

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TEMA

**Evaluación de calidad microbiológica de ensaladas vegetales
comercializadas por locales de comida de los centros
comerciales de la zona norte de la
ciudad de Guayaquil**

AUTORA

Kathy Menoscal Vaca

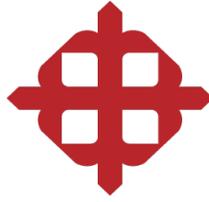
**Componente Práctico de Examen Complexivo previo a la
obtención del título de Ingeniera Agroindustrial**

TUTOR

Ing. Jorge Velásquez Rivera Ph. D.

Guayaquil, Ecuador

Septiembre, 2020



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente Componente Práctico de Examen Complexivo fue realizado en su totalidad por **Kathy Menoscal Vaca**, como requerimiento para la obtención del Título de **Ingeniera Agroindustrial**.

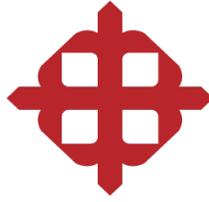
TUTOR

Ing. Jorge Velásquez Rivera, Ph. D.

DIRECTOR DE LA CARRERA

Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph. D.

Guayaquil, a los 17 días del mes de septiembre del año 2020



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Kathy Menoscal Vaca.

DECLARO QUE:

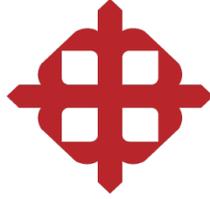
El presente Componente Práctico de Examen Complexivo, **Evaluación de calidad microbiológica de ensaladas vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales de la zona norte de la ciudad de Guayaquil**, previo a la obtención del Título de Ingeniera Agroindustrial, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Componente Práctico de Examen Complexivo.

Guayaquil, a los 17 días del mes de septiembre del año 2020

AUTORA

Kathy Menoscal Vaca



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

AUTORIZACIÓN

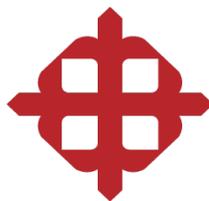
Yo, Kathy Menoscal Vaca.

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la publicación en la biblioteca de la institución de la propuesta del Componente Práctico de Examen Complexivo, **Evaluación de calidad microbiológica de ensaladas vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales de la zona norte de la ciudad de Guayaquil**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 17 días del mes de septiembre del año 2020

AUTORA

Kathy Menoscal Vaca



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CERTIFICACIÓN URKUND

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Componente Práctico del Examen Complexivo “**Evaluación de calidad microbiológica de ensaladas vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales de la zona norte de la ciudad de Guayaquil**”, presentada por la estudiante **Menoscal Vaca Kathy**, de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, obtuvo el resultado del programa URKUND el valor de 0 %, considerando ser aprobada por esta dirección.

URKUND	
Documento	Menoscal Vaca K., Examen Complexivo UTE A 2020.docx (D78751131)
Presentado	2020-09-07 22:11 (-05:00)
Presentado por	kathy.menoscal94@gmail.com
Recibido	noelia.caicedo.ucsg@analysis.orkund.com
	0% de estas 36 páginas, se componen de texto presente en 0 fuentes.

Fuente: URKUND-Usuario Caicedo Coello, 2020

Certifican,

Ing. John Franco Rodríguez, Ph. D.
Director Carreras Agropecuarias
UCSG-FETD

Ing. Noelia Caicedo Coello, M. Sc.
Revisora - URKUND

AGRADECIMIENTOS

Quiero empezar agradeciendo a Dios por darme la capacidad de poder desarrollar este trabajo y obtener el título de mi carrera, además de acompañarme en cada momento desde el inicio hasta el final de esta trayectoria.

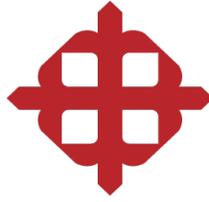
Agradezco al Ing. Jorge Velásquez por su paciencia, el tiempo dedicado y haber sido un excelente tutor para desarrollar este trabajo.

Quiero agradecer también a cada profesor de la carrera que me ha impulsado a seguir formándome como Ingeniera Agroindustrial y han apreciado mi capacidad de dedicación y empeño en trabajos anteriormente realizados.

Hago un gran agradecimiento a mis padres, quienes son mis pilares fundamentales, por comprenderme y alentarme a seguir desarrollándome como profesional, especialmente, a la persona que me apoyó de manera incondicional, en toda la trayectoria de mi carrera, con sus conocimientos, sus consejos y su experiencia, a mi padre, Rafael Menoscal N.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo, realizado con mucha dedicación y esfuerzo especialmente a mis queridos abuelos, Ing. Rafael Menoscal, Roberto Vaca y Aixa Vivar quienes han estado siempre presentes y pendientes en todas las etapas de mi vida y anhelan verme como una profesional. Dedico también este logro a mi familia, a mi padre, a mi madre y mi hermana quienes con sus oraciones y palabras de aliento me acompañaron a lo largo de toda mi carrera.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Ing. Jorge Velásquez R., Ph. D.

