



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS

**VARIACIÓN DE PH Y PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LA CARNE DE
VACUNO COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD PUCALLPA,
UCAYALI - 2017**

LINDY LAIS ALVA GONZALEZ

Pucallpa – Perú

2018

DEDICATORIA

A mi familia que me ayudó con sus consejos y apoyo incondicional para lograr una de mis más anheladas metas.

AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermanos que me apoyaron incondicionalmente para concretar mi meta trazada.

Al Mg. MV. Juan Alexander Rondón Espinoza, por estar ahí conmigo brindarme sus conocimientos, orientación y apoyo a lo largo de la investigación

Al personal de NATURA ANALITICA por la esterilización de materiales y agares de laboratorio

A la Sección de Salud Pública y Salud Ambiental - laboratorio de microbiología, al Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura de la Facultad de Medicina Veterinaria – UNMSM (IVITA-PUCALLPA), por el apoyo brindado en la fase de campo de esta investigación.

A mi asesor el MV. Manuel De la Torre Villanueva por su tiempo, dedicación y paciencia en la realización del presente trabajo.

Al Médico Veterinario Jeff Castillo, por brindarme su apoyo desinteresadamente, así mismo expreso mi más sincero agradecimiento a todos los profesionales amigos que de alguna u otra manera colaboraron para cumplir mis objetivos.

RESUMEN

El presente estudio se desarrolló entre los meses de febrero y julio del 2017. El objetivo general fue determinar los valores de pH y la presencia de microorganismos en la carne de vacuno que se comercializa en los mercados de la ciudad Pucallpa, distrito Callería, provincia Coronel Portillo (Ucayali); complementariamente se estudiaron las características físicas y sanitarias de los puestos de venta de carne. El pH se determinó mediante un pH- metro. El análisis microbiológico comprendió la determinación de los principales géneros bacterianos, mediante cultivos en Agar Mueller Hinton (MH) y Agar MacConkey (MC), coloración Gram y cultivos en medios selectivos (Xilosa Lisina Desoxicolato – XLD y Eosina y Azul de Metileno - EMB); y el recuento de mesófilos bacteriales, utilizando el Agar de Conteo de Placas (PCA). Las muestras fueron colectadas de 23 puestos de venta de carne, correspondientes a cuatro mercados de abasto ubicados en el distrito de Callería. Los resultados de caracterización de los puestos muestran una disparidad de situaciones y serias deficiencias en implementación y en la manipulación de la carne. El pH de las muestras estuvo en un rango entre 5.32 a 6.61. Se encontraron 7 géneros bacterianos: *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomona sp.*, incluyendo un patógeno confirmado (*Salmonella sp.*) y uno sospechoso (*Escherichia coli*). En el recuento de mesofilos, el 95.6 % (22/23) de las muestras presentaron valores entre $> 10^5$ UFC/g y $< 10^7$ UFC/g de carne, considerado como el rango donde la carne podría ser aceptable o inaceptable, dependiendo de las características organolépticas presentes. Una muestra presentó un valor superior a 10^7 UFC/g de carne, considerado definitivamente como inaceptable. No se encontró un nivel de asociación significativo entre los valores de pH y el recuento de mesófilos ($r = - 0.168$). Estos resultados indican un grado de contaminación de la carne de vacuno, lo cual requiere la implementación de programas de capacitación de los involucrados en la comercialización de la carne y de un mayor control sanitario de los productos cárnicos que se expenden en el distrito de Callería.

PALABRAS CLAVES: pH, Microorganismo, Carne, Contaminación

ABSTRACT

The present study was carried out between the months of February and July 2017. The general objective was to determine the pH values and the presence of microorganisms in the beef that is sold in the markets of Pucallpa city, Callería district, Coronel province Portillo (Ucayali); In addition, the physical and sanitary characteristics of meat stalls were studied. The pH was determined by a pH meter. The microbiological analysis included the determination of the main bacterial genera, through cultures in Mueller Hinton Agar (MH) and MacConkey Agar (MC), Gram stain and cultures in selective media (Xylose Lysine Deoxycholate - XLD and Eosin and Methylene Blue - EMB) ; and the count of bacterial mesophiles, using the Plate Count Agar (PCA). The samples were collected from 23 meat stalls, corresponding to four markets located in the district of Callería. The results of characterization of the positions show a disparity of situations and serious deficiencies in the implementation and handling of the meat. The pH of the samples ranged from 5.32 to 6.61. Seven bacterial genera were found: Staphylococcus sp., Streptococcus sp., Bacillus sp, Enterobacter sp., Pseudomona sp., including a confirmed pathogen (Salmonella sp.) and a suspect one (Escherichia coli). In the count of mesophiles, 95.6% (22/23) of the samples presented values between > 105 CFU / g and <107 CFU / g of meat, considered as the range where the meat could be acceptable or unacceptable, depending on the characteristics organoleptic present. A sample presented a value higher than 107 CFU / g of meat, considered definitively unacceptable. No significant association level was found between the pH values and the mesophiles count ($r = - 0.168$). These results indicate a degree of contamination of the beef, which requires the implementation of training programs for those involved in the marketing of meat and greater sanitary control of the meat products sold in the Callería district.

KEY WORDS: pH, Microorganism, Meat, Pollution

INDICE

Contenido

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCION	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. CALIDAD DE LA CARNE.....	3
2.2. FACTORES DE DETERIORO DE LA CALIDAD DE LA CARNE DE VACUNO.....	4
2.2.1. Temperatura.....	4
2.2.2. El pH de la carne.....	5
2.2.3. Microorganismos:.....	6
2.2.4. Factores de contaminación.....	9
A. Compra y recepción de la mercadería	9
B. Manipulación	11
C. Limpieza y desinfección	11
D. Conservación y almacenamiento	12
2.3. CLASIFICACION DE LA CARNE.....	14
2.3.1 Carne pálida, suave y exudativa (PSE)	14
2.3.2 Carne oscura, dura y seca (DFD),.....	15
2.3.3 Carne roja, firme, no exudativa (RFN).....	15
2.4 ANTECEDENTES DE INVESTIGACION.....	16
2.4.1 A nivel internacional.....	16
2.4.2 A Nivel Nacional.....	17
III. MATERIALES Y METODOS	19
3.1. ESPACIO Y TIEMPO.....	19
3.2. POBLACION Y MUESTRA.....	19
3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	20
3.4. EQUIPOS, MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS.....	21

3.4.1. Equipos y materiales.....	21
3.4.2. Procedimientos	22
A. Toma de información sanitaria y ambiental de los centros de expendio de carne de vacuno	22
B. Método de recolección de muestra de carne.....	22
C. Determinación del pH de la carne:.....	23
D. Determinación de la presencia bacteriana:.....	24
a. Preparación de los medios de cultivo.	24
b. Cultivo de las muestras	24
c. Reconocimiento de los géneros bacterianos	25
d. Procesamiento para la tinción de colonias bacterianas.....	27
E. Determinación de la carga bacteriana	28
3.5. DISEÑO ESTADISTICO	30
IV. RESULTADOS	31
CONDICIONES FISICAS SANITARIAS DE LOS PUESTOS DE VENTA DE CARNE DE VACUNO.....	31
VALORES DE PH EN LAS MUESTRAS DE CARNE DE VACUNO.....	34
PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LA CARNE DE VACUNOS	36
Géneros bacterianos.....	36
Recuento de mesófilos.	37
V. DISCUSIÓN.....	39
VI. CONCLUSIONES.....	44
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	46
ANEXO.....	50
Anexo 1	51
Anexo 2	54
Anexo 3.....	55
Anexo 4	56
Anexo 5.....	57
Anexo 6	59

I. INTRODUCCION

Hace algunas décadas, la carne de vacuno fue la principal fuente de proteínas del poblador peruano; no obstante en los últimos años, el consumo de este tipo de carne ha disminuido hasta el 8% del total de las especies de carne para consumo. En Ucayali, el consumo es también bajo, está a la mitad de lo que consume el poblador sudamericano promedio. Las políticas del gobierno peruano proyectan que este consumo aumente en los siguientes años; sin embargo, las condiciones sanitarias en el manejo y la comercialización, en algunos lugares, todavía no son óptimas.

Un factor de riesgo, en la inocuidad de la carne de vacuno, durante su expendio en los mercados, es la exposición al aire libre, facilitando el contacto con fuentes de contaminación (polvo, insectos, personas, etc.). Además, cualquier producto tiene mayor riesgo de contaminarse cuanto existe mayor manipulación. Por otro lado, la carne puede estar contaminada superficialmente por bacterias patógenas – como *Escherichia coli* o *Salmonella*; aunque estos patógenos pueden ser destruidas por la cocción (a 70°C). Una consecuencia es la variación de las características físicas de la carne de res.

Otro hecho que debemos considerar, durante la manipulación de la carne de vacuno, son los jugos procedentes de la carne cruda descongelada o fresca. Estos exudados diseminan la contaminación mediante goteos o derrames, aumentando la actividad del agua del producto. El manejo adecuado, de este factor, limitará la contaminación cruzada con otros alimentos, superficies o útiles de trabajo.

Es recomendable que la distribución de las carcasas debe realizarse en condiciones que aseguren la higiene y el mantenimiento de la temperatura de refrigeración.

Asimismo, en el punto de venta, es indispensable que las carcasas sean descargadas de manera pronta y expedita y se almacenen en condiciones adecuadas de higiene y refrigeración, en caso contrario la carne puede ser un riesgo biológico para el consumidor.

El presente estudio se realizó por la falta de información a nivel local y regional sobre las condiciones físico - sanitarias del expendio de la carne de vacuno en los mercados de la ciudad Pucallpa.

El objetivo fue determinar los valores de pH y la presencia de microorganismos en la carne de vacuno que se comercializa en los mercados de la ciudad Pucallpa, distrito Callería, provincia Coronel Portillo (Ucayali).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. CALIDAD DE LA CARNE

La calidad de la carne es un término complejo, muy asociado, por algunos consumidores, a la cantidad de grasa presente en el corte. Sin embargo, el término calidad va más allá de la grasa; la calidad comprende aspectos nutricionales, sensoriales, tecnológicos y sanitarios, entre otros. Sin embargo, para los consumidores, las características organolépticas de aroma, color, sabor, jugosidad y suavidad, son las de mayor influencia en la calidad de la carne. (1)

Las características que determinan la calidad de la carne de vacuno, como aquellas sensoriales, intrínsecas del músculo, están influenciadas por factores asociados al sistema de producción (sexo, raza, edad del animal, nivel de alimentación, uso de implantes, promotores del crecimiento o beta agonistas) y los asociados al transporte de animales al camal, faenamiento, manejo de la cadena de frío, el tiempo de maduración de la carne, y finalmente mercadeo, entre otros. (2)

La energía requerida para la actividad muscular en un animal vivo se obtiene de los azúcares (glucógeno) presentes en el músculo. En un animal sano y descansado, el nivel de glucógeno de sus músculos es alto. Una vez sacrificado el animal, este glucógeno se convierte en ácido láctico y el músculo y la canal se vuelven rígidos (*rigor mortis*). Este ácido láctico es necesario para producir carne tierna, y de buen sabor, calidad y color. Pero si el animal está estresado antes y durante el sacrificio, se consume todo el glucógeno y se reduce el nivel de ácido láctico que se desarrolla en la carne luego de su sacrificio. Esto puede tener efectos adversos muy graves en la calidad de la carne. (2)

