



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS:

**“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE MANIPULADORES DE
ALIMENTOS”**

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

BACHILLER:

CLAUDIO ROJAS, Carlita Sonia

ASESORA:

ROSAS GÓMEZ, Rosa

LIMA – PERÚ
2016

DEDICATORIA

A DIOS por darme la salud para poder cumplir mis metas trazadas en la vida, a mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermanos y amistades por comprender mi ausencia en días especiales para ellos.

RESUMEN

Este trabajo es acerca de la evaluación microbiológica de los manipuladores de alimentos del Comedor Popular “Dolores Caveró Grau” ubicado en el sector Miguel Grau del Distrito San Juan de Miraflores en Lima - Perú.

El objetivo general fue evaluar la carga microbiana de coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** y para dicho propósito se utilizó placas secas rehidratables (Petrifilm) y el método AOAC específico para cada microorganismo.

Para esta investigación se analizaron 8 muestras obtenidas de las manos de los manipuladores de alimentos en la que se determinó que el 62,5% de ellos presenta Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** en cantidades no permitidas (> 100 UFC/manos) de conformidad con la R.M N° 461-2007/MINSA. También se aplicó la inferencia estadística (Chi cuadrado) para determinar si existen indicadores que influyen la presencia de Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus***.

Los resultados indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) para considerar a los indicadores como responsable de la presencia de las bacterias indicadoras de higiene.

Por los resultados obtenidos podemos concluir que los manipuladores no tienen Buenas Prácticas de Higiene (BPH) cuando están sirviendo la comida a la gente y que deben ser evaluadas microbiológicamente cada seis meses para proporcionar alimentos inocuos para los consumidores y evitar posibles brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos.

Palabras clave:

Staphylococcus aureus, coliformes totales, manipulador de alimentos, límites permisibles.

ABSTRAC

This work is about the microbiological evaluation of the food handlers of the Dolores Cavero Grau community kitchen located in sector Miguel Grau of San Juan de Miraflores Distric in Lima – Perú.

The general objective was to evaluate the microbial load of coliforms and ***Staphylococcus aureus*** for that purpose were used dry rehydratable plates (Petrifilm) and the specific AOAC method for each microorganism.

For this research were analyzed 8 samples from the hands of food handlers which determined that 62.5% of them presents coliforms and ***Staphylococcus aureus*** in quantities not permissible (> 100 UFC/hands) in accordance with the R.M No. 461-2007/MINSA. It was also applied the Inferential Statistics (Chi square) to determine if there are any indicators that influence the presence of coliforms and ***Staphylococcus aureus***.

The results indicate that there is no statistically significant difference ($p>0.05$) to consider the indicators as responsible for the presence of indicator bacteria of hygiene.

By the results obtained we can conclude that the handlers don't have Good Hygiene Practices (GHP) when they are serving the food to the people and they should be evaluated microbiologically every six months to provide safe food for the consumer and avoid possible outbreaks of foodborne illness.

.Keywords:

Staphylococcus aureus, total coliforms, Food handler, Permissible limits.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRAC.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	xii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.1. Descripción de la Realidad Problemática.....	14
1.2. Formulación del Problema	17
1.2.1. Problema General.....	17
1.2.2. Problema Específico.....	17
1.3. Objetivos de la Investigación.....	18
1.3.1 Objetivo General.....	18
1.3.2 Objetivo Especifico.....	18
1.4. Hipótesis de la Investigación.....	18
1.4.1 Hipótesis General.....	18
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	19
1.5. Justificación e Importancia de la investigación.....	19
1.5.1 Justificación de la investigación.....	19
1.5.2 Importancia de la Investigación.....	20
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Antecedentes de la Investigación.....	22
2.1.1. Antecedentes Nacionales.....	22
2.1.2. Antecedentes Internacionales	23
2.2. Bases teóricas.....	24
2.2.1. Manipuladores de alimentos	24

2.2.2. Salud e Higiene Personal.....	25
2.2.3. Fuentes de Contaminación Alimentaria.....	26
2.2.3.1. Las Personas.....	26
2.2.3.2. Los Residuos.....	27
2.2.3.3. Los objetos Inanimados.....	28
2.2.3.4. Alimentos Crudos.....	28
2.2.3.5. Plagas.....	28
2.2.3.6. El agua.....	28
2.2.3.7. La Tierra y Aire.....	29
2.2.4. Factores que Intervienen en la Contaminación Alimentos...29	
2.2.4.1. Factores que Favorecen la Reproducción Bacteriana.....	29
2.2.4.1.1. Nutrientes.....	29
2.2.4.1.2. Humedad o Disponibilidad de agua.....	29
2.2.4.1.3. Oxígeno.....	30
2.2.4.1.4. Temperatura.....	30
2.2.4.1.5. Acidez.....	30
2.2.4.1.6. Factores que favorece las Sustancias Químicas.....	30
2.2.5. Enfermedades Trasmítidas por los Alimentos.....	31
2.2.5.1. Infección.....	31
2.2.5.2. Intoxicación.....	32
2.2.6. Agentes Patógenos Productores de ETAS.....	32
2.2.6.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.2.6.2. <i>Escherichia Coli</i>	33
2.2.6.3. <i>Salmonella spp.</i>	34
2.2.7. Microorganismos Indicadores de manipuladores.....	35
2.2.7.1. Staphylococcus aureus.....	35
2.2.7.2. Coliformes totales.....	35
2.2.7.3. Coliformes fecales.....	36
2.2.7.4. Estreptococos fecales.....	37
2.2.7.5. Los mohos.....	37

2.2.7.6. Las levaduras.....	37
2.2.7.7. Bacterias Mesofilos Aerobias (BMA).....	38
2.3. Normas Peruanas.....	39
2.4. Definición de Términos Básicos.....	40
CAPÍTULO III:.....	41
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	41
3.1. Tipo de Investigación.....	41
3.1.1. Método	41
3.1.2. Técnica.....	41
3.1.3. Diseño.....	42
3.2. Población y muestra de la investigación.....	42
3.2.1. Población.....	42
3.2.2. Muestra.....	42
3.3. Variables e Indicadores.....	43
3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	43
3.4.1. Técnicas	43
3.4.1.1. Procedimiento para toma de muestra.....	44
3.4.1.2. Conservación y transporte de la muestra.....	44
3.4.1.3. Control de Temperatura.....	44
3.4.1.4. Procesamiento de muestras.....	45
3.4.1.5. Determinaciones Microbiológicas Realizadas.....	45
A. Determinación de coliformes totales.....	45
B. Determinación de <i>Sthaphylococcus aureus</i>	46
3.4.2. Instrumentos.....	46
CAPÍTULO IV:.....	48
PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.....	48
4.1. Resultados.....	48
4.2. Análisis e interpretación.....	60

DISCUSIÓN.....	61
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES.....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXOS.....	70
ANEXO N°1 Solicitud para la toma de muestra de manipuladores.....	71
ANEXO N° 2 Etiqueta para identificación de las muestras a realizar.....	72
ANEXO N° 3 registro de temperatura	73
ANEXO N° 4 Parámetros Microbiológicos de la Normativa usada.....	74
ANEXO N° 5 Toma de Muestra de los Manipuladores.....	75
ANEXO N° 6 Ensayo microbiológico para coliformes totales.....	76
ANEXO N° 7 Ensayo microbiológico para <i>Staphylococcus aureus</i>	77
ANEXO N° 8 Resultados Obtenidos de los ensayos microbiológicos.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de variable.....	43
Tabla 2: Límites permisibles para microorganismos indicadores de higiene.....	48
Tabla 3: Frecuencia de coliformes totales.....	49
Tabla 4: Frecuencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Tabla 4: Frecuencia de Grado de Instrucción.....	51
Tabla 5: Frecuencia de Lavado de manos.....	52
Tabla 6: Frecuencia de Procedencia.....	53
Tabla 7: Estadística descriptiva de edad de manipuladores de alimentos.....	54
Tabla 8: Coliformes totales y grado de instrucción.....	54
Tabla 9: <i>Staphylococcus aureus</i> y grado de instrucción.....	55
Tabla 10: Lavado de manos y presencia de Coliformes totales.....	56
Tabla 11: Lavado de manos y presencia <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Tabla 12: procedencia y presencia de coliformes totales.....	58
Tabla 13: Procedencia y presencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Tabla N°14. Límites permisibles para los microorganismos indicadores de higiene según la R.M N° 461-2007/MINSA.....	74
Tabla N°15. Resultados obtenidos de los ensayos microbiológicos realizados de los manipuladores del Comedor Popular Dolores Caverro de Grau.....	78

ÍNDICE DE GRÁFICO

Gráfico N°1 Presencia de coliformes totales y <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Gráfico N°2 Porcentaje de coliformes totales.....	49
Gráfico N°3 Porcentaje <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Gráfico N°4 Porcentaje de grado de instrucción.....	51
Gráfico N°5 Porcentaje de lavado de manos.....	52
Gráfico N°6 Porcentaje del Lugar de procedencia.....	53
Gráfico N°7 Toma de muestra de los manipuladores.....	75
Gráfico N° 8 Ensayos microbiológicos para coliformes totales utilizando el método AOAC 991.14.....	76
Gráfico N° 9 Ensayos microbiológicos par <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando el método AOAC 2003.09.....	77

INTRODUCCIÓN

En nuestro país los Comedores Populares surgen como una necesidad de lucha contra la pobreza y la hambruna, ubicándose en sectores de pobreza y extrema pobreza. Cuya actividad principal es la preparación de alimentos de bajo costo, convirtiéndose en objeto de amplio consumo para personas de bajos recursos o este en condición de abandono social. Existen diversos estudios de los alimentos servidos en comedores populares desde el punto de vista nutricional, social, política, presencia de microorganismos en los mismos. Sin embargo, no parece haberse realizado estudios en cuanto a la evaluación de microbiológico de los manipuladores de alimentos quienes son fuente de contaminación de los alimentos.

Los manipuladores pueden ocasionar una contaminación cruzada de los alimentos al no realizar la higiene de sus manos, no usar medidas de protección (guantes, mascarilla, vestimenta), por ello el objetivo principal del presente trabajo es determinar cómo influye los factores de manipulación de alimentos en la presencia de bacterias en el Comedor Populares Dolores Cavero De Grau del sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores.

Los alimentos servidos sin criterio microbiológico representan un problema para la salud pública que pueda generar un problema de salud para el consumidor, desarrollo del país, así como también impacto económico tanto de la persona afectada y del país. Para poder proponer acciones preventivas es necesario conocer la carga microbiológicos de los microorganismos indicadores de higiene de las manos de manipuladores, encaminadas a resolver algunos problemas existentes en los sistemas de manipulación de alimentos logrando, de esta manera, reducir el riesgo de transmisión de enfermedades por la mala manipulación de alimentos.

De los resultados obtenidos del presente estudios; las autoridades Municipales, PRONAA pueden tomar como referencia para realizar las capacitaciones específicas a los Comedores Populares en temas como: Higiene del Personal, Importancia de la Inocuidad Alimentaria.