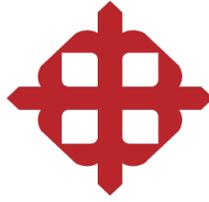
TUTOR

Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph. D.

DIRECTOR DE CARRERA

Ing. Noelia Carolina Caicedo Coello, M. Sc.

COORDINADORA DE UTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CALIFICACIÓN

Ing. Jorge Velásquez R., Ph. D.

TUTOR

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	2
1.1	Objetivos	3
1.1.1	Objetivo general	3
1.1.2	Objetivos específicos	3
1.2	Hipótesis general	3
2	MARCO TEÓRICO	4
2.1	Verduras y hortalizas	4
2.1.1	Clasificación de las hortalizas según su parte comestible	4
2.2	Ensaladas	4
2.3	Microbiología de los alimentos	6
2.3.1	Generalidades	6
2.3.2	Calidad microbiológica	6
2.3.3	Inocuidad	8
2.3.4	Microorganismos indicadores de alteración	9
2.3.5	Microorganismos indicadores de higiene	10
2.3.6	Microorganismos patógenos	11
2.4	Condiciones de desarrollo microbiano	12
2.4.1	Temperatura	12
2.4.2	Oxígeno	12
2.4.3	pH	12
2.5	Antecedentes del estudio microbiológico de ensaladas	13
2.6	Requisito microbiológico	17
2.7	Normas para el control de calidad e inocuidad	18
2.7.1	HACCP	18
2.7.2	BPM (Buenas Prácticas de Manufactura)	19
2.7.3	POES	19
2.8	Técnicas para análisis microbiológicos	20
2.8.1	Siembra en superficie	20
2.8.2	Siembra en profundidad	20
2.8.3	Compact Dry	21
2.8.4	Petrifilm	21

3	MARCO METODOLÓGICO.....	25
3.1	Ubicación del ensayo.....	25
3.2	Condiciones climáticas	25
3.3	Ubicación geográfica de la población de estudio	25
3.4	Población	26
3.5	Muestra.....	29
3.6	Variables.....	31
3.7	Tipo de estudio y enfoque	31
3.8	Plan de Muestreo.....	32
3.9	Materiales	33
3.10	Registro y análisis de resultados microbiológicos	33
3.11	Procedimientos para siembra en placas Petrifilm.....	36
3.11.1	Siembra de Aerobios mesófilos.	37
3.11.2	Siembra de coliformes y <i>E. Coli</i>	38
3.11.3	Siembra de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
3.11.4	Siembra de <i>Salmonella</i> spp.	40
4	RESULTADOS ESPERADOS	45
5	DISCUSIÓN	48
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
6.1	Conclusiones	51
6.2	Recomendaciones	51
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requisitos microbiológicos para ensaladas frescas.	17
Tabla 2. Ventajas y Desventajas de placas Petrifilm	22
Tabla 3. Lista de locales de comida (primera parte).....	27
Tabla 4. Lista de locales de comida (segunda parte)	28
Tabla 5. Resumen Tablas 3 y 4	29
Tabla 6. Número de locales de comida (m) por centro comercial	31
Tabla 8. Registro de resultados Aerobios mesófilos.....	34
Tabla 9. Registro de resultados coliformes.....	34
Tabla 10. Registro de resultados E. coli	35
Tabla 11. Registro de resultados para Staphylococcus aureus.....	35
Tabla 12. Registro de resultados para Salmonella spp.	35

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Placa Compact Dry.....	21
Gráfico 2. Placa Petrifilm 3M.....	22
Gráfico 3. Ubicación del trabajo práctico.....	25
Gráfico 4. Ubicación de Centros Comerciales	26
Gráfico 5. Pasos para la siembra en placas Petrifilm 3M.....	36
Gráfico 6. Pasos para el enriquecimiento de muestra	40
Gráfico 7. Pasos para la hidratación de placa Petrifilm 3M.....	41
Gráfico 8. Asa de 10 μ L.....	42
Gráfico 9. Pasos para la siembra de <i>Salmonella</i> en placa Petrifilm 3M.....	43

ANEXOS

Anexo 1. Interpretación de resultados para aerobios mesófilos.....	65
Anexo 2. Interpretación de resultados para aerobios mesófilos MNPC	66
Anexo 3. Aerobios mesófilos Licuefacción del gel	67
Anexo 4. Interpretación de resultados para Coliformes y <i>E.coli</i>	68
Anexo 5. Recuento de Coliformes y <i>E.coli</i>	69
Anexo 6. Interpretación de resultados para coliformes y <i>E.coli</i> MNPC	70
Anexo 7. Interpretación de resultados para Coliformes y <i>E.coli</i> , Burbujas...	71
Anexo 8. Interpretación de resultados para <i>Staphylococcus aureus</i>	72
Anexo 9. Interpretación de resultados para <i>S.aureus</i> Disco Petrifilm	73
Anexo 10. Interpretación de resultados para <i>Salmonella</i>	74
Anexo 11. Interpretación de especies presuntivas de <i>Salmonella</i>	75
Anexo 12. Interpretación de resultados para <i>Samonella</i> ejemplo 1	76
Anexo 13. Interpretación de resultados para <i>Samonella</i> ejemplo 2	77

