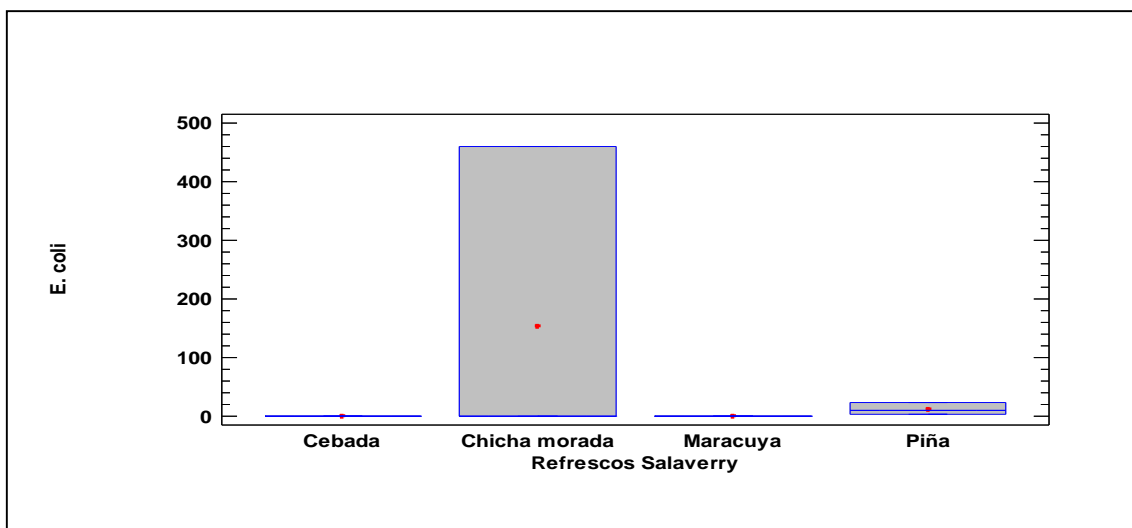


Gráfico N°10: Comparación de *E. coli* por tipos de refrescos en zona de Salaverry.

Tabla N° 11: Condición de los refrescos para *E. coli* zona de Salaverry.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Chicha morada	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=3.273$ $Gl=3$ $p:0.3515$ ($p>0.05$)						

La condición de *E. coli* en la zona de Salaverry indica diferencias no significativas según el test de Chi cuadrado ($p>0.05$). El refresco de Cebada, maracuyá y piña mostró un 100% en condición apta y el refresco de chicha morada el 66.67% de muestras aptas según los criterios de la NTS. (Tabla N° 11 y Grafico N°11).

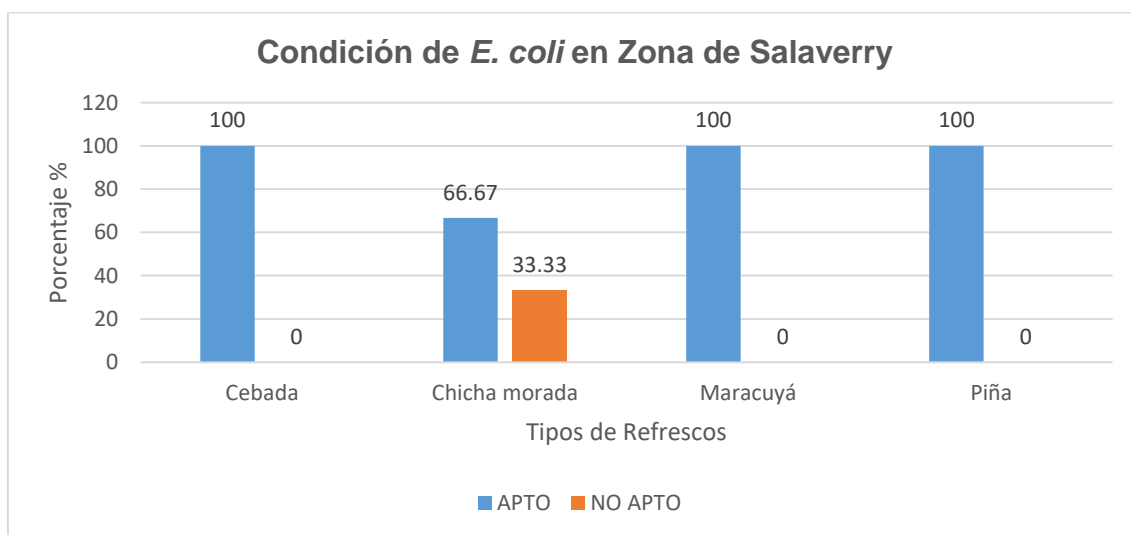


Gráfico N° 11: Condición de las muestras de refrescos para *E. Coli* en zona de Salaverry.

Tabla N°12: Pruebas de Múltiple Rangos para *E. coli* en zona de Goyeneche (vx+1) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media	Media	Grupos Homogéneos
Chicha morada	3	1	0	a
Maracuyá	3	1.30981	25	a
Piña	3	1.68177	366.67	a
Cebada	3	2.01939	397.67	a

Los resultados para la determinación de *E.coli* presentes en los diferentes tipos de refrescos para la zona de Goyeneche evidencio diferencias no significativas ($p>0.05$). Se observa que el mayor promedio fue para el refresco de cebada con 397.67 seguido por el refresco de piña y el de Maracuyá con promedios de 366.67 y 25 respectivamente, el menor promedio lo obtuvo el refresco de chicha morada con 4.26 (Tabla N°12 y grafico N°12)

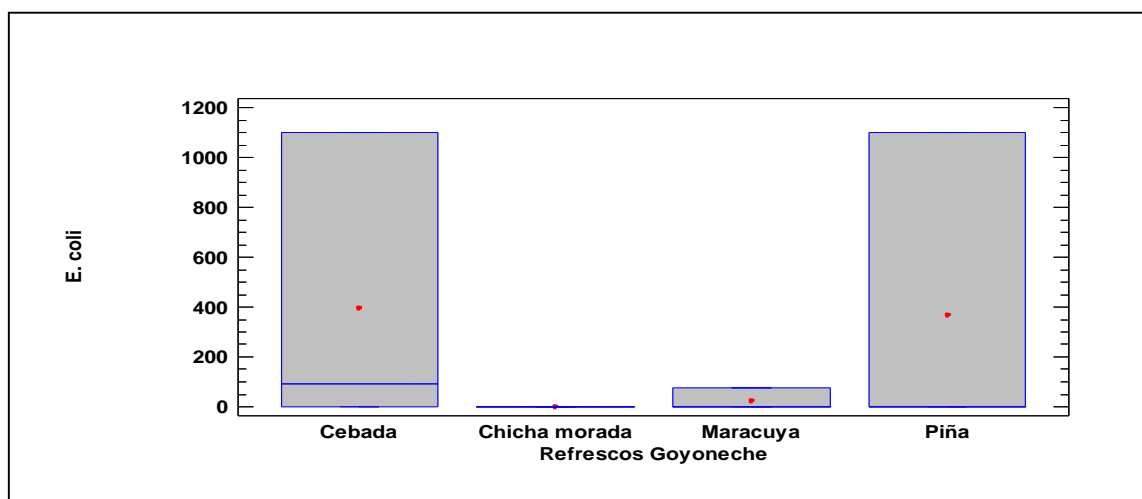


Gráfico N°12: Comparación de *E. coli* por tipos de refrescos en zona de Goyeneche.

Tabla N° 13: Condición de *E. coli* en los diferentes refrescos estudiados para la zona de Goyeneche.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=2.4$ $Gl=3$ $p:0.4936$ ($p>0.05$)						

La condición de *E. coli* en los diferentes refrescos para la zona de Goyeneche no mostro diferencias significativas según el test de Chi – Cuadrado ($p>0.05$). En los refrescos de chicha morada y maracuyá el 100% de sus muestras estuvieron aptas para el consumo y en cebada y piña este porcentaje fue de 66.67% respectivamente de acuerdo a los criterios de la NTS (Tabla N° 13 y Grafico N°13).