En tal sentido, con el fin de desarrollar de manera metodológica el presente tema, desarrollaremos en primer lugar el planteamiento de la investigación, seguida de un marco teórico en donde abordaremos antecedentes y teorías previas del estudio, asimismo dentro del capítulo tercero veremos la metodología del estudio analizando, el tipo, método, nivel población y muestra del estudio así cómo los instrumentos y técnicas del estudio; seguidamente en el capítulo posterior veremos los resultados desarrollando nuestro análisis estadístico y finalizando con las discusiones, conclusiones y recomendaciones del estudio.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

La Organización Mundial de Salud (OMS), estima “que cada año mueren 1.8 millones de personas como consecuencia de enfermedades diarreicas, cuya causa puede atribuirse en la mayoría de los casos a la ingesta de agua o alimentos contaminados”.¹

La Organización Panamericana de Salud (OPS), estima que cada año, el 30% de la población de los países industrializados como El Estados Unidos de Norte América padece enfermedades transmitidas por los alimentos (76 millones de casos), la gran mayoría de estas incidencias suelen ser leves, cuya sintomatología dura de 24 a 48 horas. Solo Algunos casos suelen ser muy graves, llevando a 325 000 hospitalizaciones y 500 muertes; y en los países en vías del desarrollo, como el nuestro, son los más afectados debido a la existencia amplia gama de enfermedades transmitidas por los alimentos.²

En el vecino país Colombia, en el año 2011, notificaron “13 961 casos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos, involucrados en 899 brotes, de los cuales el 56.3% de los casos fueron confirmados por clínica, el 43.7% se encuentre asociados a la identificación de algún agente etiológico...el lugar de consumo de mayor incidencia en la ocurrencia de brotes ETA fue el hogar (472 brotes), que representa el 53%, seguido de otros con 12% (108 brotes), restaurante comercial con 11.5%(104 brotes),y establecimiento educativo 11.3% (102 brotes),dentro de la clasificación otros, la venta ambulatoria fueron los que tuvieron mayor frecuencia”.³

En el Perú solo el 38% de hogares tiene acceso a agua libre de coliformes fecales y, se ha demostrado la presencia de patógenos bacterianos y parasitarios en los alimentos. Tanto en la capital como en provincias Las ETAS indudablemente, son problemas muy importantes de salud pública.⁴

En 1998 El Gobierno Peruano con la finalidad de garantizar la producción y el suministro de alimentos y bebidas de consumo humano sanos e inoctrinos y también de facilitar el comercio seguro, aprueba el reglamento sobre la vigilancia y control sanitario de alimentos y bebidas (DS N° 007- 98).y en el año 2007 con la finalidad de establecer los límites microbiológicos para evaluar las condiciones higienes sanitarias de las superficies vivas e inertes prueban la Guía Técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas mediante la Resolución Ministerial N° 461–2007.

En nuestro país, mediante la implementación de Sistema de Vigilancia Epidemiológica se reportó un promedio de 35 brotes de ETAS por año entre el 2010 al 2012, el 47% de los cuales se relacionan clínicamente con casos agudos de salmonelosis. El 43% de los alimentos implicados fueron los preparados a base de mayonesa (crema y ensalada), y mediante la vigilancia sanitaria de los alimentos, se reportaron al ***Staphylococcus aureus*** y ***Salmonella Sp.*** Como los agentes patógenos más frecuentes en alimentos examinados. Con la finalidad de limitar su propagación, identificar sus causas y a fin de proteger la salud de población; la Dirección General de Epidemiología, en cumplimiento de su rol conductor y normativo de la Vigilancia Epidemiológica en el país ha elaborado la “Guía Técnica para la Investigación y Control de Brotes de Enfermedades Trasmitidas por Alimentos” que fue aprobado en año 2014, con Resolución Ministerial N° 683 – 2014/ MINSA, indicando que la notificación para ETA, debe ser de

manera inmediata, empleando para ello el sistema de notificación de brotes on line, a través de la página web de la Dirección General de Epidemiología del Ministerio de Salud.^{5,6}

Según el análisis de situación de salud realizado por Dirección General de Epidemiología (MINSA) en septiembre de 2013, las enfermedades infecciosas intestinales ocuparon el primer lugar de mortalidad en el año 2011 disminuyendo en 1,6 % respecto al año 2006, y según el Boletín Epidemiológico N° 34 “durante el año 2014 se informaron y estudiaron un total de 61 brotes de ETA y hasta el III trimestre del 2015 se han notificado 27 brotes de ETA, 52% menor a lo reportado al mismo periodo en el 2014, siendo el departamento de Lima el que reporta el mayor número de brotes”⁷

Esto significa que tenemos una deficiencia en sistema de vigilancia a nivel nacional y que los profesionales de salud no tienen la política de notificación, a pesar de la existencia de Resolución Ministerial para la notificación inmediata a través de la línea on line.

En nuestro país, la existencia de comedores populares surge como una necesidad de lucha contra la pobreza y la hambruna, ubicándose en sectores de pobreza y extrema pobreza. Son organizaciones sociales conformadas por mujeres, cuya actividad principal es la preparación de alimentos.⁸ ¿Serán adecuadas las prácticas de higiene de las socias en manipulación de alimentos, para ofrecer alimentos seguros e inocuos?

Uno de los problemas en salud pública son las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), las cuales son generados por falta de higiene y la falta de uso de protección personal.

Con el fin de conocer más a fondo el presente tema, es que desarrollaremos el siguiente estudio, el mismo que se ajusta a las características de la investigación científica el cual como punto de

inicio será la formulación de problema que a continuación definiremos.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

- ¿Cuál es la carga microbiana de Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** en manipuladores del Comedor Popular Dolores Cavero De Grau del sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016?

1.2.2 Problemas específicos

- P.E.1 ¿Cuál es la carga de ***Staphylococcus aureus*** en manipuladores del Comedor Populares Dolores Cavero De Grau del sector Miguel - Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016?
- P.E.2 ¿Cuál es la carga de los Coliformes totales en manipuladores del Comedor Populares Dolores Cavero de Grau del sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores, agosto – setiembre 2016?
- P.E.3 ¿Cuáles son los indicadores que favorecen la presencia de Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** en manipuladores del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores, agosto – setiembre 2016

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo General

- Evaluar la carga microbiana de Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** en los manipuladores de alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau del sector Miguel Grau Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016.

1.3.2 Objetivos Específicos

- O.E.1 Cuantificar las colonias de ***Staphylococcus aureus*** en manipuladores de alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores, agosto – setiembre 2016.
- O.E.2 Cuantificar las colonias de coliformes totales en manipuladores de alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores, agosto – setiembre 2016.
- O.E.3 Identificar los indicadores que favorecen la presencia de Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** en manipuladores de alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau sector Miguel Grau - Distrito San Juan de Miraflores, agosto – setiembre 2016

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

- La cantidad de coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** encontrados en manipuladores del Comedor

Popular Dolores Cavero de Grau del sector Miguel Grau Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016 se encontraran en límites aceptables según la RM N° 461-2007/MINSA.

1.4.2 Hipótesis Secundarias:

- H.E.1 La cantidad de ***Staphylococcus aureus*** en manipuladores de del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau del sector Miguel Grau Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016 se encuentran en límites aceptables según la RM N° 461-2007/MINSA.
- H.E.2 La cantidad de Coliformes totales en manipuladores de del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau del sector Miguel Grau Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016 se encuentran en límites aceptables según la RM N° 461-2007/MINSA.
- H.E.3 La presencia de Coliformes totales y ***Staphylococcus aureus*** dependen de los indicadores en manipuladores de del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau del sector Miguel Grau Distrito San Juan de Miraflores, Julio – Setiembre 2016

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación de la Investigación

Las Enfermedades Trasmitidas por Alimentos (ETA) se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial, tanto en países desarrollados, como en los países en vía de

desarrollo; constituyendo un problema prioritario para los organismos encargados de salud tanto nacional e internacional, especialmente los de salud pública cuya función es prevenir la aparición de brotes de ETA.

La inadecuada manipulación, falta de higiene en la preparación de alimentos repercuten gravemente en la salud de los individuos de quienes consumen constituyendo un problema de Salud Pública, los grupos más vulnerables son: en los niños menores de 5 años, las embarazadas, los ancianos y las personas inmunodeprimidos. Los niños que sobreviven algunas de las enfermedades de transmisión alimentaria más graves pueden sufrir retraso del desarrollo físico y mental, que tiene efectos irreversibles en su calidad de vida.⁹

1.5.2 Importancia de la investigación

Siendo parte del equipo multidisciplinario de los profesionales de salud, mi deber es dar a conocer los límites microbiológicos en manipuladores de los alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau y concientizar a las socias sobre la importancia de la Higiene Personal, adecuada manipulación de los alimentos, uso de protección personal y el uso adecuada de la indumentaria durante su actividad cotidiana.

Los resultados obtenidos en la presente investigación servirán a las autoridades municipales para hacer cumplir la vigilancia sanitaria, verificar si es efectiva cumplimiento Programas de Higiene y Saneamiento (PHS) Y de Buenas Prácticas de Higiene en la manipulación de alimentos. En base a este resultado las Autoridades Sanitarias podrán planificar la frecuencia las capacitaciones dirigidas a los

Comedores Populares como parte de la prevención de ETAS.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Juan Quispe – Víctor Sánchez. Comas, Lima – Perú (2001), **EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y SANITARIA DE PUESTOS DE VENTA AMBULATORIA DE ALIMENTOS DEL DISTRITO DE COMAS**, cuyo objetivo fue evaluar la calidad microbiológica y sanitario de los Puestos de Venta Ambulatoria de Alimentos (PVAA) en el Distrito de Comas, para ello cultivaron las muestras de alimentos(2), agua, superficies vivas (manos), inertes, el cual contó con una población de 61 PVAA, el método fue cuantitativo, determinando que el 60.9% de PVAA superan los límites aceptables de coliformes fecales en una o más muestras analizadas. Por tipo muestra de alimento, el 41% de PVAA tuvieron un alimento No Apto Para el Consumo Humano (NAPCH) y 19.7% ambos alimentos NAPCH (coliformes fecales > 100 NMP/g), y con respecto a las muestras de agua (32,8 %), superficie inertes (42,6%) y superficies vivas (49,2%), encontraron resultados microbiológicamente inaceptables (coliformes fecales > 100 NMP/g) en los PVAA, no encontraron presencia de salmonella spp en ninguna de las muestras evaluadas, concluyendo que la calidad microbiológica y sanitaria de PVAA del distrito de comas son deficientes.¹⁰

Santos Leopoldo Acuña Peralta, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, Luz Amalia Zamora Mejía, Olinda del Pilar Bustamante Canelo Chiclayo – Perú (2013), en la investigación **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE**

LOS ALIMENTOS QUE SE EXPANDE EN LA UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPAN Y ALREDEDORES. DICIEMBRE 2013. Cuyo objetivo fue evaluar la calidad microbiológica de alimentos que se vende en la universidad señor de Sipán, para lo cual realizaron cultivos microbiológicos de las 20 muestras de alimentos obtenidas de 4 restaurantes y un cafetín, el método fue descriptivo correlacional, determinando que el 86.7% muestras evaluadas presentaron valores dentro límites permisible para mesófilos viables; que el 93.3% presentaron límites permitidos para para **Escherichia coli** y el 100% de las muestras presentaron límites permitidos para **Salmonella, Staphylococcus.**¹¹

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Rhina Margarita Chávez Castillo – Marlon Fernando Herrera Aguirre, San Salvador – El salvador (2015), en trabajo de tesis **EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE MANIPULADORES Y ALIMENTOS PREPARADOS EN LOS CAFETINES DEL COLEGIO DON BOSCO**, cuyo objetivo fue determinar contaminantes microbiológicos en muestras de alimentos y manipuladores de seis cafetines del Colegio San Bosco en la ciudad de el Salvador, para ello aplicaron análisis microbiológicos a las muestras obtenidas, el método fue cuantitativo, el cual conto con una población de 18 manipuladores de seis cafetines y 42 muestras de alimentos seleccionados, determinando la presencia de microorganismos patógenos como **Escherichia coli** y **Staphylococcus aureus** en las muestras provenientes de las manos de los manipuladores ,lo cual indica la falta de higiene a la hora de manipular los alimentos haciéndolos no aptos para el consumo humano.¹²

Nailec Valdiviezo Lugo, Luz Bettina Villalobos de B, Rosa Martínez Nazaret .En Cumana – Venezuela (2006), en la investigación **EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA EN MANIPULADORES DE ALIMENTOS DE TRES COMEDORES PÚBLICOS**, cuyo objetivo fue evaluar la presencia de patógenos en manipuladores de los tres comedores colectivos en la ciudad de cumana, para ello aplicaron exámenes parasitológicos y bacteriológicos de las muestras de fosas nasales, manos, heces, el método fue cuantitativo, el cual contó con una población de 60 manipuladores, distribuidas de la siguiente manera: 30 procedentes de un comedor estudiantil, 12 de un comedor municipal, y 18 de un comedor hospitalario, en el cual determinaron que de las 60 muestras de manipuladores de tres comedores populares existe un predominio de las especies *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli*, la presencia de estos géneros bacterianos y de otras especies fecales en las manos de los manipuladores, son indicadores de la contaminación producida por una fuente fecal y por ende, una higiene deficiente en la manipulación de los mismos.¹³

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Manipuladores de Alimentos

Son todos aquellos individuos que, por su actividad laboral, entran en contacto directo en alguna etapa de la preparación, que actúan como principal vehículo de la contaminación (alimento - microorganismo). Entre los factores importantes durante la preparación de los alimentos es la disponibilidad del agua, que es necesario para el lavado de los manos con mayor frecuencia y, la sanitización

de las superficies. El uso de medidas de protección personal como son los guantes, mascarilla, gorros, mandilones.