2.2. FACTORES DE DETERIORO DE LA CALIDAD DE LA CARNE DE VACUNO

2.2.1. Temperatura

La carne fresca puede mantenerse tanto congelada como enfriada. Se considera carne enfriada cuando se conserva a una temperatura de -1.5 a $+7^{\circ}\text{C}$, inmediatamente después del faenamiento. En general, se recomienda que la temperatura óptima de mantenimiento y transporte para la carne enfriada debe ser la menor posible, sin llegar al congelamiento. (3)

A temperatura de enfriamiento se desarrollan las bacterias denominadas psicotróficas. Ellas pertenecen tanto al grupo de bacterias Gram-positivas, tales como bacterias ácido láctico, y las bacterias Gram-negativas, como; *Pseudomonas sp.*, y de la familia *Enterobacteriaceae*. Las especies de *Pseudomonas* están particularmente involucradas en el deterioro de la carne a temperaturas de refrigeración. (4)

Las condiciones de bajas temperaturas en la carne de vacuno, inhiben el crecimiento de bacterias aeróbicas Gram-negativas, mientras las bacterias ácido lácticas se transforman en el componente dominante de la flora microbiana durante el almacenamiento de la carne a 0°C . Estas bacterias no necesitan oxígeno para su crecimiento y toleran valores de pH más bajo que las bacterias Gram-negativas. Estas bacterias ácido lácticas son comúnmente encontradas en la carne, bajo condiciones anaeróbicas. (5)

2.2.2. El pH de la carne

Instantes después del sacrificio de los animales, en el músculo comienzan una serie de cambios metabólicos, principalmente el aumento de la cantidad de ácido láctico como consecuencia del consumo de las propias reservas de glucógeno. El ácido láctico es necesario para producir carne tierna, de buen sabor, calidad y color (6). El ácido láctico en el músculo retarda el desarrollo bacteriano de la canal durante el proceso de faenamiento. Sin embargo, bajo malas condiciones de almacenamiento, especialmente en ambientes cálido, otras bacterias deterioran la carne, desarrollando olores desagradables y cambios de color y rancidez (1).

El pH de 5.5 es el valor que se considera "óptimo" para que se desarrolle correctamente el proceso de maduración de la carne. La medida del valor de pH a las 24 horas después del sacrificio de los animales, es un parámetro que se emplea para determinar la calidad de la carne, de modo que valores de pH alejados de 5,5 se relacionan con anomalías en los fenómenos bioquímicos que ocurren durante la maduración de la carne y en consecuencia con alteraciones en las propiedades organolépticas de la misma como son el color, la jugosidad y la textura. (2)

El pH muscular de los animales vivos se sitúa en un rango entre 7.08 y 7.30, tras la muerte del animal se produce un descenso del mismo hasta valores entre 5,4 y 5,6, lo que dependerá de las reservas de glucógeno (7).

Entre otros fenómenos, se genera CO_2 a partir de las combustiones oxidativas que todavía se desarrollan durante algún tiempo en las células corporales y también ácido láctico como consecuencia del desdoblamiento del glucógeno en los músculos. Debido a la falta de oxígeno disponible, deja de producirse la re-síntesis del glucógeno que registra el animal vivo. Por ello el pH desciende en unas 24 horas desde la zona neutra

hasta la zona ácida. De esta manera, lo que influye en las características organolépticas de la carne de vacuno, es el pH y no la totalidad de ácido láctico (8).

2.2.3. Microorganismos:

Los microorganismos que alteran la carne llegan por infección del animal vivo – contaminación endógena, o por invasión post mortem – contaminación exógena. Aunque ambas son de gran importancia, la alteración de la carne a consecuencia de la contaminación exógena es la más frecuente. El hombre puede sufrir graves infecciones o intoxicaciones por el consumo de la carne contaminada o procedente de animales enfermos. (9)

Después del sacrificio y de la evisceración del animal, la carne conserva las características microbianas generales que tenía previo al sacrificio; sin embargo, la superficie del cuerpo del animal puede contaminarse por microorganismos provenientes del suelo, el aire y el agua, mientras que el músculo esquelético está prácticamente libre de ellos. Sin embargo, existe un número extremadamente alto de microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal de los animales, y algunos de ellos puedan llegar a la superficie de las canales durante el proceso de evisceración. (10)

Adicionalmente, algunos animales aparentemente sanos pueden albergar microorganismos en hígado, riñones, nódulos linfáticos y bazo. Estos microorganismos pueden llegar al músculo esquelético vía sistema circulatorio. Generalmente, en el músculo se encuentran microorganismos en muy bajas cantidades. La contaminación también puede ocurrir en el proceso de insensibilización (previo al degüello), cuando éste se realiza por medio del puntillazo, los microorganismos son distribuidos vía sistema circulatorio a los músculos (11).

En la medida que la carcasa sufre los diferentes cortes que son requeridos para la comercialización de las carnes, la superficie de contacto con el ambiente es mayor y las posibilidades de contaminación también lo son. Las condiciones medio ambientales y de manejo (equipos, utensilios, operarios, entre muchos otros) y las características de la carne determinan finalmente la cantidad y tipo de microorganismos presentes. Debido a la gran variedad de fuentes de contaminación, los tipos de microorganismos que suelen encontrarse en las carnes son muchos y muy variables. (9)

La contaminación de canales de bovino, después del sacrificio y enfriamiento, es variable y puede ser constituida de $10^1 - 10^5$ mesófilos aeróbicos por centímetro cuadrado, (UFC/cm²) dependiendo de la canal, sitio de la canal y lugar de donde provenga. El rango de enfriamiento afecta la proporción de microorganismos psicrófilos y mesófilos, los cuales a su vez dependen de la temperatura, pH, tiempo, velocidad del aire y la humedad relativa. Inicialmente la contaminación superficial por psicrotrofos es menor que 10^2 y la contaminación con Enterobacteriaceas es menor que $10^1 - 10^2$ UFC / cm². Los contaminantes comunes de las canales son bastones Gram – negativos y micrococos, incluidas *Pseudomonas spp.*, *Moraxella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Flavobacterium spp.*, entre otras. (11)

Además pueden existir bacterias productoras de ácido láctico, hongos, levaduras y virus entéricos en bajas cantidades. La contaminación es muy variable y puede incluirse algunos microorganismos patógenos como *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*; Estos provienen ya sea de la microflora intestinal o del medio ambiente; algunos de esos patógenos están más asociados a la carne de unas especies que de otras como por ejemplo la *Y. enterocolitica* en la carne de cerdo. (12)

A menudo se encuentran levaduras, especialmente no esporuladas, en la carne fresca, principalmente en canales sometidas a largos periodos de almacenamiento y maduración (“añejamiento”), lo cual reduce el crecimiento de bacterias debido al desecamiento superficial. Sin embargo, los hongos y las levaduras se encuentran con mayor frecuencia en productos cárnicos salados y deshidratados. (13)

El procesamiento de las canales y el subsecuente manejo de la carne determinan el destino de los microorganismos originalmente presentes en ella. En general, los psicotróficos como las *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* y *Lactobacillus*, predominan en la carne refrigerada, en cantidades que dependen del pH inicial y de la atmosfera gaseosa. Los microorganismos mesófilos adquieren importancia cuando la temperatura de almacenamiento se eleva a 15°C. (14)

La contaminación se incrementa en carnes picadas porque ellas generalmente provienen de recortes sumamente manipulados, en los cuales existe una gran área superficial y las condiciones para el crecimiento y desarrollo de microorganismos, principalmente los psicrotrofos aeróbicos son mayores, ocasionando grandes deterioros. La carne cruda se halla sujeta a las alteraciones producidas por sus propias enzimas y las ocasionadas por la actividad microbiana; además, la grasa puede oxidarse químicamente. (15)

Para ser más tierna la carne de vacuno mayor, es conveniente cierto grado de autólisis, lo que se consigue en el proceso de maduración o “añejamiento”. Los cambios producidos por la autólisis incluyen cierto grado de acción proteolítica sobre los músculos y tejido conjuntivo y una ligera hidrólisis de las grasas. (15)

La autólisis excesiva determina el “agriado”, término que se aplica a numerosas alteraciones sufridas por los alimentos y a casi todas en las que se presenta olor ácido; es difícil distinguir entre el “agriado” por autólisis y los defectos causados por acción bacteriana, en especial cuando se trata de proteólisis. La hidrólisis preliminar de las proteínas por las enzimas de la carne estimula al comienzo del desarrollo de los microorganismos, suministrándoles complejos nitrogenados más sencillos que son necesarios para el desarrollo de ciertos microorganismos, incapaces de atacar las proteínas originales. (15)

2.2.4. Factores de contaminación

Etcheverry (16) y FAO (1), recomiendan una serie de procedimientos para prevenir la contaminación en la cadena de comercialización de la carne de vacuno. Estos procedimientos comprenden los siguientes momentos y acciones:

A. Compra y recepción de la mercadería

Toda la carne y los productos cárnicos que se vendan en la carnicería deberán provenir de establecimientos debidamente habilitados y fiscalizados por la Autoridad Sanitaria competente (SENASA y Órganos de aplicación provinciales). En el caso que no tenga acceso a los registros de los mataderos, es su obligación constatar que sus proveedores cumplan con los requisitos legales vigentes. Se recomienda seguir el procedimiento siguiente:

1. Planificar la llegada de la mercadería con anticipación y asegúrese de que exista suficiente espacio en las cámaras de conservación en frío.

2. Lavarse las manos con agua caliente y jabón previo a la recepción de las mercaderías y después de haber ido al baño o de haber realizado cualquier otra tarea no higiénica como manipular dinero, sacar la basura, realizar tareas de limpieza y desinfección, etc.

3. Cuidar la manipulación en la recepción de modo de no contaminar las carnes.

4. Realizar los siguientes controles, al momento de recibir la mercadería:

- **Examinar las condiciones del transporte** de las mercaderías: estado del vehículo, habilitación, puertas cerradas o caja cubierta, temperatura e higiene.
- **Controlar el tiempo** que demora el transporte.
- **Realizar una evaluación visual** para establecer si la apariencia, olor y color de las carnes son normales y para detectar la presencia de materiales extraños, tejidos desgarrados y otros defectos o anomalías.
- **Tomar la temperatura** de las carnes con un termómetro limpio, seco y desinfectado, teniendo como referencia que la carne fresca de vacuno o de cerdo debe tener una temperatura $\leq 7^{\circ}$ C. Esta temperatura deberá ser tomada en el centro de recepción.

5. Almacenar los productos en las cámaras o heladeras correspondientes, inmediatamente después de recibidos, para evitar la exposición de los mismos a temperatura ambiente.

B. Manipulación

La manipulación de la carne debe realizarse tomando en cuenta las recomendaciones siguientes:

1. Picar la carne en el momento de expendio, ante el pedido del cliente. Evitar el almacenamiento de la carne ya picada y disminuir, al mínimo posible, el tiempo que transcurre entre el picado y la venta del producto. En todos los casos, al terminar la jornada, desechar la carne picada que no haya sido vendida durante el día y bajo ninguna circunstancia se debe guardar para el día siguiente.
2. Desechar todo producto o resto de producto que cae al piso y todo resto de producto retenido en las máquinas picadoras o en la sierra, etc. Estos restos deben ser considerados basura y, como tal, ser arrojados a la bolsa de residuos.

