

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO

“FRANKLIN ROOSEVELT”

RESOLUCIÓN N° 517-2010-CONAFU

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



TESIS

**“DETERMINACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN PIE DE MANZANA DE
VENTA EN EL CERCADO DE LIMA”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por:

Bachiller: Nataly Roxana Saira Amesquita
Bachiller: Karina Celestina De la Cruz Chuquicaja

ASESORA:

Mg. Minaya Galarreta, Angélica Karina Florentino

HUANCAYO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Dedico mi tesis a Dios en primer lugar por permitirme culminar con éxito esta carrera anhelada, por darme mucha fuerza y salud en todo momento.

A mis padres por su apoyo incondicional por ser ejemplos de vida y por aconsejarme a ser siempre una mejor persona y lograr cumplir mis metas trazadas.

A mi hijo Jeremy López para que se sienta orgulloso de mi y ser un ejemplo para él en su vida diaria.

De La Cruz Chuquicaja Karina Celestina.

Dedicarle a Dios por darme salud, fortaleza en todo momento de mi vida, por permitirme culminar mi carrera profesional con éxito.

A mis padres por su apoyo moral y sabios consejos para seguir adelante y culminar mis estudios profesionales.

A mi asesora Angélica Minaya por su apoyo en realizar mi tesis.

Saira Amesquita Nataly Roxana

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios en primer lugar que nos guía y protege todos los días de nuestras vidas.

Queremos agradecer en todo momento a nuestros padres, por su apoyo incondicional que nos brindaron en nuestros proyectos a lo largo de toda nuestra carrera profesional y en todas las metas trazadas en la vida.

Gracias por ser ejemplos de perseverancia para así lograr conseguir nuestra meta anhelada.

A nuestra asesora Angélica Minaya por su apoyo y guía en el desarrollo de mi trabajo de investigación.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la presencia de enterobacterias en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, específicamente de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*. El tipo de estudio fue cuasi experimental, transversal, in vitro, aplicada, debido a la utilización de conocimientos previos para explicar las posibles fuentes de contaminación microbiana por enterobacterias en alimentos expendidos de forma ambulatoria. Estudio descriptivo comparativo correlacional: porque se midió las características de las variables en estudio (venta ambulatoria, enterobacterias en el pie de manzana). La recolección de la muestra se realizó en los puestos de venta ambulatoria previamente inspeccionado, se colectaron las muestras de Pie de manzana, cada uno con un peso total en g. Las muestras fueron colectadas asépticamente en una nevera portátil, cada muestra fue colocada en una bolsa herméticamente cerrada como medida adicional para evitar la contaminación cruzada entre las mismas. Como resultados se logró detectar mediante los resultados que el 40% de las muestras procesadas presentan enterobacterias en la elaboración y venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, encontrando una cantidad máxima de 360 UFC/g y una mínima de 105 UFC/g en el recuento de la muestra. Se determinó que no existe presencia de *Salmonella spp*, no se observan presencias de *Salmonella spp* en ninguna de las muestras. Finalmente se determinó la presencia de *Escherichia coli* en el 40% de las muestras provenientes de los vendedores las cuales tuvieron un valor máximo de 305 UFC/g y un mínimo de 245 UFC/g respectivamente.

Palabras clave: Pie de manzana, enterobacterias, *Salmonella spp*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

The main objective of this investigation was to determine the presence of enterobacteria in the sale of apple pie in the district of Cercado de Lima, specifically *Salmonella spp* and *Escherichia coli*. The type of study was quasi-experimental, cross-sectional, in vitro, applied, due to the use of previous knowledge to explain the possible sources of microbial contamination by enterobacteria in foods dispensed on an outpatient basis. Comparative descriptive correlational study: because the characteristics of the variables under study (ambulatory development and sale, enterobacteria in apple pie) were measured. The sample was collected at the outpatient stalls previously inspected, the Apple Pie samples were collected, each with a total weight in g. The samples were collected aseptically in cooler, each sample was placed in a bag hermetically sealed as an additional measure to avoid cross contamination between them. As a result, it was possible to detect by means of the results that 40% of the processed samples present enterobacteria in the elaboration and ambulatory sale of apple pie in the district of Cercado de Lima, finding a maximum amount of 360 CFU / g and a minimum of 105 CFU / g in the sample count. It was determined that there is no presence of *Salmonella spp*, no presence of *Salmonella spp* is observed in any of the samples. Finally, the presence of *Escherichia coli* was determined in 40% of samples from vendors which had a maximum value of 305 CFU / g and a minimum of 245 CFU / g respectively.

Keywords: Apple pie, enterobacteria, *Salmonella spp*, *Escherichia coli*

ÍNDICE

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Resumen	
I. INTRODUCCIÓN	01
I. MÉTODO	18
2.1 Tipo y diseño de investigación	18
2.2 Operacionalización de las variables	19
2.3 Población, muestra y muestreo	19
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.	21
2.5 Procedimiento	22
2.6 Método de análisis de datos	32
2.7 Aspectos éticos	32
I. RESULTADOS	33
7. DISCUSIÓN	39
7. CONCLUSIONES	44
I. RECOMENDACIONES	45
REFERENCIAS	46
ANEXOS	52

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son causadas por la ingesta de alimentos contaminados por microorganismos o algún otro contaminante. Abarcan una gran gama de síntomas, la más vistas son asociadas a problemas gastrointestinales, y establecen un significativo problema en la salud pública, ya que no sólo causan problemas gastrointestinales, sino también, ocasionan síntomas neurológicos, ginecológicos, inmunológicos u otros, que pueden llevar al paciente a un estado de salud grave o incluso producirle la muerte.¹

En frutas la mayoría de bacterias son del grupo gram-negativas y pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, en general estas bacterias no son patógenas para el ser humano. Es probable hallar concentraciones elevadas de microorganismos sin que el alimento muestre rasgos de alteraciones, en las frutas y hortalizas sus tejidos internos se estima que son estériles. La presencia de enterobacterias en el organismo procedente de los alimentos puede causar la aparición de infecciones, que la gravedad de cada una de ellas dependerá de la patología o de la virulencia de la especie en cuestión y características del hospedador. Las enterobacterias incluyen organismos que resultan patógenos para el ser humano como la *Escherichia coli* o la *Salmonella spp*, especialmente importantes en la mortalidad infantil en países en desarrollo.

La comercialización de productos alimentarios en la vía pública es una particular actividad que cubre una gran importancia sanitaria, económica y sociocultural, primordialmente en sectores urbanos de las ciudades de África, Asia, América Latina y el Caribe. Esta ocupación es de mucha importancia para conseguir ingresos, debido a que los alimentos que se comercializan de manera ambulatoria son de costo reducido, y

además tienen gran demanda, a menudo, es de gran consumo por personas adultas y niños.²

Determinadas enfermedades se estima que son emergentes debido a que son muy notorias, ya que van ocurriendo en el presente con mayor continuidad ocasionando brotes en diferentes países. Entre estas, se encuentran: *Campylobacter spp.*, *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*, que están en considerable aumento.³

En países en desarrollo se han realizado estudios que evidencian que hasta el 20-25% de gastos en el consumo de alimentos se realiza fuera de casa, y algunas depende mucho de la comida callejera, esto nos lleva a deducir que la inocuidad y adecuada fabricación de los alimentos es un motivo de primordial preocupación en el caso de alimentos de venta callejera. La contaminación de alimentos por bacterias enterotoxigénicas representa un problema de salud pública por el riesgo de intoxicación alimentaria. Estas bacterias contaminan muchos alimentos ya sea durante su procesamiento, almacenamiento o expendio de estos. Los síntomas de la intoxicación son dolor abdominal, vómitos, náuseas, diarrea.⁴

En el Perú, el Sistema de Vigilancia Epidemiológica, entre los años 2010 al 2012 ha reportado un promedio de 35 brotes de ETAs (enfermedades transmitidas por alimentos) por año; el total de personas afectadas fueron 2800, y el 51% de los brotes reportados tuvieron entre 10 a 50 afectados en promedio.⁵

El aumento de la población y el tránsito masivo de personas, en conjuntos con la manifestación de nuevos alimentos e ingredientes (basadas en especial en la comida rápida), son determinadas causas que favorecen el aumento del porcentaje de personas que han manifestado una ETA en Lima Metropolitana, como la aparición de nuevas enfermedades alimentarias. La realidad problemática descrita anteriormente conlleva a la necesidad de dar entendimiento sobre los casos de contaminación en los alimentos

expendidos de forma ambulatoria, tal es el caso del distrito de Cercado de Lima ubicado en Lima Metropolitana, en dicho distrito se expende de forma ambulatoria pie de manzana como postre típico a los consumidores sin tener en cuenta las medidas de seguridad alimentaria establecidos por DIGESA para el control y prevención de las intoxicaciones e infecciones alimentarias. Dicha población está expuesta a tal peligro lo que hace necesario el desarrollo de un estudio de investigación.

La generalización ha conllevado al aumento de problemas en la salud, ya que el aumento de la población en conjunto con el consumo de los alimentos aumenta la comercialización de esta, a ello se añade, que las enfermedades se esparcen con facilidad y de no tener un plan de vigilancia necesarias para el control, hacen que aumente el número de personas afectadas.⁶ Es lógico creer que la pureza microbiológica del alimento sea total con los tratamientos existentes en la actualidad, ya que no se garantiza la inocuidad de estos. Debido a que llegan a ocurrir una recontaminación, para ello se debe tener un buen sistema de higiene en el proceso de elaboración de estos alimentos y la aplicación vigilada del sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) a lo largo de la cadena alimentaria.⁷

Aquellos alimentos de venta ambulatoria pueden estar contaminados, ya que no lo preparan con una adecuada higiene e incluso las comensales suelen ingerir los alimentos con las manos sucias, esto puede incidir a enfermedades infecciosas, posiblemente por una mala práctica de lavado de manos o el uso de utensilios con una limpieza ineficaz.³ Los inconvenientes de la seguridad alimentaria están en constante renovación, debido a la manifestación de agentes infecciosos naciotes, como también por cambios en su forma de vivir, en su nivel monetario y en la edad de la población.⁸

El problema general es: ¿Cuál será frecuencia de enterobacterias en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020?; así mismo, los problemas específicos son:

- a) ¿Cuál será el porcentaje de *Salmonella spp* en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima?
- b) ¿Cuál será el porcentaje de *Escherichia coli* en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima?