El ser Humano actúa como fuente de contaminación debido a que todos los seres humanos albergan microorganismo como parte de la flora bacteriana en ciertas partes de su cuerpo que pueden transmitirse a los alimentos al entrar en contacto con ellos y causar enfermedades. "La piel, las manos, la nariz, los oídos y el cabello son parte del cuerpo humano a las que se debe prestar especial atención cuando se manipulan alimentos".¹⁴

2.2.2 Salud e Higiene Personal

Los manipuladores siempre deberán practicar reglas básicas en cuanto a su salud, higiene personal, vestimenta y sus hábitos durante la manipulación de los alimentos, siempre deberán mantener un elevado grado de aseo personal para garantizar la seguridad y salubridad de los alimentos, en consecuencia evitar enfermedades

Si un manipulador se encuentra enfermo de las vías respiratorias, del estómago o si se tienen heridas en las manos o infecciones en la piel lo más recomendado es evitar en ese tiempo la manipulación de alimentos, por la alta probabilidad de contaminarlos con gérmenes y por lo tanto, la aparición de intoxicaciones alimentarias cuya aparición es casi siempre la responsabilidad del ser humano.¹⁵

Las manos del manipulador entran permanentemente en contacto con los alimentos, superficies, utensilios y equipos, en consecuencia son la principal fuente de contaminación de los alimentos. Por ello, una de las medidas preventivas es el lavado de manos que debe ser con mayor frecuencia y a

conciencia, antes de empezar a trabajar, al tocar alimentos crudos y después tener que tocar otros alimentos o superficies, luego de utilizar el baño o haber realizado cualquier otra tarea no higiénica como manipular dinero, sacar la basura, luego de rascarse la cabeza, tocarse el pelo, la cara, la nariz u otras partes del cuerpo, de estornudar o toser aún con la protección de un pañuelo o luego de tocar mascotas.^{15,16}

Los pasos para el correcto lavado de manos como indica la OMS son los siguientes: ¹⁶

- Remangar el uniforme hasta el codo, quitarse los objetos personales como son las joyas, anillos, reloj.
- Humedecer las manos y el antebrazo hasta el codo bajo chorro de agua.
- Distribuir cantidad suficiente de jabón y frotar hasta que se forme espuma y extenderla de las manos hacia los codos.
- Cepillar cuidadosamente manos y uñas para eliminar posible suciedad acumulada; El cepillo deberá permanecer en una solución desinfectante (cloro o yodo por ejemplo), mientras no se use. Se renovará al menos dos veces por turno, falta de cepillo, el lavado con agua y jabón se hará al menos por 20 segundos, restregando fuerte manos y uñas, es importante también mantener las uñas cortas y libres de esmalte.
- Enjuagar con abundante de agua desde las manos hacia los codos hasta eliminar todos los restos de jabón, el agua además de ser potable, deberá ser lo más caliente posible para una mejor acción del jabón.

- secarse las manos con toalla de papel desechable, en los casos en que no se dispone de toallas de papel, se debe contar con una toalla que permanezca siempre limpia y sea renovada cuando esté muy mojada o su estado de limpieza no sea óptimo.
- Cerrar el agua utilizando la toalla de papel en el caso que deba hacer con las manos
- Eliminar la toalla de papel luego de salir de la zona de lavado de manos.

2.2.3 Fuentes de contaminación alimentaria

2.2.3.1 Las personas

Los alimentos antes del consumo, pasan por diversas etapas desde la cosecha durante los cuales son sometidos a la manipulación de varias personas entre ellos el productor, el transportista, el proveedor, el almacenador, el procesador (ama de casa, mozo, operario u otro) quienes son el principal fuente de contaminación de los alimentos si sus hábitos higiénicos son deficientes debido a que portan bacterias en su cuerpo. Estas pueden estar en la boca, la nariz, el intestino, las manos y la piel. Con mayor frecuencia se encuentran en las manos sucias, saliva de personas enfermas, heridas.¹⁶

2.2.3.2 Los residuos

Los recipientes con desperdicios son una fuente muy importante de contaminación ya que se los deja durante varias horas a temperatura ambiente. Esto favorece el desarrollo de microorganismos, atrayendo de esta forma insectos y roedores. Las moscas, cucarachas, ratas, el

viento pueden hacer que la basura llegue al alimento que se preparó y de esta forma lo contaminen.¹⁷

2.2.3.3 Los objetos inanimados

Los objetos inanimados como son los utensilios, superficies inertes, cocinas, ofrecen riesgos de contaminación cruzada si no son debidamente desinfectados antes de su uso.¹⁷

2.2.3.4 Alimentos crudos

Son fuente de contaminación, se hallan normalmente contaminados con bacterias y parásitos. Se debe tener especial cuidado con las carnes rojas y blancas, los pescados y mariscos, los huevos y la leche cruda.¹⁹

2.2.3.5 Plagas

Las plagas transportan gérmenes y suciedad en sus patas y cuerpos. Están siempre donde hay alimentos y basura. Recordar que viven en alcantarillas, desagües, materia descompuesta, deposiciones, por lo que constituyen una importante fuente de contaminación.¹⁷

2.2.3.6 El agua

Una forma común de contaminación de alimentos es por el agua, esto ocurre especialmente en aquellos lugares donde las verduras y frutas son regadas con aguas servidas. El agua empleada siempre debe ser potable, el uso de aguas contaminadas para la limpieza y los procesos de elaboración y conservación de alimentos provocaría una contaminación irremediable.¹⁸

2.2.3.7 Tierra y aire

En la tierra se encuentran gran cantidad de microorganismos causantes de enfermedades, además la tierra contamina el aire, agua y animales. La tierra al secarse por acción de sol, y al ser levantado por el aire trasporta microorganismos que se mantienen suspendidos hasta que llegan al sustrato donde encuentran las condiciones para multiplicarse.^{17, 18}

2.2.4 Factores que Intervienen en la Contaminación de Alimentos

Los microorganismos como todo ser viviente, requieren de ciertas condiciones favorables para sobrevivir y su reproducción. Conocer estas condiciones nos permite tomar medidas preventivas para evitar su multiplicación.

2.2.4.1 Factores que Favorecen Reproducción Bacteriana

2.2.4.1.1 Nutrientes

Casi todos los alimentos contienen nutrientes favorables para las bacterias como son: agua, proteínas, grasas, minerales o azúcar.¹⁸

2.2.4.1.2 Humedad o Disponibilidad de Agua

El agua es el elemento importante para el desarrollo y reproducción de las bacterias, algunos alimentos contienen una gran cantidad de agua libre como son: las leche, mayonesa, cremas, carnes, frutas y verdura que tienen actividad de agua mayor de 0.91, y existen otros alimentos que tienen actividad de agua menor de 0.9 como son: los frutos secos, fideos, cereales, huevos deshidratados, Que no facilitan el crecimiento bacteriano.¹⁸

2.2.4.1.3 Oxígeno

Los requerimientos de las bacterias varían en cuanto al oxígeno, pudiendo desarrollarse en presencia de oxígeno (aerobios), sin la presencia de oxígeno (anaerobios) o se puede adaptar según el medio en que se encuentra (anaerobios facultativos).¹⁸

2.2.4.1.4 Temperatura

Las temperaturas mesófilas (30 - 45°C) favorecen la proliferación de la mayoría de las bacterias patógenas y toxigénicas, es por ello que se limita el crecimiento y desarrollo manteniendo los alimentos menor de 5°C y mayor de 65°C (fuera de zona de riesgo)^{18, 19}

2.2.4.1.5 Acidez

El pH óptimo para el crecimiento de las bacterias es el neutro (pH=7), aunque dependerá de la especie del microorganismo. Pudiendo existir bacterias acidófilas (pH= 1 a 6) y basófilas (pH= 8 a 14).¹⁸

2.2.4.1.6 Factores que favorecen la contaminación por sustancias químicas.

En general los alimentos se contaminan con sustancias químicas por confusiones o errores de los manipuladores de alimentos, que al fraccionar las sustancias químicas, estas no son identificadas debidamente, también almacenan en conjunto o cercanas a estas sustancias químicas.

2.2.5 Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAS)

se producen por la ingestión de alimentos y/o bebidas infectados con contaminantes en cantidades que pueden ser de bacterias patógenas (nocivas al organismo), parasito, virus quienes producen (veneno) que se generan por crecimiento y duplicación de estos. Causando principalmente trastornos en el tubo digestivo con dolores abdominales, diarrea, náuseas y vómito, pero también puede presentarse otros problemas graves como shock séptico, hepatitis, cefalea, fiebre. Por otro lado existen ETAS que puedan generar enfermedades crónicas a largo plazo tales como el daño renal, artritis, meningitis, aborto y en los casos más graves puede provocar la muerte del consumidor. Es importante recordar que las etas son prevenibles con las prácticas de higiene.²⁰

El tiempo de incubación es variable, y puede ir desde unas pocas horas a varios días, depende del tipo de microorganismo o agente tóxico que produce la intoxicación, de la susceptibilidad del individuo, de la patogenicidad y virulencia del agente, de la cantidad de microorganismos o toxinas presentes en los alimentos y de la cantidad de alimento contaminado ingerido, si los síntomas aparecen de 1 a 6 horas tras la ingesta, generalmente se sugiere que la intoxicación es debida a una toxina bacteriana o sustancia química, más que a bacterias vivas.²¹

Las ETAS pueden provocar:

2.2.5.1 Infección

Son provocados por ingestión de alimentos y/o agua contaminados con agentes infecciosos específicos tales

como bacterias, virus, hongos, parásitos, que en la luz intestinal pueden multiplicarse o lisarse y producir toxinas o invadir la pared intestinal y desde allí alcanzar otros aparatos o sistemas.²⁰

2.2.5.2 Intoxicación

Son producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas, animales o producidas por microorganismos que se incorporan a los alimentos de manera accidental, incidental o intencional en cualquier momento desde su producción hasta su consumo y producen toxinas que en la mayoría de los casos no se eliminan con la cocción.²⁰

2.2.6 Agentes patógenos productores de ETAS

2.2.6.1 ***Staphylococcus aureus***

Son cocos Gram positivos que se agrupan en racimos, son catalasa positiva, inmóvil y no esporulada, tienen forma esférica. Su pH óptimo de crecimiento oscila entre 7,0 y 7,5 aunque pueden soportar pHs mucho más extremos y la temperatura óptima va de 35 a 40 °C, también soportan tasas elevadas de cloruro sódico, hasta en 15%. El reservorio natural de *S. aureus* es el hombre, el 40 – 45% de las personas adultas albergan *S. aureus* en la nariz y la boca, y que puedan diseminar con facilidad cuando estornudan, tosen, silban cerca a los alimentos causando problemas gastrointestinales, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria. Provocando síntomas a pocos minutos o varias horas (2 - 6 horas) después del consumo del producto contaminado;

la intoxicación cursa con vómito, diarrea, espasmo gastrointestinal, escalofríos y mareos. No suelen presentar fiebre generalmente cesa de 6 a 24 horas.²²

2.2.6.2 ***Escherichia coli***

Son bacilos Gram negativo, anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos, no formadoras de esporas, fermentadoras de glucosa y la lactosa y descarboxila la lisina generalmente, se encuentra clasificado dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales, Sin embargo, hay algunas cepas de **E.coli** patógena que provocan enfermedades diarreicas y se clasifican en base a sus características que presentan y a sus factores de virulencia.