C. Limpieza y desinfección

La limpieza y desinfección en el punto de venta de carne debe seguir los lineamientos siguientes:

1. Realizar las tareas de limpieza y desinfección diariamente para asegurar que todas las partes del local (pisos, paredes, techos, áreas auxiliares) estén apropiadamente limpias, incluyendo los equipos y utensilios que se utilizan para la comercialización de la carne en el punto de venta.
2. Controlar que el local esté en buenas condiciones higiénicas y ordenadas, antes de comenzar las tareas y durante la jornada de trabajo. Para alcanzar una adecuada condición higiénica se deberán realizar tareas de limpieza y desinfección, como sigue:

- La limpieza debe significar la eliminación de la suciedad visible de las superficies, restos de carne, huesos, grasa, etc., mediante el uso de agua, detergentes, cepillos, etc.
- La desinfección debe significar la eliminar la suciedad no visible de las superficies - microorganismos- mediante el uso de productos químicos desinfectantes, agua caliente, vapor, etc.

3. Material y equipos que deben mantenerse limpios y desinfectados:

- Utensilios: cuchillos, tablas, recipientes, afiladores de cuchillos, ganchos y todos los utensilios que utilice dentro del local.
- Equipos: máquinas de picar carne, cortadoras, balanzas, mesadas, cámaras refrigeradoras, heladeras y todo el equipamiento que esté en contacto con las carnes.
- Utensilios para limpieza: Trapos y todos los utensilios que se utilizan para limpiar y desinfectar. Se recomienda el uso de toallas de papel descartables para la limpieza de las superficies. Si utiliza trapos, preste atención a la higiene de los trapos debido a que pueden dejar de cumplir la función de limpiar y convertirse en vehículo de bacterias que contaminarán su mercadería. Lávelos frecuentemente con agua caliente y jabón: si posee lavarropas automático, use el ciclo de agua caliente. Descarte sus trapos cada 15 días.

D. Conservación y almacenamiento

La conservación y almacenamiento de la carne debe seguir las recomendaciones siguientes:

1. Mantener las carnes en cámaras o heladeras en todo momento, a una temperatura menor o igual a 5°C para evitar el crecimiento y la multiplicación de las bacterias.

2. Evitar la contaminación cruzada durante el almacenamiento. Las bacterias pueden pasar de un alimento a otro por contacto directo, o bien a través de las superficies en contacto con los mismos. Esto se puede prevenir de la manera siguiente:

- Mantener un orden dentro de las cámaras de refrigeración, heladeras, congeladores, heladeras de exhibición, etc., separando las carnes según su procedencia por especie: carne vacuna, pollo, cerdo, etc.
- En la venta de productos listos para consumir como por ejemplo, embutidos, fiambres, matambre, etc., es necesario separarlos físicamente de las carnes crudas dentro de las cámaras, heladeras, exhibidores y dispensadores. Se debe evitar poner en contacto los equipos, utensilios y mesas que se utilizan para las carnes crudas con los productos cocidos o listos para consumir, sin previa limpieza y desinfección.

3. Controlar la temperatura de las carnes en cámaras y heladeras.

4. Asegurar de que existan mínimas variaciones de temperatura durante el almacenamiento. Para esto, deberá tener en cuenta lo siguiente:

- No abrir las puertas de la heladera constantemente y se debe minimizar el tiempo que la puerta permanece abierta, porque así se logra mantener la temperatura apropiada y ahorrar energía eléctrica.
- No recargar los refrigeradores porque dificulta la limpieza y obstaculiza la circulación de aire frío. Se debe evitar la obstrucción de los ventiladores.

2.3. CLASIFICACION DE LA CARNE

Existen diferentes tipos de carne de acuerdo a las características organolépticas, los cuales tienen un valor o rango de pH, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de las carnes de vacuno y su relación con el valor del pH

Clasificación de la carne	Valor del pH carne de vacuno
pH PSE	< 5,5
pH RFN	5,0 – 5,8
pH DFD	> 6,0
pH OPTIMO	5,5

Fuente: Hanna(17)

PSE: Pálida, suave y exudativa.

RFN: Roja, firme, no exudativa.

DFD: Oscura, dura y seca.

2.3.1 Carne pálida, suave y exudativa (PSE)

La condición PSE es causada por un estrés severo, inmediatamente antes de su sacrificio - por ejemplo, al descargar a los animales, al manejarlos, al encerrarlos en los corrales o al inmovilizarlos y sacrificarlos. En esas circunstancias, los animales están sujetos a una fuerte ansiedad y miedo por el manejo que le proporciona el hombre, por las peleas en los corrales o por las malas técnicas de sacrificio. Todo ello resulta en una serie de procesos bioquímicos en el músculo - en especial, la rápida descomposición del glucógeno. La carne entonces se vuelve muy pálida y adquiere una acidez muy pronunciada (valores de pH de 5,4 - 5,6 inmediatamente después del

sacrificio), y con poco sabor. El descanso de los animales y un buen manejo antes y durante el sacrificio, reducen considerablemente el riesgo de obtener carne PSE. (8)

2.3.2 Carne oscura, dura y seca (DFD),

Esta condición puede presentarse en canales de ganado vacuno u ovino, y ocasionalmente en cerdos y pavos, al poco tiempo de su sacrificio. La carne de la canal es más oscura y más seca de lo normal, y tiene una textura más firme. El glucógeno muscular se consume durante el transporte y el manejo en el período anterior al sacrificio. Por consiguiente, hay poca generación de ácido láctico luego del sacrificio, produciéndose así una carne DFD. Esta carne es de una calidad inferior, ya que el sabor menos acentuado y su color oscuro son poco apetecidos por el consumidor. Tiene una menor vida útil por sus niveles de pH anormalmente altos (6,4 - 6,8). La carne con la condición DFD implica que la canal procedió de un animal estresado, lesionado o enfermo antes de su sacrificio. (8)

2.3.3 Carne roja, firme, no exudativa (RFN)

En este proceso, el pH desciende de 7,2 del tejido vivo a 5,6 en la carne, a las 24 horas post-mortem la moderada disminución de este pH, mientras la canal se enfría se genera una carne de alta calidad caracterizada por un color rojo brillante, firme y no exudativa. (9)

2.4 ANTECEDENTES DE INVESTIGACION

2.4.1 A nivel internacional

Diversos estudios (8, 9, 10, 13) indican que la carne fresca, por su contenido nutricional y su alto valor de actividad de agua (aw), está considerada dentro del grupo de los alimentos altamente perecederos, al igual que la mayoría de los productos elaborados con ella; sin embargo, de acuerdo a sus características particulares, el tipo de microorganismo presente puede variar. A pesar de que el músculo como tal, es prácticamente estéril, los alimentos preparados en base a carne son muy susceptibles a la contaminación y ofrecen las condiciones necesarias para el crecimiento de microorganismos involucrados en daños y enfermedades de origen alimentario. En este tipo de producto, sobre todo fresco o con proceso defectuoso, los microorganismos se multiplican rápidamente, especialmente a temperatura por encima de la refrigeración, resultando en pérdidas de calidad y/o problemas de salud pública. (18)

El trabajo de investigación titulado “Control de Calidad de la Carne de Bovino en el Mercado Municipal de la Ciudad de Piñas, Provincia de El Oro”, se realizó en el camal y mercado municipal y en el Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja (Ecuador), en el año 2011. Llegando a la conclusión que los procesos aplicados de faenamiento, transporte y comercialización de los animales no se cumplen, pero esto no quiere decir que afecte el pH de la carne de los bovinos faenados, igual siguen siendo aceptables; por otra parte, la presencia de *Staphylococcus sp.*, en la mañana es notable y en las tardes se excede al máximo permitido; la *Escherichia coli* está dentro de los límites microbiológicos aceptables sin presentar ningún riesgo de contaminación. (2)

El año 2007, en la ciudad de Valdivia (Chile), se llevó a cabo la investigación “Efecto del pH sobre la conservación de carne de bovino de corte oscuro (DFD) envasada al vacío y almacenada a 0°C”; llegando a la conclusión de que en el deterioro de la carne envasada al vacío se encontraron bacterias del género *Brochothrix thermosphacta*, en especial en el rango de pH alto ($\geq 6,2$); y las enterobacterias, en altas cantidades en tres rangos de pH; también hubo desarrollo de levaduras, en particular en el pH más alto. (6)

En el análisis se registraron diferencia significativa ($P \leq 0,05$) en la jugosidad entre el rango de pH siendo mayor en el rango de pH más alto, lo cual se debió a la capacidad de fijación de agua de esta carne. Los demás parámetros no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tres rangos de pH. Según los análisis realizados en éste estudio, la carne con pH intermedio (5,8-6,1) y pH alto ($\geq 6,2$) puede ser envasada al vacío, almacenada a $0 \pm 1^\circ\text{C}$ por un periodo no superior a 45 días, conservando sus características organolépticas. (6)

2.4.2 A Nivel Nacional

El año 2014, en la ciudad de Huánuco, se realizó el trabajo de investigación “Evaluación del pH y factores concomitantes que influyen en el crecimiento bacteriano en la carne de vacuno en los mercados de Huánuco”, con el objetivo de evaluar la calidad de la carne de vacuno. Se llegó a concluir que el 100% de la carne de vacuno que se expenden en los puestos estudiados está contaminada, constituyendo un peligro para la salud pública. (19)

Otro trabajo similar se realizó, en el año 2012, “Evaluación de Bacterias Aeróbicas Mesófilas Totales en Canales de Bovinos (*Bos Taurus*) en el Camal Municipal de

Tacna". Se llegó a la conclusión de que la contaminación era de *Salmonella sp* (54.74 %), *Shigella sp*, (50.0 %), *E. coli* (47.62 %) y *Proteus sp* (46.62 %); por tanto, inaceptable para el consumo humano, ya que la norma técnica peruana no admite la presencia de *Salmonella*. Por otro lado, el promedio de los recuentos de bacterias aerobias Mesófilas totales fue 4,06 log ufc/cm², valor menor al fijado por la norma técnica peruana (máximo 5,4 log ufc/cm²). (20)

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. ESPACIO Y TIEMPO

La investigación fue realizada en la ciudad Pucallpa, distrito Callería, provincia Coronel Portillo, departamento Ucayali. El distrito limita por el norte con el departamento Loreto, por el este con Brasil, por el sur con el distrito Masisea y por el oeste con los distritos Campo Verde, Nueva Requena, Yarinacocha y Manantay. La zona corresponde a un Bosque Húmedo Tropical, con temperatura media anual de 25.5 °C, una precipitación promedio anual de 1,852 mm y humedad relativa media de 80 %. (21)

El desarrollo del proyecto tuvo una duración de 6 meses, entre el periodo de febrero y julio del 2017.

3.2. POBLACION Y MUESTRA

La población en estudio estuvo conformada por los puestos de venta de carne de vacuno, en los diferentes mercados de la ciudad Pucallpa. Estos puestos se encuentran en cuatro mercados, identificados como Mercado N° 2, 3, 4 (Bellavista), y 6 (Minorista).

Para la determinación del tamaño de la muestra, los puestos de venta de carne de vacuno fueron seleccionados al azar y de manera proporcional por mercado, donde había un número mayor al requerido, como se indica en el Cuadro 1. Se trabajó con el

mayor número de puestos posibles de acuerdo a las facilidades de laboratorio y financiamiento, además se consideró las diferencias entre los puestos por mercado. Así, la muestra estuvo conformada por seis puestos del Mercado N° 2, dos puestos del Mercado N° 3, cinco puestos del Mercado N° 4 y diez puestos del Mercado N° 6, sumando un total de 23 puestos para el estudio. La carne distribuida para todos los mercados considerados provenía del Camal Municipal. Se tomó una muestra de carne de vacuno por cada puesto de expendio, sumando 23 muestras.