El presente estudio tuvo como finalidad conocer la frecuencia de la presencia de enterobacterias en un postre frecuentemente consumido en Lima Metropolitana, con la finalidad de diagnosticar el grado de salubridad en la que estos productos son elaborados y dispensados.

El objetivo general fue determinar la frecuencia de enterobacterias en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020. Los objetivos específicos son:

1. Cuantificar el porcentaje de *Salmonella spp* en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima.
2. Cuantificar el porcentaje de *Escherichia coli* en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima.

La delimitación espacial de la presente investigación fue el Distrito de Cercado de Lima, en cuanto a la delimitación temporal se desarrolló en el período de abril a junio del 2020, la delimitación social estuvo conformada por personas que venden pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima y la delimitación conceptual está delimitada por la presencia de enterobacterias en el mencionado postre.

La presente investigación se justificó teóricamente ya que sumó al marco teórico existente sobre la venta de alimentos en la ciudad el cual es considerado un problema de salud pública, pues se ha convertido en un causante de riesgo importante para la salud de todos sus consumidores, debido a las escasas y limitadas condiciones de higiene y aseo en la mayoría de los puestos de venta. La oferta de alimentos en mercados es

particularmente empleada por parte de algunos ciudadanos locales y extranjeros como un medio fundamental económico y laboral.

La presencia de enterobacterias es un ejemplo utilizado en un amplio margen de productos comestibles para determinar la calidad microbiológica de los elementos mercantilizados para consumo humano. En los últimos 15 años han demostrado que es relevante hacer estudios de este tema, la Food and Agriculture Organization (FAO) ha auspiciado a reuniones de expertos para analizar la gravedad del problema. En América Latina han confirmado que la totalidad de vendedores no tienen en consideración un sistema adecuado de suministro de agua y materias primas de buena procedencia además de no utilizar en su mayoría las buenas prácticas de manipulación e higiene.³

El procedimiento experimental del presente estudio se justifica ya que tiene como base un estudio realizado en el Perú, donde menciona que las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) representaron hasta 1990 el 35% del total de enfermedades transmisibles notificadas; debido a la presencia del brote de cólera, en 1991, el porcentaje de ETA se remontó a 56%. Durante el periodo 1993-1995 se desarrolló el proyecto “Protección de los alimentos en el expendio de la vía pública, restaurantes y similares del Perú” ejecutado por la Dirección de Salud Ambiental (DIGESA), con la contribución del gobierno de Suecia y de la OPS/OMS, aplicado a las ciudades que tuvieron mayor incidencia de cólera como Lima (La Victoria), Callao, Iquitos y Cusco, por lo que los análisis experimentales ayudaran a esclarecer una problemática de contaminación microbiológica alimentaria del uso de carne molido y queso fresco expandido en el distrito de Cercado de Lima, donde la población podría estar sufriendo de un riesgo microbiológico por la ingestión de alimentos preparados con estos productos con enterobacterias lo que les puede causar gastroenteritis y disentería bacilar.²

La presencia de bacterias es un indicio que predomina en un extenso margen de alimentos, además nos ayudará a delimitar la calidad microbiológica, los alimentos que se venden en los mercados populosos no cuentan con análisis de calidad que aseguren que sean inocuos.

Según De Oliveira W. y col. en el 2018, realizaron un artículo científico en Bolivia acerca de la determinación cualitativa de grupo de bacterias en refrescos hervidos en el Municipio de Colcapirhua. Este trabajo tuvo como finalidad verificar la presencia de las bacterias Gram-negativas; comercializado en el mercado central en el municipio de Colcapirhua; para ello se llegó a tomar 13 muestras en forma aleatoria, el refresco fue llevado al laboratorio de los cuales se tomaron 1 ml de la muestra y colocados en 40 placas petri estériles añadiéndoles el agar EMB; luego se colocó en la estufa a temperatura ambiente para la proliferación y se compararon con la muestra original de colonia. se llegaron a conclusión de que no hubo resultado positivo en 7 muestras peros se encontraron bacterias Gram- negativas; pero en una muestra salió positivo con tres cruces; al finalizar el trabajo se recomiendo un trato más higiénico en los alimentos o bebidas que van en directo al consumo humano para evitar una contaminación.⁹

En el estudio realizado por Armando C. y col. en el 2017, determinaron la presencia de *Salmonella spp.* en huevos de gallina de traspatio comercializados en la ciudad de Loja, comercializados en las principales ferias libres de la ciudad, a través del sistema " 3M Petrifilm Salmonella Express ". En total se analizaron 216 huevos aleatoriamente; se utilizó el paquete EpiR del programa estadístico Sas Universidad Edición 2016, obteniéndose una prevalencia de 0 %, e intervalo de confianza de 0 a 6,02 % por cada 18 muestras analizadas y de 0 %, e IC de 0 a 1,65% en 72 muestras, un peso del manejo sanitario deficiente de los nidales, almacenamiento, manipulación, transporte y venta de los huevos resultando perjudiciales en la calidad de los mismos e incluso produciendo problemas en la salud pública, se llegó a la conclusión que en ninguna de las muestras analizadas existía la presencia de *Salmonella spp.*¹⁰

Según Campuzano S. y col. en el 2015, realizaron un artículo científico titulado ‘‘Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá, DC’’. Tuvieron como objetivo evaluar los alimentos de venta en puestos ambulatorios a las afueras de la Universidad Nacional de Colombia y la Universidad Pedagógica Nacional. Se tomaron como muestra pizza, jugo de naranja, arepas, fritangas, hamburguesa, piña, postre, ensalada de frutas. Para el análisis de microorganismos aerobios, mesófilos, mohos y levaduras se utilizó el método de recuento en placa, en tanto para la determinación de coliformes totales y fecales se utilizó la técnica de tubos de fermentación múltiple del número más probable; como resultados se obtuvo que a todos los establecimientos públicos les falta las buenas prácticas de manufactura; por tal motivo no tienen un buen manejo con los alimentos y trayendo consigo diversos problemas de salubridad. ¹¹

Rodríguez J. y col. en el 2014, en Colombia, realizaron un estudio acerca de la calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja. Este trabajo tuvo como finalidad el analizar la calidad de quesos que se venden en las plazas de dicho país; para ello se toman 50 muestras (queso) de un peso 100g cada uno llevándolos analizar para hallar los coliformes totales con el método de cultivo en Petrifilm, reportando en los resultados coliformes totales mayores a los normales; se pudo notar la equivocada manipulación del producto ya que se notaron humedad superior al permitido además de conseguir la presencia de *Escherichia coli* ; trayendo consigo enfermedades diarreicas. ¹²

En un estudio realizado por Camargo M. determinó bacteriológica la calidad del agua de consumo humano, regadío y bebida de animales en el Distrito de Majes, Provincia de Caylloma, Departamento de Arequipa, en el periodo de abril - mayo 2017’’. El objetivo fue determinar la calidad bacteriológica del agua de consumo humano, regadío y bebida de animales por medio de la presencia de microorganismos

indicadores; coliformes totales, coliformes termo-tolerantes o fecales y bacterias heterótrofas en agua potable y agua cruda. Se recolectaron 135 muestras de agua, 108 de agua cruda y 27 de agua potable. Se determinó el recuento de bacterias heterótrofas en agua potable. También se determinó el número de bacterias coliformes totales y fecales. Los parámetros fisicoquímicos cloro residual, T° y pH no superaron ninguno de límites máximos permisibles. Se identificaron 7 especies de enterobacterias en los puntos de muestreo de agua sin tratar, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter diversus* y *Citrobacter freundii*.¹³

Según Vásquez J. y col. en el 2018, realizaron un trabajo acerca de la evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco. Tuvieron como objetivo evaluar la cantidad de enterobacterias presentes en las muestras además del tipo de enterobacterias, tuvieron un punto preciso a evaluar y estos son los mercados importantes de los distritos de Amarilis y Pillcomarca de dicho departamento, tomándose un total de 49 muestras entre pescados y mariscos. Se obtuvo el siguiente resultado *Escherichia coli*, se identificó con un promedio de 208, 880 UFC, y *Staphilococcus aureus* con 259, 120 UFC. Las muestras del Mercado Central fueron las más contaminadas con *E. coli*, y las del Mercadillo Don Pedrito las más contaminadas con *S. aureus*; asimismo, las muestras de mariscos estuvieron más contaminadas que las de pescado que la carne de pescado y los mariscos expendidos en los mercados de Huánuco están contaminados con los microorganismos *E. coli* y *S. aureus*; y por la forma de expendio de estos productos, son potencial riesgo para la salud pública.¹⁴

Magaly M. y Román M. estudiaron la frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista “La Parada”. El objetivo fue determinar la frecuencia de enterobacterias en estos alimentos. Los alimentos expendidos con alta contaminación; a consecuencia de diversos factores como

inadecuada manipulación en las diversas etapas, convierten a los lácteos como el queso fresco, derivados cárnicos como carne molida y frutas rastreras como fresas; en alimentos de alto riesgo, asociados a brotes epidémicos de diarrea. Entre los patógenos que pueden ser transportados por alimentos se encuentran las enterobacterias del género *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Shigella boydii* entre las más frecuente.¹⁵

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's); según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define como “el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (por ejemplo, bacterias o parásitos) o no biológicos (por ejemplo, plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afecten a la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas”. La manifestación de una ETA ocurre cuando dos o más personas tienen una enfermedad similar después de consumir el mismo alimento y las pruebas epidemiológicas o de laboratorio lo indican como la fuente de este malestar. Por lo tanto, las ETA's se deben a la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos o productos químicos. Las enfermedades transmitidas por los alimentos cubren una amplia gama de malestares y es un problema de salud pública cada vez mayor en todo el mundo. La OMS menciona que siguen siendo el problema de salud pública más extendido. La contaminación de los alimentos puede ocurrir en cualquier etapa del proceso, desde la fabricación hasta el producto final que será consumido por los comensales (“de la granja a la mesa”), y también puede deberse a la contaminación ambiental, que ya sea de origen acuático, terrestre o aéreo. Las enfermedades transmitidas por los alimentos consisten en la aparición de síntomas gastrointestinales, pero estas enfermedades también pueden causar síntomas neurológicos, ginecológicos, inmunológicos y de otro tipo. La ingestión de alimentos contaminados puede provocar falla multiorgánica; incluso el Cáncer, por lo que representa una gran carga de discapacidad, así como de mortalidad.¹