Se distinguen cinco cepas de **E. coli** según el poder de sus patogenicidad: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enteroagregativa (ECEA).²³

Cada grupo produce enfermedades por diferente mecanismo, sus signos y síntomas suelen diferir desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Las cepas ECET Y ECEI solo afectan a humanos siendo medio de transmisión los alimentos y agua contaminada. La elevada concentración de **E. coli** en alimentos evidencia una contaminación reciente, ya que mueren pronto fuera del intestino por lo que se utiliza como indicadores de calidad higiénicas

2.2.6.3 **Salmonella Spp**

Bacteria de familia enterobacteriaceae, Gram negativas flageladas y de forma bacilar, anaerobios facultativos, oxidasa negativa, fermentan la glucosa generando ácido y gas, presentan dos rutas metabólicas oxidativa y la fermentativa, crecen en citrato como única fuente de energía, descarboxilan la lisina y la ornitina, producen sulfuro de hidrógeno.²³

Se distinguen las siguientes especies: **Salmonella bongori**, **Salmonella choleraesuis**, **Salmonella entérica**, **Salmonella enteritidis**, **Salmonella nyanza**, **Salmonella paratyphi**, **Salmonella typhi**, **Salmonella typhimurium**, **Salmonella virginia**.²³

De las que cuales se reconocen como patógenos a **Salmonella typhi**, **Salmonella enteritidis**, **Salmonella choleraesuis**, según la serotipificación de Kauffman y White, se clasifican en más de 2200 serotipos en base a sus antígenos flagelares H (proteicas) y antígenos somáticos O (fracción polisacárido del lipopolisacárido bacilar).²³

La **Salmonella spp** es un microorganismo que se adapta bien a los animales como humanos. Cuando se introduce a los alimentos frescos es capaz de multiplicarse a una velocidad muy elevada duplicando su número cada 15 ó 20 minutos a una temperatura mayor de 20°C, suelen ser resistentes a la congelación y a la deshidratación. La **Salmonella** provoca 2 tipos de patologías que son la gastroenteritis y la fiebre tifoidea, cuya sintomatología suele manifestarse después de 6 a 72 horas de consumir el alimento contaminado, que generalmente son cólicos,

diarreas, escalofríos, fiebre, náuseas, vómitos y malestar general las cuales pueden durar hasta 7 días.²³

2.2.7 Microorganismos indicadores de manipuladores

2.2.7.1 *Staphylococcus aureus*

El reservorio natural de *S. aureus* es el hombre, animales su presencia en alimento indica la contaminación a partir de piel, boca y fosas nasales de los manipuladores de alimentos, para evitar su contaminación se debe usar barreras protectoras (mascarilla, guante, ropa adecuada), evitar malos hábitos de higiene (masticar, hablar, estornudar), cuando se encuentra gran número de *Staphylococcus* en un alimento, significa que las prácticas de limpieza, desinfección y control de temperatura no han sido óptimas. En algún lugar.²⁴

2.2.7.2 Coliformes totales

Se encuentra formado por los siguientes géneros: ***Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter***, son un grupo de microorganismos conformados por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, Gram negativas, tienen la forma de bastón, no forman esporas, fermentan la lactasa con producción de ácido y gas en 24-38 hrs. a 36 °C, aunque algunos pueden ser fermentadores tardíos o no fermentadores, como ***Citrobacter y Serratia***. Su hábitat natural es el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelo, semillas y vegetales. Los coliformes se introducen al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Es por ello que suele

deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, aún existen muchos coliformes de vida libre, por ello es necesario realizar pruebas diferenciales a fin de emplearlos como indicadores de contaminación. Se distinguen dos tipos de coliformes: totales que son un grupo y fecales que son de origen intestinal, desde el punto de vista de salud pública esta diferenciación es importante puesto que permite asegurar alto grado de certeza que la contaminación que presenta el agua es de origen fecal, mientras que su presencia en alimentos indica la falta de limpieza general y un almacenamiento inadecuado.²⁴

2.2.7.3 Coliforme fecal

Constituido por bacterias Gram negativas, fermentadores de lactasa con producción de gas a las 48 horas de incubación a 44.5 °C. Este grupo también denominada termotolerante la especie más predominante es la ***Escherichia coli***, que existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales. Su elevada presencia en los alimentos, es un indicativo de una contaminación fecal reciente, mientras que su presencia en agua da alto grado de contaminación de origen fecal, alrededor del 99%. Sin embargo, su aislamiento de este microorganismo no permite distinguir si la contaminación es de origen animal o humano, debido a que son idénticas, sin embargo esto puede ser importante debido a lo que se desea controlar es de origen humano por ser medio de transmisión de procesos infecciosos.²⁴

2.2.7.4 Streptococos fecales

Microorganismo cuya habidad natural es el sistema digestivo de los animales de sangre caliente, su presencia en los alimentos es un indicativo de contaminación de origen fecal, falta de higiene o malas prácticas de almacenamiento, excepto en aquellos alimentos que forma parte del procesamiento como son el queso, embutidos crudos. son microorganismo muy resistentes a condiciones extremas como son el tratamiento térmico, congelación, desecación, razón por la cual se usa como indicador para evaluar las condiciones de almacenamiento, conservación e higiénicas.²⁴

2.2.7.5 Los mohos

Son organismos pertenecientes a reino fungí, multicelulares, aerobios estrictos, crecen en medio selectivo a 25 °C, se caracterizan por tener un cuerpo filamentosos con ramificaciones, que se conocen con nombre de hifas, el conjunto de hifas constituye el micelio, carecen de clorofila, se propagan por esporas flageladas o no, sus paredes celulares pueden ser de queratina o celulosa, su crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. La parte principal del hongo en crecimiento generalmente es blanco; puede también estar coloreada, pueden dar color en parte o toda la masa en crecimiento.²⁴

2.2.7.6 Las Levaduras

Son organismos unicelulares, no filamentosos, aerobios y anaerobios facultativos, tienen la forma de ovoide.

Presentan un núcleo y se reproducen por vía sexual, asexual, gemación o fisión trasversal.²⁴

Se encuentran en alimentos y estos pueden ser beneficiosos o perjudiciales, se caracterizan principalmente en base a sus características morfológicas.

2.2.7.7 Bacterias Mesofilas Arobias (BMA)

Son mesófitas aerobios, que forman colonias visibles en condiciones ambientales óptimas (medios de cultivo, tiempo y temperatura).

Son bacterias de mucha utilidad para determinar la calidad microbiológica de los alimentos, existiendo criterios diferentes para cada alimento y límites de aceptabilidad, el recuento de BMA en el agua, alimentos y otros materiales puede tener diferentes aplicaciones de utilidad, según el interés poniendo en manifiesto lo siguiente: La presencia en alimentos en límites superiores a los permitidos; indica que posiblemente las normas de trabajo hayan sido violadas, el tratamiento bajo el cual se preparó el alimento ha sido ineficiente, las condiciones de almacenamiento no han sido adecuadas, y que el alimento ya no es fresca.²⁴

De manera general, una elevada carga de BMA expresa una negativa de su calidad microbiológica.

2.3 Normas peruanas

Con la finalidad de garantizar la inocuidad alimentario, el Gobierno Peruano a lo largo de los años ha aprobado una serie de normas a través del Ministerio de salud (MINSA), la cual a través de su órgano Dirección General Salud Ambiental (DIGESA), y esto a su

vez a través de su Dirección de Higiene de Alimentos y Zoonosis se encarga de su difusión, implementación y vela por su cumplimiento de las normas aprobadas.

El reglamento sobre la vigilancia y control sanitario de alimentos y bebidas fue aprobado mediante el Decreto Supremo N° 007-98-SA, la cual consta de nueve títulos, diecinueve capítulos, ciento veinticinco artículos. Describiendo en el capítulo V los aspectos de la higiene del personal, estado de salud, aseo y presentación del personal, limpieza y desinfección del local, control de plagas y acceso de animales.

En el año 2007 se aprueba la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas mediante la Resolución Ministerial N° 461 – 2007 cuya finalidad es asegurar la calidad sanitaria de los alimentos y bebidas elaborados para consumo humano y la implementación del sistema de análisis de peligro y de puntos críticos de control (HACCP), En esta guía establecen los parámetros microbiológicos para la evaluación de las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes, también describen los distintos métodos para la toma de muestra, su métodos de transporte y conservación, su análisis e interpretación.

Mediante la Resolución Ministerial 591-2008 / MINSa se aprueba la Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSa/DIGESA-V.01, norma que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. La cual agrupa en diecinueve grupos de alimentos para establecer los criterios microbiológicos para cada grupo.

2.4 Definición de términos básicos

- ***Staphilococcus aureus***: Bacterias Gram Negativas indicadores de higiene tanto en superficies vivas e inertes.
- **COLIFORMES TOTALES** : Bacterias Gram negativas indicadores de higiene en las superficies vivas (manos)
- **AOAC**. Métodos Oficiales de Análisis de la asociación de Químicos Analíticos (AOAC:Official Methods of Analysis of Analyza of the Association of official Analytical Chemists international).
- **MANIPULADOR DE ALIMENTOS**: Toda persona que a través de sus manos toma contacto directo con alimentos envasados o no envasados, equipos y utensilios utilizados para su elaboración y preparación o con superficies que están en contacto con los alimentos.
- **ETAS (Enfermedades Trasmitidas por los alimentos)**, conjunto de síndromes que es ocasionado por consumo de alimentos o bebidas contaminados con agentes etiológicos en cantidades suficientes que afecte la salud del consumidor.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

Aplicada, porque se aplicaron conocimientos adquiridos en microbiología general y microbiología de alimentos para el análisis e identificación de los microorganismos presentes en las muestras obtenidas de las manos de manipuladores.

3.1.1 Método

Científico: Porque se cumplió con todos los pasos que exigidos por dicho método. Además, se usó la Guía técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con alimentos y Bebidas - Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA Y LOS Métodos Oficiales de Análisis de la asociación de Químicos Analíticos (AOAC), establecido en la RM N° 461-2007/MINSA

Inductivo: En el presente trabajo se hizo la evaluación microbiológica de las manos de los manipuladores de los alimentos del comedor popular para determinar los límites permisibles de los microorganismos presentes.