Cuadro N° 1 Conformación de la muestra en estudio

Mercados	N° de puestos
2	06
3	02
4	05
6	10
Total	23

3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio fue no experimental, de tipo Descriptivo - Transversal, sobre la evaluación del pH y la evaluación microbiológica de la carne de vacuno que se comercializó en los puestos de venta de los diferentes mercados de la ciudad de Pucallpa. La muestra de carne fue extraída, de manera aleatoria, entre todas las carnes de res que se comercializaban en cada puesto de los mercados mencionados.

3.4. EQUIPOS, MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS

3.4.1. Equipos y materiales

Material biológico

- 110 gr de carne de vacuno por muestra.

Material de laboratorio

Equipos:

- pH metro electrónico
- Balanza analítica de capacidad para 200 g.
- Equipo autoclave
- Incubadora
- Contador de colonias
- Cámara de flujo laminar

Medios de cultivo, reactivos e insumos de laboratorio

- Agar MacConkey.
- Agar Mueller Hinton.
- Agar de Conteo de Placas.
- Agar con Eosina y Azul de Metileno
- Agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato
- Kit de Gram
- Agua destilada.
- Hisopos de madera estériles.
- Alcohol de 96°

Material de vidrio

- Placas Petri.
- Asa de Drigalsky
- Láminas porta objeto y láminas cubre objeto.
- Jeringas descartables de 1 mL y de 10 mL. (50 de cada uno).

Material de bioseguridad

- Guardapolvo.

- Cajas de guantes de látex.
- Mascarilla tapaboca.
- Papel kraft.

Material de campo

- Encuestas.
- Lapicero.
- Bolsas Ziploc de 6 x 7 “
- Cámara fotográfica.
- Caja de tecnopor.
- Geles refrigerantes.
- Cinta de embalaje.

3.4.2. Procedimientos

A. Toma de información sanitaria y ambiental de los centros de expendio de carne de vacuno

Previo al muestreo para el análisis de la carne, se tomó información sobre las condiciones sanitarias y de infraestructura de los puestos de venta seleccionados. Se puso especial énfasis en aquellos puntos críticos para la contaminación de la carne (higiene y utensilios) y las buenas prácticas para la conservación de la misma (cadena de frío). Esta información se tomó en base a un formato de encuesta (Anexo 1).

B. Método de recolección de muestra de carne

Para la toma de muestra de carne, en cada puesto, se procedió de la manera siguiente:

1. El momento de la colecta fue entre las 8:00 y 9:00 am, los días martes y jueves. En cada caso se colectó 110 g de carne de vacuno disponible y en exhibición para la venta al público.
2. La muestra de carne fue colocada en bolsas “ziploc” (hermética), para evitar cualquier otro tipo de contaminación. Cada bolsa fue rotulada para su plena identificación.
3. Las bolsas “ziploc” con las muestras fueron trasladadas al laboratorio en cajas “tecnopor” con geles refrigerantes.
4. La frecuencia de muestreo se realizó de acuerdo a la disponibilidad de material para el cultivo bacteriológico (10 a 15 placas semanales).

C. Determinación del pH de la carne:

La determinación del pH se realizó sobre las muestras de carne, homogenizadas al 10% en agua destilada, utilizando pH metro electrónico, de la manera siguiente:

1. En cada caso, se obtuvo una submuestra de 10 g de carne, a la cual se le agregó 90 ml de agua destilada. La homogenización se realizó con la ayuda del pilón y el mortero.
2. Se dejó reposar la mezcla anterior durante media hora, para luego proceder a valorar el pH mediante el pH metro.
3. Los resultados obtenidos se compararon con la información de la Tabla 1 (Marco Teórico), para clasificar cualitativamente cada una de las muestras analizadas.

D. Determinación de la presencia bacteriana:

a. Preparación de los medios de cultivo.

1. Para agar MacConkey se colocó 50 g de agar en 1000 ml de agua destilada; para agar Mueller Hinton se utilizó 34 g de agar para 1000 ml de agua destilada.
2. Cada mezcla fue colocada en un matraz sellado con un tapón de algodón y calentado en un mechero Bunsen para facilitar su dilución.
3. Posteriormente, se esterizaron los agares disueltos en los matraces, colocándolos en un equipo autoclave, a una presión de 115 durante 15 minutos. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente.
4. A continuación, de cada medio se vertió un aproximado de 20 ml en placas petri, previamente esterilizadas.
5. Después de haberse enfriado las placas, se realizó el control de calidad mediante la incubación, de las placas, en una estufa por 24 horas a 36 °C. Se desecharon las placas que mostraron crecimiento compatible con colonias bacterianas sugerentes de contaminación.

b. Cultivo de las muestras: Este procedimiento se realizó de acuerdo a lo descrito por Torres, D. (19)

1. De los 100 gr de muestra de carne restantes, se tomó una submuestra de 75 g, la cual fue colocada en una bolsa "ziploc" con 20 ml de agua destilada. Se dejó en

reposo por 30 minutos, para permitir que los microorganismos de la carne se liberen hacia el agua vertida.

2. La siembra en las placas "Petri" se realizó en una cámara de flujo laminar. Durante este proceso se mantuvo encendido un mechero Bunsen, cerca del área de trabajo, para reducir el nivel de contaminación, en un diámetro de 20 cm alrededor del mechero.
3. Se introdujo un hisopo estéril, dentro del líquido de la bolsa "ziploc", tratando de mojarlo en su totalidad.
4. Con el hisopo humedecido se realizó la siembra en las placas petri con agares. Se utilizó un hisopo empapado para cada placa "petri".
5. Las placas sembradas se llevaron a una incubadora a 36 ° C, por un periodo de 24 horas.
6. Después del periodo de incubación, las placas "petri" fueron conservadas en refrigeración hasta el momento de la lectura.

c. Reconocimiento de los géneros bacterianos

El reconocimiento de los géneros bacterianos cultivados en cada placa "petri" se realizó en las tres etapas siguientes:

1. Características fenotípicas de las colonias aisladas: Se tuvo en cuenta que las especies bacterianas se desarrollan en colonias con una forma y aspecto característico. El tamaño, forma, textura y color de una colonia es propio de cada microorganismo. Sin embargo, la morfología de la colonia de una bacteria puede variar según el medio en que crezca la bacteria. Además, la pigmentación de la

colonia depende de la especie y del medio de cultivo, en cuanto al tipo y nivel de nutrientes. Las colonias pueden ser blancas, cremas, amarillas claras y brillantes, anaranjadas, rosas claras y brillantes (22).

2. Aplicación de tinción Gram y reacciones bioquímicas (prueba de catalasa): La técnica de tinción se basa en aplicar una serie de colorantes a una muestra de cualquier origen (esputo, orina, pus, etcétera) que supuestamente contenga bacterias no identificadas. Los colorantes tiñen la pared de las bacterias de color morado y, tras unos minutos, se realiza un lavado del colorante. Después de eso puede que el colorante permanezca en la pared bacteriana o que se haya perdido. En el primer caso permanecería el color morado, y se trataría de bacterias Gram positivas y, en el segundo, la pared tendría un color rosado, y serían Gram negativas. (23)

La catalasa es una enzima que poseen la mayoría de las bacterias aerobias, descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. El desprendimiento de burbujas procedentes del oxígeno indica que la prueba es positiva. La prueba de la catalasa es un método rápido y fácil para la diferenciación de *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Todas las especies de *Streptococcus* son catalasa negativa y *Staphylococcus* son catalasa positiva (24).

3. Aislamiento en medio de cultivo selectivos: Se utilizó el Agar XLD (Xilosa Lisina Desoxicolato) como medio de crecimiento selectivo para las especies de *Salmonella* y *Shigella*.
 - Las especies de *Salmonella* se caracterizan por ser colonias rojas, algunas con centros negros. El agar en sí se volverá rojizo - fucsia debido a la presencia de colonias tipo *Salmonella*.

- Las especies de *Shigella* son colonias rojas.
- Los coliformes son colonias de color amarillo a naranja.
- *Pseudomonas aeruginosa* se caracterizan por ser colonias rosadas, planas y rugosas. Este tipo de colonia se puede confundir fácilmente con *Salmonella* debido a las similitudes de color.

Además, se utilizó el Agar EMB (Eosina y Azul de Metileno), que permite diferenciar entre las colonias de organismos fermentadores de lactosa y aquellos que no la fermentan; el contenido de eosina y azul de metileno inhiben en cierto grado los organismos Gram positivos.

La presencia de sacarosa permite a algunos miembros del grupo coliforme fermentarla con más facilidad que la lactosa. Las colonias lactosa positiva son azules a moradas con brillo metálico o poseen centros oscuros con periferias transparentes incoloras y las que son negativas en lactosa o sacarosa, se observan incoloras o rosa pálido transparentes. Este medio confirma la presencia de bacterias del género *Echerichia coli*.

d. Procesamiento para la tinción de colonias bacterianas.

Este procedimiento se realizó en la cámara de flujo laminar y la manipulación de las colonias, para el frotis se realizó cerca al mechero de Bunsen. Se utilizó la técnica de coloración de “Gram”, de la manera siguiente:

1. Se realizó un frotis de las colonias bacterianas, con diferentes características, presentes en las placas “petri” cultivada. Se extrajo una porción de la colonia, con ayuda de una asa de siembra, y se colocó sobre una lámina porta objetos,

previamente identificada, conteniendo una gota de agua destilada. La lámina con el frotis uniforme se acercó al calor del mechero para su impregnación.