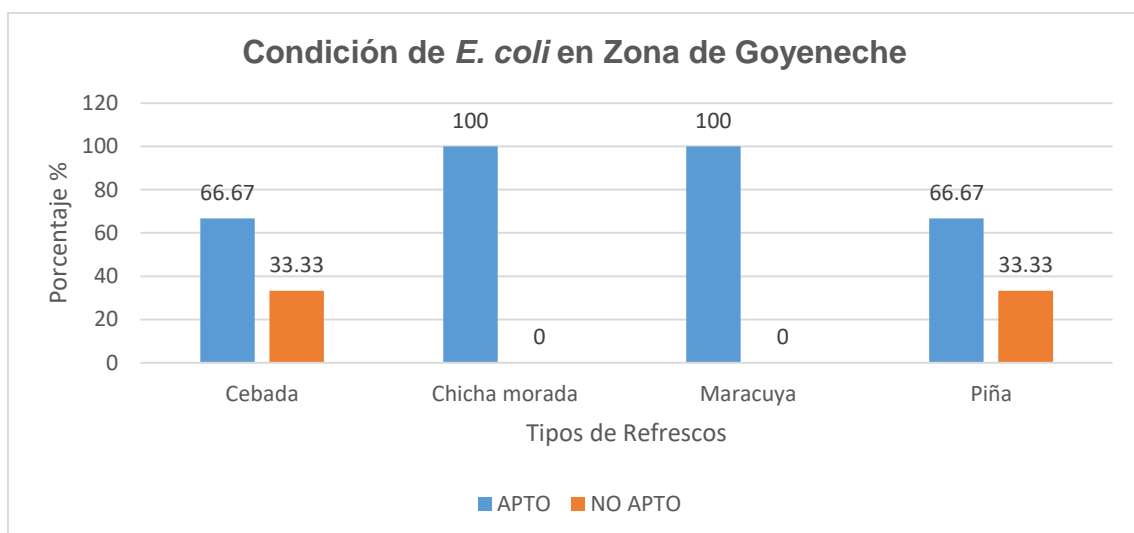


Gráfico N° 13: Condición de las muestras de refrescos para *E.coli* en zona de Goyeneche.

Tabla N°14: Pruebas de Múltiple Rangos para *E. coli* en zona de Víctor Lira (vx+1) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Grupos Homogéneos
Cebada	3	1	0	a
Piña	3	1	0	a
Maracuyá	3	1.73125	3.07	a
Chicha morada	3	1.82137	3.67	a

La evaluación para *E. coli* en refrescos para la zona de Víctor Lira dio resultados no significativos entre los refrescos en estudio ($p > 0.05$). En el refresco de cebada y piña el promedio fue de 0 y en refresco de maracuyá y chicha morada el promedio fue 3. (Tabla N°14 y Grafico N°14).

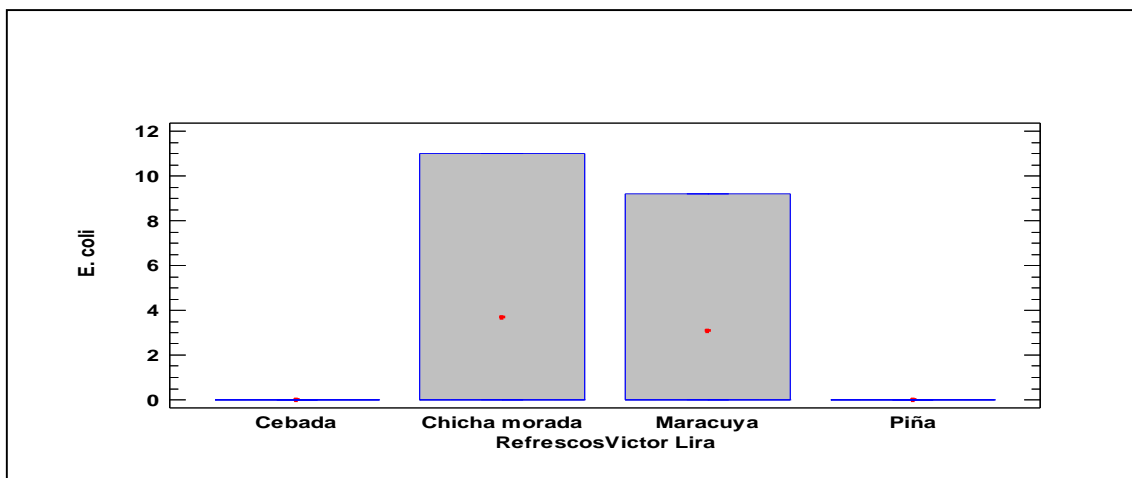


Gráfico N°14: Comparación de *E. coli* por tipos de refrescos en zona de Víctor Lira.

Tabla N° 15: Condición de los refrescos para *E. coli* zona de Víctor Lira.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	3	100.00	0	0.00	3	100.00

La condición de *E. coli* en los diferentes refrescos analizados para la zona de Víctor Lira muestra diferencias no significativas según el test de Chi - Cuadrado ($p>0.05$). Se observa que el 100% de los refrescos estuvieron aptos para el consumo según los criterios de NTS (Tabla N° 15 y Grafico N°15).

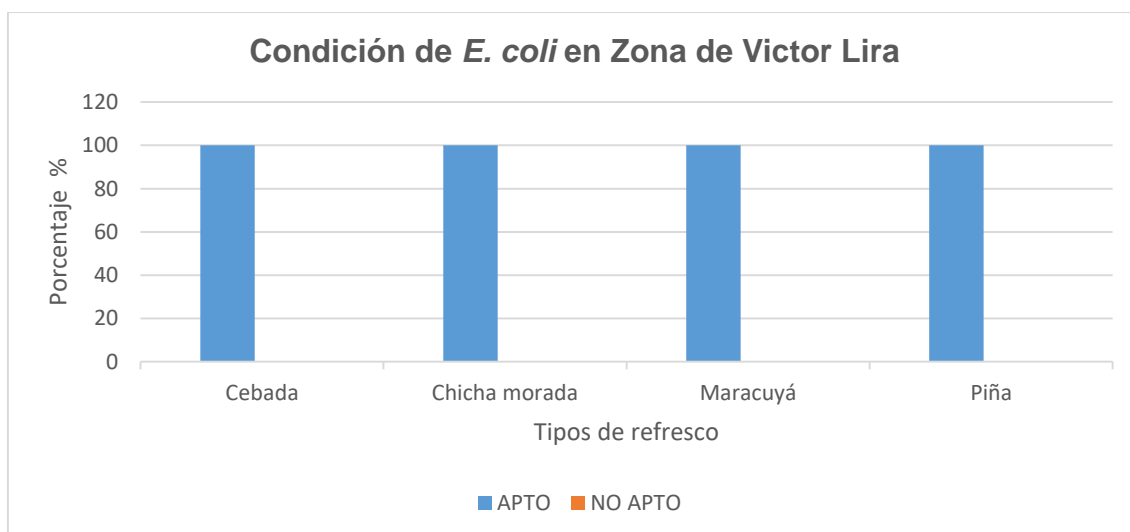


Gráfico N° 15: Condición de las muestras de refrescos para *E. Coli* en zona de Víctor Lira.

Tabla N°16: Pruebas de Múltiple Rangos para *E. coli* en zona de Independencia (vx+1) por tipos de Refresco.

Refrescos	Casos	Media (vx+1)	Media	Grupos Homogéneos
Chicha morada	3	1	0	a
Piña	3	1	0	a
Maracuyá	3	1.38159	1.2	a
Cebada	3	1.73125	3.07	a

El estudio de los refrescos en la zona de independencia mostro diferencias no significativas en la evaluación de *E. coli* ($p>0.05$). El promedio en el refresco de Chicha morara y el refresco de Piña fue de 0 y en refresco de Maracuyá y Cebada los ´promedios fueron 1.2 y 3.07 respectivamente (Tabla N°16 y Grafico N°16).

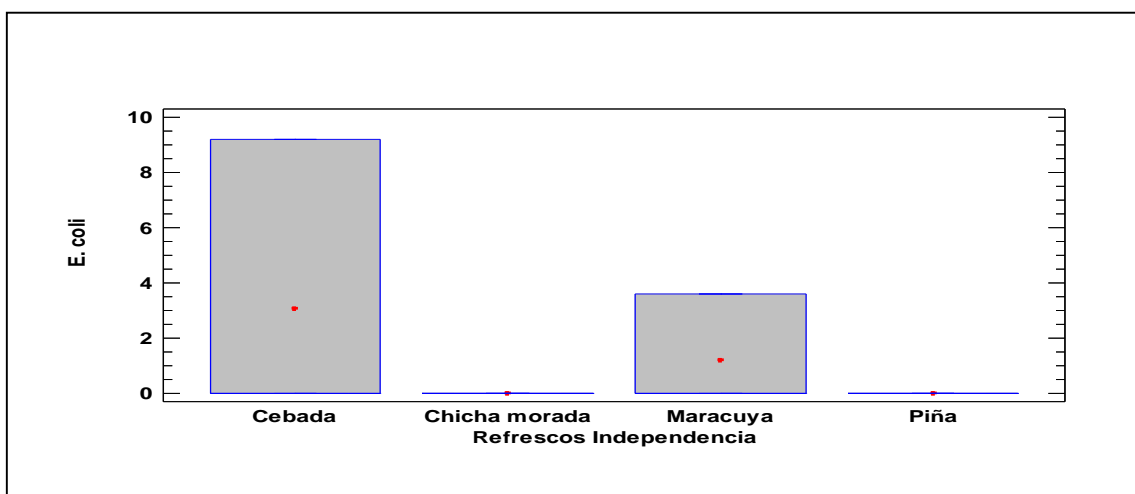


Gráfico N°16: Comparación de *E. coli* por tipos de refrescos en zona de Independencia

Tabla N° 17: Condición de los refrescos para *E. coli* zona de Independencia.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	3	100.00	0	0.00	3	100.00

La condición de *E. coli* en los diferentes refrescos estudiados para la zona de independencia evidencio diferencias no significativas según el test de Chi - Cuadrado ($p > 0.05$). Todos los refrescos estuvieron aptos para el consumo en esta zona según los criterios de la NTS (Tabla N°17 y Grafico N°17).