Cuantitativo: En presente investigación se cuantifican el número de colonias presentes en las placas Petri film, posteriormente los datos obtenidos se procesaron estadísticamente en datos porcentuales.

3.1.2 Técnica

Se utilizó las técnicas AOAC 991.14 para el recuento de coliformes totales, AOAC 2003.07 para el recuento de ***Staphylococcus aureus*** y el método del enjuague descrito en Guía técnica para el Análisis Microbiológico de

Superficies en Contacto con alimentos y Bebidas 461-2007/MINSA.

3.1.3 Diseño

Es No experimental: No se alteró o modifíco ningún tipo de comportamiento de los manipuladores.

Descriptivo: nos dedicamos a observar la frecuencia del lavado de manos por parte de los manipuladores

De campo: se visitó las instalaciones del Comedor Popular Dolores Caveró de Grau, para la toma de muestra.

Trasversal: porque la investigación se hizo de desde junio a setiembre.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

Conformado por todos los manipuladores de alimentos del Comedor Populares Dolores Caveró de Grau del sector Miguel Grau, Asentamiento Humano Pamplona Alta del distrito de San Juan de Miraflores.

3.2.2 Muestra

Se utilizó un muestreo dirigido ó por conveniencia, se recolecto ocho muestras de las manos de los manipuladores, que estuvieron en contacto directo con los alimentos.

3.3 Variables e Indicadores

Tabla N° 1: Operacionalización de variables

VARIABLES INDEPENDIENTE (X)	Indicadores
Manos de manipuladores de alimentos	Grado de instrucción
	Frecuencia de lavado de manos
	Procedencia
	Edad
VARIABLES DEPENDIENTE (Y)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<100 UFC/manos
Coliformes totales	<100 UFC/manos

Fuente: Elaboración Propia.

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1 Técnicas

Se coordinó con la presidenta del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau para la toma de muestra de manipuladores de alimentos mediante una solicitud.

Una vez aceptada se procedió la recolección de muestra utilizando el método de enjuague descrito en la "GUIA TECNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÒGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS", en las instalaciones del comedor considerando la hora propicia de 11:30 a 12 del día momento en la que sirven los menús que normalmente preparan 100 raciones diarias. Así mismo se indago lugar de procedencia de los manipuladores, grado de instrucción y se observó la frecuencia de lavado de manos durante nuestra estancia las

cuales se clasificaron en 3 rangos, según el número de veces de la higiene de manos:

- Muy frecuente más de 5 veces
- Frecuente 3 veces
- Poco frecuente menos de 2 veces

3.4.1.1 Procedimiento para la toma de muestra.

Las muestra se recolectaron utilizando bolsas dobles de polietileno de primer uso con solución diluyente (agua peptonada buferada), para ello se solicitó al manipulador frotarse los dedos y especialmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, adicionalmente se realizó la misma operación a través de las paredes de la bolsa (superficie) aproximadamente por 1 minuto Luego de que el manipulador retirara sus manos se procedió al cierre hermético de las bolsas, luego se colocó etiquetas para su identificación según (Anexo N°2).²⁵

3.4.1.2 Conservación y Transporte de Muestra.

Las muestras se colocaron en un contenedor isotérmico (Cooler) la cual tenía gel refrigerante distribuido uniformemente en la base, y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10 °C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada a la Certificadora y Laboratorios Alas Peruanas S.A.C (CERTILAB).el tiempo que transcurrió entre la toma de muestra y el traslado al laboratorio fue de 2 Horas y 30 Minutos.²⁵

3.4.1.3 Control de Temperatura.

Se registró la temperatura (anexo N° 3) del contenedor a la hora de colocar las muestras, durante el transporte y a la

hora de llegada al laboratorio; el procesamiento de las muestras fue menor de 4 Horas desde la toma de muestra.

3.4.1.4 Procesamiento de Muestras:

Se usó las placas Petrifilm 3M (método en film seco rehidratable), para el recuento de Coliformes totales se usó las placas Petri film Coliform Count. y las placas petrifilm sthaph express para recuento de los ***Sthaphylococcus aureus***.

3.4.1.5 Determinaciones Microbiológicas Realizadas

A. Determinación de Coliformes Totales

Para el cual se usó las placas petrifilm Coliform Count plate que está constituido por elementos nutritivos de Violeta Rojo Bilis (V.R.B), un agente gelificante soluble en agua, un indicador de la actividad glucuronidasa (5-bromo – 4 –cloro - 3-indolil –b-d-d glucoronido) y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias, las cuales se manifiestas con coloraciones rojas con gas.Las placas Petrifilm se ubicaron en una superficie plana. Luego se extrajo 1mL de muestra con pipeta graduada, se levantó el film superior y con la pipeta en forma perpendicular a la placa se colocó 1mL de la muestra en el medio del film inferior, luego se bajó el film superior con cuidado teniendo en cuenta de no introducir burbujas de aire colocar la cara lisa hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inoculo y ejerció una presión para repartir el inoculo sobre el área circular antes de que se forme el gel, retirar el aplicador y esperar por un minuto hasta que se solidifique el gel, se llevó a incubar por 24horas \mp 2horas a 35°C \mp 1°C. Finalmente se realiza la lectura con un contador de colonias estándar, se enumera todas las colonias de color rojo con gas.²⁵

B. Determinación de *Staphylococcus aureus*

Para el recuento de *S. aureus* se utilizó las Placas Petrifilm Staph, Express el cual está constituido por medio cromogenico tipo Baird Parker que es un medio selectivo y diferencial para este microorganismo, donde se muestras colonias rojo violetas. La placa se ubica en una superficie plana, se identificó con los datos del manipulador. Luego se extrajo 1mL de muestra con pipeta graduada, se levantó el film superior y con la pipeta en forma perpendicular a la placa se colocó 1mL de la muestra en el medio del film inferior, luego se bajó el film superior con cuidado teniendo en cuenta de no introducir burbujas de aire colocar la cara lisa hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inculo y ejerció una presión para repartir el inculo sobre el área circular antes de que se forme el gel, retirar el aplicador y esperar por un minuto hasta que se solidifique el gel, se llevó a incubar por 24horas \pm 2horas a 37°C \pm 1°C. Finalmente realizar la lectura con un contador de colonias estándar.se contabilizo solo las colonias rojo violáceas.²⁶

3.4.2 Instrumentos

Para la identificación de las muestras se usó la ficha de recopilación de muestras (Anexo 3) y los materiales que se usaron son:

- Bolsas de polietileno de primer uso
- Guantes descartables
- Mascarillas desechables
- Gorros desechables
- Caja isotérmico
- Gel refrigerante
- Marcador

- Termómetro
- Placas de Petri film
- Pipetas de 1 mL
- Contador de colonias
- Incubadoras.
- Marcadores

CAPÍTULO IV:
PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

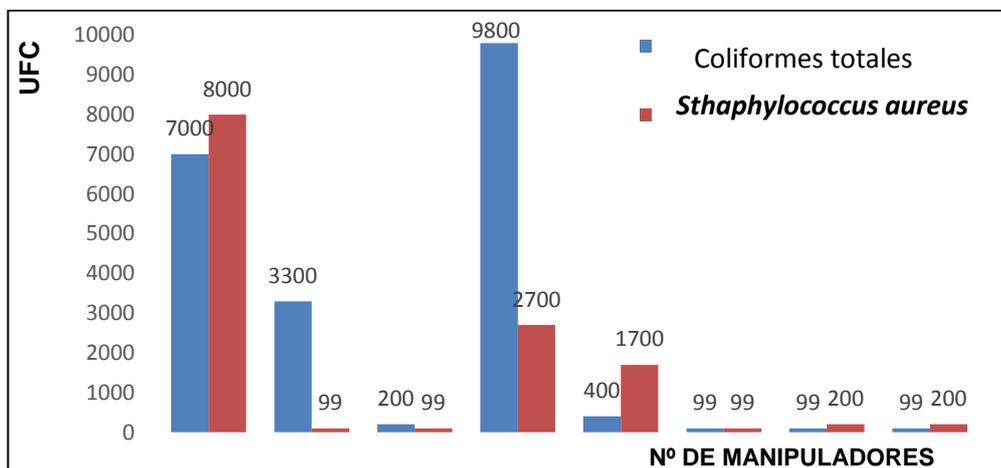
4.1 Resultados

Tabla N° 2: Límites permisibles para microorganismos indicadores de higiene

Límites permisibles		
MÉTODO ENJUAGUE	Vivas	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permissible (*)
Coliformes totales	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos

Fuente: Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA

GRÁFICO N° 1: Presencia de coliformes totales y *Staphylococcus aureus* indicadores de higiene.



Fuente: Elaboración propia

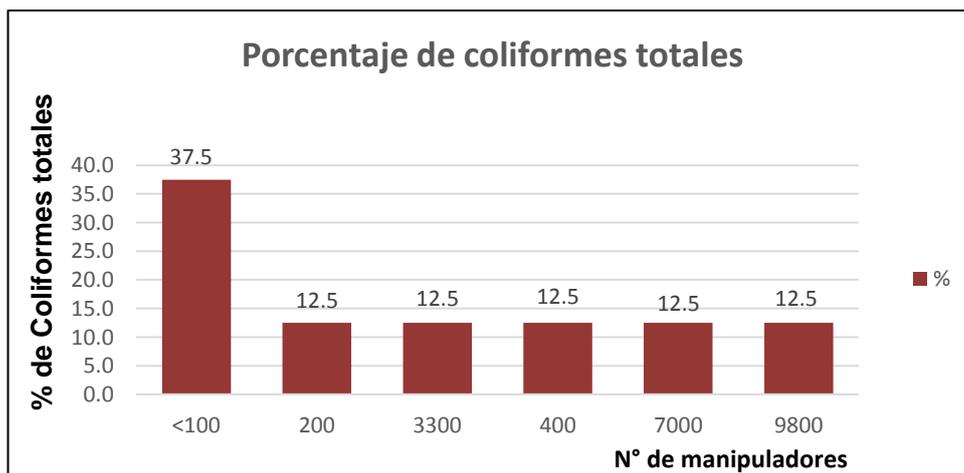
Del 100% de los manipuladores, el 62.5% presenta límites no permisibles tanto para coliformes totales y *staphylococcus aureus*, solo el 37.5% presenta límites permisibles para ambos microorganismo.