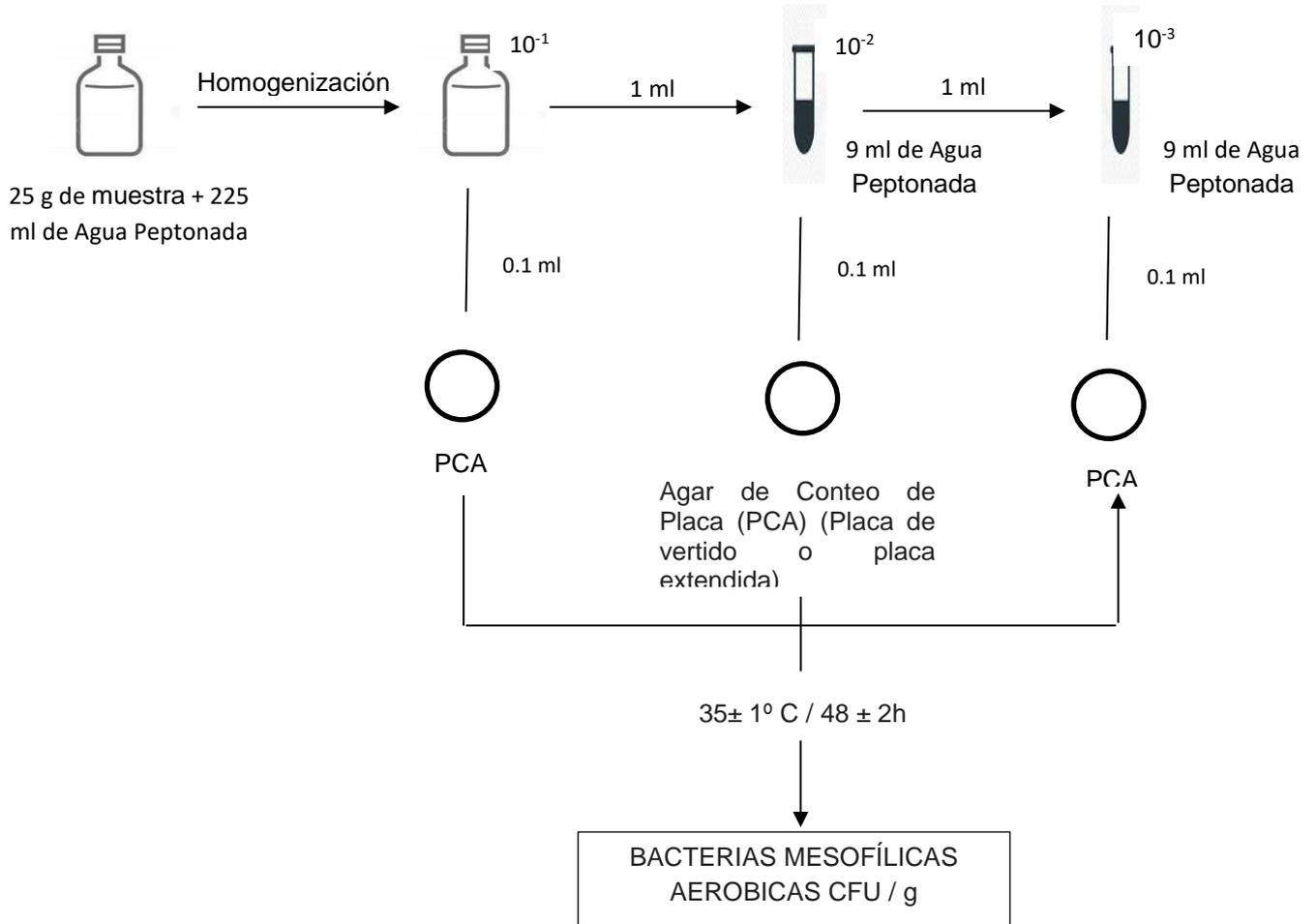
2. Seguidamente se procedió a la tinción Gram, en el puente de coloración respectivo, como sigue:
 - Se cubrió la lámina porta objetos con Violeta de Cristal y se esperó un minuto.
 - Se enjuagó la lámina con agua destilada.
 - Se colocó Lugol sobre la muestra y se esperó dos minutos.
 - Se enjuagó con agua destilada.
 - Se vertió el decolorante sobre la lámina porta objetos y se esperó un minuto.
 - Se vertió la Safranina en la muestra y se esperó treinta segundos.
 - Se enjuagó con agua destilada.
 - Se dejó secar.
3. Después se observó al microscopio la morfología y coloración de las bacterias para diferenciar el género bacteriano; cocos, cocos en racimos, cocos en cadenas, bacilos, que nos pueden dar un indicador de la presencia de *enterobacterias*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *bacillus*, *Pseudomonas* u otros.

E. Determinación de la carga bacteriana

Este procedimiento se realizó mediante la enumeración de bacterias mesófilas aeróbicas en alimentos, usando el método de conteo de placas aeróbicas (APHA 2001) de acuerdo a lo descrito por DIGESA (25) y Da Silva (26)

Descripción de la técnica

- a) Utilización de 25 g de carne restantes de la muestra y preparación de las diluciones en series (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) como se muestra en el Grafico 1.
- b) Preparación de placas con Agar de Conteo de Placas (PCA).
- c) Inoculación de 0,1 ml, de cada dilución, sobre la superficie de las placas previamente preparadas. Y distribución del inóculo sobre toda la superficie del medio con un esparcidor de vidrio o plástico (“drigalski”), hasta la completa absorción de todo el exceso del inóculo.
- d) Una vez secas las placas, se invierten e incuban a 35 ± 1 ° C / 48 ± 2 h.
- e) Conteo de colonias por placa con apoyo de un estereoscopio y cálculo de los resultados finales multiplicando el número de colonias, en cada dilución, por 10. Estos resultados fueron comparados con valores esperados (100 CFU/g para la dilución 10^{-1}).
- f) El resultado de los recuentos de aeróbicos mesófilos/g de la muestra se transformaron a Log UFC y se cotejaron con la Norma Técnica Peruana, sobre los límites máximos permisibles de crecimiento de aerobios mesófilos en carne de bovino.

Gráfico 01. Procedimiento para el recuento de mesófilos en carne de res

3.5. DISEÑO ESTADÍSTICO

Estadística descriptiva: el presente estudio evalúa lo que está pasando en la comercialización de la carne de vacuno, respecto a su calidad en el momento del expendio al público consumidor. Por tanto, los resultados fueron resumidos y analizados con las herramientas de la Estadística Descriptiva, específicamente cuadros y gráficos que describen las condiciones de los puestos de venta de carne de vacuno en los mercados de la ciudad Pucallpa, los niveles de pH y la presencia bacteriana encontrados. Así como la correlación del pH con el recuento de mesófilos en las muestras.

IV. RESULTADOS

CONDICIONES FISICAS SANITARIAS DE LOS PUESTOS DE VENTA DE CARNE DE VACUNO

El inicio del estudio se realizó en 6, 2, 5 y 10 puestos de venta de carne de vacuno de los mercados 2, 3, 4 y 6, respectivamente, en la ciudad Pucallpa (Ucayali – Perú). Los resultados de la encuesta realizada al inicio del estudio muestran deficiencias en la infraestructura básica de los puestos (Tabla 2), específicamente en los servicios de agua y desagüe. Así, los puestos de los mercados 2, 3 y 4, no cuentan con estos servicios en el punto de venta; sólo existen servicios comunes para todo el mercado. En el mercado 6, todos los puestos de venta de carne de vacuno tienen servicios de agua y desagüe no compartidos. En general, el 100 % de los puestos poseen servicio eléctrico, el 91.3 % tiene los puestos enchapados con mayólica y el 43,5 % poseen agua y desagüe.

Tabla 2. Condiciones básicas de infraestructura en los puestos de venta de carne de vacuno en los mercados de la ciudad Pucallpa - Ucayali 2017 (considerados en %)

Mercado	N° de puestos	Abastecimiento de agua en el puesto	Servicio eléctrico	Presencia de desagüe	Enchapado cerámico o de mayólica
2	6	0	6	0	6
3	2	0	2	0	1
4	5	0	5	0	4
6	10	10	10	10	10
General (%)	23	43.5	100	43.5	91.3

Por otro lado, la información sobre las condiciones para la higiene, conservación en frío y manipulación de la carne se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Aplicación de las prácticas de higiene, conservación en frío y manipulación de la carne de vacuno en los puestos de venta en los mercados de la ciudad Pucallpa - Ucayali 2017 (considerado en %)

Mercado	N° puestos por mercado	Uso de mandil en los puestos	Uso de guantes en los puestos	Uso de gorro en los puestos	Conservación en frío en los puestos	Presencia de personal de cobranza	Exposición de cortes
2	6	4	0	4	0	0	3
3	2	2	0	0	2	0	2
4	5	2	0	2	5	1	5
6	10	10	1	5	10	2	10
General (%)	23	78.3	4.3	47.8	73.9	13.0	86.9

En los mercados 3 y 6, el personal de todos los puestos usan mandil; sin embargo sólo uno del mercado usa guantes y en promedio, el 47.8 % usa gorros. El 100% de los puestos de los mercados 3, 4 y 6 mantiene la carne en refrigeración en el punto de venta; mientras los puestos del mercado 2 refrigeran la carne en diferentes puntos dentro del mercado y en común con otros productos, el 13% cuentan con personal de cobranza y el 86.9% tiene una buena exposición de cortes de la carne de vacuno.

Finalmente, se obtuvo la información de los puestos de venta que contaban con carné de salubridad, esto se describe en la Tabla 4.

Tabla 4. Cantidad de puestos que contaban con carné de salubridad por mercado encuestado en la ciudad Pucallpa - Ucayali 2017

Mercado	N° puestos por mercado	N° puestos con carné de salubridad
2	6	2
3	2	1
4	5	4
6	10	9
General	23	16

Sólo el 69.6 % (16/23) de los puestos de venta de carne vacuno estudiados posee carnet de salubridad emitido por la DIGESA.

VALORES DE PH EN LAS MUESTRAS DE CARNE DE VACUNO

Los valores de pH de las muestras de carne evaluadas en laboratorio se presentan en la tabla 5, en forma individual y en promedio resultante por mercado.

Tabla 5. Valores de pH en las muestras de carne de vacuno por puesto de venta y por mercado en la ciudad de Pucallpa

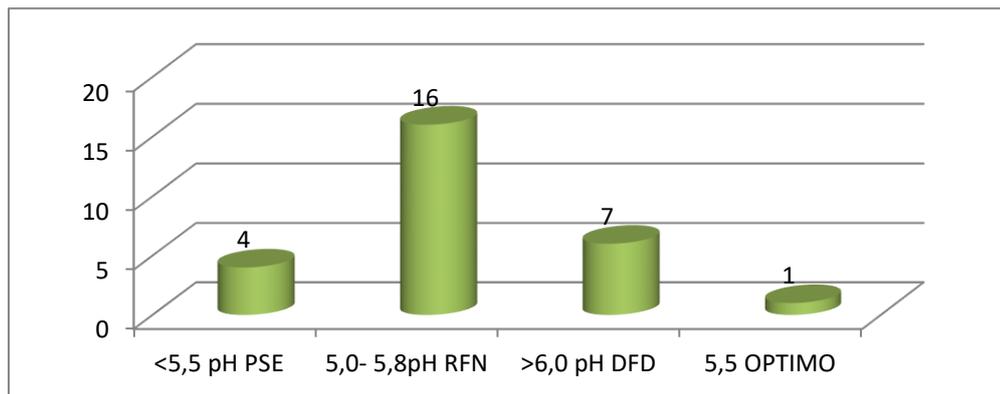
	Mercado 2	Mercado 3	Mercado 4	Mercado 6
	5,58	5,72	6,51	5,83
Valores de	5,79	5,32	5,89	5,94
pH	5,53		5,82	6,25
encontrados	5,85		5,35	6,61
en las	5,41		6,38	6,30
muestras de	5,44			5,72
carne de				5,71
vacuno				5,71
				6,24
				5,57
Promedio	5,60	5,52	5,99	5,98

Todos los promedios generales por mercado son inferiores a 6,0; sin embargo, en el mercado 4 y 6 hubo valores de pH superiores a 6,0 en dos y cuatro puestos, respectivamente. La clasificación de la carne, según los valores de pH, fue la siguiente: RFN (pH 5,0 - 5,8: carne roja, firme y no exudativa) en 6, 2, 3 y 5 puestos de los mercados 2,3,4 y 6, respectivamente; PSE (pH < 5,5: carne pálida, suave y exudativa) en 2, 1 y 1 puestos de los mercados 2, 3 y 4; DFD (pH ≥ 6,0: carne oscura, dura y seca) en 2 y 5 puestos de los mercados 4 y 6. En el rango óptimo (5,5) se encontraron

en un puesto del mercado 2. En esta clasificación de la carne no necesariamente un valor de pH corresponde a una determinada clase; por el contrario se presenta un traslape entre ambos, es decir, un determinado pH puede corresponder a una u otra clase según las características de la carne en el momento de la evaluación.

El en Gráfico 2 se presenta la clasificación de las muestras de carne y su relación con el pH. Se puede observar que la mayor cantidad de muestras están dentro del grupo de rango con pH que considera a la carne roja, firme y no exudativa; y sólo una muestra tenía el pH (5.5) que se considera óptimo.

Gráfico 2. Clasificación de las muestras de carne vacuno analizadas mediante determinación del pH



* De acuerdo a la clasificación realizada, el grupo de muestras con pH <5,5 está incluido en el grupo de muestras que tiene el pH entre 5.0 y 5.8, por lo que se consideró 28 valores de pH.