RESUMEN

La calidad microbiológica cumple un papel importante al momento de procesar los alimentos. El objetivo de este trabajo es evaluar la calidad microbiológica de las ensaladas frescas de vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales ubicados en la zona norte de la ciudad de Guayaquil. En la industria alimentaria existen tres tipos de riesgos, el químico, físico y microbiológico, siendo este último el responsable de las enfermedades transmitidas por los alimentos, causadas por la *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* y otros. Varios estudios han demostrado que las malas prácticas de manufactura pueden causar contaminación microbiológica. Para la determinación de la población se estableció un plan de muestreo con base a la distribución de los centros comerciales en la zona norte de la ciudad de Guayaquil, ubicando 14 centros comerciales con un total de 142 locales de comida que expenden ensaladas frescas de vegetales y para establecer el tamaño de la muestra se aplicó la fórmula de poblaciones finitas, obteniendo 104, considerado el número de locales de comida que serán evaluados. Los análisis microbiológicos se realizarán siguiendo los métodos de la AOAC para siembra en placas Petrifilm 3M. La interpretación de los resultados obtenidos serán realizados con la ayuda del software estadístico Infostat. Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos serán evaluados mediante los parámetros establecido por la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01

Palabras clave: Alimentos, calidad, ensaladas, microbiología, vegetales.

ABSTRACT

Microbiological quality has an important role in food processing. The objective of this work is to evaluate the microbiological quality of fresh vegetables salads sold by food stores of shopping malls located in the north of Guayaquil city. There are three types of risks in the food industry, the chemical, physical and microbiological, being this last risk the responsible for food-born illnesses caused by *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* and others. Several studies have shown that wrong manufacturing practices can cause microbiological contamination. To determine the population, a sampling plan was established based on the distribution of shopping centers in the north of Guayaquil city, locating 14 shopping centers with a total of 142 food stores that sell fresh vegetables salads and to establish the sample size the formula of known population was applied, obtaining 104, as the number for food stores to be evaluated. The microbiological analyzes will be performed following the AOAC official methods for Petrifilm 3M plates. The results will be interpreted with the help of the Infostat program. The results obtained from the microbiological analysis will be evaluated using the requirements established by the NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01.

Key words: Food, quality, salads, microbiology, vegetable

1 INTRODUCCIÓN

Actualmente, la higiene personal ha sido considerada primordial para prevenir el contagio de bacterias y del mismo modo se deben tratar a los alimentos. La asepsia y desinfección son fundamentales al momento de preparar los alimentos en cualquier lugar que estos se encuentren, especialmente si son vendidos al consumidor como en un local de comida. Por tal motivo, es esencial asegurar que se cumplan los protocolos de limpieza y manipulación para garantizar un alimento seguro.

Asegurar los alimentos se refiere a mantenerlos aptos para el consumo humano, por eso las buenas prácticas de manufactura deben ser perfectamente aplicadas, ya que si esto no se cumple, el alimento se contaminará y podría causar algún daño para la salud humana.

Los locales de comida que se encuentran dentro de los centros comerciales ubicados en la zona norte de la ciudad de Guayaquil y que comercializan ensaladas están divididos en categorías como, franquicias, local de comida rápida, restaurantes o cadena local. Estos establecimientos que expenden alimentos deben cumplir con protocolos de higiene personal y manipulación de alimentos para evitar cualquier tipo de contaminación o alteración, de esta manera se logra brindar alimentos inocuos a los consumidores y sobre todo se mantiene la calidad.

La alimentación humana viene dada por una cadena alimenticia que involucra animales y plantas. Un plato de ensalada es recomendable ingerir en las dietas por su variedad de nutrientes y beneficios para la salud. Además, la población busca alimentarse de alimentos frescos y nutritivos, por consiguiente este tipo de materias primas y las ensaladas preparadas deben mantener una conservación óptima para evitar el desarrollo microbiano y el posterior deterioro.

Son muchas las causas por las que se pueden contaminar los alimentos y desarrollarse microorganismos patógenos en los mismos. Las

causas pueden surgir desde los equipos de trabajo hasta el personal y todo relacionado a que los manipuladores desconocen las normativas para manipular alimentos.

La calidad microbiológica tiene el dominio de determinar la presencia o ausencia de microorganismos en los alimentos y así decretar si un alimento es seguro de consumir (inocuo) o no. Actualmente, en el sector agroalimentario existen varios métodos rápidos para realizar análisis microbiológicos de manera eficaz, como las placas Petrifilm 3M, Compact Dry, entre otros. La norma Peruana NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 muestra específicamente los requisitos microbiológicos para las ensaladas frescas.

Con los antecedentes expuestos se plantearon los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general.