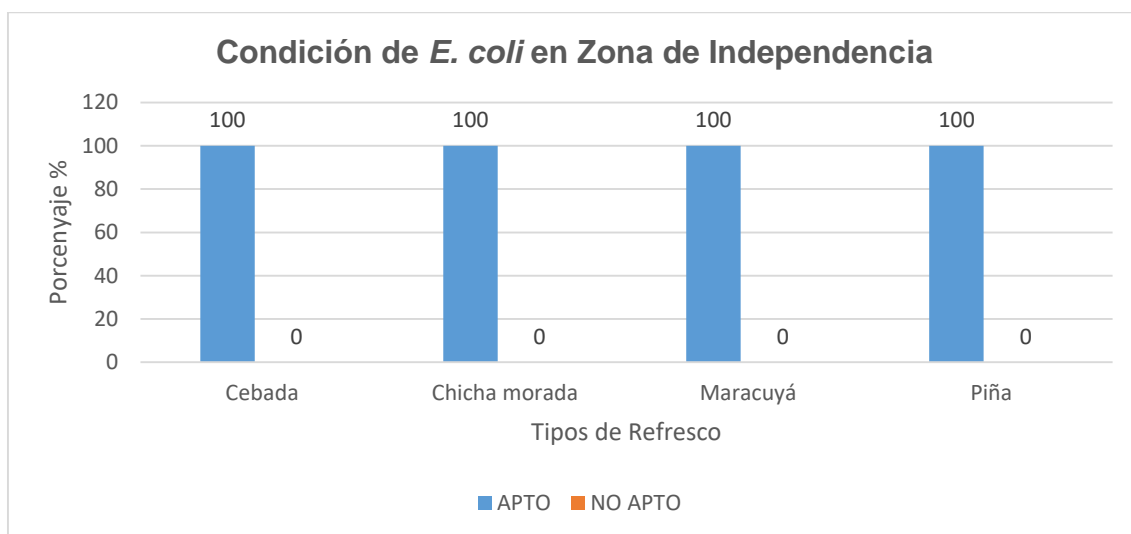


Gráfico N° 17: Condición de las muestras de refrescos para *E. Coli* en zona de Independencia.

Tabla N° 18: Condición de los refrescos para *E. coli* por zona de estudio.

Zonas de Estudio	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
AV. Independencia	12	100.00	0	0.00	12	25.00%
Av. Goyeneche	10	83.33	2	16.67	12	25.00%
Av. Salaverry	11	91.67	1	8.33	12	25.00%
Víctor Lira	12	100.00	0	0.00	12	25.00%
Test de Chi- Cuadrado $X=3.911$ $Gl=3$ $p:0.2712$ ($p>0.05$)						

Al realizar la comparación de la condición de *E. coli* por zonas de estudio se encontró diferencias no significativas según el test de Chi-Cuadrado ($p>0.05$). En Independencia y Víctor Lira el 100% de los refrescos estuvieron aptos, en cambio en Goyeneche y Salaverry el 83.33% y 91.67% respectivamente fueron aptos para el consumo de acuerdo a los criterios de la NTS. (Tabla N° 18 y Grafico N° 18).

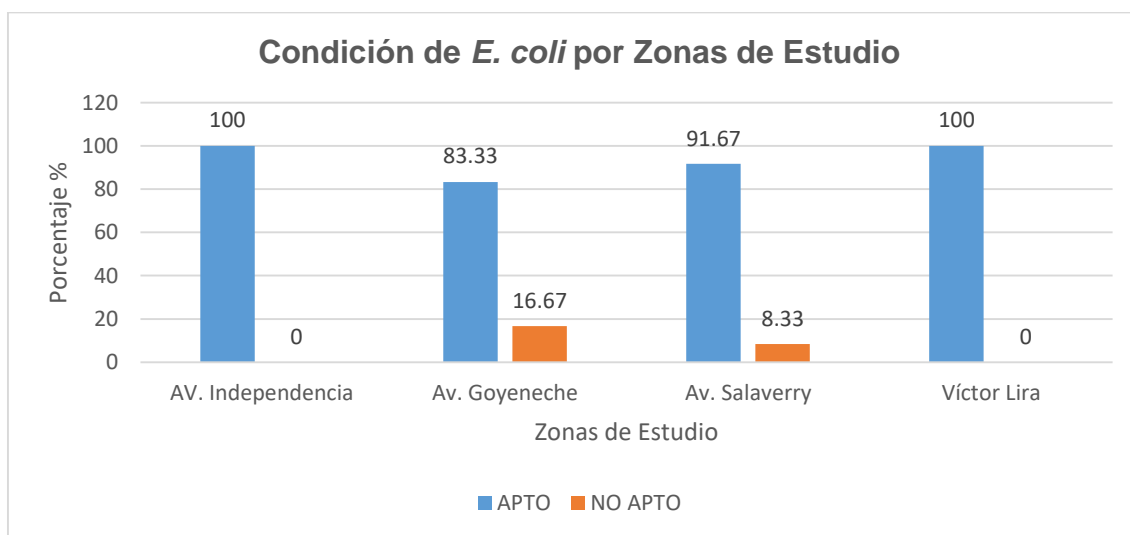


Gráfico N° 18: Condición de las muestras de refrescos para *E Coli* por zonas de estudio.

2.6. Determinación de la Presencia *Salmonella Sp.* en Refrescos Artesanales Expendidos de Forma Ambulante en el Cercado de Arequipa.

Tabla N° 19: Condición de los refrescos para *Salmonella sp.* refrescos y zonas de estudio por zona de estudio.

Refrescos	Ausencia Salaverry		Ausencia Goyeneche		Ausencia Víctor Lira		Ausencia Independencia	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	3	100.00	3	100.00	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	3	100.00	3	100.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	3	100.00	3	100.00	3	100.00
Piña	3	100.00	3	100.00	3	100.00	3	100.00

En la presente tabla (Tabla N° 19) se observa la evaluación de la condición para *Salmonella* que demuestra contundentemente que existió ausencia total de esta bacteria tanto en todas las muestras de las zonas estudiadas. (Grafico N° 19).

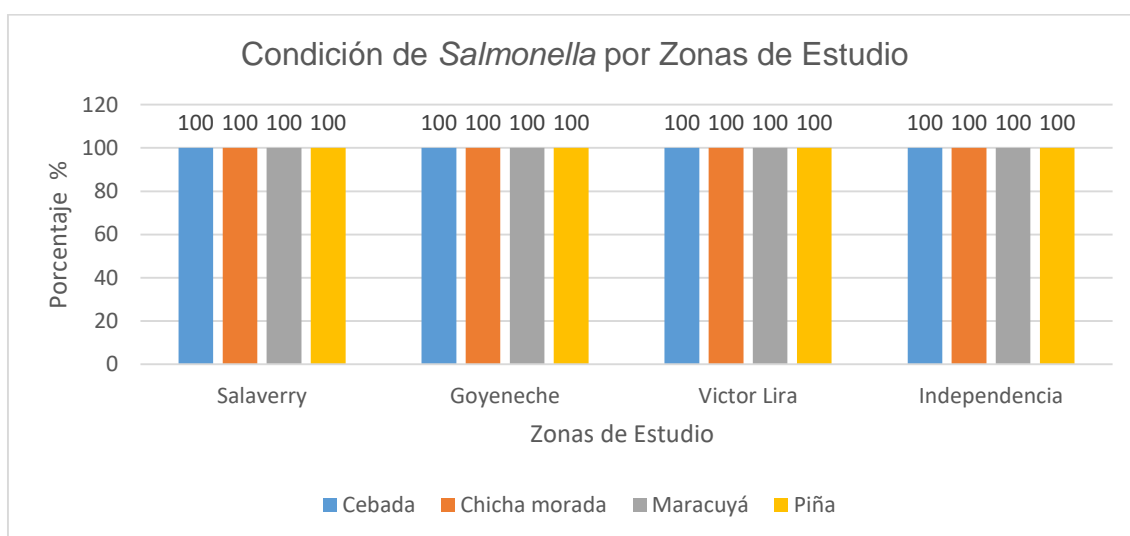


Gráfico N° 19: Condición de las muestras de refrescos para *Salmonella sp.* por zonas de estudio.