Términos de clasificación de la carne

PSE: carne pálida, suave y exudativa

RFN: carne roja firme no exudativa

DFD: carne oscura dura y seca

PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LA CARNE DE VACUNOS

Géneros bacterianos

En cuanto a la presencia microbiana, se encontraron bacterias aerobias y enterobacterias en todas las muestras de carne. Los géneros bacterianos encontrados (Cuadro 2) fueron del grupo de bacterias aeróbicas (*Bacilos sp.*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, y *Pseudomonas sp.* Y del grupo de enterobacterias (*Echerichia coli*, *Enterobacter sp.* y *Salmonella sp.*). Otros géneros no fueron determinados, debido a la falta de medios de cultivo específicos para las pruebas bioquímicas.

Cuadro 2. Géneros bacterianos encontrados en las muestras de carne de vacuno

Bacterias aerobias	Enterobacterias
<i>Bacilos sp.</i> , <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Pseudomona sp</i>	<i>E. coli.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> <i>Salmonella sp.</i>

Recuento de mesófilos.

En el recuento de mesófilos (Tabla 6), ninguna muestra presento valores igual o por debajo del límite inferior (10^5 UFC/g de carne) que fija la Norma Técnica Sanitaria vigente; sin embargo, 22 muestras presentaron valores entre $> 10^5$ UFC/g y $< 10^7$ UFC/g de carne.

Tabla 6. Determinación de pH y recuento de mesófilos en muestras de carne de vacuno provenientes de los mercados de la ciudad de Pucallpa

Procedencia	Nº Muestra	pH	Mesófilos / g de carne	
M2	1	5,58	9575000 *	9.575×10^6
M2	2	5,79	545000	5.45×10^5
M2	3	5,53	1985000	1.985×10^6
M2	4	5,85	16000000 **	1.600×10^7
M2	5	5,41	5895000 *	5.895×10^6
M2	6	5,44	6680000 *	6.680×10^6
M3	7	5,72	200000	2.00×10^5
M3	8	5,32	2315000	2.315×10^6
M4	9	6,51	4590000	4.590×10^6
M4	10	5,89	2695000	2.695×10^6
M4	11	5,82	5360000 *	5.360×10^6
M4	12	5,35	410000	4.10×10^5
M4	13	6,38	2280000	2.280×10^6
M6	14	5,83	2360000	2.360×10^6
M6	15	5,94	820000	8.20×10^5
M6	16	6,25	1795000	1.795×10^6
M6	17	6,61	1995000	1.995×10^6
M6	18	6,30	1620000	1.620×10^6
M6	19	5,72	1160000	1.160×10^6
M6	20	5,71	3025000	3.025×10^6
M6	21	5,71	3480000	3.480×10^6
M6	22	6,24	2595000	2.595×10^6
M6	23	5,57	8660000 *	8.660×10^6

Carne aceptable $< 10^5$ UFC, aceptable o inaceptable $> 10^5$ UFC - $< 10^7$ UFC e inaceptable: $> 10^7$ UFC

El análisis de correlación entre los valores de pH y el recuento de mesófilos resultó en un valor de $(r) = - 0.168$, y un valor de $p = 0,445$. Este resultado demuestra la no existencia de asociación entre el pH y el recuento de mesófilos.

En la tabla 7 se presenta los valores promedio para los recuentos de mesófilos en carne de vacuno por mercado.

Tabla 7. Recuento de Mesófilos en las muestras de carne de vacuno por mercado

Mercado	Promedio	Rango
2	6 780 000	$5.45 \times 10^5 - 1.600 \times 10^7$
3	1 257 500	$2.00 \times 10^5 - 2.315 \times 10^6$
4	3 067 000	$4.10 \times 10^5 - 5.360 \times 10^6$
6	2 751 000	$8.20 \times 10^5 - 8.660 \times 10^6$
General	3 463 875	$2.00 \times 10^5 - 1.600 \times 10^7$

El menor valor se encontró en el mercado 3, mientras que el mayor valor se encontró en el mercado 2.

V. DISCUSIÓN

Las condiciones físico sanitarias de los puestos de venta de carne vacuno en los mercados de la ciudad Pucallpa son muy dispares. Todos los puestos del mercado 6 están revestidos de mayólica lo que le permite un mejor estado de limpieza, además disponen de suministro de agua e instalación de desagüe en cada puesto. Sin embargo, en el mercado 6 no existe una verdadera separación entre los puestos que se dedican a la venta de carne de diferentes especies, propiciándose la contaminación cruzada. Los puestos de los mercados 2 y 4 tienen revestimiento de mayólica; sin embargo, no tiene servicio de agua en el mismo puesto. El agua está disponible en un surtidor común por mercado. Esto último se repite en los puestos del mercado 3. Con respecto a la refrigeración de la carne, los mercados 3, 4 y 6 poseen los respectivos artefactos de refrigeración; mientras los puestos del mercado 2 colocan la carne de vacuno en artefactos de refrigeración comunes para otros productos (aves, animales silvestres, cerdo, verduras), propiciándose la contaminación cruzada. El 91.3 % (21/23) no disponen de personal para cobranzas, En el 78.3 % (16/23) de los puestos estudiados, el personal viste mandiles; sin embargo, sólo en un puesto (4.3 %) del mercado 6 utilizan guantes.

Estos resultados en la encuesta sobre los puestos de venta y las condiciones del manejo de la carne, el cual no es adecuado en algunos casos, de acuerdo al reglamento, son semejantes a lo encontrado por otro investigador (19), y pueden tener influencia en los hallazgos de la evaluación microbiológica de las muestras de carne de vacuno.

Los valores de pH, determinados en las muestras de carne de los puestos de los mercados de la ciudad de Pucallpa, estuvieron en el rango 5.32 y 6.61, perteneciente a un puesto del mercado 3 y 6, respectivamente. El menor valor promedio de pH correspondió al mercado 3 (5.52), mientras que el promedio mayor correspondió al

mercado 4. En los resultados se ha podido observar que la mayor cantidad de muestras ($n = 16$), estarían dentro del grupo de rango de pH que se considera carne roja, firme y no exudativa (RFN: pH 5.0 -5.8); y solo una muestra tuvo un valor de pH óptimo (5.5). Las muestras correspondientes a la clasificación PSE corresponderían a $\text{pH} < 5.5$, con la particularidad de ser exudativas.

Esta variabilidad en el pH sugiere que el tiempo y la forma de conservación, desde la obtención de la carne hasta su venta, estarían influenciando en los resultados. Estudios similares realizados en Ecuador (2) encontraron un valor de pH de 5.6 para la carne que se expende en los mercados de la ciudad de Piñas (El Oro); se encontró correlación entre el tiempo de madurez de la carne y los valores de pH. En el presente estudio, el 43.5% (10/23) de las muestras tuvieron pH superiores a 5.6. Los valores suficientemente ácidos inhiben el crecimiento microbiano y cuando los valores de pH comienzan a subir y llegan a 6.2 - 6.5, aparece el peligro de una alteración de origen bacteriológico (2, 7 y 8).

Otro factor a considerar en el análisis de resultados del pH en la carne de vacunos es el grupo racial de los animales beneficiados. Así, en un estudio comparativo entre razas, se llegó a la conclusión que, a las 24 horas del sacrificio, los animales de la raza Holstein presentan valores de pH más altos (5.57) respecto a la raza Nelore (5.40); Estas diferencias pueden deberse a la dieta, al temperamento del animal, que en el caso del Nelore, por ser un animal más nervioso, consume glucógeno muscular (transformándolo en ácido láctico) más rápido que el Holstein, cuyo temperamento es más calmado. Por otro lado, los valores del pH de la carne a las 24 horas post mortem, pueden sufrir alteraciones debidas al uso de drogas o a condiciones de stress pre sacrificio a las que son sometidos los animales (29).

Los géneros bacterianos encontrados en las muestras evaluadas (Cuadro 2) tendrían su origen en la contaminación de la carne con la microflora intestinal durante

el faenamiento y la contaminación ambiental durante el transporte, almacenamiento y expendio en los mercados (12). Al respecto se menciona que los géneros bacterianos más importantes encontrados en la carne de vacuno son; *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonellas* y *Streptomyces* (27).

El crecimiento de los géneros bacterianos procedentes de las muestras de carne de vacuno, que se expende en los mercados de la ciudad Pucallpa, estuvo a nivel de 100% para *Bacilos sp.*, y *Streptococcus sp.*; 95.7% para *Staphylococcus sp.*; 65.2% para *Enterobacter sp.* y *Escherichia coli*; 47.8% para *Pseudomona sp.* y 4.3% para *Salmonella sp.* Estos valores sugieren una alta contaminación de la carne de vacuno. La cepa de *Escherichia coli* aislada de las muestras solo se confirmó a través de medios de cultivo bioquímicos, sin embargo, no puede afirmarse que estos sean patógenos o contengan genes de virulencia para el ser humano. Los estudios adicionales permitirían determinar la presencia o ausencia de los genes de virulencia de las cepas de *Escherichia coli* aisladas en muestras de carne.

Diversos estudios informan de la presencia bacteriana en carne de vacuno. La vida útil de los cortes de bife angosto envasados al vacío y almacenados a diferentes tiempos en congelación, considerando el desarrollo microbiológico y los cambios fisicoquímicos, fue de 90 días (30). Mientras que en 18 centros de expendio en Sinaloa – México se encontraron nueve cepas presuntivas de *E. coli*, en la carne de vacuno; pero, no se hallaron genes de virulencia; no obstante, se sugiere la implementación de programas para garantizar la calidad de los productos cárnicos (31). Así mismo, en el análisis microbiológico de 17 muestras de carne molida del mercado de La Parada, en la ciudad Lima (Perú), se encontró el 82% de las muestras contaminadas con *Escherichia coli*. En general, la determinación de Coliformes totales y *Escherichia coli* indican la presencia potencial de patógenos. Estudios alrededor del mundo sugieren que *E. coli* esta frecuentemente presente en la carne fresca, y asociada a

contaminación fecal. Por tanto, la presencia alta de *Escherichia coli* indica pobre calidad higiénica de la carne (32).

El recuento de mesófilos es uno de los indicadores microbiológicos para la calidad de la carne; es un reflejo de la exposición de la muestra a contaminaciones. Este parámetro es muy útil para indicar si la limpieza, desinfección, y control de temperatura durante el proceso de beneficio, transporte y almacenamiento han sido adecuados. También son un indicador del tiempo de vida útil de la carne (30). Un recuento bajo de mesófilos no implica la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (27).

En el recuento de mesófilos determinado en las muestras de carne de vacuno, que se expende en los mercados de la ciudad Pucallpa, ninguna muestra presentó valores igual o por debajo del límite inferior (10^5 UFC/g de carne) que fija la Norma Técnica Sanitaria vigente (28). Sin embargo, el 95.6 % (22/23) de las muestras presentaron valores entre $> 10^5$ UFC/g y $< 10^7$ UFC/g de carne, considerado como el rango donde la carne podría ser aceptable o inaceptable, dependiendo de características organolépticas presentes. Una muestra presentó un valor superior a 10^7 UFC/g de carne, considerado definitivamente como inaceptable. En general, la carne de vacuno que se expende en los mercados tiene un alto grado de contaminación que se estaría dando en diferentes puntos del proceso de beneficio y comercialización. Este resultado es similar a los determinados en un estudio realizado en Cantón Buena Fe (Quevedo – Ecuador) donde no se encontró microorganismos patógenos en las muestras de carne de vacuno, no obstante, existió una alta carga de aerobios mesófilos por encima de la norma; además de *Flavobacterium* y *Bifidobacterium*, concluyendo que deben corregirse las condiciones de insalubridad (33). Por otro lado, en dos mercados de la ciudad Puno se determinó un elevado recuento de aerobios mesófilos en muestras de carne de vacuno (34).