Evaluar la calidad microbiológica de las ensaladas frescas de vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales ubicados en la zona norte de la ciudad de Guayaquil.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Establecer un plan de muestreo para las ensaladas de vegetales comercializadas en los centros comerciales del norte de Guayaquil.
- Realizar el análisis microbiológico a las muestras obtenidas mediante siembras en placa Petrifilm 3M.
- Comparar resultados según la Norma peruana MINSA N071

1.2 Hipótesis general

La calidad microbiológica de las ensaladas vegetales comercializadas en los centros comerciales del norte de Guayaquil cumple con los requisitos microbiológicos establecidos en la normativa MINSA 071.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Verduras y hortalizas

Las hortalizas son todas aquellas plantas herbáceas que se producen en un huerto de la cual una o más partes pueden utilizarse como alimento. Verduras son las partes comestibles de color verde de una planta (Albrecht, Cervilla, Garnero, Scavuzzo y Zizich, 2019).

2.1.1 Clasificación de las hortalizas según su parte comestible.

La clasificación de las hortalizas según sus partes comestibles ha sido informada por Ocampo (2010) y la explica de la siguiente manera:

- Raíz Principal: nabo, rábano, zanahoria, betabel, chirivía, rutabaga, salsifí, jicama, perejil de raíz.
- Raíz Lateral engrosada: camote, yuca
- Tallo Aéreo: espárragos, apio
- Tallo Subterráneo: papa
- Bulbos: cebolla, ajo, puerro, cebolla blanca
- Hoja ancha: col, acelga, perejil, lechuga, coles de brucas, berro, espinaca, kale.
- Flor: coliflor, brócoli, alcachofa
- Fruto maduro: tomate, sandía, melón, fresas
- Fruto inmaduro: pimientos, frejoles, maíz, pepino, calabaza, berenjena, zapallo.

2.2 Ensaladas

Una ensalada fresca es un plato de comida compuesto por varias verduras y hortalizas presentadas en trozos de consumo crudo. Normalmente las ensaladas suelen ser acompañantes en un plato principal de un almuerzo o una cena, aunque también pueden ser un plato principal, cuando se elabora con variedad de verduras y hortalizas y adicionalmente se añaden proteínas animales (Barranzuela, 2017).

Para el chef la forma más útil de clasificar las ensaladas es por ingredientes: ensaladas de verduras, ensaladas de frutas ensaladas combinadas y más. Esto se debe a que las técnicas de preparación son ligeramente diferentes para cada una. Por consiguiente, Gisslen (2011, p.711) clasifica a las ensaladas en 5 tipos diferentes:

- Ensaladas de aperitivo: estimulan el apetito, son servidas como plato de entrada y también pueden sustituir el primer plato. Son ensaladas que deben contener vegetales frescos y aderezos de sabores.
- Ensaladas de acompañantes: dan balance y armonía con el resto de la comida, son un acompañante y los ingredientes deben ser solo los vegetales evitando carbohidratos, proteínas o lácteos.
- Ensaladas de plato principal: estas deben ser lo suficientemente grandes para ser servidas como una comida completa y deben contener vegetales verdes, vegetales frescos crudos, y cantidades abastecidas de proteínas y quesos.
- Ensaladas separadas: son servidas después del plato principal. Tienen el propósito de limpiar el paladar después de una comida y de refrescar el apetito para el postre. Este tipo de ensalada se prepara con poca cantidad de vegetales frescos solo verdes, como lechugas o endivias con un ligero aderezo.
- Ensaladas de postre: un tipo de ensalada dulce que contiene frutas, gelatinas, nueces y cremas.

Las ensaladas han estado presentes en las dietas del ser humano durante varios años. Al ser estas en su mayoría consumidas sin cocción pueden causar enfermedades a la salud de las personas ya que algunas hortalizas o verduras podrían contener agentes patógenos como, *Salmonella* spp, o *S. aureus*. El daño a la salud puede afectar gravemente a los ancianos y a los niños por presentar mayor vulnerabilidad (Hinostraza, 2019).

2.3 Microbiología de los alimentos

2.3.1 Generalidades.

En 1684 fue Anthony Van Leeuwenhoek quien describió en detalle los primeros microorganismos tras realizar las primeras observaciones por medio del microscopio. Pero a pesar de estas observaciones, no se condujo a la investigación de lo que estos microorganismos podrían realizar a los alimentos, como las fermentaciones y ni que podían desarrollar enfermedades infecciosas, ya que la química y la medicina estaban como estudio primario y no daban lugar al estudio de alimentos (Andino y Castillo, 2010, p.2).

Louis Pasteur como pionero científico en el ámbito de la microbiología alimentaria, logró demostrar en sus estudios sobre la actividad microbiana y su influencia en las fermentaciones, en los cuáles hizo importantísimos hallazgos que consiguieron impulsar a la industria del vino, la cerveza o el vinagre, e introducir uno de los mayores conceptos de la microbiología, la teoría microbiana de la enfermedad. Y además logró inventar el proceso de destrucción de microorganismos a través de la 'pasteurización' (Agudo, 2016).

Consecuentemente, surgen las enfermedades transmitidas por Alimentos (ETA) causadas tras ingerir alimentos que contienen microorganismos patógenos, virus, parásitos, hongos, entre otros, afectando la salud del consumidor. Los síntomas más comunes son diarreas, vómitos, infecciones, pero también se pueden presentar enfermedades graves como hepatitis, intoxicaciones o fiebre, entre otros (Ospina, Pacheco, Prieto y Quijada, 2018).