2.7. Determinación de la presencia de *S. aureus* en refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el cercado de Arequipa.

Tabla N° 20: Condición de los refrescos para *S. aureus* por refrescos en la zona de Goyeneche.

Refrescos	APTO		NO APTO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	2	66.67	1	33.33	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Piña	3	100.00	0	0.00	3	100.00
Test de Chi- Cuadrado $X=3.273$ $Gl=3$ $p:0.3515$ ($p>0.05$)						

Los resultados para la condición de *S. aureus* en los refrescos para la zona de Goyeneche mostró diferencias no significativas según el test de Chi - Cuadrado ($p>0.05$). Los refrescos de Chicha morada, Maracuyá y Piña tuvieron el 100% de muestras con una condición apta para el consumo, en cambio el refresco de Cebada obtuvo el 67% con una condición apta según la NTS.

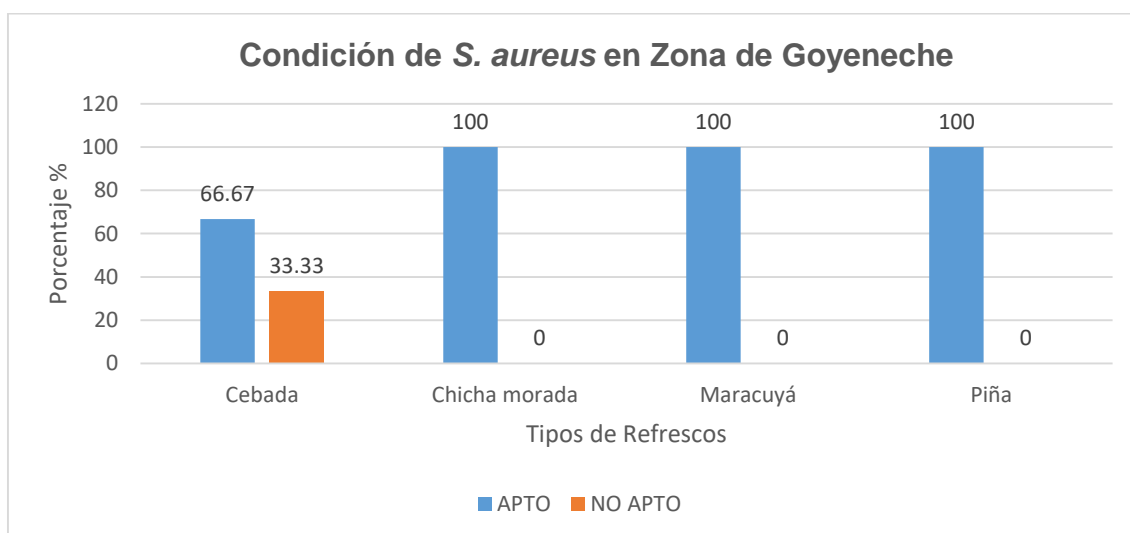


Gráfico N° 20: Condición de las muestras de refrescos para *S aureus* en zona de Goyeneche.

Tabla N° 21: Condición de los refrescos para *S. aureus* por refrescos y zonas de estudio.

Refrescos	Ausencia Salaverry		Ausencia Víctor Lira		Ausencia Independencia	
	N	%	N	%	N	%
Cebada	3	100.00	3	100.00	3	100.00
Chicha morada	3	100.00	3	100.00	3	100.00
Maracuyá	3	100.00	3	100.00	3	100.00
Piña	3	100.00	3	100.00	3	100.00

En la presente tabla (Tabla N° 21) se muestra la condición de *S. aureus* presente en los distintos refrescos estudiados en las zonas de Salaverry, Víctor Lira e Independencia se observa contundentemente que existió ausencia total de esta bacteria en estas zonas de estudio lo que demuestra que todas las muestras son aptas para el consumo. (Grafico N° 21).

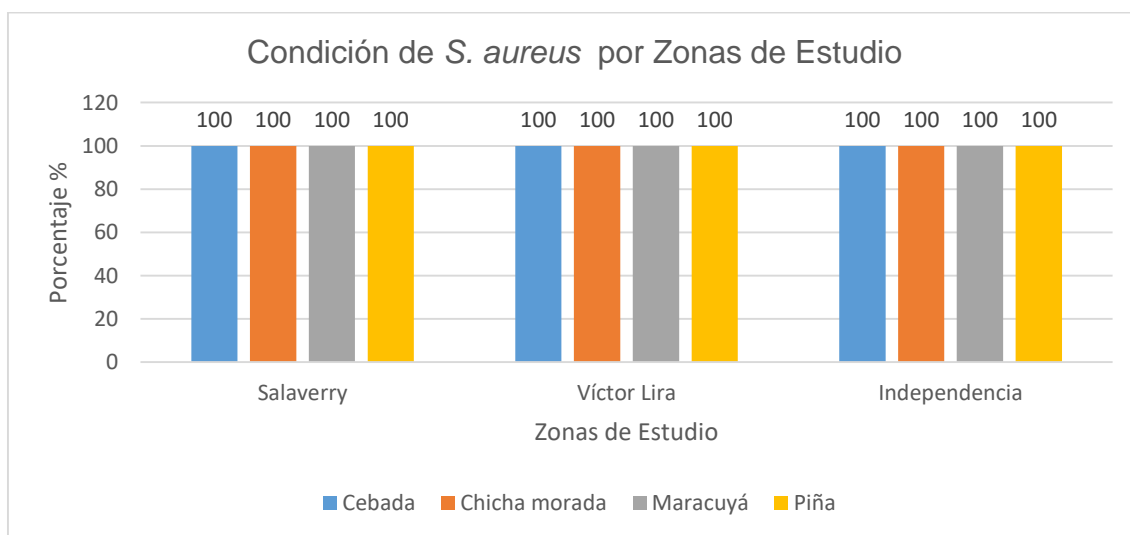


Gráfico N° 21: Condición de las muestras de refrescos para *S aureus* por zonas de estudio

DISCUSIÓN

Para la evaluación de Coliformes totales se determinó que no existe diferencias significativas entre las zonas de estudio, En la zona de Salaverry es donde se encontró un 50% de refrescos no aptos según la NTS, además se determinó que el refresco de Chicha morada de la zona de Salaverry fue el que mayor recuento presento con un promedio de 1100 NMP/100 ml sobrepasando los criterios de la NTS. Estos resultados son similares a lo encontrado por López J., *et al.*, 2009 quien determinó que el 51.52% de muestras de refrescos presentaron Coliformes Totales al igual que Bardales M. y Rojas A. 2016 quienes encontraron que el 86,6% de los puestos de venta de Chicha morada presentaban crecimiento de coliformes totales superando los límites de la norma ya que los Coliformes totales son considerados como un indicador de calidad higiénica de los alimentos y son particularmente indicadores de contaminación post proceso térmico, pues estos microorganismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico (Campuzano S. *et al* 2015). Además, Arias M. y Montoya A. 1989. nos indican que el agua es una posible fuente de contaminación, otra posibilidad de contaminación seria que la carga microbiológica fue adquirida de una fuente diferente al agua, o que no se utilizó agua tratada en su fabricación.

La presencia de *Escherichia coli* es un indicador de contaminación fecal en alimentos y por tanto determina que el alimento ha sido manipulado durante todo el proceso (Campuzano S. *et al* 2015). Otros posibles factores de contaminación pudieron ser el lugar donde se cultivan las frutas, el agua de riego, transporte, el agua para la elaboración de los refrescos, el hielo y manipulación de los mismos, entre otros (Castellon K. & Torres M. 2009). En cuanto a la condición de *Escherichia coli* por zonas de estudio se encontró que en la zona de Goyeneche y Salaverry el 16.67% y 8.33% respectivamente fueron no aptos para el consumo de acuerdo a los criterios de la NTS, no se encontró diferencias significativas ($p>0.05$) entre zonas de estudio. Las muestras que presentaron condición inaceptable fueron los refrescos de Cebada y Piña correspondientes a la zona de Goyeneche los cuales presentaron un promedio de 397.67 NMP/100 ml y 366.67 NMP/100 ml respectivamente. Y en la zona de Salaverry se observó que

el refresco de Chicha morada presento un promedio de 153.33 NMP/100 ml. Estos resultados presentan similitud con el trabajo de Bardales M. y Rojas A. 2016 obtuvieron bajo porcentaje de muestras que superen los parámetros de la NTS. Por lo cual se puede inferir que las muestras fueron contaminadas por inadecuadas prácticas de higiene durante todo el proceso de elaboración.