Las condiciones de conservación y manipulación de la carne en los centros de expendio de la ciudad Pucallpa, varían entre mercado y entre puesto comercializador. De los resultados obtenidos de las muestras recolectadas por mercado, podemos afirmar que en el mercado 2 se obtuvo el mayor grado de contaminación. Esto podrían estar relacionados con la deficiente manipulación de la carne (no usan guantes, no todos usan ropa de trabajo, los utensilios no son apropiados) y la mayoría de los comercializadores no tienen carné de salubridad; además, sólo disponen de aparatos de enfriamiento de uso común donde la carne está junto a otro tipo de productos. El mercado 4, con el segundo promedio más alto de recuento de mesófilos, tiene deficiencias similares; pero, poseen aparatos de enfriamiento en cada puesto. Por otra parte, en el mercado 6, el recuento de mesófilos es relativamente aceptable, sin embargo, la muestra con el mayor recuento (8660 000), se dio en un puesto cercano a otros que comercializan otros tipos de carne y productos.

VI. CONCLUSIONES

1. El pH de la carne de vacuno que se comercializa en los mercados de la ciudad de Pucallpa está en el rango 5.32 y 6.61. El 69.6% de la carnes corresponden a la clasificación carne roja, firme no exudativa (RFN) deseable.
2. En la carne de vacuno evaluada se encontraron siete géneros bacterianos, dentro de los cuales se identificaron los patógenos *Salmonella sp.* y *Escherichia coli*.
3. Los valores de pH determinados en las muestras de carne de vacuno no estuvieron asociados al recuento de aerobios mesófilos.
4. El mercado 2 presentó las muestras de carne de vacuno con mayor grado de contaminación bacteriana, lo cual estaría relacionado con las condiciones sanitarias deficientes.

VII. RECOMENDACIONES

- Informar a las autoridades de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) y Municipalidades, los resultados del presente estudio.
- Promover la organización y el desarrollo de actividades de concientización y capacitación a los comerciantes y consumidores de carne sobre las buenas prácticas sanitarias.
- Apoyar a la realización de inspecciones sanitarias periódicas a los mercados de la ciudad para verificar el cumplimiento de las buenas prácticas de comercialización establecidas en el reglamento específico.
- Realizar evaluaciones sanitarias periódicas de la calidad de la carne de vacuno en los mercados de la ciudad de Pucallpa.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] [en línea]. Roma; 2014 [fecha de acceso 07 de noviembre 2017] URL disponible en www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/quality_meat.html
2. Loayza, S. Control de la Calidad de la Carne de Bovino en el Mercado Municipal de la Ciudad de Piñas Provincia de El Oro. [Tesis de Médico Veterinario Zootecnista]. Loja (Ecuador): Universidad Nacional de Loja; 2011.
3. Hernandez-Macedo ME, Barancelli GB y Contreras-Castillo CJ. Microbial deterioration of vacuum-pack aged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization: A review. *Brazilian Journal of Microbiology* 2011; 42: 1-11.
4. Ercolini, D. Russo F, Nasi A, Ferranti P. y Villiane F. Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Appl. Environ. Microbiol* 2009; 75: 1990-2001.
5. Egan, AF. (1983). Lactic acid bacteria of meat and meat products. *Antonie van Leeuwenhoek* 1983; 49:327-336.
6. Jara, J. Efecto del pH sobre la conservación de carne de bovino de corte oscura (DFD) Envasada al vacío, almacenada a 0°C. [Tesis de Licenciado en Ciencia de los Alimentos], Valdivia (Chile): Universidad Australia de Chile; 2007.
7. Larenas, F. Evaluación de las variaciones de textura, color y pH en 3 cortes comerciales de carne bovina, envasados al vacío y almacenados en refrigeración a 4°C durante 90 días. [Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Veterinarias con Mención en Calidad e Inocuidad de Alimentos de Origen Animal], Chillán (chile): Universidad de Concepción; 2016.

8. Zimerman, M. pH de la carne y factor que lo afecta [en línea] argentina; 2008 [fecha de acceso 27 de enero 2017] URL disponible en www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/...ovina_carne/146-carne.pdf.
9. Chavez, M. Microbiología de la carne y productos cárnicos [en línea] Pucallpa, 2017; [fecha de acceso 23 de Noviembre 2017] Universidad Nacional de Ucayali. URL disponible en <https://es.scribd.com/document/363035910/Microbiologia-de-La-Carne-v-Final>
10. D'Lima, D. et al. Microbiología de la Carne. Universidad nacional experimental simón Rodríguez; 2015.
11. Nortje G L, Nel L, Jordaan E, Badenhorst K, Goedhertz G, Hopzapfel WH, Grimbeck RJ. A quantitative survey of a meat production chain to determine the microbial profile of the final product. *Journal food proteins* 1990; (53): 411 – 417.
12. Fukushima, H. Contamination of pigs with *Yersenia* at the slaughter house. *Fleisch wirtschaft international* 1991: 50.
13. Sofos, JN. Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. "Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products" 1994; Chap. 14. Great Britain.
14. Pascual, A. Microbiología Alimentaria. Metodología Analítica para Bebidas y Alimentos. Madrid. Ed. Díaz de Santos; 1992.
15. Bourgeois, CM. Microbiología Alimentaria. Aspectos Microbiológicos de la Seguridad Alimentaria. Zaragoza- 1994.
16. Etcheverry, S., et al. Recomendaciones para la Correcta Manipulación de Alimentos en Carnicerías. [En línea]. Argentina; 2016. [fecha de acceso 15 de febrero 2017]. URL disponible en <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/carnicerias.pdf>
17. Hanna., pH y Temperatura para la calidad de la carne [En línea]. Argentina [fecha de acceso 15 de marzo 2017]. URL disponible en [Hhttp://www.hannaarg.com/documentos/733_69_PHMETRO_CARNE_HANNA_99163_0711.pdf](http://www.hannaarg.com/documentos/733_69_PHMETRO_CARNE_HANNA_99163_0711.pdf)

18. Restrepo, D. *et al.* Industria de carnes: Libro de Carnes. [En línea]. Colombia; 2001. [fecha acceso 15 de febrero 2017] URL disponible en <https://decarnes.wikispaces.com/file/view/Libro+de+carnes.pdf>
19. Torres, D. El pH y factores concomitantes que influyen en el crecimiento bacteriano en la carne de vacuno comercializada en los mercados de Huánuco. [Tesis de Médico Veterinario]. Huánuco (Perú): Universidad Nacional Hermilio Valdizán; 2014.
20. FARFAN, R. Evaluación de Bacterias Aeròbias Mesófilas Totales en Canales de Bovinos (*Bos Taurus*) en el Camal Municipal de Tacna. [Tesis para Optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna; 2012.
21. CHONG, M.; *et al.* Distrito de Callería. [En línea] Pucallpa, 2014; [fecha de acceso 25 de febrero 2017] URL disponible en https://es.wikipedia.org/wiki/Distrito_de_Caller%C3%ADa.
22. Ayón, A. Morfología colonial. [En línea] Ecuador, 2013; [fecha de acceso 23 de Noviembre 2017] URL disponible en <https://es.slideshare.net/arianitaayon/25morfologia-colonial>
23. Saceda, D. Tinción de Gram. [en línea] España, 2017; [fecha de acceso 18 de noviembre 2017] URL disponible en <http://www.webconsultas.com/pruebas-medicas/tincion-de-gram-13399>.
24. Villamil, M. Prueba de Catalasa y oxidasa. [En línea] España, 2015 [fecha de acceso 18 de noviembre 2017] URL disponible en <https://prezi.com/dlvofmcrh9ac/prueba-de-catalasa-y-oxidasa/>
25. Da silva, N. *et al.* Microbiological examination methods of food and wáter [Manual de laboratorio] institute of food technology – ITAL, campias; sp, Brazil 2010.
26. Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA]. Manual de Análisis microbiológico de alimentos. Lima – Perú. 2001.

27. Castro, C. Microbiología de la Carne. Consumo de Carne, Porcicultores, Sanidad36794BM Editores. 27 diciembre, 2014
28. Ministerio de Salud, Dirección General de Salud Ambiental [MINSA, DIGESA]. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Norma Técnica Sanitaria N° 071-V.01 publicado en el diario El Peruano: viernes 29 de agosto de 2008. Lima, Perú.
29. Mariño, G. Determinación y evaluación del pH en canales de bovinos de las razas Holstein (*Bos Taurus*) y Nelore (*Bosindicus*) en Lima. [Tesis de Médico Veterinario]. Lima (Perú): Universidad Nacional Mayor de san Marcos; 2003.
30. Mateauda, J. Estudio de la microflora bacteriana y cambios fisicoquímico en carne bovina envasada al vacío y almacenada en frío. [Tesis de licenciatura]. Universidad de la república de Uruguay; 2013.
31. Jiménez, M. *et al* .Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. [Artículo Científico]. Culiacán, Sinaloa – México. Universidad Autónoma de Sinaloa; 2012.
32. Molleda, M. Frecuencia de Enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista “La Parada”. [Tesis de grado. Facultad de farmacias bioquímica] Lima – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
33. Quispe, W. Calidad microbiológica de la carne bovina comercializada en el Cantón Buena Fé. [Tesis para obtención de ingeniero en alimentos]. Quevedo (Ecuador). Universidad de la república Técnica Estatal de Quevedo; 2014.
34. Aguilar, S. en Quispe, W. Calidad microbiológica de la carne bovina comercializada en el Cantón Buena Fé. [Tesis para obtención de ingeniero en alimentos]. Quevedo (Ecuador). Universidad de la república Técnica Estatal de Quevedo; 2014.