La seguridad alimentaria se está volviendo cada vez más importante en el campo de la salud pública y, como resultado, todos los gobiernos están redoblando sus esfuerzos para adaptarse a la amplia variabilidad de los peligros existentes. Las enfermedades transmitidas por los alimentos contaminados con bacterias patógenas son una preocupación importante para la seguridad alimentaria en todo el mundo. La intoxicación alimentaria particularmente las enfermedades diarreicas, es una causa importante de mortalidad. ¹⁶

La calidad sanitaria garantiza que los productos sean aptos para el consumo humano. La seguridad concierne a los productos alimenticios, cosméticos, farmacéuticos y fitosanitarios, que deben cumplir sus funciones específicas para las cuales fueron creados, libres de cualquier tipo de contaminación. ¹⁶

La higiene de los alimentos incluye la prevención y las medidas necesarias en la preparación, manipulación, almacenamiento y expendio de alimentos para garantizar productos seguros, saludables y adecuados para los consumidores. Para ser efectivo, debe cubrir todas las etapas de producción, desde obtener la materia prima hasta las diferentes etapas de procesamiento y entrega del artículo preparado, para llegar al consumidor. Por lo tanto, los dos problemas principales por los cuales la higiene alimentaria protege al consumidor son tanto el aseguramiento de la calidad como la prevención de la modificación sanitaria. ¹⁶

La falta de higiene de los manipuladores también propicia la contaminación de los alimentos, por tanto, constituyen otro factor de peligro; abordando la higiene de los manipuladores en capítulo aparte. Los tratamientos de conservación de los productos alimenticios hacen posible que exista una gran variedad y disponibilidad en su oferta; si bien los procedimientos de conservación aplicados han de ajustarse a criterios legales, técnicos y científicos. ¹⁸

Las frutas y hortalizas están expuestas a microorganismos durante el proceso de producción, en entornos agrícolas, y luego durante la manipulación, siendo más preciso en contacto con el suelo, agua de riego contaminado y animales o personas que transporten o manipulen estos alimentos. En el Codex Alimentarius contiene medidas para prevenir y controlar los peligros de la contaminación mediante la aplicación de las Buenas Prácticas Agrícolas, Buenas Prácticas de Higiene y Buenas Prácticas de Manufactura o Fabricación, definiendo como contaminación la «introducción o presencia de un contaminante en los alimentos o en el medio ambiente alimentario». También interviene el sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC) que garantiza la seguridad alimentaria a través de un enfoque preventivo, también identifica, evalúa y controla riesgos significativos para la seguridad alimentaria.

19

Entre los microorganismos patógenos presentes en frutas y hortalizas encontramos bacterias como la *Salmonella typhi*, *Clostridium sp.*, *Escherichia coli*, entre otras. Un ejemplo de bacterias desarrolladas en alimentos consumidos crudos es la *Salmonella typhi* transmitida a través de la ingesta de agua contaminada o de alimentos que se riegan o lavan con agua infectada, más común en países subdesarrollados, pero aun así no dejamos de estar expuestos si hay una mala higiene. Esta bacteria es la causante de la fiebre tifoidea provocando signos y síntomas como la fiebre, cefalea, diarrea, manchas rosadas, dolor abdominal, náuseas y vómitos. Las podemos encontrar en frutas y hortalizas no ácidas como el plátano, manzana madura, lechuga, en las más ácidas es difícil que se desarrollen.¹⁹

Los Principios Generales de Higiene de los Alimentos del Codex Alimentarius constituyen una firme base para garantizar la higiene de los alimentos, haciendo hincapié en los controles esenciales en cada fase de la cadena alimentaria y recomendando la aplicación del sistema de análisis de riesgos y de los puntos críticos de control (HACCP) siempre que sea posible para potenciar la inocuidad de los alimentos. El sistema HACCP permite determinar riesgos concretos y adoptar medidas preventivas

para evitarlos. Es un sistema de gestión de la inocuidad de los alimentos basado en el control de los puntos críticos en la manipulación de los alimentos para prevenir problemas al respecto, ya que propicia un uso más eficaz de los recursos y una respuesta más oportuna a tales problemas. El sistema de HACCP facilita la inspección por parte de las autoridades encargadas de regular el control de los alimentos y favorece el comercio internacional al aumentar la confianza de los compradores en la inocuidad de los alimentos.²⁰

La importancia del sistema de HACCP en el control de los alimentos, la FAO insiste en la necesidad de capacitación para aplicar el mismo. Una correcta interpretación de la terminología y de los criterios de aplicación del sistema de HACCP facilitará su adopción y se traducirá en un enfoque armonizado de la inocuidad de los alimentos en todo el mundo. En muchos países, el sistema de HACCP se está incorporando en los mecanismos de regulación, por lo que su aplicación a los alimentos importados podría llegar a ser un requisito obligatorio. Es urgente ofrecer aclaraciones en cuanto a dicha aplicación.²⁰

El examen microbiológico del procesamiento de alimentos nos dará productos seguros con una vida comercial adecuada y un costo razonable, pero aún, a pesar la extensa información existente; la confianza en la seguridad todavía está muy lejos. En los países del tercer mundo se evitaría una garantía adecuada de la calidad microbiológica si se redujera al 30% de la fabricación, incluso en países industrializados. El primer indicativo de garantía de calidad microbiológica sucedió en la década de los años 20 donde el sistema se utilizó para una estructuración química adecuada y resistencia a los alimentos, así por ejemplo en los alimentos la distribución de los microorganismos es irregular, además el desarrollo bacteriano de encuentra influenciado por diferentes factores lo que hace muy difícil el pronóstico del estado microbiológico de los alimentos antes de la ingestión, lo que determinó el uso de una técnica de intervención retrospectiva, es decir un examen del producto final,

posiblemente discontinuada. A pesar de que muchas veces los alimentos son procesados de manera adecuada para conseguir su inocuidad y que mantienen sus propiedades organolépticas, la integridad de estos no estimula la confianza en la población. "La propiedad de los alimentos de que son seguros para el consumidor, nutritivos en todas sus potencialidades intrínsecas y organolépticamente atractivos, se denomina a menudo integridad". Muchas personas perciben que estos productos han sido despojados de sus características legítimas, por lo que la ciencia de los alimentos debe poner un mayor fuerza en el concepto de aceptabilidad, tratando que los alimentos que sean producidos conserven el valor nutritivo y las características organolépticas propias del alimento además de asegurar la calidad de este.²¹

Las toxiinfecciones y las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), comprenden un amplio grupo de enfermedades causadas por bacterias patógenas, parásitos, contaminantes químicos y biotoxinas; además de las reacciones individuales del cuerpo humano a los microorganismos.²² Las ETAs constituyen un gran problema mundial, tanto en lo referente al perjuicio para las personas, como a los costes económicos que originan, pues pueden dañar el comercio y el turismo, y conducir a la pérdida de ganancias, al desempleo y a demandas legales. Por lo tanto, un control eficaz de la higiene es de vital importancia para evitar las consecuencias adversas a la salud humana y a la economía según el Codex Alimentarius del 2003, y los programas de control de calidad microbiológica son cada vez más aplicados a lo largo de la producción de la cadena alimentaria para reducir al mínimo el riesgo de infecciones para el consumidor. Consecuentemente, la disponibilidad de sistemas de prueba aceptados y rápidos para detectar la presencia o ausencia, o incluso el grado de contaminación de patógenos, se ha vuelto cada vez más importante para la industria alimentaria.²³

Enterobacteriácea, son bacilos gram-negativos que crecen en condiciones aeróbicas o anaeróbicas, comprende ocho géneros de interés: *Escherichia sp*,

Salmonella sp, *Shigella sp*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp*, *Yersinia sp* y *Erwinia sp*. En el género *Escherichia* solo hay una especie *E. coli*, esta aparece exclusivamente y en gran número en las heces, por lo que se ha descrito como coliforme fecal. Es importante como un indicador de contaminación fecal. Géneros como *Enterobacter* se describen como coliformes debido a que presentan propiedades comunes con *Escherichia coli*. *Salmonella* comprende casi 2000 serotipos distintos, siendo un agente importante de toxii infecciones alimentarias, las especies de *shigella* son muy parecidas a las de *salmonella*, con la única diferencia que las primeras son inmóviles y las segundas predominantemente móviles. Las especies de *shigella* también provocan enfermedades en el hombre. Las especies de *Yersinia* no están relacionados con enfermedades alimentarias, a excepción de una especie *Yersinia enterocolitica* que origina toxinas en infecciones alimentarias. Los géneros *Serratia*, *Proteus* y *Erwinia* están a veces implicados en toxii infecciones alimentarias.²⁴

En pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos (incluidos pacientes alcohólicos y diabéticos), especialmente en pacientes que reciben tratamiento con antibióticos, hay colonización enterobacteriana, además del tracto gastrointestinal, orofaringe, sistema genitourinario y piel. La infección con estas bacterias es común en estos contactos. La proporción de aislamientos resistentes a múltiples antibacterianos, incluidos los que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE), ha aumentado de manera constante, de modo que la mayoría de los aislamientos hospitalarios, así como muchos aislamientos en la comunidad, ahora son resistentes a distintas clases de antibacterianos. Varios factores han contribuido al aumento de las infecciones por enterobacterias en nuestros hospitales: el uso de técnicas agresivas de diagnóstico y terapéuticas (catéteres intravenosos, endoscopias, intervenciones), el uso de medicamentos inmunosupresores potentes y estadías prolongadas en los hospitales, entre otros factores.²⁴