En ninguna de las muestras analizadas se encontró la presencia de *Salmonella* sp. al igual que el trabajo realizado por Velásquez K. N. & Quispe L. A. 2015 realizaron su investigación en Refrescos de chicha morada, Refresco de cebada y Refresco de hierba luisa. Esto se debe a que los principales reservorios de *Salmonella* son las aves de corral, el ganado bovino y el porcino. Por lo tanto, son fuentes de infección las carnes de estos animales y los huevos. Sin embargo, el hombre también es reservorio de esta bacteria lo que revela la importancia de considerar a los manipuladores de alimentos portadores como fuente de infección. También se han identificado como fuentes de infección los vegetales frescos consumidos crudos en ensaladas Según ANMAT 2011.

Arias M. y Montoya A. 1989 nos indica que la ausencia de este organismo se debe a que posiblemente el producto tenga un pH ácido, una alta concentración de azúcar, la presencia de ácidos volátiles, una disminución en el potencial de oxido-reducción y muy importante la presencia de otros microorganismos competidores. motivo por el cual la presencia de este microorganismo no es significativa en las muestras analizadas.

En cuanto a *Staphylococcus aureus* se determinó que el 100 % de las muestras de refrescos de las zonas de Salaverry, Víctor Lira e Independencia se encontraban en condición aceptable según la NTS. Sin embargo, solo el 33.33% de las muestras del refresco de cebada de la zona de Goyeneche presentaron condición inaceptable, Semejante a los resultados obtenidos por Velásquez K. N. & Quispe L. A. 2015 en su trabajo solo el 16.67% presentó *Staphylococcus aureus*

Arroyo A. 2009 nos dice que la presencia de estafilococos, en especial los coagulasa positivos, es indicativo de la eventual presencia de toxinas en el alimento investigado y es además, signo de manipulación inconsciente de los

alimentos. Estos microorganismos son comensales habituales de las fosas nasales, oídos y piel.

La mayoría de los casos de intoxicación alimentaria por *S. aureus* se deben a contaminación a partir de portadores humanos infectados , este microorganismo es el agente etiológico más detectado en los resultados de las muestras analizadas y procedentes de brotes de ETA's, se relaciona posiblemente a que las condiciones higiénico-locativas y sanitarias de los establecimientos donde se preparan, producen, empacan, almacenan y comercializan los alimentos, no son las adecuadas, además de la falta de capacitación a los manipuladores de alimentos en cuanto a prácticas higiénicas y medidas de protección a los mismos son los responsables de la mala calidad de los alimentos (Campuzano S. *et al* 2015).

CONCLUSIONES

- Se determinó que las muestras de refrescos que presentaron condición no aceptable para Coliformes totales de acuerdo a la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V01, fueron la zona de Salaverry 50%, La zona de Independencia 16.67% y la zona de Víctor Lira 25%, No existiendo diferencias significativas entre zonas de estudio según el test de Chi-Cuadrado ($p>0.05$).
- Se identificó que las muestras de refresco que presentaron condición no aceptable para *Escherichia coli* fueron la zona de Goyeneche 16.67% y Salaverry 8.33%, existiendo diferencias no significativas según el test de Chi-Cuadrado ($p>0.05$). Se determinó que el 100% de las muestras de refrescos de las 4 zonas de estudio presentaron condición aceptable para *Salmonella* sp. Según los criterios de la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V01.
- Se determinó que el 100% de las muestras de refrescos estudiados de las zonas de Salaverry, Víctor Lira e Independencia se encontraron en condición aceptable para *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva según los criterios de la Norma técnica Sanitaria. Sin embargo, el 33.33% de refrescos de cebada de la zona de Goyeneche se encontraron en condición no aceptable según la NTS.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda incentivar a los estudiantes a realizar estudios Microbiológicos en diferentes tipos de alimentos con el fin de garantizar alimentos inocuos para los consumidores.
- Se recomienda realizar estudios posteriores para la identificación de Coliformes totales por medio de técnicas rápidas y precisas como las placas Petrifilm.
- Se recomienda utilizar técnicas de diagnóstico molecular como la PCR para detectar la presencia de *E. coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*.

BIBLIOGRAFIA

1. Aldaba G. L. 2013. Identificación de Líneas Mutantes de Cebada (*Hordeum Vulgare* L.) Con Valor Agronómico y Calidad en una Población Ms de la Variedad Una - La Molina 96 Desarrollada con Irradiación Gamma. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo. Lima- Perú. 166 pp.
2. Andino F. & Castillo Y. 2010. Microbiología de los Alimentos: Un Enfoque Practico Para la Inocuidad Alimentaria. Estelí- Nicaragua. 63pp.
3. ANMAT 2011. Análisis Microbiológicos de los Alimentos: Microorganismos patógenos. Volumen (1). Ministerio de Salud. Argentina.
4. ANMAT. sin año. Enfermedades Transmitidas por Alimentos: Ficha Técnica N°9: Salmonelosis. Ministerio de Salud. Argentina. 14pp.
5. Arias M. & Montoya A. 1989. Análisis Bacteriológico de Alimentos de Venta Ambulante. Rev. Cost. Cienc. Méd; 10 (2):51 -56.
6. Arispe I. & Tapia M.S. 2007. Inocuidad y Calidad: Requisitos Indispensables para la Protección de la Salud de los Consumidores. Rev. Agroalim v.12 n.24.Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131603542007000100008
7. Arroyo A. 2009. Calidad Microbiológica de algunas bebidas de expendio ambulante de la Ciudad de Barquisimeto. Rev. AGROLLANIA Vol. 7: 65.71.

8. Arroyo A., Bencomo M. & Bianco H. 2011. Perfil Microbiológico de la Chicha de Venta Ambulante en Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. Rev. Salud Arte y Cuidado Julio; 4(1):13-24
9. BARDALES M.P. & ROJAS A.B. 2016. Determinación De La Calidad Microbiológica de Refrescos Artesanales Comercializados en los Principales Mercados del Distrito de Ventanilla, Callao. Tesis para optar título de Licenciado en Bromatología y Nutrición Humana. Iquitos – Perú.
10. Camacho A., Giles M., Ortigón A., Palao M., Serrano B. & Velázquez O. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
11. Campuzano S., Mejía D., Madero C. & Pabón P. 2015. Determinación de la Calidad Microbiológica y Sanitaria de Alimentos Preparados Vendidos en la Vía Pública de la Ciudad de Bogotá D.C. Rev. NOVA. 13 (23): 81-92 pp.
12. Castellon K. & Torres M. 2009. Determinación de la Inocuidad Microbiológica de Refrescos Artesanales a Base de Frutas Comercializados en los Diferentes Mercados del Centro Histórico de San Salvador. Tesis para optar el título profesional de Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador - El Salvador. 111 pp.
13. Cordero B.C., Mariño M. & Torres K.J. 2018. Aceptación de la Bebida de Maíz Morado (*Zea Mays*, L.) y Aguaymanto (*Physalis Peruviana* L.) en la Comunidad Universitaria de la Universidad Nacional de Educación Enrique Guzmán y Valle. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Educación Especialidad: Industria Alimentaria y Nutrición. Lima - Perú.
14. Cunha-Neto A., Silva C.G. & Stamford T.L. 2002. *Staphylococcus* Enterotoxigénicos en Alimentos Naturales y Procesados en el Estado de

- Pernambuco, Brasil. Rev. Cienc. Tecnol. Aliment, Campinas, 22(3): 263-271 pp.
15. DIF. 2015. Guía de Aseguramiento de la Calidad Alimentaria. México. 260 pp.
16. DIGESA 2001. Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos. Ministerio de Salud – Dirección de Laboratorios- Oficina de Educación Continua. Lima- Perú.
17. DIGESA 2008. Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano. NTS N° 071–MINSA/DIGESA-V.01. Lima.
18. Eliko 2013. Salmonella. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Disponible en www.elika.net.
19. FAO 2002. Comida rápida, económica y también sana, FAO ayuda a mejorar la calidad de la comida de los puestos callejeros. Sala de Prensa. Disponible en: http://www.fao.org/spanish/newsroom/action/es_street.htm
20. FAO 2003. El Sector Informal Alimentario: Políticas Municipales de Apoyo a los Operadores. Serie N° 4 “Alimentos en las Ciudades”. Roma.
21. FAO. 2016. Manual Para Manipuladores de Alimentos. Instructor. Washington 108 pp.
22. Farfán A.E., Ariza S.C., Vargas F.A. & Vargas L. V. 2016. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Rev Chilena Infectol; 33 (4): 438-450 pp.
23. Garcinuño R.M. 2012. Contaminación de los Alimentos Durante los Procesos de Origen y Almacenamiento. Departamento de Ciencias

Analíticas. Rev. Aldaba 36, 51-63. Disponible en: <http://e-spacio.uned.es/fez/view/bibliuned:Aldaba-2012-36-5015>