2.3.2 Calidad microbiológica.

En términos generales, la calidad es el grado en el que un conjunto de características inherentes al producto o servicio cumple con los requisitos. El término 'calidad' puede utilizarse acompañado de adjetivos como pobre, buena o excelente e 'inherente' significa que existe en algo, especialmente como una característica permanente (ISO 9000, 2005, p.8).

En términos de alimento, la FAO (2004) considera 3 enfoques de calidad:

- La calidad debe mantener alimentos ausentes de defectos, fraudes y falsificaciones.
- La calidad requiere que análisis bromatológicos y organolépticos sean realizados por especialistas a los alimentos.
- La calidad de los alimentos designa características deseadas, confiriendo los derechos del origen, medio ambiente, territorio, modalidades, entre otros. Declarados en su oferta de producto.

La calidad microbiológica, calidad física, química y calidad sensorial son tres áreas importantes que constituyen a la calidad de los alimentos. La calidad microbiológica es la que cumple un papel fundamental, porque a través de ésta se puede determinar la inocuidad de los alimentos, es decir, su capacidad de no producir daños a la salud (no causar enfermedades) de las personas que lo consumen (Elles, 2018, p.6).

El criterio microbiológico para los alimentos, es la aceptabilidad de un producto basada en la ausencia o presencia de microorganismos o en la cantidad de los mismos, incluyendo a los parásitos o la cantidad de toxinas, ya sea analizado por unidades de masa, volúmenes, superficies o lotes (Codex Alimentarius, 2009, p.38).

La mayoría de las veces los manipuladores carecen de conciencia sobre el peligro de la contaminación microbiológica. Ellos son los principales responsables de respetar los protocolos de procesamiento e higiene como el lavado adecuado de manos, uso de equipo de protección personal, desinfección del área de trabajo y limpieza de utensilios y equipos, para así mantener la calidad de los alimentos y prevenir o evitar contaminaciones microbiológicas. De esta manera se consigue mantener una buena imagen del local de comida, restaurante o establecimiento (Araújo, Correia, Fernandes, Leão y Pinheiro, 2012).

Se debe tener en cuenta que la contaminación microbiológica de alimentos de origen vegetal puede venir desde el sistema de riego, fertilización, cosecha o transporte. Durante todas estas etapas, los alimentos están expuestos a una contaminación microbiológica y presentar una gran carga bacteriana. Por tal motivo, las hortalizas deben ser manipuladas con una buena práctica de higiene, porque estas suelen consumirse crudas o mínimamente procesadas. Por tal motivo, es recomendable aplicar un sistema de desinfección para la reducción de microorganismos antes de ser preparados y consumidos (Baldini, Gentili, Marzoca y Oriani 2017).

Por otro lado, la conserva es un papel importante para alimentos perecederos y las condiciones generales que se deben mantener para conservar los alimentos hortofrutícolas son la temperatura, la humedad, aireación y gases. Las temperaturas no deben ser muy frías porque pueden deteriorar a los productos y tampoco deben ser muy altas. La humedad se debe mantener en cotas altas para evitar pérdidas de agua y para incrementar la humedad se deben disminuir las temperaturas. Para la aireación y gases se utilizan las atmósferas modificadas (Gaitán, 2014).

2.3.3 Inocuidad.

La inocuidad de los alimentos es toda actividad del proceso encaminada a garantizar que los alimentos no causarán daño al consumidor (alimento seguro) si se preparan y/o ingieren según el uso al que están destinados (Gómez, 2016, p.113).

Por consiguiente, todas las personas tienen derecho a una alimentación inocua, nutritiva y suficiente. Hoy en día aproximadamente una de cada diez personas en el mundo se enferman después de comer alimentos contaminados. La cadena alimentaria se ha vuelto más compleja, causando que cualquier incidente adverso relacionado a la inocuidad de alimentos, pueda afectar negativamente a la salud pública (FAO, 2019).

Tal es el ejemplo de las ensaladas, donde los principales ingredientes son vegetales mínimamente procesados (VMP), donde el proceso involucra;

lavado, pelado, reducción de tamaño, picado/rallado, mezclado, envasado. Con las ventajas de ser un alimento nutritivo y de preparación rápida, y las desventajas por ser altamente perecederos y la calidad entre sus materias primas no es uniforme. Aun así, el objetivo de producir alimentos mínimamente procesados es tratar de conseguir alimentos frescos para el consumo humano. Sin embargo, los alimentos perecederos sufren cambios a partir de su cosecha y más adelante en el procesamiento, por ejemplo el pelado o picado pierden tejido vegetal y causa la aceleración de procesos fisiológicos naturales, desencadenando procesos bioquímicos provocando alteración microbiológica (Parzanese, 2012).