La bacteria *Escherichia coli* es una especie Gram-negativa que pertenece a la familia Enterobacteriácea; habitante común del tracto intestinal de los animales donde juega un papel importante manteniendo la fisiología intestinal. La clasificación da lugar a una subdivisión en seis grupos: cepas enteropatógenos (ECEP), cepas entero invasivas (ECEI), cepas enterotoxigénicas (ECET), cepas verotoxigénicas o enterohemorrágicas (ECEH), cepas enteroagregantes (ECEAg) y cepas difusamente adherentes (ECDA). Las cepas causantes de intoxicaciones alimentarias se diferencian en función de las propiedades virulentas, los mecanismos de patogenicidad, los síntomas y las características antigénicas. La cepa enterohemorrágica, *E. coli* es reconocido como un patógeno importante en los alimentos. La dosis infecciosa es muy baja y las secuelas de la gastroenteritis pueden incluir diarrea con sangre (colitis hemorrágica) y síndrome urémico hemolítico. Otro de los microorganismos estudiados con frecuencia con objeto de determinar las causas de su aparición en alimentos cárnicos es el *E. coli*, dada la virulencia del serotipo O157:H7.²⁴

Actualmente *Salmonella spp.* aparece como un serio riesgo de enfermedad alimentaria en el mundo entero según los datos obtenidos. Se registraron 82.694 casos confirmados de salmonelosis en personas de la Unión Europea en 2013, una ratio de 20 personas por cada 100.000 habitantes, con 59 fallecidos confirmados, representando la segunda enfermedad zoonótica en humanos más importante tras campylobacteriosis. Varios factores tales como la multiplicación en alimentos debido a inadecuadas temperaturas de almacenamiento, tratamiento térmico insuficiente o contaminación cruzada están a menudo implicados en los brotes de salmonelosis. La principal ruta de transmisión de este patógeno son los alimentos de origen animal contaminados con materia fecal, aunque el consumo de carne de animales infectados con el microorganismo puede ser ocasionalmente también una fuente del problema. La aparición de salmonella es debida a temperaturas de almacenamiento deficientes, tratamientos térmicos insuficientes o contaminación cruzada, además de la obvia procedencia a partir de contaminación fecal en alimentos de origen animal.²⁵

Es todo alimento de origen ambulatorio, a menudo de una cabina portátil o improvisada. Aunque algunas de estas comidas propias de la región, muchas no lo son, ya que se han desarrollado fuera de sus lugares de origen. Los alimentos vendidos en los mercados de producción también pueden incluirse en esta categoría, incluidos los exhibidos y vendidos en ferias agrícolas. La mayor parte de comidas callejeras son de fácil obtención a la vez que uno puede disfrutarlo sin la necesidad de unos utensilios. A menudo son más baratos que los que se ofrecen en restaurantes y supermercados. Según la Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación 2 500 millones de personas consumen alimentos en la calle todos los días. El pie de manzana es uno de los postres populares entre los comensales, siendo el ingrediente fundamental para este pastel las manzanas frescas y troceadas. Estos son aromatizados y macerados con azúcar y canela, luego envueltos en una masa y cocida hasta que todos los aromas, sabores de frutas y especias se mezclen para crear el postre sensacional e inolvidable que conocemos.²⁵

Los factores intrínsecos vinculados al desarrollo bacteriano en alimentos son: el pH, cada microorganismo tiene un pH óptimo, un mínimo y un máximo que permite su desarrollo, los valores óptimos de pH de los microorganismos varían según el contenido de nutrientes, etc.; los mohos y levaduras tienen una mayor resistencia a los ácidos que las bacterias; por lo tanto, los mohos crecen a valores de pH mucho más grandes que las levaduras y las bacterias. Las levaduras también crecen a pH ácido y no pueden crecer a un pH alcalino. El pH no solo influye en la rapidez de multiplicación de microorganismos en los alimentos, sino también en la cantidad que existe durante el almacenamiento, el tratamiento térmico, el secado, etc. Otro factor es la humedad, los microorganismos requieren agua para su subsistencia, su cantidad varía según el microorganismo, este requisito se llama actividad del agua, que se define como: la presión de vapor de la solución (sustancias disueltas en agua en la mayoría de los alimentos) entre la presión de vapor del solvente (generalmente agua) a la misma

temperatura la mayoría de las bacterias crecen hasta un valor de actividad del agua de aproximadamente 1, para ser valores más precisos entre 0.995 y 0.998, además de tener medios con bajas concentraciones de NaCl y de azúcares.²⁹

La hipótesis general es el siguiente: el pie de manzana vendido en el Mercado Central presenta enterobacterias. Y las hipótesis específicas son:

- a) Existe presencia de *Salmonella spp* en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020.
- b) Existe presencia de *Escherichia coli* en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y diseño de la investigación

- **Diseño**

En cuanto al diseño de investigación consistió en la recaudación de datos, por medio del análisis y anotación en una ficha de recolección de datos sobre las condiciones de venta del pie de manzana expandido en el Mercado Central y la toma de muestras del pie en el punto de muestreo, esta información fue comparada una con otra estableciéndose las semejanzas y diferencias entre las mismas.

La investigación propuesta tuvo un diseño cuasi experimental, en la cual no se manipularon las variables deliberadamente; es decir, fue un estudio que no varió premeditadamente las variables propuestas para observar su acción sobre la otra variable. El estudio tuvo como propósito evaluar la relación que existe entre dos o más conceptos, categorías o variables referentes a la contaminación alimentaria.

- **Tipo de investigación**

La investigación fue de tipo observacional, porque nos permitió organizar y analizar los resultados para así poder manifestar una idea para determinada situación y descriptivo porque la investigación ocurrió sin la participación del investigador para dar a conocer la relación que existe el cumplimiento de las buenas prácticas de prescripción (BPP) y de

- **Enfoque**

Fue una investigación cuantitativa, pues tendrá como fin comprobar las hipótesis con la medición numérica aplicando el análisis estadístico.

2.2. Operacionalización de las variables.

VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES
Enterobacterias en el pie de manzana	Presencia de enterobacterias	Valores microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella spp.</i>

2.3. Población de estudio.

- **Población.** Estuvo conformada por los pies de manzana identificados y vendidos en el distrito de Cercado de Lima.
- **Muestra.**
Para nuestro estudio se consideró a las muestras de pie de manzana identificados en las avenidas principales que conforman el distrito de Cercado de Lima.
- **Muestreo.** Se usó el cálculo del Muestreo Probabilístico Aleatorio Simple.

La presente investigación se basó en criterios de inclusión y exclusión, logrando identificar una significancia proporcional de los elementos muestrales, originado por el impedimento al abordar a los vendedores ambulantes, debido a su constante movilidad en la venta de los productos y la gran extensión del distrito donde se desarrolla el estudio, de esta

manera se hace uso del tipo de muestra no probabilística o dirigida que, según Hernández, et. al. (2014), este tipo de muestra se orienta a un “subgrupo de la población en la que la elección de los elementos no depende de la probabilidad, sino de las características de la investigación”.

Debido a este planteamiento se establecen los siguientes criterios, que permitirán seleccionar un número significativo de muestras:

Criterios de inclusión

- Las avenidas del distrito de Cercado de Lima con mayor afluencia peatonal.
- Las avenidas del distrito de Cercado de Lima donde se elaboran pies de manzana.
- Las avenidas del distrito de Cercado de Lima con por lo menos un vendedor ambulante de pie de manzana para que la avenida sea considerada parte de la población.
- Vendedor ambulante de pie de manzana encontrado al momento de visitar la avenida para la adquisición de la muestra.

Criterios de exclusión

- Las avenidas del distrito de Cercado de Lima con baja afluencia peatonal.
- Las avenidas del distrito de Cercado de Lima donde no se expenden pies de manzana.
- Los vendedores ambulantes de pie de manzana no encontrados al momento de visitar la avenida para la adquisición de la muestra.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- **Técnica de Recolección de datos**

Se utilizará la observación directa a los vendedores ambulantes, lo cual permitirá identificar las condiciones sanitarias de los ambulantes y fabricante en la manipulación de alimentos. Como técnica se utilizará la ficha de cotejo.

El recuento de enterobacterias, la numeración y detección tanto como de la *Escherichia coli* y de la *Salmonella spp.*, se realizará aplicando la metodología ICMSF.

- **Instrumentos de recolección de datos:**

GUIA NTS N° 071 MINSA/DIGESA V.01 (Resolución Ministerial N° 591- 2008/MINSA, 2008) y según el Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA). Ficha de cotejo (ANEXO N° 2)

2.5. Procedimiento

Materiales	
Refractómetro RHB-62/ATC	Contador de colonias
Mufla YAMATO/FO110CR	Estufa VENTICELL/MMM
Incubadora INCUCCELL/MMM	Placas Petri
Vaso de precipitado 250 y 500mL	Balones
Bureta 25mL	Gradillas
Probeta 100mL	Placas de vidrio
Papel filtro	Pinzas
Matraz	Tubos de ensayo 8 y 12mL
Pipetas 5 y 10mL	Soporte universal
Puntas para micropipeta de 20-200 pl. y 0.5-5mL	Cuchillo de acero inoxidable. Jarras
Micropipetas calibradas de 20-200 ut y 0.5-5mL	medidoras
Asá de Kohl	Frascos de vidrio
Espátulas	Tubos estériles con tapa rosca

Fuente: elaboración propia

Medios de cultivo:

Agua de peptona 1%
Agua peptonada
Bufferada Agar
MacConkey
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Fuente: elaboración propia

Recolección de la muestra:

De cada punto de venta ambulancia donde previamente se inspeccionó, se colectaron las muestras de Pie de manzana, cada uno con un peso total en g. Las muestras fueron colectadas asépticamente en una nevera portátil, cada muestra fue colocada en una bolsa herméticamente cerrada siendo esta una medida adicional con la finalidad de evitar una contaminación cruzada entre las muestras. Además, las muestras fueron rotuladas para que de esa forma se pueda reconocer y saber su origen al momento de realizar el ensayo. Las muestras fueron trasladadas en seguida hasta al laboratorio a una temperatura menor a 25°C.