24. Gerencia Regional Agraria La Libertad 2009, El Cultivo Del Maracuyá *Passiflora edulis* form. Flavicarpa. Perú 30p.
25. Gonzales T. & Rojas R.A. 2005. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. Salud pública de México / vol.47, n°.5, 388-390.
26. Guillen J., Mori S. & Paucar L.M. 2014. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. Subnigroviolaceo. Scientia Agropecuaria 5: 211 – 217.
27. Herrera F. & Santos J. 2015. Presencia de *Staphylococcus Aureus* Meticilina-Resistentes en Queso Doble Crema Artesanal. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 18(1): 29-37pp.
28. INIA, 2010. Cultivo de Maracuyá. Lima – Perú. 1°ed p. 2-10.
29. Instituto Nacional de Salud. 2010. Evaluación de Riesgos de *Staphylococcus Aureus* Enterotoxigénico en Alimentos Preparados no Industriales en Colombia. Bogotá D.C. – Colombia 74pp.
30. Instituto Nacional de Salud. 2015. Perfil de Riesgo de *Escherichia coli* Enterotoxigénica y Verotoxigénica en Queso Fresco. Bogotá, D. C.- Colombia 102 pp.
31. Lancibidad G. 2004. Producción Artesanal de Alimentos: Análisis y Perspectivas. Coyuntura Agropecuaria.
32. Larrea J.A., Rojas M.M., Álvarez B.R., Rojas N.M. & Heydrich M. 2012. Bacterias Indicadoras de Contaminación Fecal en la Evaluación de la

Calidad de las Aguas: Revisión de la Literatura. Rev CENIC Ciencias Biológicas; Vol. 44 n°3, 24-34 pp.

33. López J., Orozco E., Elton E., Méndez M., Hernández A., Ibarra Valdovino I., Rodríguez I. (2009). Calidad Sanitaria de Bebidas Preparadas que se Ofrecen al Público en una Institución de Educación Superior en Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro Vol. 22 Disponible en: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2009/11VCRC_46/E5_Lopez_IbarrayOrozco_Estrada.pdf
34. MINSA 2018. Vigilancia y Conservación de Alimentos. Lima- Perú. 57 pp.
35. Moreno M. & Alarcón A. 2010. Higiene Alimentaria para la Prevención de Trastornos Digestivos Infecciosos y por Toxinas. Rev. MED. CLIN. CONDES; 21(5) 749-755.
36. Munive L. 2015. Producción del cultivo de Piña cv. Golden en la Selva Central Mazamari - Satipo (Junín). Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo. Lima – Perú. 55 pp.
37. Osorio N. 2012. Oferta y Consumo de Alimentos de Venta Callejera en el Parque Nacional en Bogotá D.C. Tesis para optar el título profesional de Nutricionista Dietista. Bogotá, D.C.- Colombia. 42 pp.
38. PAHO 2015. Enfermedades transmitidas por Alimentos (ETA). Washington, D.C. Recuperado de: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-poralimentoseta&Itemid=41432&lang=en
39. Palomino C., Gonzales Y., Pérez E. & Aguilar V.H. 2018. Metodología Delphi en la Gestión de la Inocuidad Alimentaria y Prevención de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Rev Perú Med Exp Salud Pública; 35(3):483-490.

40. Quispe J.J. & Sánchez V. 2001. Evaluación Microbiológica y Sanitaria de Puestos de Venta Ambulatoria de Alimentos del Distrito de Comas, Lima – Perú. Rev. Med Exp 2001, XVIII (1-2).
41. Rípodas A., Fernández D. & Macho M. 2017. Investigación de *Escherichia Coli* productor de toxinas Shiga (STEC) en Carnes y Derivados Cárnicos. Rev. Sanidad mil. 73 (3): 147-152 pp.
42. Rivera J.A., Muñoz O., Rosas M., Aguilar C.A., Popkin B.M. & Willett W.C. 2008. Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. Salud Publica Mex. 50: 173-95.
43. Robledo A. 2015. Investigación de *Salmonella Spp* en Alimentos Mediante el Método Tradicional ISO 6579 y Dos Métodos Inmunoenzimáticos. Tesis para optar el título profesional de Ingeniera Alimentaria. Barcelona – España. 77 pp.
44. Salazar D.G. & Vargas F.E. El Comercio Informal de los Vendedores Ambulantes del Mercado Santa Celia Produce la Evasión de Impuestos al Estado, Cutervo 2016. Tesis para optar el título profesional de Contador Público. Pimentel – Perú. 61pp.
45. Saldarriaga J., Vélez C. & Betancur G. 2015. Estrategias de Mercadeo de los Vendedores Ambulantes. Rev. Semestre Económico, volumen 19, No. 39, pp. 155-172.
46. Velásquez K. N. & Quispe L. A. 2015. Evaluación Higiénico Sanitaria y Adecuación Nutricional de la Ración Orgánica Única Diaria (Roud) de los Servicios de Alimentación Colectiva de la División Policial de Orden y Seguridad (Divpos) Arequipa – 2015”. Tesis Para Optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición Humana. Arequipa – Perú. 187 pp.

47. Zendejas G.S., Avalos H. & Soto M.Y. 2014. Microbiología General de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, Patogenicidad y Métodos de Identificación. Rev. Biomed 25:129-143 pp.
48. Zúñiga I.R. & Caro J. 2017. Enfermedades Transmitidas por los Alimentos: Una Mirada Puntual para el Personal de Salud. Rev. ENF INF MICROBIOL. 37 (3): 95-104.

ANEXOS

Anexo 1: ANOVA para Coliformes totales (Log10) por Refresco en zona de Salaverry

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	6.81152	3	2.27051	6.67
Intra grupos	2.72371	8	0.340463	
Total (Corr.)	9.53522	11		

Anexo 2: ANOVA para Coliformes totales (Log10) por Refresco en zona de Goyeneche

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	3.28652	3	1.09551	1.96
Intra grupos	4.46561	8	0.558201	
Total (Corr.)	7.75213	11		

Anexo 3: ANOVA para Coliformes totales (Log10) por Refresco en zona de Víctor Lira

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	0.585113	3	0.195038	0.2
Intra grupos	7.62592	8	0.95324	
Total (Corr.)	8.21103	11		

ANEXO 4: ANOVA para Coliformes totales (Log10) por Refresco en zona de Independencia

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	3.6951	3	1.2317	3.4
Intra grupos	2.8986	8	0.362325	
Total (Corr.)	6.5937	11		

ANEXO 5: ANOVA para *E. coli* (Vx+1) por Refresco en zona de Salaverry

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	0.653425	3	0.217808	0.9
Intra grupos	1.9465	8	0.243313	
Total (Corr.)	2.59993	11		

ANEXO 6: ANOVA para *E. coli* (Vx+1) por Refresco en zona de Goyeneche

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	1.76684	3	0.588948	0.86
Intra grupos	5.45651	8	0.682064	
Total (Corr.)	7.22336	11		

ANEXO 7: ANOVA para *E. coli* (Vx+1) por Refresco en zona de Víctor Lira

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	1.82014	3	0.606714	0.67
Intra grupos	7.25621	8	0.907026	
Total (Corr.)	9.07635	11		

ANEXO 8: ANOVA para *E. coli* (Vx+1) por Refresco en zona de Independencia

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
Entre grupos	1.1122	3	0.370732	0.73
Intra grupos	4.08199	8	0.510249	
Total (Corr.)	5.19419	11		

ANEXO 9: COMPOSICIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

1. Agua Peptona:

Composición	Preparación
Peptona: 10 gr/L Cloruro de sodio: 5 gr/L Fosfato disódico: 3.5 gr/L Fosfato monopotásico: 1.5 gr/L	Disolver 15 g en un litro de agua destilada. Calentar ligeramente y disolver completamente, no ebullición. Distribuir y llevar a esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

2. Caldo Lauril Sulfato

Composición	Preparación
Triptosa: 20 g/L Lauril Sulfato de Sodio: 0.1 g/L Lactosa: 5 g/L Cloruro de Sodio: 5 g/L Hidrógeno fosfato dipotásico: 2.75 g/L Dihidrógenofosfato potásico: 2.75 g/L	Disolver 35.6 g en un litro de agua destilada y llevarlo a calentar y disolver completamente. Dispensar en tubos de ensayo que contengan tubos Durham. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.

3. Caldo BRILA

Composición	Preparación
Peptona: 10 gr/L Lactosa: 10 gr/L Bilis de buey: 20/L Verde Brillante: 0.0133 gr/L	Disolver 40 gramos en un litro de agua destilada y calentar hasta disolver. Dispensar en tubos que contengan tubos Durham. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.

4. Caldo EC

Composición	Preparación
Triptosa: 20/g Lactosa: 5 g/L Sales biliares: 1.5 g/L Cloruro de Sodio: 5 g/L Hidrógeno fosfato dipotásico: 4 g/L Dihidrógenofosfato potásico: 1.5 g/L	Disolver 37 gramos en un litro de agua destilada y calentar hasta disolver. Dispensar en tubos que contengan tubos Durham y Autoclavar a 121 °C por 15 minutos.