Cabe recalcar que los agentes externos a los alimentos son los que causan la contaminación y un peligro para la salud, pero no el alimento como tal. Por tal motivo, se deben conocer todas las etapas del proceso para evitar riesgos de contaminación. Durante varios años, se han implementado las buenas prácticas de manufactura (BPM) y controles microbiológicos en aquellas empresas procesadoras de alimentos que garantizan la inocuidad. A causa de algunos brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se trató de mejorar las estrategias en el control sanitario, con el desarrollo e implementación de análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP, siglas en inglés) (Márquez, 2017).

2.3.4 Microorganismos indicadores de alteración.

2.3.4.1 Aerobios mesófilos.

La NTE INEN 1529-5 (2006) indica que los microorganismos aerobios mesófilos son aquellos que se desarrollan en presencia de oxígeno libre a temperaturas (ambiente) entre 20 y 45 °C con una zona óptima de desarrollo entre 30 y 40 °C.

Los microorganismos aerobios mesófilos presentes en los alimentos determinan la calidad de cómo han sido manipulados durante todo su proceso. La contaminación del producto final puede darse desde la materia prima; el método microbiológico para determinar aerobios mesófilos es mediante un recuento en placas y determinar unidades formadoras de colonias (ufc). Un

recuento alto, puede que no sea necesariamente presencia de agentes patógenos, de igual manera no mantiene la calidad del alimento (Guerrero, 2016).

2.3.5 Microorganismos indicadores de higiene.

2.3.5.1 Coliformes.

Según la NTE INEN 1529-8 (1990) Los coliformes son bacterias aerobias y anaerobias facultativas, fermentan la lactosa con producción de ácido y gas cuando se incuban a 30 ± 1 °C los productos refrigerados y a 35 ± 1 °C los productos que se mantienen a temperatura ambiente. Este grupo bacterias es utilizado como indicador del grado de higiene.

2.3.5.2 Coliformes fecales y *E. Coli*.

Las bacterias coliformes fecales son parte de un grupo de coliformes que fermentan la lactosa con producción de ácido. Este grupo contiene una alta proporción de *E. coli*. Las malas prácticas de manipulación producen su transmisión a los alimentos, siendo por ello indicadores de higiene por contaminación fecal (Moncayo, 2018).

La *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa que pertenece al grupo de la familia Enterobacteriaceae, casi siempre es inmóvil, es una especie baciliforme, mide 0.5 μm de largo y 3 μm de ancho aproximadamente, es una bacteria catalasa positiva, oxidasa negativa y presenta fermentación característica de la lactosa. Sus condiciones de desarrollo son, a una temperatura óptima de 37 °C considerando la *E. coli* como microorganismo mesófilo que logra desarrollarse a temperaturas desde 7 - 10 °C a 50 °C, el pH del medio es 4.4 siendo el pH neutro el óptimo de desarrollo y su A_w mínima es 0.95 (Steve, 2017).

Los coliformes en términos generales son un conjunto de bacterias que indican contaminación en los alimentos. Habitualmente se los ha denominado como fecales porque su contaminación al medio ambiente proviene de las heces, sin embargo, hay muchos de vida libre que se encuentran en animales,

suelos y plantas. Por tal motivo, se los ha clasificado entre coliformes fecales, coliformes totales y *E. Coli* siendo un patógeno (Díaz, 2019).

2.3.6 Microorganismos patógenos.

2.3.6.1 *Salmonella*.

Una bacteria de género perteneciente a la familia de Enterobacterias (entero = intestino), Gram negativa, anaerobio-aerobio facultativo y sus condiciones óptimas de desarrollo son a temperaturas entre 34 a 43 °C, pH 7 a 7.54 y Aw 0.99. La *Salmonella* spp. es un microorganismo considerado como patógeno por ser causante de enfermedades que son transmitidas por alimentos que la contienen y son consumidos por el hombre. Sin embargo, esta bacteria puede ser destruida por el calor de pasteurización (Michanie, 2015).

La *Salmonella* puede atravesar toda la cadena alimentaria, desde los establecimientos para animales y la producción agrícola hasta los hogares o instituciones y servicios de comidas. Comúnmente, la salmonelosis se contrae por ingerir alimentos contaminados de origen animal (especialmente huevos, carnes, aves de corral y leche), no obstante hay otros alimentos que se contaminan con *Salmonella*, como por ejemplo las hortalizas contaminadas por estiércol. Por tal motivo, las recomendaciones de medidas de prevención que se deben tomar contra la salmonelosis, son las prácticas básicas de higiene de los alimentos, como la cocción completa (Organización Mundial de la Salud, 2018).

2.3.6.2 *Staphylococcus aureus*.

La NTE INEN 1529-14 (1998) indica que es una bacteria que pertenece a la familia Micrococcaceae y al género *Staphylococcus*, sus miembros tienen la forma de cocos, generalmente se agrupan formando racimos, son inmóviles, Gram positivos, aerobios y anaerobios facultativos y su temperatura óptima de desarrollo es de 37 °C

Los estudios han demostrado que cepas de *S. aureus* pueden habitar usualmente en el área nasofaríngea de los seres humanos, por lo tanto se

asocia la contaminación de los alimentos con este microorganismo por parte de aquellos portadores que no emplean correctamente las medidas de bioseguridad y no usan adecuadamente el equipo de protección personal, especialmente las mascarillas, en el momento para manipular los alimentos (Alarcón-Lavín, Cerda-Leal, Escudero, Oyarzo y Valenzuela, 2017).