Figura N°1: Recolección de la muestra

Fuente: Elaboración propia

Criterios de evaluación microbiológica:

- **Heterogeneidad de presencia de microorganismos**

Hace referencia a la evaluación de una suficiente muestra para evitar la alteración generada por los microorganismos que habitan en distintas partes de la superficie.

- **Transporte de muestras**

Nuestra prioridad es prevenir la multiplicación de los microorganismos presentes en la muestra, además de la inactivación de microorganismos externos.

- **Confianza en los procedimientos**

Normalmente es necesario detectar bacterias que suponen entre 10^{-4} y 10^{-7} de la flora normal del alimento, flora ésta inocua.

- **Daño o lesión subletal**

Son necesarios medios de recuperación en los que hay que considerar:

(a) El tipo de microorganismo a recuperar (G^+ , G^- , hongo...), (b) El carácter y la intensidad del daño infligido, (c) El tipo de alimento en el que esté el microorganismo y (d) El medio selectivo final.

- **Evaluación sistemática de los medios de cultivo**

Es fundamental la realización de controles periódicos que permitan comprobar que las bacterias buscadas puedan crecer a partir de células aisladas además que la variabilidad ocasionada por los pequeños errores de los medios de cultivo no afecte al análisis.



Figura N°2: revisión organoléptica y pesado de la muestra

Fuente: Elaboración propia

Análisis microbiológico

Análisis microbiológico a las muestras se realizó según el correspondiente criterio microbiológico establecido en NTS N° 071 MINSA/DIGESA V.01 (Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA, 2008) y según el Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de drogas y alimentos de los estados unidos (FDA) y según el procedimiento de la ficha técnica del área de microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica.

ANÁLISIS DE *Salmonella spp*

Preparación del caldo Rappaport Vasiliadis

- El caldo Rappaport Vasiliadis es un medio de enriquecimiento selectivo para *Salmonella*, debe ser preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante con agua destilada.
- Calentar ligeramente para favorecer la solubilidad.
- Añadir 10 mL del caldo preparado a tubos de ensayo con tapa rosca y autoclavar. Dejar enfriar a temperatura ambiente.

Preparación del Agar XLD (Xilosa Lisina Desoxicolato)

- El agar XLD debe ser preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante con agua destilada estéril. Calentar a ebullición, no autoclavar. Dejar enfriar a 45-50°C en baño María hasta el momento de uso.

Preparación de la muestra

- La muestra debe ser triturada y homogenizada con un instrumento estéril en el mismo recipiente donde llegó.
- Luego debe ser diluida a la concentración de 10⁻¹ para ello el diluyente será agua de peptona 1% y en el caso de los alimentos con un alto nivel de acidez como los ceviches el diluyente será agua peptonada bufferada. La dilución se prepara añadiendo 10mL de la muestra en 90mL del diluyente. Incubar la dilución a 37°C durante 24 horas.

Inoculación de los tubos con caldo Rappaport Vasiliadis

- A partir de las muestras incubadas en agua de peptona o agua peptonada bufferada tomar 0.1 mL e incorporarlo en los tubos con caldo Rappaport y homogenizarlo. Incubar los tubos a 35°C durante 24 horas.

Inoculación de las placas con agar XLD

- A partir de los tubos con caldo Rappaport incubados tomar una pequeña cantidad con el asa de Kohl y sembrarlo por estrías en las placas con agar XLD de tal manera que puedan conseguirse colonias aisladas.

FUNDAMENTO QUIMICO

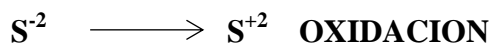
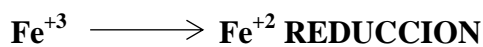
Este medio se basa en tres sistemas indicadores: degradación de xilosa, lactosa y sacarosa. Al ácido hace que el rojo de fenol cambie su color a amarillo, clorhidrato de lisina y también fenol rojo, tiosulfato de sodio y hierro. La producción de sulfuro de hidrógeno está indicada por tiosulfato y sal de hierro (III), que reacciona a formar un precipitado de sulfuro de hierro negro en las colonias. Bacterias que descarboxilan lisina a cadaverina puede reconocerse por la aparición de una coloración púrpura alrededor de las colonias debido a un aumento en el pH. Estas reacciones pueden proceder

simultánea o sucesivamente, esto puede hacer que el indicador de pH exhiba varios tonos de color o puede cambie su color de amarillo a rojo en incubación prolongada.

El medio de cultivo es moderadamente selectivo, por lo tanto, el crecimiento de organismos no deseados es suprimido, mientras que las bacterias buscadas pueden agruparse tentativamente leyendo el efecto neto de disimilación de carbohidratos, descarboxilación de lisina y la formación de sulfuro de hidrógeno que conducen a colonias negras. El agar es el agente solidificante.



REDOX



ANÁLISIS DE *Escherichia coli*

Preparación del caldo EC

- El caldo EC debe ser preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante con agua destilada, calentar si es necesario para disolver.
- Medir el pH con el potenciómetro, el valor de la medición debe estar entre 6.7- 7.1.
- Añadir 10 mL del caldo preparado a tubos de ensayo con tapa rosca y autoclavar. Dejar enfriar a temperatura ambiente.

Preparación del agar MacConkey

- El agar MacConkey debe ser preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante con agua destilada, calentar si es necesario para disolver.
- Medir el pH con el potenciómetro, el valor de la medición debe estar entre 6 – 9.

Autoclavar a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos.

Inmediatamente después de autoclavar llevar a baño María a 45°C.

Preparación de la muestra

- La muestra debe ser triturada y homogenizada con un instrumento estéril en el mismo recipiente donde llegó.
- Luego debe ser diluida a la concentración de 10⁻¹ para ello el diluyente será agua de peptona al 1% y en el caso de los alimentos con un alto nivel de acidez como los ceviches el diluyente será agua peptonada bufferada. La dilución se prepara añadiendo 10mL de la muestra en 90mL del diluyente. Incubar la dilución a 37°C durante 24 horas.

Inoculación de los tubos con caldo EC

- A partir de las muestras incubadas en agua de peptona o agua peptonada bufferada tomar 0.1 mL e incorporarlo en los tubos con caldo EC y homogenizarlo. Incubar los tubos a 43°C durante 24 horas.

Inoculación de las placas con agar MacConkey

- A partir de los tubos con EC incubados tomar una pequeña cantidad con el asa de Kohl y sembrarlo por estrías en las placas con agar MacConkey de tal manera que puedan conseguirse colonias aisladas.

CUANTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*

Preparación del agar VRBD (violeta rojo bilis dextrosa)

- El agar VRBD debe ser preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante con agua destilada estéril.
- Medir el pH con el potenciómetro, el valor de la medición debe estar entre 7.2-7.6.
- Calentar a ebullición, no autoclavar. Dejar enfriar a 45-50°C en baño María hasta el momento de uso.

Preparación de la muestra

La muestra debe ser diluida a tres diferentes concentraciones 10⁻¹, 10⁻² y 10⁻³ para ello el diluyente será agua de peptona 1%, La primera dilución se prepara añadiendo 10 g de la muestra donde se determinó presencia de *E. coli* en 90mL de agua de peptona 1% estéril y las siguientes diluciones se preparan añadiendo 1mL de la dilución anterior a un tubo con 9mL de agua de peptona 1%.

Inoculación de las placas con agar VRBD

Para cada dilución se debe preparar dos placas y la muestra va a ser inoculada con la técnica de incorporación, es decir, se agregará 1mL de la muestra diluida en cada respectiva placa y luego se agregará una cantidad de agar, se debe homogenizar con suaves movimientos rotatorios en ambos sentidos y dejar enfriar. Cuando el agar ya este

solidificado agregar una cantidad adicional de agar para que forme una capa superior para formar condiciones semianaeróbicas. Dejar enfriar e incubar a 35°C durante 24 horas.

Los resultados se reportan como UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra).

CUANTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS

Preparación del agar VRBD (violeta rojo bilis dextrosa)

- El agar VRBD debe ser preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante con agua destilada estéril.
- Medir el pH con el potenciómetro, el valor de la medición debe estar entre 7.2-7.6.
- Calentar a ebullición, no autoclavar. Dejar enfriar a 45-50°C en baño María hasta el momento de uso.

Preparación de la muestra

La muestra debe ser diluida a tres diferentes concentraciones 10⁻¹, 10⁻² y 10⁻³ para ello el diluyente será agua de peptona 1%, La primera dilución se prepara añadiendo 10 g de la muestra donde se determinó presencia de E. coli en 90mL de agua de peptona 1% estéril y las siguientes diluciones se preparan añadiendo 1mL de la dilución anterior a un tubo con 9mL de agua de peptona 1%.



Figura N°3: preparación de los medios de cultivo

Fuente: Elaboración propia

Inoculación de las placas con agar VRBD

- Para cada dilución se debe preparar dos placas y la muestra va a ser inoculada con la técnica de incorporación, es decir, se agregará 1mL de la muestra diluida en cada respectiva placa y luego se agregará una cantidad de agar, se debe homogenizar con suaves movimientos rotatorios en ambos sentidos y dejar enfriar. Cuando el agar ya este solidificado agregar una cantidad adicional de agar para que forme una capa superior para formar condiciones semianaeróbicas. Dejar enfriar e incubar a 35°C durante 24 horas.
- Los resultados se reportan como UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra).

Inoculación de las placas con agar VRBD

- Para cada dilución se debe preparar dos placas y la muestra va a ser inoculada con la técnica de incorporación, es decir, se agregará 1mL de la muestra diluida

en cada respectiva placa y luego se agregará una cantidad de agar, se debe homogenizar con suaves movimientos rotatorios en ambos sentidos y dejar enfriar. Cuando el agar ya este solidificado agregar una cantidad adicional de agar para que forme una capa superior para formar condiciones semianaeróbicas. Dejar enfriar e incubar a 35°C durante 24 horas.

- Los resultados se reportan como UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra).

2.6. Técnicas de Procesamiento de la investigación

Obtenida la información mediante la aplicación de los instrumentos para la recolección de datos se dio inicio al análisis estadístico en relación a los objetivos e hipótesis formuladas en la investigación.