ANEXO

Anexo 1

FORMATO DE ENCUESTA A COMERCIANTES DEL MERCADO

1. Ubicación

Mercado: () N° 2 () N° 3 () N° 4 () N° 6

Puesto: N°

2. Tipo de venta:

	SI	NO
Menudeo		
Cortes		

3. Fecha de matanza:

4. Cadena de frío:

SI ()

NO ()

5. Toma de muestra:

Fecha	N° muestra	Cantidad	Procedencia

6. Condiciones de Salubridad:

Del personal: Carnet de salubridad Si () No ()

	Si	No	Bueno	Regular	Deficiente
Mandil					
Guantes					
Gorro					
Mascarilla					
Personal de Cobranza					
Exposición de la Carcasa					

Utensilios:

Categoría	Cantidad		Condición		
	Si	No	Bueno	Regular	Deficiente
Cuchillos					
Hacha					
Tabla de Picar					
Lima					
Ganchos					
Frigorífico					
Molino					
Cortadora					

Infraestructura:

	Tiene (Cantidad)	No Tiene	Bueno	Regular	Deficiente
Agua					
Luz					
Desagüe					
Mayólica					

Anexo 2

Fotografías de los tipos de carne de vacuno según clasificación por características externas



Carne oscura dura y seca (DFD)



Carne roja firme no exudativa (RFN)



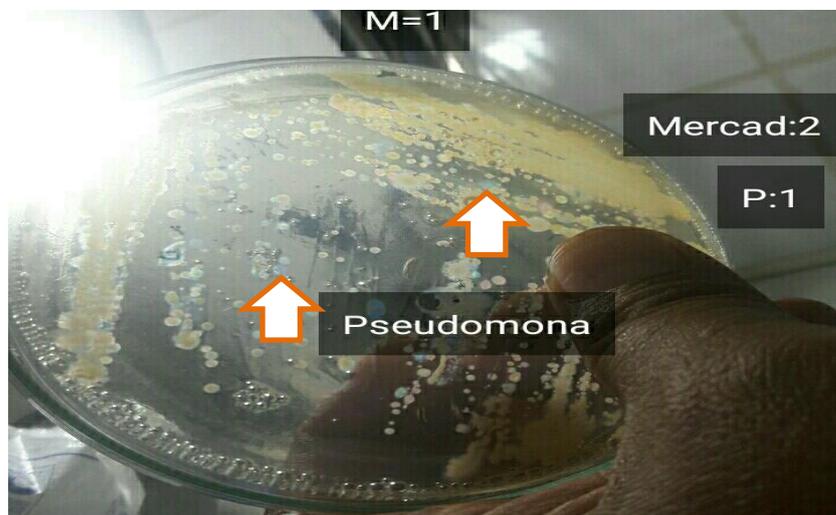
Carne pálida, suave y exudativa (PSE)

Anexo 3

Fotografías del desarrollo de colonias bacterianas según medios



Foto 1: Colonias de lactosa positivas (Agar MaConkey)

Foto 2: Colonias de *pseudomonas sp.* (Agar Muller Hinton)

Anexo 4

Fotografías de desarrollo de colonias en medios selectivos

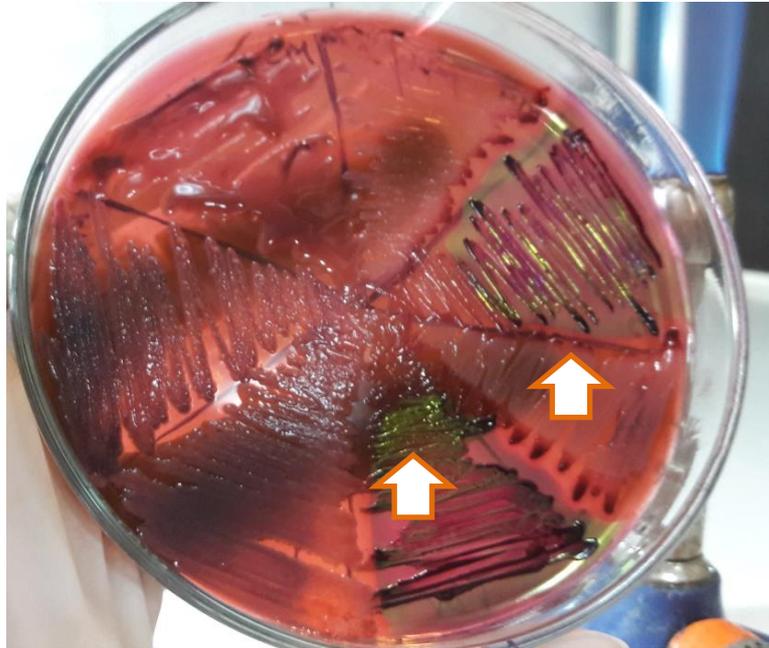


Foto 1: Colonias *E.coli* (Agar EMB)

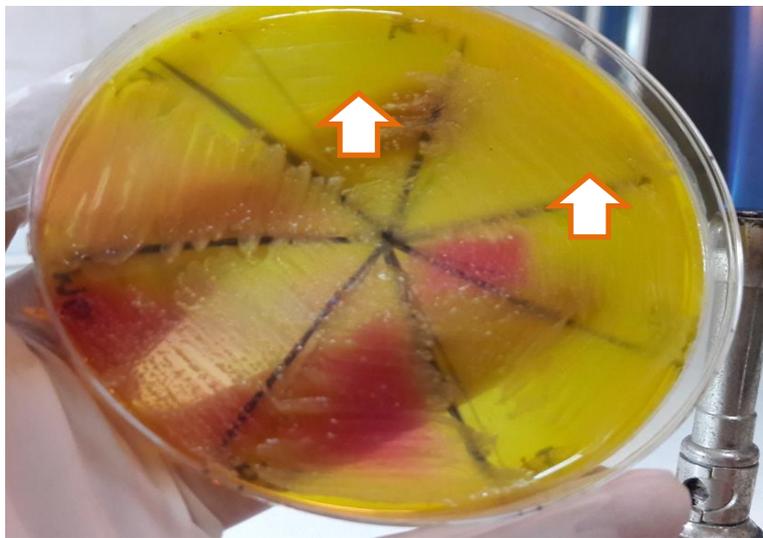


Foto 2: Colonias *E.coli* (Agar XLD)

Anexo 5

Fotografías del desarrollo de colonias en placas para conteo de mesófilos

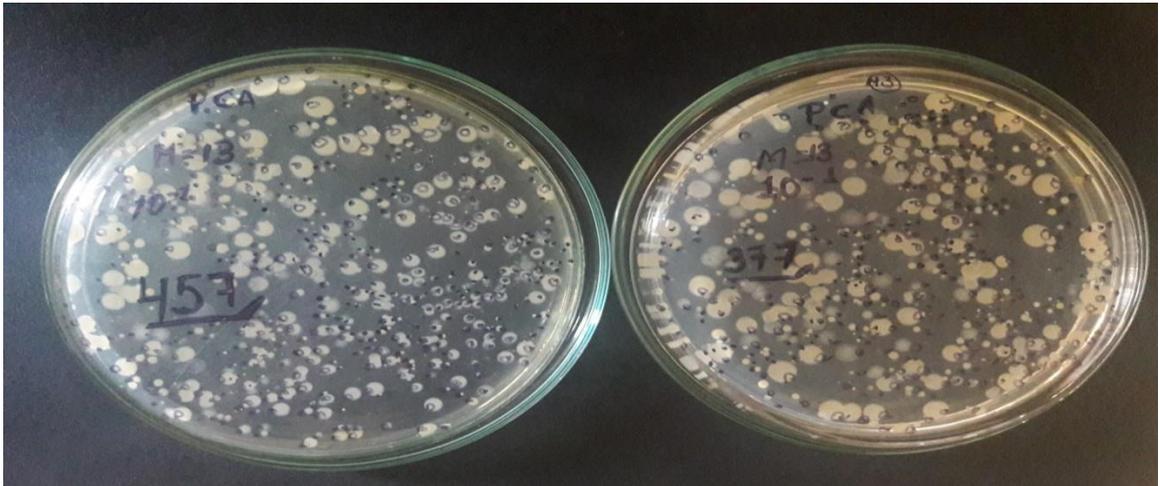


Foto 1: Colonias de mesófilos de la dilución de 10^{-1} (Agar PCA)

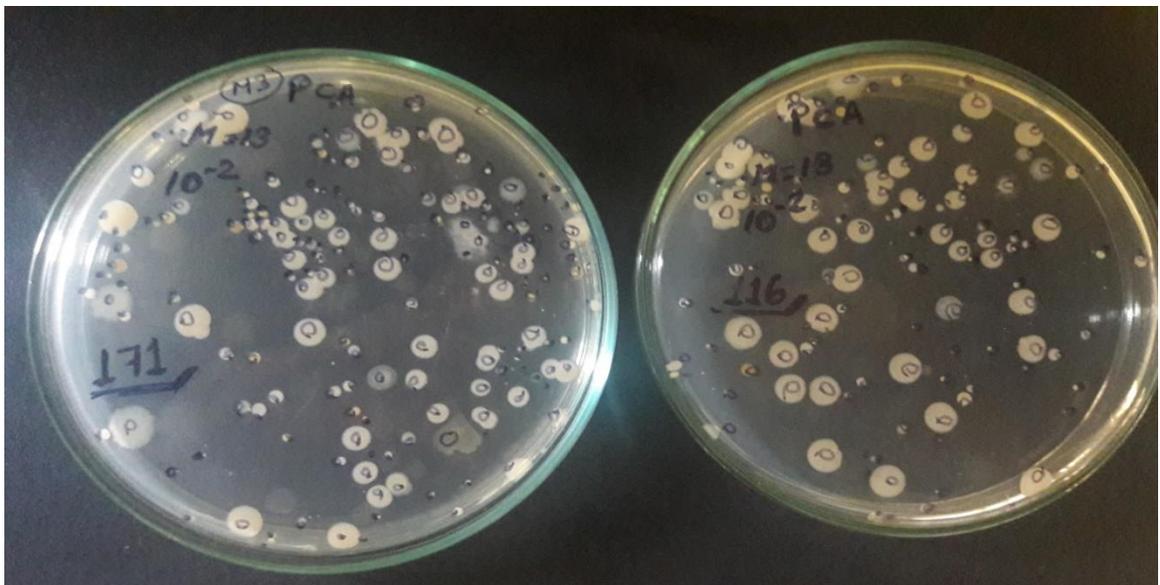


Foto 2: Colonias de mesófilos de la dilución de 10^{-2} (Agar PCA)

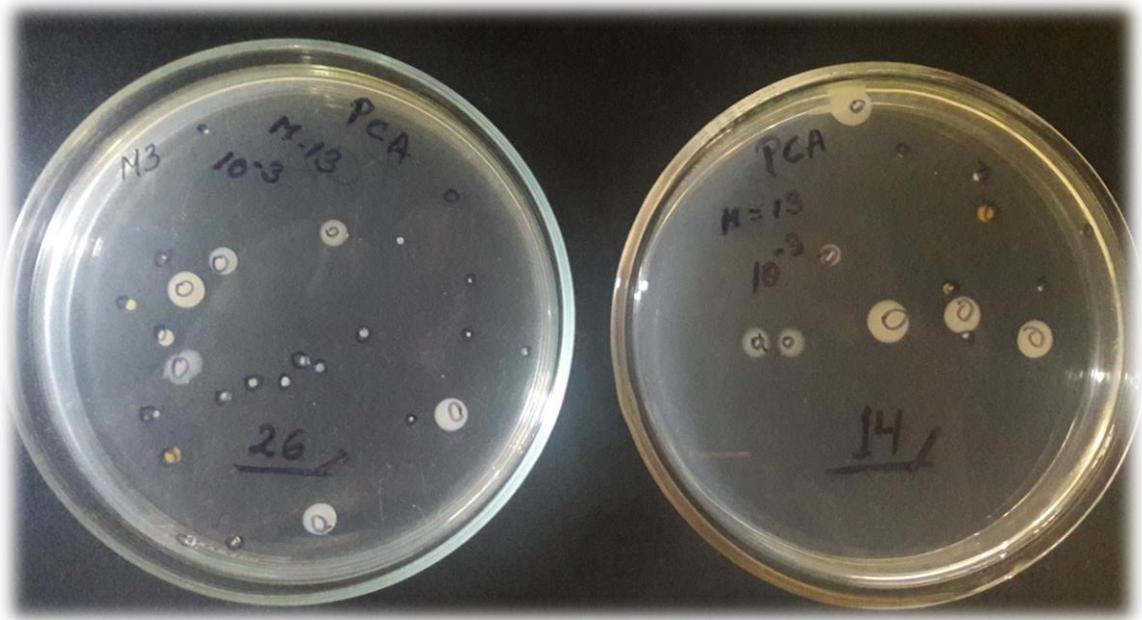


Foto 3: Colonias de mesófilos a la dilución de 10^{-3} (Agar PCA)

Anexo 6

Fotografías del procesamiento de muestras de carne de vacuno



Procesamiento de muestras en el laboratorio