2.4 Condiciones de desarrollo microbiano

2.4.1 Temperatura.

Los microorganismos se desarrollan a diferentes temperaturas; Díaz, Gutiérrez y Peña (2018) los clasifican de la siguiente manera:

- Psicrófilos: aquellos microorganismos que su punto óptimo de desarrollo está a bajas temperaturas desde 15 a 10 °C y más bajas.
- Mesófilos: microorganismos que se desarrollan en el punto óptimo de 20 – 25 y 40 °C.
- Termófilos: el punto óptimo de desarrollo de estos microorganismos está por encima de los 60 °C llegando hasta 65 °C.

2.4.2 Oxígeno.

Tortora, Funke y Case (2007, p.166) clasifican a los microorganismos según su desarrollo en presencia y ausencia de oxígeno en:

- Aerobios: utilizan el oxígeno para su crecimiento
- Anaeróbicos: no utilizan el oxígeno para su crecimiento
- Facultativos: son microorganismos aerobios que tienen la capacidad para desarrollarse en ausencia de oxígeno.

2.4.3 pH.

Los microorganismos se desarrollan con facilidad con un pH cercano a la neutralidad entre 6 a 7, los mohos pueden tolerar un pH más bajo y crecer

en alimentos de pH 2 y 3 y las levaduras pueden crecer en condiciones de pH intermedio (pH 4.5) (Barreiro y Sandoval, 2006, p.50).

2.5 Antecedentes del estudio microbiológico de ensaladas

La Organización Mundial de la Salud (OMS) registra muertes de dos millones de personas en el mundo entero cada año por la causa de enfermedades tras ingerir alimentos insalubres, siendo los niños en la mayoría de los casos. Existen más de 200 enfermedades que son causadas por los alimentos, las bebidas y el agua que llegan a contener bacterias, virus o parásitos. Estas enfermedades pueden ser desde una diarrea hasta el cáncer (Flores, 2015).

Desde hace por lo menos dos siglos se conoce que las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) son causadas por la presencia de diferentes microorganismos. Primero surge la pandemia del cólera, provocada por el *Vibrio cholerae*, luego la *Salmonella typhi* causando fiebres tifoideas, también está la *Escherichia coli* como responsable de muchas gastroenteritis causando mortalidades, en su mayoría infantiles, así mismo está el *Staphylococcus aureus* asociado con síntomas patológicos tras la ingestión de alimentos que lo contenían, y así sucesivamente surgieron más microorganismos patógenos bien conocidos hasta la actualidad (Bello, 2012, p.153).

En las ciudades de Guayaquil, Quito y Cuenca se han realizado estudios sobre la contaminación microbiológica en alimentos de consumo masivo, obteniendo que el 90 % de los resultados presentan microorganismos indicadores de higiene y el resto con microorganismos patógenos, cuyos investigadores aseguran son los causantes de las enfermedades gastrointestinales. Patógenos como la listeria en una persona sana, puede causar diarreas, abortos en los embarazos y meningitis en adultos mayores. Adicionalmente, el ministerio de Salud Pública reportó 6 638 casos de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) causadas por bacterias, virus y parásitos, donde el 30 % lo ocupa la provincia de Pichincha (El Comercio, 2019).

Los riesgos de contaminación alimentaria son de carácter físico, químico y microbiológico, siendo el principal riesgo para productos hortofrutícolas el microbiológico, este puede ser intrínseco; es decir, que viene de las prácticas agrícolas mal aplicadas o extrínseco; que incluye inadecuadas condiciones durante el transporte de los productos, inadecuado tiempo de cosecha o recolección y la presencia de insectos (Cuevas, 2006).

Cabe mencionar que, en una investigación realizada por Sampértegui (2016) en la ciudad de Cuenca sobre calidad microbiológica de las ensaladas frescas que se comercializan en ferias libres, se obtuvo como conclusión que el 15 % de las muestras resultaron contaminadas por *E. coli* y coliformes sobrepasando el límite de la norma que establece 10^2 y 10^3 límite por g, respectivamente. En la investigación se indica que el área, los manipuladores y el ambiente de las ferias libres influyen significativamente para que se produzca una contaminación cruzada y afecte a este tipo de productos.

Del mismo modo, en una investigación realizada por Soto (2015) en la ciudad de Guayaquil para determinar la presencia de *S. aureus* en alimentos preparados que se comercializan en la vía Daule demostró que las ensaladas frías (normalmente compuestas por hortalizas, tomate, pepino, cebollas), ensaladas de aguacate, ensalada rusa y ensaladas de vegetales con mayonesa, superaron el límite permisible de 100 ufc/g obteniendo como resultado 111 ufc/g en ensaladas frías y 110 ufc/g en el resto de ensaladas. En el estudio se concluye que este tipo de contaminación se debe a que en el espacio de venta de estos alimentos no se mantienen las BPM por parte de los manipuladores y mantienen un inadecuado manejo en la preparación, conservación y despacho del alimento.