Tabla N° 3: Frecuencia de Coliformes totales

Coliformes totales	N°	%
<100	3	37.5
200	1	12.5
3300	1	12.5
400	1	12.5
7000	1	12.5
9800	1	12.5
Total	8	100.0

Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 2: Porcentaje de Coliformes totales



Fuente: Elaboración propia

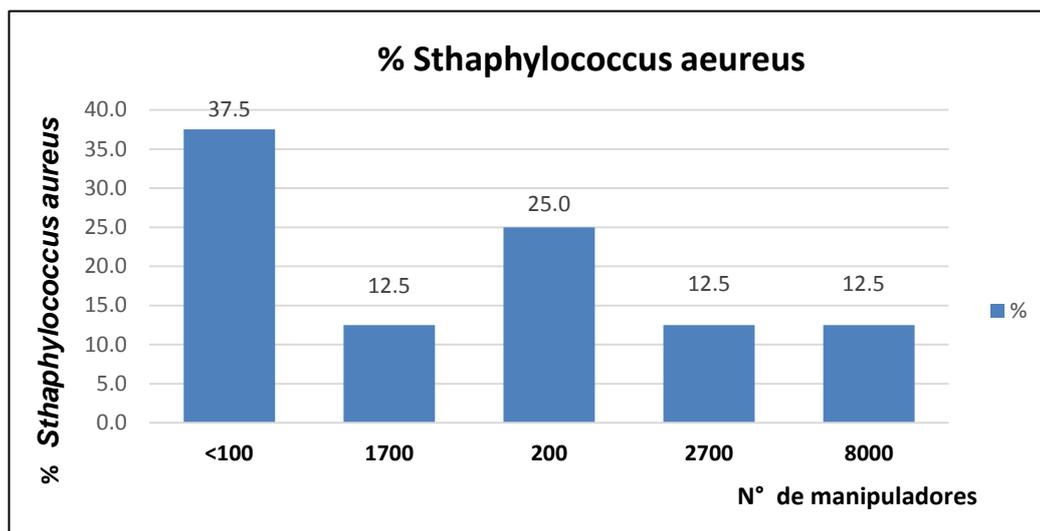
Solo el 37.5% de los manipuladores de alimentos muestran resultados en límites permisibles para los coliformes totales, y el 62.5% son portadores de coliformes totales en límites no permisibles.

Tabla N° 4 Frecuencia de *Sthaphylococcus aureus*

<i>Sthaphylococcus aureus</i>	Frecuencia	%
<100	3	37.5
1700	1	12.5
200	2	25.0
2700	1	12.5
8000	1	12.5
Total	8	100.0

Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 3 Frecuencia de *Sthaphylococcus aureus*



Fuente: Elaboración propia

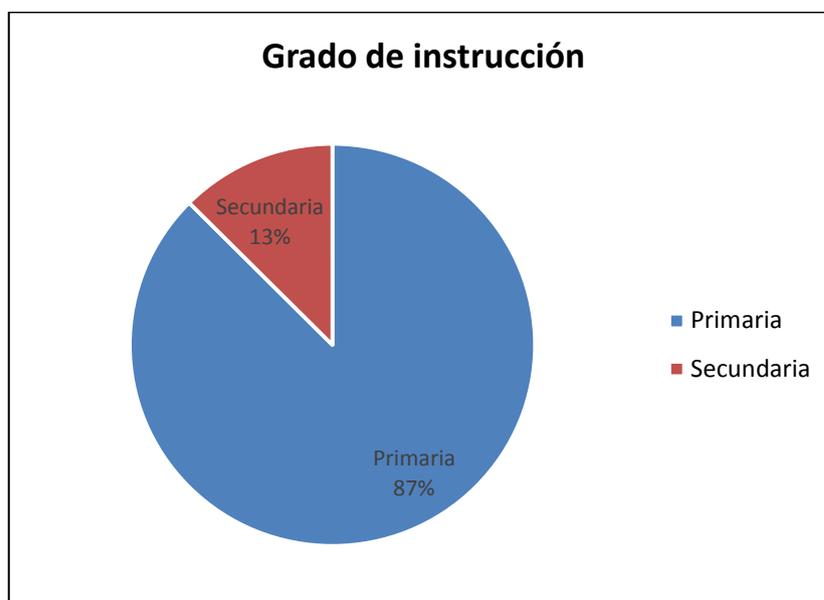
El 62.5% de manipuladores de alimentos muestran resultados en límites no permisibles para *Sthaphylococcus aureus*, y solo el 37.5% de los manipuladores de alimentos muestran resultados en límites permisibles para *Sthaphylococcus aureus*

Tabla Nº 5: Frecuencia de Grado de instrucción

GRADO DE INSTRUCCIÓN	Frecuencia	Porcentaje
Primaria	7	87.5
Secundaria	1	12.5
Total	8	100.0

Fuente: Elaboración propia

Gráfico Nº 4 Porcentaje de grado de instrucción



Fuente: Elaboración propia

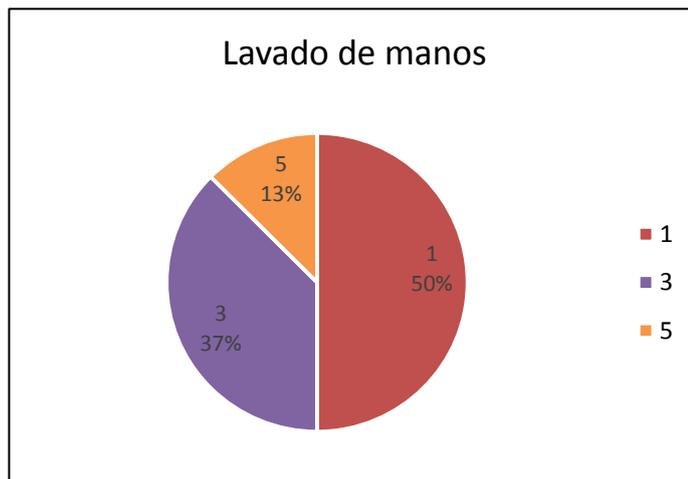
Del total de 8 manipuladores de alimentos el 87% (7) ha recibido instrucción de educación primaria, y solo el 13% (1) instrucción de educación secundaria

Tabla Nº 6: Frecuencia de Lavado de manos

Frecuencia de lavado de manos	Frecuencia	Porcentaje
1	4	50.0
3	3	37.5
5	1	12.5
Total	8	100.0

Fuente: Elaboración propia

Gráfico Nº 5 Porcentaje de Lavado de manos



Fuente: Elaboración propia

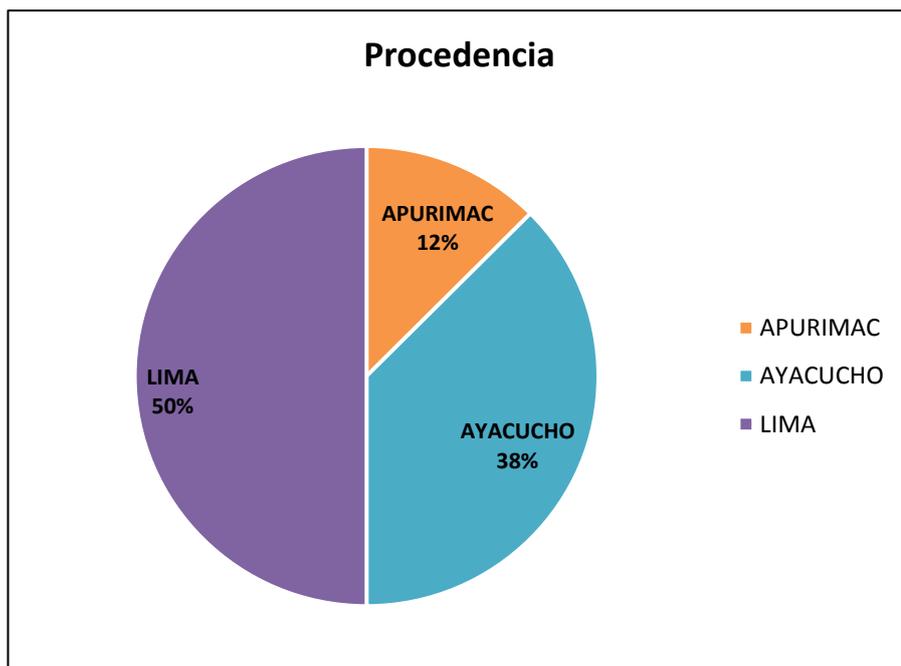
De los 8 manipuladores de alimentos el 50% (4) se lava las manos menos de 2 veces (poco frecuente), 37.5% se lava de dos a tres veces (frecuentemente), y solo el 13% realiza el lavado de manos más de 5 veces (muy frecuente).

Tabla N° 7: Frecuencia de Procedencia

PROCEDENCIA	Frecuencia	Porcentaje
APURIMAC	1	12.5
AYACUCHO	3	37.5
LIMA	4	50.0
Total	8	100.0

Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 6 Porcentaje de Procedencia



Fuente: Elaboración propia

El 50% de los manipuladores de alimentos tienen la procedencia de Lima, 38% son de Ayacucho y 12% son de Apurímac.

Tabla Nº 8: Estadística descriptiva de Edad de manipuladores de alimentos.

Estadísticos	
EDAD	
N	8
Media	50.13
Mediana	48.50
Desviación estándar	15.615
Mínimo	34
Máximo	68

Fuente: Elaboración propia

La edad promedio de los manipuladores de alimentos es de 50 años con una mediana de 48.5 años y la edad mínima de 34 años y edad máxima de 68 años.

Estadística de inferencial (Chi Cuadrado)

Tabla Nº 9: Coliformes totales y grado de instrucción

Coliformes totales	Primaria	Secundaria	Total
<100	2	1	3
200	1	0	1
3300	1	0	1
400	1	0	1
7000	1	0	1
9800	1	0	1
Total	7	1	8

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,905 ^a	5	,862
Razón de verosimilitud	2,209	5	,820
N de casos válidos	8		

a. 12 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.

Al aplicar el estadístico Chi cuadrado entre grado de instrucción y coliformes totales, no existe diferencias estadísticas significativa ($p > 0.05$) $P = 0.862$, lo que indica que el grado de instrucción no influye en la presencia de coliformes totales

Tabla N° 10: *Staphylococcus aureus* y grado de instrucción

Staphylococcus aureus	Primaria	Secundaria	Total
<100	2	1	3
1700	1	0	1
200	2	0	2
2700	1	0	1
8000	1	0	1
Total	7	1	8

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,905 ^a	4	,753
Razón de verosimilitud	2,209	4	,697
N de casos válidos	8		

a. 10 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.

Al aplicar el estadístico Chi cuadrado entre grado de instrucción y ***Staphylococcus aureus***, no existe diferencias estadísticas significativa ($p > 0.05$) $P = 0.753$, lo que indica que el grado de instrucción no influye en la presencia de ***Staphylococcus aureus***

Tabla Nº 11: Lavado de manos y presencia de coliformes totales

Coliformes totales	1	3	5	Total
<100	0	2	1	3
200	0	1	0	1
3300	1	0	0	1
400	1	0	0	1
7000	1	0	0	1
9800	1	0	0	1
Total	4	3	1	8

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,889 ^a	10	,543
Razón de verosimilitud	11,770	10	,301
N de casos válidos	8		
a. 18 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.			

Al aplicar el estadístico Chi cuadrado entre lavado de manos y coliformes totales, no existe diferencias estadísticas significativa ($p > 0.05$) $P = 0.543$, lo que indica que el grado de instrucción no influye en la presencia de coliformes totales.

Tabla N° 12: Lavado de manos y presencia de *Sthaphylococcus aureus*

Sthaphylococcus aureus	1	3	5	Total
<100	1	1	1	3
1700	1	0	0	1
200	0	2	0	2
2700	1	0	0	1
8000	1	0	0	1
Total	4	3	1	8

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,556 ^a	8	,478
Razón de verosimilitud	8,997	8	,343
N de casos válidos	8		

a. 15 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.

Al aplicar el estadístico Chi cuadrado entre lavado de manos y ***Sthaphylococcus aureus***, no existe diferencias estadísticas significativa ($p > 0.05$) $P = 0.478$, lo que indica que el grado de instrucción no influye en la presencia de ***Sthaphylococcus aureus***

Tabla N° 13: Procedencia y presencia de Coliforme totales

Coliformes totales	APURIMAC	AYACUCHO	LIMA	Total
<100	0	1	2	3
200	0	0	1	1
3300	0	0	1	1
400	0	1	0	1
7000	0	1	0	1
9800	1	0	0	1
Coliformes totales	1	3	4	8

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,889 ^a	10	,230
Razón de verosimilitud	11,770	10	,301
N de casos válidos	8		

a. 18 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.