5. Agar Manitol Salado

Composición	Preparación
Extracto de carne: 1.0 g/L Digerido pancreático de caseína: 5.0 g/L Digerido péptico de tejido animal: 5.0 g/L Cloruro sódico: 75 g/L D-manitol: 10 g/L Rojo fenol: 0.025 g/L Agar: 15 g/L	Disolver 108 gramos en un litro de agua destilada y calentar cuidadosamente, hasta ebullición, para homogenizar. Autoclavar a 121 °C por 15 minutos, y por último verter en placas estériles.

6. Caldo Selenito Cistina

Composición	Preparación
<p>Sodio Hidrógeno Selenito: 4.0 g/L</p> <p>Cistina: 0.01 g/L</p> <p>Lactosa: 4 g/L</p> <p>Mezcla de Peptonas: 5 g/L</p> <p>Tri-Sodio Fosfato: 10 g/L</p>	<p>Disolver 23 g en un litro de agua destilada y calentar hasta disolver completamente, distribuir en tubos de ensayo. No esterilizar en autoclave.</p>

7. Agar *Salmonella* – *Shigella*

Composición	Preparación
<p>Peptona: 10 gr/L</p> <p>Lactosa: 10 gr/L</p> <p>Bilis bovina secada: 8.5 gr/L</p> <p>Citrato sódico: 10 gr/L</p> <p>Tiosulfato sódico: 8.5 gr/L</p> <p>Citrato de amonio y hierro: 1gr/L</p> <p>Verde brillante: 0.0003 gr/L</p> <p>Rojo neutro: 0.025 gr/L</p> <p>Agar-agar: 12 gr/L</p>	<p>Disolver 60 gramos en un litro de agua destilada y calentar hasta disolver completamente.</p> <p>No Autoclavar. Enfriar y verter en placas Petri.</p>

8. Agar TSI

Composición	Preparación
Mezcla de Peptona: 18 gr/L Extracto de Levadura: 3 gr/L Extracto de carne: 4 gr/L Lactosa: 10gr/L Tiosulfato de Sodio: 0.3 gr/L Agar: 12 gr/L	Disolver 65 gramos en un litro de agua destilada calentar con agitación frecuente hasta disolver. Distribuir en tubos y esterilizar en Autoclave a 121 °C por 15 minutos. Enfriar y solidificar en posición inclinada (pico de flauta).

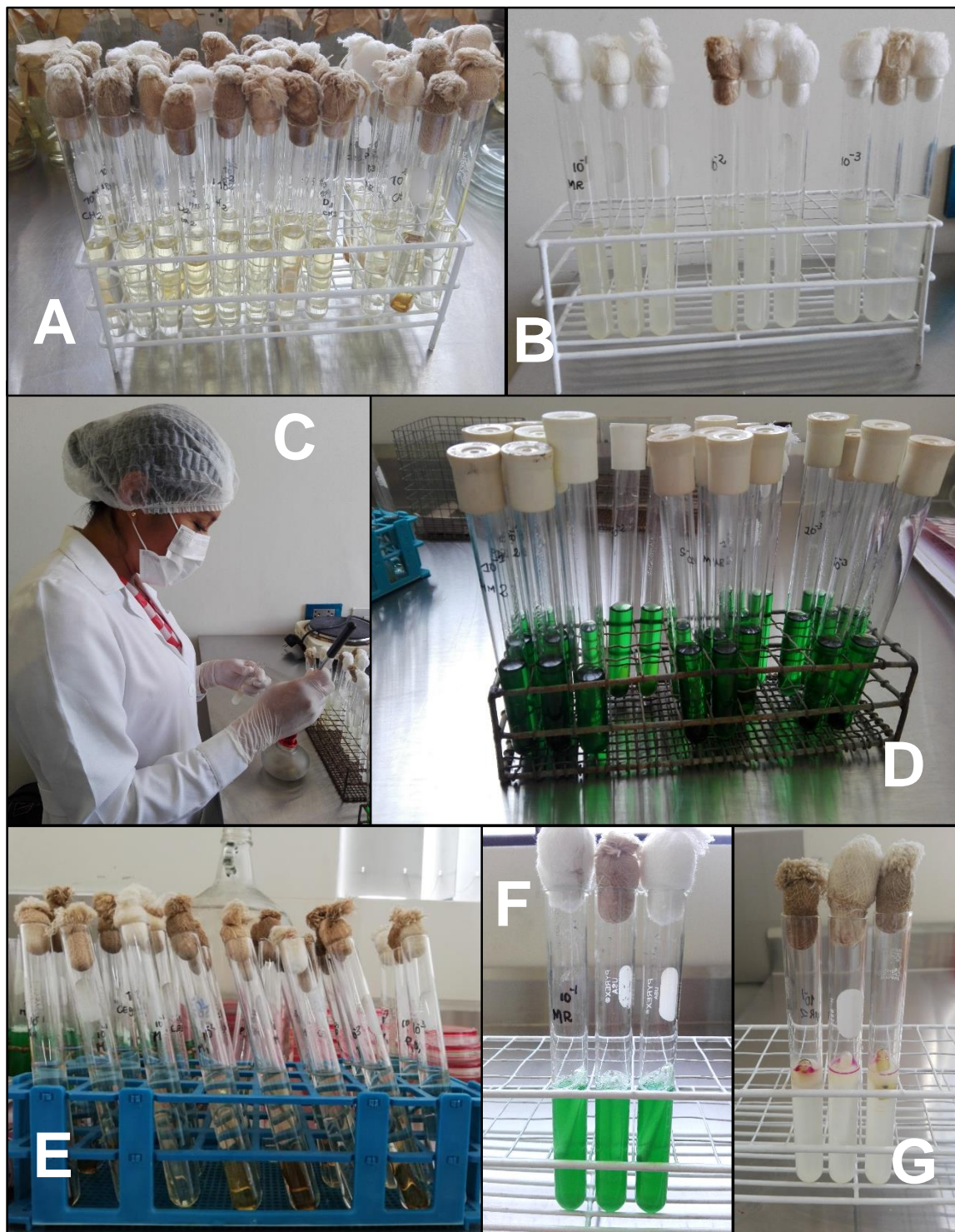
9. Agar LIA

Composición	Preparación
Mezcla de Peptona: 5 gr/L Extracto de levadura: 3 gr/L Dextrosa: 1 gr/L Lisina: 10 gr/L Agar: 15 gr/L Citrato de Amonio férrico: 0.5 gr/L	Disolver 34.5 gramos en un litro de agua destilada, y calentar con agitación frecuente hasta disolver totalmente. Distribuir en tubos y esterilizar en Autoclave a 121 °C por 15 minutos. Finalmente enfriar y solidificar en posición inclinada (pico de flauta).

Tabla N° 1. Para 3 tubos cada uno 0.1, 0.01 y 0.001 gramos de inculo, los NMPs por gramo y 95% de intervalo de confianza