2.7. Aspectos éticos

El estudio cumplió con los principios éticos básicos, debido a que no se trabajará con población humana; sino, con muestras de alimentos, lo cual no implicará manipulación de muestras procedentes de personas, ni personas en sí.

CAPÍTULO III. RESULTADOS

3.1 Presentación de resultados

En el siguiente apartado se presentan los resultados sobre la detección de enterobacterias en la venta de pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, los mismos se presentan en tablas, en frecuencias simples y porcentuales conforme la procedencia de la muestra. Los resultados se reportan como UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra).

Tabla N°1: Resultados de la detección y conteo microbiológico de las muestras

MUESTRAS	Recuento de <i>Escherichia coli</i> .	Recuento de enterobacteria s	Detección <i>Salmonella spp.</i>	Detección <i>Escherichia coli</i> .
Muestra 1	245 UFC/g		Ausencia	Presencia
Muestra 2		360 UFC/g	Ausencia	Ausencia
Muestra 3		105 UFC/g	Ausencia	Ausencia
Muestra 4	365 UFC/g		Ausencia	Presencia
Muestra 5		220 UFC/g	Ausencia	Ausencia

Método: ICMSF

Tabla N° 2: Detección de enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, Lima-Perú.

Procedencia	Detección de Enterobacteria				Total
	<i>Salmonella spp.</i>		<i>Escherichia coli.</i>		
	fx	%	fx	%	
Vendedor	0	0%	2	40%	5

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla N°2, se presentan los resultados de la detección de enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, observando que el 40% de las muestras procesadas presentan enterobacterias, principalmente la *Echerichia coli.*, no se evidencia presencia de *Salmonella spp.* en las muestras.

Tabla N°3: Detección de *Salmonella spp.* en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, Lima-Perú.

Procedencia	Detección de <i>Salmonella spp.</i>				Total
	Presente		Ausente		
	Fx	%	Fx	%	
Vendedor	0	0%	5	100%	5
Total	0	0%	5	100%	5

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla N° 3 se exponen los resultados acerca de la detección de *Salmonella spp.* en la venta de pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, observando que en el 100% de las muestras evaluadas provenientes de vendedores se evidencia la ausencia de *Salmonella spp.*, es decir que el 100% de las muestras evaluadas reportan ausencia de la enterobacteria *Salmonella spp.*

Tabla N°4: Detección de *Escherichia coli.* en la elaboración y venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

Procedencia	Detección de <i>Escherichia coli.</i>				Total
	Presente		Ausente		
	fx	%	Fx	%	
Vendedor	2	40%	3	60%	10
Total	2	40%	3	60%	10

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla N° 4, se evidencia los resultados acerca de la detección de *Escherichia coli.* en la venta de pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, observando que el 40% de las muestras provenientes de los vendedores existe presencia de la enterobacteria y en el restante 60% se evidencia ausencia de la misma.

3.2. Contrastación de hipótesis

Se realizó mediante la prueba binomial comparando las constancias vistas de las dos categorías dicotómica de la variable enterobacteria y sus dimensiones, con las frecuencias esperadas en una distribución binomial con un parámetro de probabilidad de éxito de 0.4 por ser la proporción de presencia (40%) de enterobacterias encontrada en el total de la muestra.

3.2.1 Hipótesis General

HIPÓTESIS NULA 1 (H₀): Existe presencia de enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA 1 (H₁): No existe presencia de enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

Tabla N°5: Prueba binomial en la detección de enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

		Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (unilateral)
Detección de Enterobacteria	Grupo 1	<i>Escherichia coli.</i>	2	0,2	0,2	0,678 ^a
	Grupo 2	Ninguna	3	0,3		
	Total		5	0,5		
a. La hipótesis alternativa indica que la proporción de casos en el primer grupo < 0,2.						

En la tabla N°5 se muestran los resultados de la prueba binomial, donde se observa que existe una probabilidad del 67,8% (p= 0,678) de detectar enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, por tanto, se acepta la hipótesis nula (**H₀**) y se rechaza la hipótesis alternativa planteada (**H₁**), concluyendo que existe presencia de enterobacterias en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

3.2.2 Hipótesis Específica 1

HIPÓTESIS NULA 1 (H_0): Existe presencia de *Salmonella spp.* en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA 1 (H_1): No existe presencia de *Salmonella spp.* en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

Tabla N°6: Prueba binomial en la detección de *Salmonella spp.* en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

		Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (unilateral)
Detección de <i>Salmonella spp.</i>	Grupo 1	Ausente	5	0,5	0,2	0,000
	Total		5	0,5		

En la tabla N°6 se muestran los resultados de la prueba binomial, donde se observa que existe una probabilidad del 0,0% ($p= 0,000$) de detectar *Salmonella spp.* en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, por tanto, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la primera hipótesis alternativa específica (H_1), concluyendo que No existe presencia de *Salmonella spp.* en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

3.2.3 Hipótesis Específica 2

HIPÓTESIS NULA 2 (H_0): Existe presencia de *Escherichia coli*. en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA 2 (H_1): No existe presencia de *Escherichia coli*. en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

Tabla N°7: Prueba binomial en la detección de *Escherichia coli*. en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima.

		Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (unilateral)
Detección de <i>Escherichia coli</i> .	Grupo 1	Presente	2	,2	,2	,678 ^a
	Grupo 2	Ausente	3	,3		
	Total		5	0,5		
a. La hipótesis alternativa indica que la proporción de casos en el primer grupo $< 0,2$.						

La Tabla N°7 muestra los resultados de la prueba binomial, donde se observa que existe una probabilidad del 67,8% ($p= 0,678$) de detectar *Escherichia coli*. en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, por tanto, se acepta la hipótesis nula (H_0) y se rechaza la segunda hipótesis alternativa específica (H_2), concluyendo que existe presencia de *Escherichia coli*. en la venta ambulatória del pie de manzana en el distrito de Cercado

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

La investigación tuvo el propósito de determinar la presencia de enterobacterias (bacterias Gram negativas) y medir el grado de contaminación por estas, en venta del pie de manzana. Basándose en lo observado al acercarse a aquellos vendedores ambulatorios para adquirir este alimento constatando la falta de medidas de higiene al manipular el producto, asimismo acotar que muchos de los expendedores no cuentan con el carnet de sanidad obligatorio a las personas que manipulan directamente los alimentos.

Para determinar la presencia de enterobacterias se recolectaron 5 muestras de Pie de Manzana directamente de los vendedores del distrito de Cercado de Lima, las cuales fueron analizadas según la metodología del ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) lo que permitió identificar las UFC/g (Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra) en cada una de ellas, detectando aquellas muestras que sobrepasaron los límites que determinan la existencia de enterobacterias, según procedimiento para cada agente bacteriano (38).

Los resultados que el 40% de las muestras procesadas presentan enterobacterias, principalmente la *Echerichia coli* de las muestras provenientes de los vendedores, no se observan presencias de *Salmonella spp.* en ninguna de las muestras, resultados que evidencian que solo las enterobacterias del grupo *Escherichia coli* fueron capaz de reproducirse dentro del proceso microbiológico del pie de manzana, sobrepasando los límites establecidos en la Norma Sanitaria que dicta los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (Resolución Ministerial N° 591-2008 MINSAs), donde se estipulan las directrices para

señalar los rangos de las condiciones microbiológicas en los Productos de pastelería dulce y salado que requieren refrigeración (pasteles, tortas, empanadas, otros) (38).

En esta perspectiva los hallazgos encontrados en la investigación permitieron realizar la contrastación de las hipótesis mediante la prueba binomial comparando las frecuencias observadas de las categorías dicotómica de la variable enterobacteria y sus dimensiones, con las frecuencias esperadas en una distribución binomial con un parámetro de probabilidad de éxito de 0.2 por ser la proporción que presenta (40%) enterobacterias en el total de la muestra, logrando evidenciar que existe una probabilidad del 67,8% ($p= 0,678$) de detectar enterobacterias en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, resultado que dio paso al rechazo de la hipótesis nula y se aceptación la hipótesis general planteada.

De tal manera, los transeúntes de esta localidad que consumen pie de manzana provenientes de estos vendedores ambulantes, tienen una alta probabilidad de contraer múltiples enfermedades, dado que las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), está conformado por un gran grupo de enfermedades causadas por bacterias patógenas, parásitos, contaminantes químicos y biotoxinas; asimismo las reacciones que el cuerpo humano tiene en presencia de los microorganismos. (29).

Siendo el pie de manzana uno de los postres populares entre los comensales, el ingrediente principal de este pastel tan tradicional como en su nombre se plasma son las manzanas frescas y troceadas, de tal manera que se destaca que su manipulación debe realizarse con extrema cautela, ya que todos los alimentos presentan siempre una carga bacteriana, el cual debe estar controlada y no sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales iniciaría a producirse el deterioro del producto teniendo como resultado la

perdida de la calidad y aptitud del producto para el consumo, tal como se está evidenciando en los resultados expuestos, en esta misma línea Vega et al. (2016), en su estudio concluyen que en los frutos o vegetales siempre estarán presentes las enterobacterias y pseudomonas de los cuales varia la concentración de acuerdo al proceso fermentativo⁷, en este sentido los procesos de manipulación de los pie de manzana juegan un papel importante, producto que exige su refrigeración, la cual no se evidencia en su venta ambulatoria, originando la descomposición y multiplicación de bacterias patógenas.

Otro aporte a contrastar con los resultados encontrados se sustenta en Vásquez y colaboradores (2018), quienes evidencian en sus muestras una contaminación al 100% con *Escherichia coli* por otra parte, ninguna muestra contenía *Salmonella spp.*⁸. Así mismo Magaly y Román (2016), exponen en su investigación resultados semejantes, donde encontró que del total de muestras analizadas 66% tienen *Escherichia coli*, 12% Enterobacter., 4% Shigella. y 18% otras enterobacterias.¹⁰

Al determinar la presencia de *Salmonella spp.* en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, en los resultados se observa que el 100% de las muestras evaluadas reportan ausencia de la enterobacteria *Salmonella spp.*; es decir, que el límite de microorganismos en una cantidad de 25g de masas expuestos en la prueba microbiológica, no sobrepasa el límite que determina la calidad aceptable de los alimentos sobre esta bacteria, tal como se expone en la Norma Sanitaria que dicta los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (Resolución Ministerial N° 591-2008 MINSA), específicamente en los Productos de pastelería dulce y salado que requieren refrigeración (pasteles, tortas, empanadas, otros).