Al aplicar el estadístico Chi cuadrado entre lugar de procedencia y **Coliformes totales**, no existe diferencias estadísticas significativa ($p > 0.05$) $P = 0.230$, lo que indica que el grado de instrucción no influye en la presencia de **Coliformes totales**

Tabla N° 14: Procedencia y presencia de *Sthaphylococcus aureus*

<i>Sthaphylococcus aureus</i>	APURIMAC	AYACUCHO	LIMA	Total
<100	0	1	2	3
1700	0	1	0	1
200	0	0	2	2
2700	1	0	0	1
8000	0	1	0	1
Total	1	3	4	8

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,889 ^a	8	,116
Razón de verosimilitud	11,770	8	,162
N de casos válidos	8		

a. 15 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,13.

Al aplicar el estadístico Chi cuadrado entre lugar de procedencia y *Sthaphylococcus aureus*, no existe diferencias estadísticas significativa ($p > 0.05$) $P = 0.230$, lo que indica que el grado de instrucción no influye en la presencia de *Sthaphylococcus aureus*.

4.2 Análisis e Interpretación de los Resultados

- Solo el 37.5% de los manipuladores de alimentos muestran resultados en límites permisibles tanto para el ***Staphylococcus aureus*** y coliformes, y el 62.5% son portadores de ***Staphylococcus aureus*** y coliformes totales límites no permisibles.
- Las variables indicadores observadas en los manipuladores no influye en la presencia no permisible de ***Staphylococcus aureus*** ni de los coliformes totales.
- De los 8 manipuladores de alimentos el 87% (7) ha recibido instrucción de educación primaria completa, mientras que solo el 13% (1) recibió educación secundaria completa.
- El 50% de los manipuladores tiene la costumbre de poca frecuencia de lavado de manos (1vez), mientras que el 38 % se lava las manos frecuentemente (2 a 3 veces), y solo el 14 % se lava en un promedio de 5 veces (muy frecuentemente).
- En cuanto a la procedencia el 50% de los manipuladores de alimentos son de Lima, el 38% son de Ayacucho y 12% son de Apurímac.
- El 100% de los manipuladores no utilizan ningún tipo de medidas de protección personal.
- El grado de instrucción de los manipuladores no influye en la presencia de coliformes totales ni ***Staphylococcus aureus***.
- La frecuencia de lavado de manos de los manipuladores no influye en la presencia de coliformes totales ni ***Staphylococcus aureus***.
- El lugar de procedencia de los manipuladores no influye en la presencia de coliformes totales ni ***Staphylococcus aureus***.

DISCUSIONES

- En la investigación realizada para obtener el grado de licenciatura en Química y Farmacia por: Rhina Margarita Chávez Castillo – Marlon Fernando Herrera Aguirre, en su trabajo de tesis “Evaluación microbiológica de manipuladores y alimentos preparados en los Cafetines del Colegio Don Bosco” realizada en Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) – El Salvador, hallaron que el 100 % de manipuladores tenía presencia ***Staphylococcus aureus*** cuando su límite máximo permisible era ausencia a diferencia del presente trabajo que se identificó que el 62.5% de los manipuladores de alimentos son portadores de ***Staphylococcus aureus*** en límites no permisibles a pesar que el limite permisible establecido en la R.M N° 461 – 2007/MINSA. es < 100 UFC/ manos.
- En el trabajo de investigación realizada por Nailec Valdiviezo Lugo, Luz Bettina Villalobos de B, Rosa Martínez Nazaret titulado “Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos” Cumana Venezuela, determinaron la presencia de ***Staphylococcus aureus*** de estadística significativa de los 60 manipuladores evaluadas, siendo de predominio en un 13.3% de S. aureus termonucleasa positiva en manos. En presente trabajo no se evaluó esta característica de la bacteria.
- Los resultados obtenidos arrojan que el 62.5% de Los manipuladores del Comedor Popular Dolores Caverro de Grau son portadores de coliformes totales en límites no permisibles (> 100 UFC/manos) indicándonos una deficiencia en higiene de las manos. estos resultados obtenidos contrasta con el reporte elaborado en la investigación “Evolución microbiológica y sanitaria

de puestos de venta ambulancia de alimentos del distrito de comas” Lima- Perú, donde reportan la presencia de coliformes fecales en materia viva en 49.2%.

- En la investigación “Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos que se expande en la Universidad Señor de Sipán y alrededores” realizado por: Santos Leopoldo Acuña Peralta, Miguel Ángel Ruiz Barreto, Luz Amalia Zamora Mejía, Olinda del Pilar Bustamante Canelo, reportan que el 100% de las muestras (alimentos) analizadas están dentro de los parámetros establecidos para el ***Staphylococcus aureus*** a diferencia del presente trabajo que indica que 62.5 % de las muestras (manos) se encuentra en límites no permisibles de acuerdo a lo establecido en la R.M N° 461 – 2007/MINSA.

CONCLUSIONES:

- El 62.5% de manipuladores de alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau, tienen la presencia de ***Staphylococcus aureus*** en límites no permisibles establecidos en la legislación peruana (RM N° 461-2007/MINSA), lo cual nos indica falta de Buenas Practicas de Higiene (BPH) al momento de servir los alimentos a los comensales.
- El 62.5% de manipuladores de alimentos del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau, tienen la presencia de coliformes totales en límites no permisibles establecidos en la RM N° 461-2007/MINSA, lo cual nos indica falta de Buenas Practicas de Higiene (BPH) al momento de servir los alimentos a los comensales.
- No se encontró de diferencia estadística significativa a los indicadores evaluadas (Grado de instrucción, frecuencia de lavado de manos, procedencia, edad), por lo que no se puede considerar como influencia en la presencia no permisible de los coliformes totales ni ***Staphylococcus aureus***. Esto puede ser debido a menor número de muestras.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere que el ministerio de salud (DIGESA) realice el seguimiento del cumplimiento de la RM N° 461-2007/MINSA en los Comedores Populares.
- Las autoridades municipales (S.J.M), deberán incluir en sus planes de trabajo las capacitaciones específicas como: Buenas prácticas Higiénicas, seguridad e inocuidad alimentaria, uso de medidas de protección,
- Las autoridades municipales deberán realizar evaluación microbiológica de los manipuladores como mínimo cada 6 meses, para verificar la eficacia de las charlas impartidas sobre Buenas Practicas Higiénicas.
- La municipalidad deberá proporcionar útiles para la higiene de manos (papel toalla y jabón líquido), indumentaria y equipos de protección personal a las manipuladores, y verificar su adecuado uso para proteger la salud de los consumidores.
- Las autoridades municipales deberá designar un personal capacitado para dirigir y evaluar a las socias del Comedor Popular sobre las (BPH, BPM). A su vez deberá crear Procedimiento Operativo Estandarizado del lavado de manos (según la legislación peruana), colocar gráficos visibles en áreas del lavado de manos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vilchez AE, Uribe S and Perez, PL. Clinical and epidemiological characteristics of cholera patients in México city. Salud Pública Méx, 1999; 6:487 -91.
2. Guerrero Montilla j.; Borbón Ramos M.; Espinoza Martínez J. Informe Epidemiológico Nacional 2012, enfermedades transmisibles Enfermedades Transmitidas por Alimentos “ETA” cólera. Bogotá: Instituto Nacional de Salud y Protección Social Republica de Colombia; 2013. FOR- R02 – 001.
3. INFORME TÉCNICO SOBRE INGENIERÍA AGRÍCOLA Y ALIMENTARIA autores por Gisella Kopper Gloria Calderón Sheryl Schneider Wilfredo Domínguez Guillermo Gutiérrez Consultores, FAO Editor Cadmo Rosell y Coordinador y editor técnico Danilo Mejía División de Infraestructura Rural y Agroindustrias de la FAO.
4. [Organización](#) Mundial de Salud [Home page]. Ginebra: [Organización](#) Mundial de Salud; c2015 [actualizado 15 de diciembre del 2015; consultado 11 de junio del 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/es/>.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2011. Digital Object Identifier 10.2900/14803.
6. World Health Organization. Global task force on cholera control. Cholera outbreak. Assessing the outbreak response and improving preparedness. Geneva, 2004.
7. Guerrero Montilla j.; Borbón Ramos M.; Espinoza Martínez J. Informe Epidemiológico Nacional 2012, enfermedades transmisibles Enfermedades Transmitidas por Alimentos “ETA” cólera. Bogotá: Instituto Nacional de Salud y Protección Social Republica de Colombia; 2013. FOR- R02 – 4000-001.
8. Marianella Miranda, Adolfo Aramburú, Jorge Junco, Miguel Campos. Situación de la calidad de agua para consumo en hogares de niños

- menores de cinco años en Perú, 2007-2010. [PMID:21308188]. 2010 [citado 18 junio 2016]; 27(4):4. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342010000400003
9. Ministerio de Salud. Enfermedades Transmitidas por Alimentos, una importancia de morbilidad en nuestro país [ISSN: 1816-8655]. 2015; 21 Supl:S834 – 835. [citado 19 junio 2016]; p: Disponible en: : <http://www.dge.gob.pe/boletin.php>
10. Quispe M, Juan; Sanchez P, Victor. Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de comas, Lima – Perú. Rev Med Exp 2001;18 (1-2)
11. Acuña PS, Ruiz BM, Zamora ML, Bustamante CO. Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos que se expende en la universidad señor de Sipán y alrededores. Diciembre 2013. Tzhoeco. 2014; 6(1):20-32.
12. Chávez R, Herrera M. Evaluación Microbiológico de Manipuladores y Alimentos Preparados en los Cafetines del Colegio Don Bosco [tesis]. San Salvador: Universidad De El Salvador. Facultad de Química y Farmacia; 2015.
13. Martínez Nazaret R, Valdiviezo Lugo N, Villalobos de B. L B, Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumaná-Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2006;26:389-395. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199416676006>. Fecha de consulta: 15 de Julio de 2016.
14. Carlos G. García. Manual para la formación de manipuladores de alimentos [en línea]. Editorial Carlos G. García, 2014. [fecha de acceso 12 de julio del 2016]. URL disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=y9UJBgAAQBAJ>
15. Norma Sanitaria para la fabricación de alimentos a base de granos y otros, destinados a programas sociales de alimentación Resolución

Ministerial N°451–2006/MINSA de 13 de MAYO de 2006.El Peruano, N°0722. (17/05/2006).

16. Manual de Capacitación para Manipuladores de Alimentos .PDF Organización Panamericana de Salud, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. [En línea]. [fecha de acceso 21 de octubre del 2016]. URL disponible en: <http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/manual-manipuladores-alimentos.pdf?ua=1>

17. Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria. Fuentes de contaminación. [acceso 28 de junio del 2016]. Disponible en http://www.elika.eus/datos/formacion_documentos/Archivo8/5.Fuentes%20de%20contaminaci%C3%B3n.pdf

18. Manipulación de alimentos (manual comun).PDF Servicio Andaluz de Empleo consejería de empleo y desarrollo tecnológico. [En línea]. [fecha de acceso 8 al 28 de junio del 2016]. URL disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/empleo/recursos2/material_didactico/especialidades/materialdidactico_manipulacion_alimentos/PDF/Manual Comun.pdf

19. Organización Mundial de la Salud. Manual sobre las 5 claves para la inocuidad de los alimentos. Departamento de la Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de transmisión Alimentaria [En línea]. [fecha de acceso 8 al 28 de junio del 2016]. URL disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.