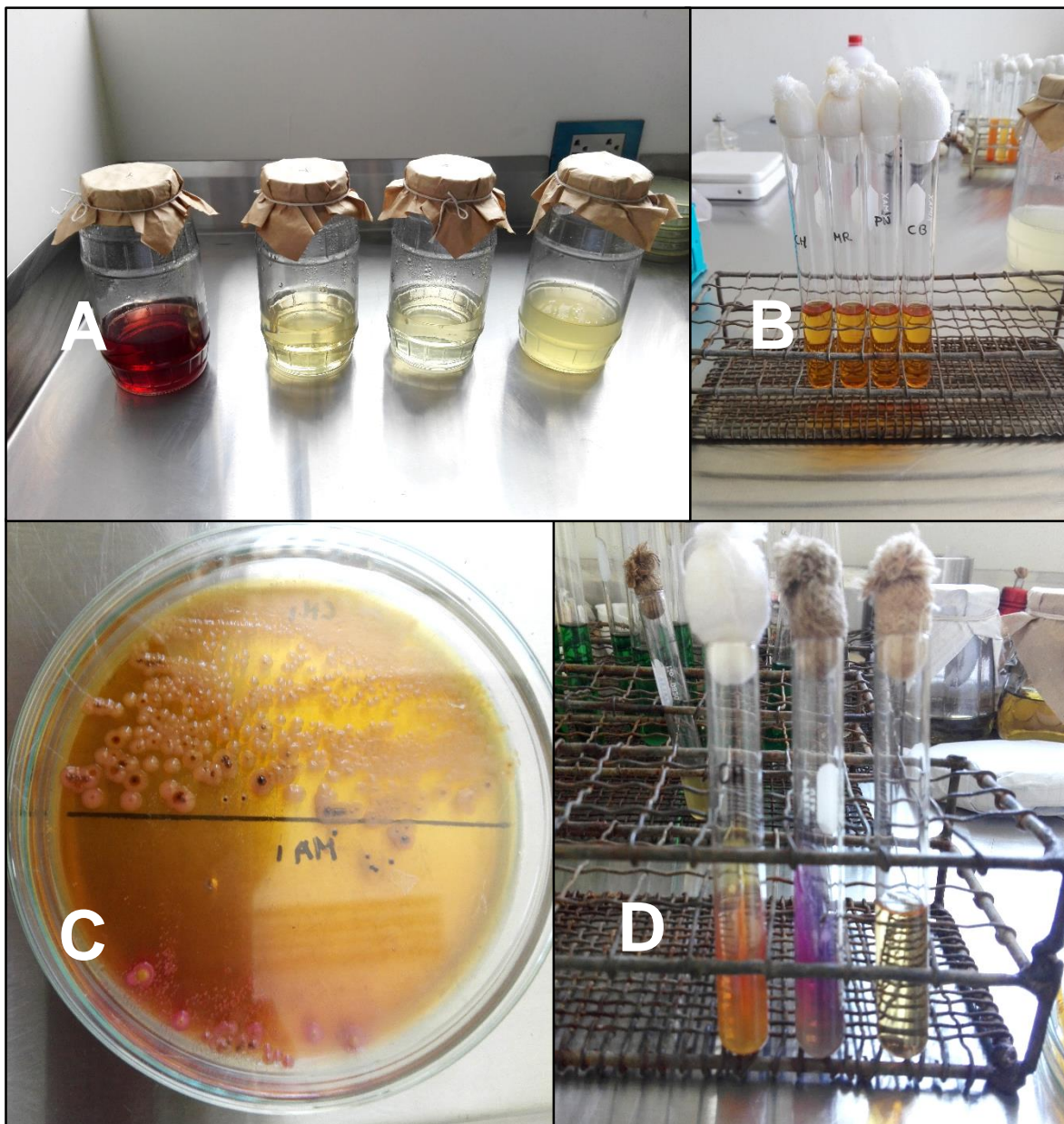
Pos. tubos			NMP/g	Conf. lim.		Pos. tubos			NMP/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	<3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	--

ANEXO 11: Determinación de coliformes totales y *E. coli*. Método de tubos múltiples de fermentación.



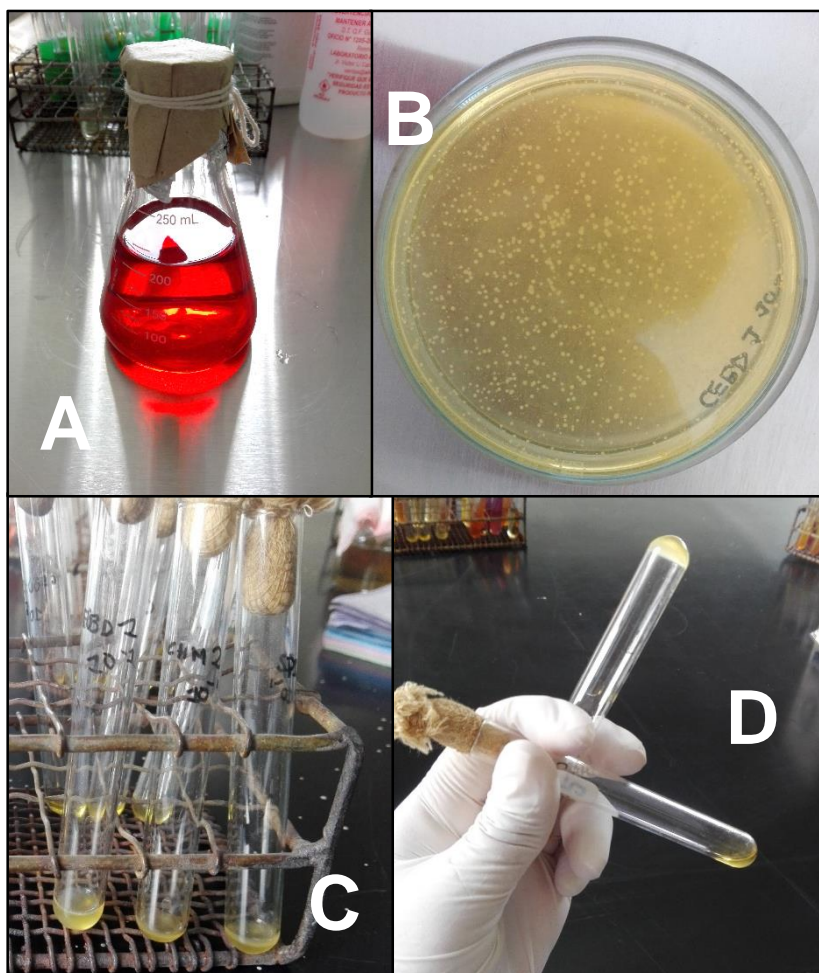
A. Caldo Lauril sulfato **B.y C.** Inoculación **D.** Prueba confirmatoria **E.** Caldo EC **F.** Tubos positivos para prueba confirmatoria en caldo Brila **G.** Tubos positivos en caldo EC para identificación de *E. coli*.

ANEXO 12: Determinación de *Salmonella* sp.



A. Cultivo de las muestras en agua peptonada **B.** Muestras cultivadas en Caldo Selenito Cistina **C.** Cultivo en agar *Salmonella-Shigella* **D.** Pruebas Bioquímicas (TSI, LIA e indol)

ANEXO 13: Determinación de *Staphylococcus Aureus*



A. Agar manitol salado para la determinación de *Staphylococcus aureus* **B.** Colonias típicas de *Staphylococcus aureus* **C y D.** Prueba de la coagulasa.

ANEXO 14: Puestos de venta en la Av. Independencia en el tramo comprendido entre la calle Paucarpata y la calle La Salle.



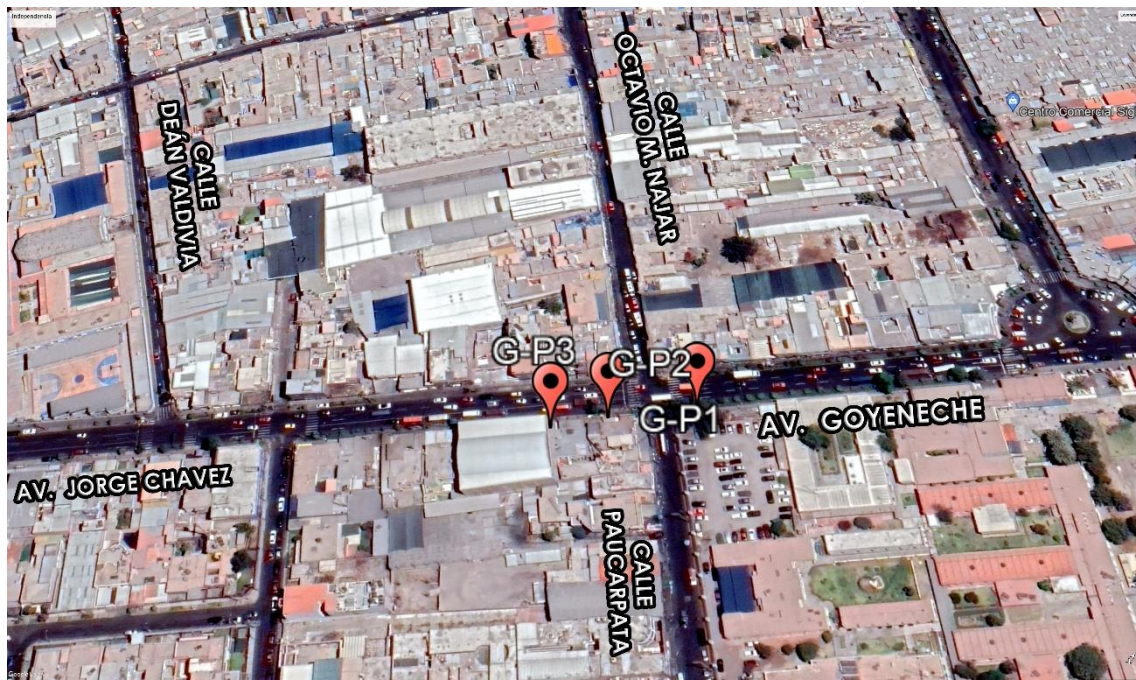
Fuente: Google earth

ANEXO 15: Puestos de venta en la Av. Independencia en el tramo comprendido entre la calle Víctor Lira y la calle Paucarpata.



Fuente: Google earth

ANEXO 16: Puestos de venta en la Av. Goyeneche en la intersección con la calle Paucarpata.



Fuente: Google earth

ANEXO 17: Puestos de venta en la Av. Salaverry en la intersección con la Av. San Juan de Dios.



Fuente: Google earth

ANEXO 18: Puestos de venta en la calle Victor Lira en la intersección con la Av. Jorge Chávez.



Fuente: Google earth