Conforme a estos resultados, la prueba binomial evidencia que existe una probabilidad del 0,0% ($p= 0,000$) de detectar *Salmonella* spp. en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, lo que conllevó a aceptar la hipótesis nula y el rechazo de la primera hipótesis específica.

Estos hallazgos se asemejan a los resultados expuestos por Quispe y Sánchez (2001), que al igual que nuestra investigación en su estudio las muestras evaluadas no se encontró presencia de *Salmonella* spp. De igual manera se contrastan los resultados con lo referido por Armando et, al. (2017), quienes concluyen que no se encuentra la presencia de *Salmonella* spp. en ninguna de las muestras examinadas. Sin embargo, esta investigación no descarta la presencia de *Salmonella* spp. en otras muestras de la localidad por tanto se recomienda el continuo monitoreo a causa de las condiciones higiénico- sanitarias en las que se expenden ¹⁶, de acuerdo a esta sugerencia se precisa expandir la investigación a un tamaño muestral más amplio, por cuanto es evidente que existe una “Re contaminación”, término que relaciona la contaminación de los alimentos después de un procedimiento higiénico ³³, siendo que el pie de manzana muestran una contaminación después de la manipulación por parte de los vendedores, hecho que evidencia una violación a las normativas de manipulación de alimentos, y demanda del estado el regular, vigilar y brindar un control sanitario a los alimentos y bebidas con destino al consumo humano. ¹²

En este particular Campuzano, et al. (2015), en su investigación reportan en sus resultados que la falta de las buenas prácticas de manufactura en los establecimientos, expresan que no tienen un buen manejo con los alimentos y traen consigo diversos problemas de salubridad, como un ejemplo claro a esto son las infecciones causadas por coliformes fecales. Encontrada en la hamburguesa que fue una de las muestras siendo en su 100% el resultado de la contaminación. ¹²

Se determinó la presencia de *Escherichia coli*. en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, observando que el 40% de las muestras provenientes de los vendedores muestran presencia de la enterobacteria, al contrastar los resultados con lo dispuesto en la Normativa Sanitaria que dicta los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (Resolución Ministerial N° 591-2008 MINSA), específicamente en los Productos de pastelería dulce y salado que requieren refrigeración (pasteles, tortas, empanadas, otros), se ofrece que el 40% de las muestras detectadas con *Escherichia coli* provenientes de los vendedores, sobrepasan el límite de microorganismos en una cantidad de 10g de masas expuestos en la prueba microbiológica, limite que determina la calidad aceptable de los alimentos sobre esta bacteria.

Aportes que se contrastan con los resultados de Zenteno, Carguajulca y Palacios (2013), quienes en su estudio también evidencian la presencia de *Escherichia coli* en alimentos, reportando la presencia de esta enterobacteria en 5 muestras. Referido a este planteamiento, Rodríguez, et al. (2014), en su estudio también pudo notar la presencia de *Escherichia coli* en las muestras evaluadas; trayendo consigo enfermedades diarreicas, es en este particular fijar como conveniente ampliar los análisis de las muestras con el fin de determinar el grupo de *Escherichia coli* predominante en la venta de pie de manzana, garantizando un tratamiento óptimo y oportuno a las personas contaminadas por este agente contaminante.¹³

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

1. Se logró detectar mediante los resultados que el 40% de las muestras procesadas presentan enterobacterias en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, encontrando una cantidad máxima de 360 UFC/g y una mínima de 105 UFC/g en el recuento de la muestra.
2. Se determinó que no existe presencia de *Salmonella spp.* en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, no se observan presencias de *Salmonella spp.* en las muestras ya mencionadas.
3. La presencia de *Escherichia coli* en la venta ambulatoria del pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima, es del 40% siendo hallado en las muestras provenientes de los vendedores las cuales tuvieron un valor máximo de 305 UFC/g y un mínimo de 245 UFC/g respectivamente.

CAPÍTULO VI. RECOMENDACIONES

1. A la municipalidad distrital de Lima en conjunto con la DIGESA, disponer un control más riguroso en la calidad y seguridad de alimentos desde su elaboración hasta su expendio y así prevenir la contaminación con bacterias o cualquier tipo de microorganismo patógeno responsable en desencadenar diversas enfermedades.
2. Presentar un plan para la realización de capacitaciones en buenas prácticas de manipulación de alimentos, asimismo en buenas prácticas de Higiene a todos los trabajadores que estén en contacto con alimentos para el consumo humano.
3. Se recomienda a los vendedores ambulantes los cuales expenden alimentos para el consumo humano, preservar la higiene personal y prevenir la contaminación de los alimentos por una manipulación inapropiada desde la elaboración hasta el expendio de estos.
4. Fomentar un mayor interés en las áreas de microbiología alimentaria y bromatología ya que estas ramas de estudio están profundamente enlazadas con nuestra profesión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González, B. Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Revistas Énfasis. Alimentación 2019. Disponible en:
<http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/14765-enfermedades-transmisionalimentaria>
2. OMS, Enfermedades de transmisión alimentaria. 2015 Disponible en:
http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/
3. Food and Agriculture Organization. Alimentación, nutrición y agricultura. Alimentos de Venta Callejera. Volumen 17/18. Roma; 2015. [Fecha de acceso 13 de enero 2019] Disponible en URL:
<http://www.fao.org/docrep/W3699T/W3699T00.htm>
4. Álvarez J. Evolución de la contaminación de superficies durante los procesos productivos en pymes del sector cárnico [Tesis] Universidad de la Rioja España 2015.
5. Campuzano S. et al. Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, 2015.
6. Zuta N. Aplicación de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la detección de enterotoxinas en Staphylococcus aureus aislados de alimentos en la ciudad de Lima- Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Perú. 2019.
7. OMS. 2002. Global strategy for food safety: safer food for better health. Disponible

en: <http://whqlibdoc.who.int/publications/9241545747.pdf>

8. WHO. The world health report 2007 Global Public Health Security in the 21st Century A safer future2007. Disponible en: http://www.who.int/whr/2007/whr07_en.pdf
9. Panisello, P.J., Rooney, R., Quantick, P.C., y Stanwell-Smith, R. Application of foodborne disease outbreak data in the development and maintenance of HACCP systems. *International Journal of Food Microbiology*. 2015. 59: 221-234
10. Alvarez E. Determinación del cumplimiento de las normas de higiene y de la calidad sanitaria en alimentos preparados y expendidos en kioscos escolares de colegios nacionales. universidad nacional San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática, Carrera Profesional de farmacia y bioquímica del distrito de Wanchaq – Cusco. Perú. 2015.
11. Quispe J, Sánchez V. Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima – Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 2012; 18 (12)
12. Carguajulca N. Palacios F. Identificación de *Escherichia coli* presente en alimentos preparados en comedores populares del distrito de Chaclacayo, Lima, Perú [Internet] 2013 [Consultado 23 Jun 2018] Disponible en: https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/rc_salud/article/view/1036
13. Vega C., Et al. Análisis de la dinámica de poblaciones microbianas durante las fermentaciones espontánea y controlada del Ají "Charapita" (*Capsicum frutescens*) [Internet] 2016 [Consultado 18 Jun 2018]. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/1167>

14. Vasquez V. Et al. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. Scielo [Internet] 2018 [Consultado 22 Jun 2018] Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172622162018000100005&script=sci_artext&tlng=pt
15. Vásquez J. Et al. Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco [Internet] 2018 [Consultado 30 Agosto 2018]. Disponible en: <http://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article/view/142>
16. Magaly M., Roman M. Frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista (La Parada)” [Internet] 2016 [Consultado 12 mayo 2019]. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4645>
17. Camargo A., Francesca M. Determinación bacteriológica de la calidad del agua de consumo humano, regadío y bebida de animales del Distrito de Majes, Provincia de Caylloma, Departamento de Arequipa, abril - mayo 2017 [Internet] 2018 [Consultado 10 mayo 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5890>
18. Campuzano S et al Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca 2015
19. Rodríguez M. Et al. Evaluación de la contaminación microbiológica de la lechuga (lactuca sativa) en la cadena alimentaria, provincia de Quillacollo, Cochabamba, Bolivia 2015. Scielo [Internet] 2015 [Consultado 05 Agosto 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S101229662015000200006&script=sci_a
20. De Oliveira W. Et al. Determinación cualitativa de grupo de bacterias en refrescos

- hervidos en el municipio de Colcapirhua. UNITEPC [Internet] 2018 [Consultado 10 Jun 2018]. Disponible en: <https://investigacion.unitepc.edu.bo/revista/index.php/revista-unitepc/article/view/26/47>
21. Guimarães J. Et al. Evaluación microbiológica de ensaladas de lechuga y perfil de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. Scielo [Internet] 2015 [Consultado 10 Agost 2018]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S021216112015001100051&script=sci_arttext&tlng=en
22. Armando C. Et al. Determinación de la presencia de *Salmonella* spp. en huevos de gallina de traspatio comercializados en la ciudad de Loja. [Internet] 2017 [Consultado 05 Mayo 2019]. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/18470>
23. OMS. 2017. Fact sheet N^a 237: Food safety and foodborne illness. Disponible en: http://foodhygiene2010.files.wordpress.com/2010/06/who-food_safety_fact-sheet.pdf
24. Forsythe SJ. Alimentos seguros. microbiología. 2 ed. España: Editorial Acribia; 2014.
25. Espinoza M. Contaminación microbiana en frutas y hortalizas 2013 [consultado el 21.06.19] disponible en: <https://www.dietistasnutricionistas.es/contaminacion-microbiana-en-frutas-y-hortalizas/>
26. Malo M et al manual para manipuladores de Alimentos Gobierno de Cantabria 1^a

EDICIÓN: junio 2016 España [consultado el 21.06.19] disponible en:
<https://saludcantabria.es/uploads/pdf/profesionales/Libro%20Manual%20para%20la%20Formaci%C3%B3n%20de%20Manipuladores.pdf>

27. FAO. Sistema HACCP para asegurar la inocuidad de los alimentos [consultado el 21.06.19] disponible en: <http://www.fao.org/3/v9723t/v9723t0g.htm>
28. Mossel DAA, Moreno 8, Struik CB. Microbiología de los alimentos. 2 ed. España: Editorial Acribia; 2015
29. OMS. 2006. Consultation to develop a strategy to estimate the global burden of foodborne disease. Taking stock and charting the way forward, 1. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fbd_2016.pdf
30. Malorny, B., Tassions, P.T., Radstrom, P., Cook, N., Wagner, M. y Hoorfar, J. 2013. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 83: 39-48
31. Mossel DAA, Moreno 8, Struik CB. Microbiología de los alimentos. 2 ed. España: Editorial Acribia; 2015.
32. Yujra M “El efecto de la importación de manzanas y su incidencia en la producción nacional: periodo 2000-2016” Universidad mayor de San Andrés Facultad de ciencias económicas y financieras [tesis] La Paz – Bolivia 2017.
33. Carrasco, E., Rueda, A. y García, R.M. 2012. Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review. *Food Research International*, 45: 545-556.