20. Kopper G, Calderón G, Schneider S, Domínguez W, Gutiérrez G. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. [Informe técnico electrónico]. Roma: División de Infraestructura Rural y Agroindustrias de la FAO; 2009.(187) [acceso el 28 de junio del 2017]:<http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>

21. Universidad Nacional Abierta y a Distancia Colombia. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA´s). Capítulo 6. (10) [acceso 28 de junio

del 2016] Disponible en:
http://datateca.unad.edu.co/contenidos/211624/AVA_2015/ETAS.pdf

22. Instituto Nacional de Salud. Evaluación de riesgos de *staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. Bogota: Subdirección de investigación. 2011 [fecha de acceso 8 al 30 de septiembre del 2016]. Disponible en <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-staphylococcus>.

23. Díaz t, Valdés-Dapena m, Torres A, Monterrey P, Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Hospital Pediátrico "Juan Manuel Márquez" Enfermedades transmitidas por alimentos. Causas más frecuentes en los niños [Monografía en internet]. [acceso 28 de junio del 2016]. Disponible en <http://www.bvsde.paho.org/texcom/colera/etasninos>.

24. Analiza calidad. Microorganismos Indicadores [Monografía en internet]. [acceso 28 de junio del 2016]. Disponible en: <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi168arf2005-1.pdf>

25. Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. Resolución Ministerial N°461 – 2007/ MINSA de 5 de junio de 2007.El Peruano, n°346583. (05/06/2007).

26. The Scientific association dedicated to analytical excellence Official Methods of Analysis of AOAC INTERNACIONAL. 991.14 coliforme and Escherichia coli Counts in Foods Dry Rehydratable film. Editor: Dr.George W. Latimer, AOAC Official Method analysis.20TH EDITION. Jr. Published by AOAC INTERNACIONAL SUIT 300 2275 RESEARCH BLDV ROCKVILLE, 2016. MARYLAND 20850 – 3250, USA

27. The Scientific association dedicated to analytical excellence Official Methods of Analysis of AOAC INTERNACIONAL. 2003.07 AOAC Official Method enumeration of staphylococcus aureus in selected dairy FoodsEditor: Dr.George W. Latimer, AOAC Official Method analysis.20TH EDITION. Jr. Published by AOAC INTERNACIONAL SUIT 300 2275 RESEARCH BLDV ROCKVILLE, 2016. MARYLAND 20850 – 3250, USA p.108.

28. Guía Técnica para la Investigación y Control de Brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Resolución Ministerial N° 683 – 2014/ MINSA de 14 de setiembre de 2014. El Peruano, n°532488. (14/09/2014).
29. Ministerio de Salud. Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) [ISSN: 1816-8655]. 2015; 24 Supl:S676 – 677. [citado 19 junio 2016]; Disponible en : <http://www.dge.gob.pe/boletin.php>
30. Walde Garro J. Conocimientos y prácticas sobre higiene en la manipulación de alimentos que tienen las socias de comedores populares [Tesis licenciatura]. Lima - Perú: editorial E.A.P Enfermería; 2014.
31. Lourdes Armada Domínguez, Cristina Ros Oliver. La importancia de la higiene en la elaboración y servicios de comida [en línea]. Vigo: Editorial ideas propias, 2007. [fecha de acceso 10 de julio del 2016]. URL disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=TdQoX6U8MsEC&printsec=frontcover&dq=manipuladores+de+alimentos&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjDjMverNAhUFkx4KHxeSALgQ6AEIGjAA#v=onepage&q=manipuladores%20de%20alimentos&f=false>.
32. Elena Benavente García, Pedro Ignacio Benavente Jareño. Manipulador de alimentos en el sector hostelería [en línea]. Vigo: Editorial ideas propias, 2007. [fecha de acceso 10 de julio del 2016]. URL disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=VTn32EgGO6QC&pg=PT39&dq=lavado+de+manos+de+manipuladores+de+alimentos&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjC4O60rNAhXJXh4KHcedBQ0Q6AEIGjAA#v=onepage&q=lavado%20de%20manos%20de%20manipuladores%20de%20alimentos&f=false>
33. Tania González Flores, Rafael Antonio Rojas Herrera. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico [PMID: 16323533]. 2005 [citado 20 junio 2016]; 47(5):3. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342010000400003

34. Etiopatogenia microbiológica [En línea].[fecha de acceso 8 al 28 de junio del 2016]. URL disponible en:

<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus>

35. Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. Resolución Ministerial N°461 – 2007/ MINSa de 5 de junio de 2007.El Peruano, n°346583. (05/06/2007)

ANEXOS

Anexo N°1

Solicitud para la Autorización de Toma de Muestra

Sra. Melva Ramirez

Presidenta del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau

Presente.-

Yo, Claudio Rojas, Carlita Sonia identificada con documento de identidad N°: 42207856, Domiciliado en MZ. F LT.9 AMPLIACION 6 ST. 12 DE NOVIEMBRE SAN JUAN DE MIARFLORES, actualmente Bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas Facultad Medicina Humana y Ciencias de Salud, Solicito a Usted, tenga a bien considerarme, para toma de muestra de las manos de los manipuladores de alimentos, para la realización de mi trabajo de tesis cuyo título es: evaluación microbiológica de los manipuladores de los alimentos, agradeciendo su gentil comprensión, apoyo y pronta respuesta me despido afectuosamente.

Lima, 10 de julio, del 2016

Atentamente.

Carlita Claudio Rojas

DNI: 42207856

Anexo N°2

Etiqueta para la identificación de las muestras a realizar

Lugar de toma de muestra /comedor):

Nombre del manipulador:

Análisis a realizar: Staphylococcus aureus y coliformes totales

Fecha: /07/16

Hora:

Nombre del muestreador: Carlita Sonia Claudio Rojas

Anexo N° 4

Parámetro microbiológico de la normativa utilizada en el presente trabajo

TABLA N° 14 Límites permisibles para los microorganismos indicadores de higiene según la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas - Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA

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

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

(**) Para 4 utensilios.

ABREVIATURAS:

UFC: Unidad Formadora de Colonias

ANEXO N° 5

Grafico N° 7 Toma de muestra de los manipuladores



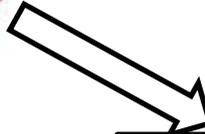
Lavado de manos con agua
Peptonada – Bufferada



Se identifica las muestras
con datos del manipulador



Se transporta en un
contenedor isotérmico con
gel refrigerante a una
temperatura no mayor de
10 °C

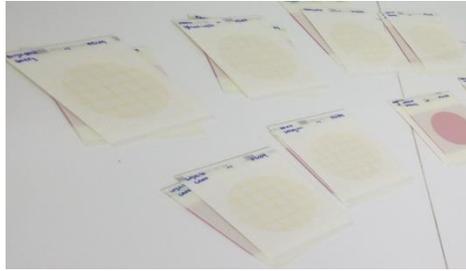


Para realizar ensayos
microbiológicos

Se trasladaron a las
instalaciones de Certificadora
y Laboratorios Alas Peruanas
S.A.C (CERTILAB)

ANEXO N°6

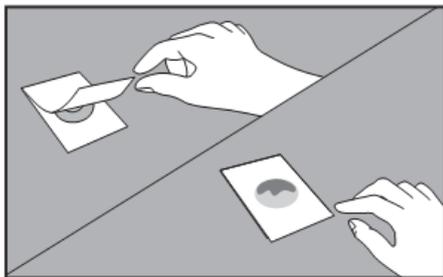
Grafico N° 8 Ensayos microbiológicos para coliformes totales utilizando el método AOAC 991.14



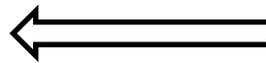
Colocar la placa petrifilm en una superficie plana.



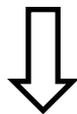
Pipetear 1mL de la muestra.



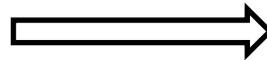
Bajar el film superior evitando introducir burbujas de aire.



Pipetear 1mL de la muestra y colocar en centro del film inferior

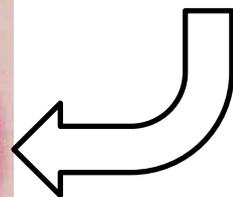
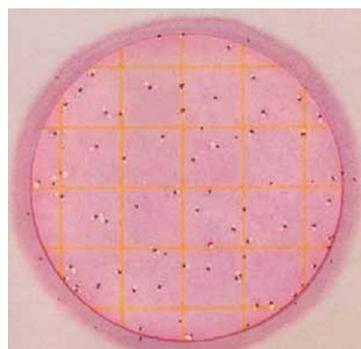


Colocar el aplicador sobre el inoculo (film superior), ejercer una presión sobre el aplicador para distribuir la muestra sobre el área circular.



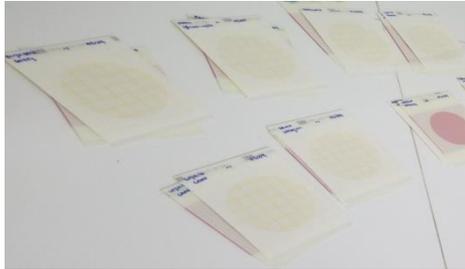
Incubar Pr 24horas \pm 2horas a 35°C \pm 1°C

Contabilizar todas las colonias rojas con gas.



ANEXO N°7

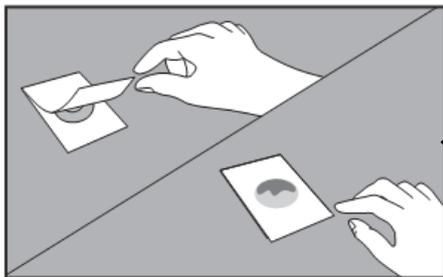
Grafico N° 9 Ensayos microbiológicos para *Staphylococcus aureus* utilizando el método AOAC 2003.07



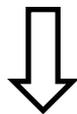
Colocar la placa petrifilm en una superficie plana.



Pipetear 1mL de la muestra.



Bajar el film superior evitando introducir burbujas de aire.



Pipetear 1mL de la muestra y colocar en centro del film inferior

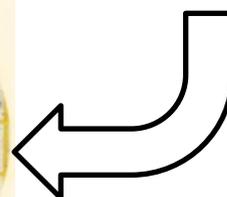
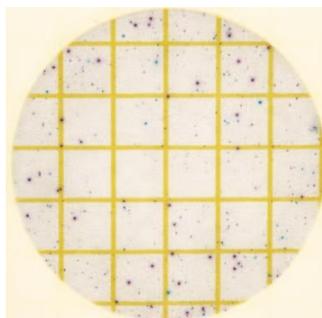


Colocar el aplicador sobre el inculo (film superior), ejercer una presión sobre el aplicador para distribuir la muestra sobre el área circular.



Incubar Pr 24horas \mp 2horas a 35°C \mp 1°C

Contabilizar todas las colonias rojo - violeta.



ANEXO N°8

Tabla N°15. Resultados obtenidos de los ensayos microbiológicos realizados de los manipuladores del Comedor Popular Dolores Cavero de Grau

MANIPULADOR	Coliformes totales	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	7000MUFC/MANOS	8000MUFC/MANOS
2	3300MUFC/MANOS	<100MUFC/MANOS
3	200MUFC/MANOS	<100MUFC/MANOS
4	9800MUFC/MANOS	2700MUFC/MANOS
5	400MUFC/MANOS	1700MUFC/MANOS
6	<100MUFC/MANOS	<100MUFC/MANOS
7	<100MUFC/MANOS	200MUFC/MANOS
8	<100MUFC/MANOS	200MUFC/MANOS

Valores permisibles aceptables ≤ 100 UFC/MANOS indicada en la R.M N° 461-2007/MINSA