34. Verran, J, Airey, P., Packer, A. y Whitehead, K.A. 2008. Microbial retention on open contact surfaces and implications for food contamination. *Advances in Applied Microbiology*, 64: 223-246
35. Liu, Y., Li, J., Qiu, X., Burda, C. 2007. Bactericidal activity of nitrogen doped metal oxide nanocatalysts and the influence on bacterial extracellular polymeric substances. *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, 190: 94-100
36. Jay, James M. *Microbiología moderna de los alimentos*. 4 ed. España: Editorial Acribia; 2015.
37. Doyle M, Beuchat L. *Microbiología de los alimentos: Fundamentos y Fronteras*, España: Editorial Acribia; 2014
38. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano: Resolución Ministerial N° 591-2008 MINSA

ANEXOS

ANEXO 1. MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál será frecuencia de enterobacterias en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar la frecuencia de enterobacterias en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020.</p>	<p>Hipótesis general</p> <p>Hay presencia de enterobacterias en el pie de manzana vendido en el Mercado Central en el periodo abril – junio 2020.</p>	<p>Variable Independiente</p> <p>Venta ambulatoria</p>	<p>Tipo. Aplicada, descriptivo, comparativo correlacional.</p>
<p>Problemas específicos</p> <p>¿Cuál será el porcentaje de <i>Salmonella spp</i> en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima?</p> <p>¿Cuál será el porcentaje de <i>Escherichia coli</i> en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima?</p>	<p>Objetivos específicos</p> <p>Cuantificar el porcentaje de <i>Salmonella spp</i> en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima.</p> <p>Cuantificar el porcentaje de <i>Escherichia coli</i> en los pies de manzana analizados en el distrito de Cercado de Lima.</p>	<p>Hipótesis específicas</p> <p>Existe presencia de <i>Salmonella spp</i> en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020.</p> <p>Existe presencia de <i>Escherichia coli</i> en el pie de manzana vendido en el distrito de Cercado de Lima en el periodo abril – junio 2020.</p>	<p>Evaluación de la contaminación durante las actividades de venta.</p> <p>Muestreo mediante hisopado de bacterias microbianas</p> <p>Variable Dependiente</p> <p>Enterobacterias en el pie de manzana.</p> <p>Presencia de enterobacterias</p> <p>Valores microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella spp</i>.</p>	<p>Enfoque. Cuantitativa</p> <p>Diseño. Cuasi experimental</p> <p>Área de estudio. Distrito de Cercado de Lima.</p> <p>Población. Estará conformada por todos los vendedores ambulantes identificados en el distrito de Cercado de Lima.</p> <p>Muestra. Se considerarán como muestra de estudio a 5 vendedores de pie de manzana identificados en las avenidas principales que conforman el distrito de Cercado de Lima.</p> <p>Muestreo. Se utilizará el Muestreo no Probabilístico.</p> <p>Técnica. Observación directa a los vendedores ambulantes.</p> <p>Instrumentos. Ficha de cotejo.</p>

ANEXO 2. FICHA DE COTEJO

DETERMINACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN LA VENTA AMBULATORIA DEL PIE DE MANZANA
EN EL DISTRITO DE CERCADEO DE LIMA, LIMA – PERÚ - 2020

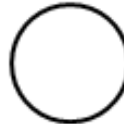
1.- EVALUACION SANITARIA DEL VENDEDOR N°

a) Fecha:/...../.....

b) Hora:

2.- ZONA DE TRABAJO:

3.- UBICACIÓN:



**Estado de conservación en el área de ubicación del
“VENDEDOR”**

Higiene en el área de ubicación del “VENDEDOR”

Si () No ()

Uso exclusivo para el expendio de alimentos

Si () No ()

CONTENEDOR

Conservación de contenedor

Si () No ()

PROTECCIÓN DE LOS ALIMENTOS

Protege adecuadamente los alimentos preparados

Si () No ()

Manipulador de alimentos

Vendedor con mandil

Si () No ()

Vendedor con gorro

Si () No ()

Vendedor manos y uñas limpias

Si () No ()

Vendedor coge los alimentos directamente con la mano

Si () No ()

Vendedor con mascarilla

Si () No ()

ANEXO 3. CERTIFICADO DE *Escherichia coli*

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: E. coli ATCC 8739 PK/5
Lot Number: 650622

Product Number: R4607085
Expiration Date: 2019-09-30
(YYYY.MM.DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality System Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested on Rawal Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented reference description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁶

Passage: 7

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Biochemical Profile: Vitek 2C GR

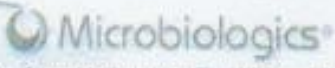
Appearance: Frozen Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

Signed




Sherry Mason

Product Performance Technologist

ANEXO 4. CERTIFICADO DE *Salmonella* spp.

 **Microbiologics®**

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism: Identification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar: <i>enteritidis</i> Catalog Number: 0421 Lot Number: 421-180 Reference Number: ATCC® 13211™ Purity: > 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFU/g per Pellet Passage from Reference: 4</p>	<p>Expiration Date: 2019-04-30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2018/3/16</p>
Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium: gray/white, circular, convex colonies. Microscopic Features: Gram negative straight rod</p>	<p>Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: vitek GN (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/Challenges: Results (1) Catalase/Oxidase: negative Wet prep: Gram: egg, good growth, blue-green colonies with black centers (1) <i>Salmonella</i> O: antiserum Factor O:4 (included in group A): positive (1) <i>Salmonella</i> O: antiserum Factor O:5 (included in group B): positive (1) <i>Salmonella</i> O: antiserum Factor O:12 (included in group B): positive</p> <p style="text-align: center;"> Brad Gustafson, President AUTHORIZED SIGNATURE</p>
<p><small>Disclaimer: This is a digital copy of the original document. The original document is the only valid document. The original document is the only valid document. The original document is the only valid document.</small></p>	
<p><small>Note for users: Although the product name, lot number, and other information on the label, contained, with the above information, may produce results that differ from those that would be obtained by other methods.</small></p>	
<p><small>Refer to the website provided above for additional, detailed use and technical information.</small></p>	
<p><small>Additional products are available as a complete culture collection.</small></p>	
<p>  ACCREDITED TESTING CODE: #2655-01</p>	<p><small>© The ATCC Licensed Derivative Program. The ATCC Licensed Derivative must meet all the ATCC Testing Code and Standards at ATCC. All other trademarks are the property of their respective owners and are used herein under license.</small></p> <p><small>(1) These data are available at ATCC® 13211-2018.</small></p>

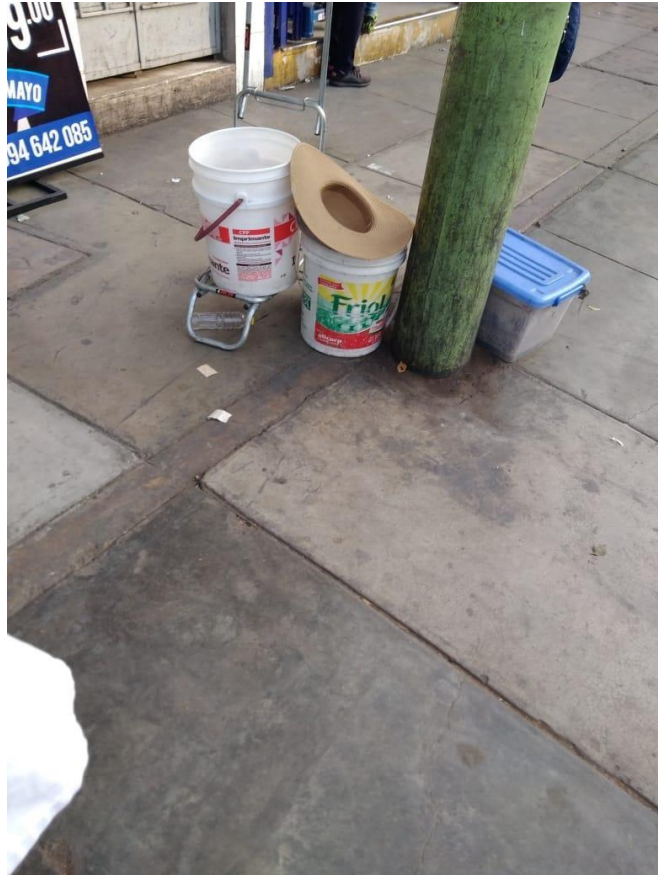


Fotografía 1: Compra de la muestra en ambulantes en el distrito de Cercado de Lima

Fuente: Elaboración propia



Fotografía 2: Los alrededores del comerciante de pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima
Fuente: Elaboración propia



Fotografía 3: Forma de almacenar sus productos los vendedores de pie de manzana en el distrito de Cercado de Lima
Fuente: Elaboración propia



Fotografía 4: Manipulación de los materiales en el laboratorio de Microbiología

Fuente: Elaboración propia