De igual manera, en un estudio realizado por Avila, Bailon y Tolentino (2015) donde se determinó la calidad microbiológica de ensaladas que se venden en pollerías, el 45 % de las 60 muestras tomadas resultaron positivo para la prueba de *E. coli*. Además, se explica que algunas de las muestras que fueron lavadas anteriormente con agua insegura resultaron positivas para *E. coli*, y las muestras que no fueron lavadas con agua insegura no

presentaron contaminación por *E. coli*, determinando que existe una relación significativa entre el uso de agua insegura y la presencia de *E. coli*.

De forma semejante, en un estudio realizado por Fiallos (2017) para determinar el contenido de metales pesados y la calidad microbiológica de frutas y vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato, se concluyó que para el caso de los vegetales los resultados del análisis microbiológico para aerobios mesófilos, todas las muestras exceden los límites permisibles de la normativa. En el caso de la col blanca, nabo, acelga, lechuga y espinaca específicamente, los resultados superaron los límites en enterobacterias por haber sido tratadas con agua de riego contaminada por microorganismos patógenos. En el estudio se menciona que la fuente principal de contaminación microbiana de los cultivos que se expenden en el mercado son; el suelo por contener abonos orgánicos de origen animal, el agua de riego y el sector por estar ubicado cerca de desechos industriales.

Habría que mencionar que Bonifaz (2015) en la ciudad de Quito, realizó un estudio para evaluar el agua de plata y su efecto bactericida sobre las ensaladas servidas. El estudio realizó análisis microbiológicos a las ensaladas antes del tratamiento del agua y los resultados para aerobios mesófilos estuvieron en 5×10^4 ufc/g, para coliformes totales 9×10^3 ufc/g y para *E. coli* 1.57 UCF/g, valores que cumplen los requisitos microbiológicos para ensaladas.

Así mismo, en Perú Soto (2016) evaluó la calidad microbiológica de ensaladas bajo el efecto del zumo de *Citrus latifolia*, y de esta manera logró reducir las ufc/g de *Escherichia coli* y aerobios mesófilos. En el estudio se hace una comparación con dos análisis microbiológicos, un análisis de control (ensaladas frescas compradas del mercado) y un análisis de evaluación (ensaladas frescas que contienen el zumo). Durante 1, 2 y 3 horas luego de añadir el zumo se consiguió reducir las colonias formadas por *E. coli* de 11.3 ufc/g a 1.5 – 4.3 y 2.9 ufc/g respectivamente y aerobios mesófilos de 9.8 ufc/g a 3.5 – 3.5 y 6.1 ufc/g respectivamente.

Cabe mencionar también que, en una investigación realizada por González (2018) en Coruña, donde se determinó la calidad microbiológica de alimentos de comida rápida, el análisis de aerobios mesófilos para las ensaladas resultó el más alto con una cantidad incontable de ufc (5×10^7) superando lo establecido en la norma donde se indica que el: Grupo D: Comidas preparadas envasadas a base de vegetales crudos, el límite permisible es 10^6 ufc/g.

Por otra lado, en México, en un estudio realizado por Cantú, González y Yeverino (2019), donde se determinó la calidad microbiológica de ensaladas frescas listas para el consumo, el 70 % de las muestras tomadas de restaurantes y cafeterías superaron los límites para aerobios mesófilos y el 100 % de las muestras superó el límite de coliformes fecales, según los requisitos de la Norma Oficial de México para estos dos tipos de microorganismos. En los restaurantes y cafeterías el lavado y sanitización no son vigilados adecuadamente, por lo que existe una mayor contaminación microbiana.

Así mismo, en una investigación realizada por Basualdo, Castro, Díaz, Gomez y Ugnia (2018) donde se determinó la inocuidad en ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas listas para el consumo, se encontraron niveles altos de coliformes totales en las muestras estudiadas a pesar de que las ensaladas estaban en diferentes tipos de empaques y presentaciones, por lo que concluyeron que no había diferencia significativa entre el tipo de empaque y la contaminación por coliformes totales.

Es importante también mencionar que, en un estudio desarrollado por Antillón y Arias-Echadi (2000) en Costa Rica, donde se evaluó la calidad microbiológica de ensaladas servidas tipo buffet provenientes de diferentes hoteles de 4 y 5 estrellas, desafortunadamente los resultados demostraron la presencia de *Salmonella* spp. en dos muestras de ensalada tipo rusa, el 70 % de las muestras presentaron coliformes fecales en ensaladas servidas en barras superando los límites establecidos del NMP/g y en cuanto a *S. aureus* dos muestras superaban el límite para platos servidos. El estudio menciona

que existen errores importantes en la higiene tanto de los alimentos como de los manipuladores, tal como lo denota el recuento de coliformes, algo que afectaría especialmente a los turistas y demás consumidores.

Incluso, en Venezuela un estudio realizado por Gómez et al. (2018) donde se determinó la calidad microbiológica de ensaladas crudas que se expenden en puestos ambulantes, el análisis para *Salmonella* spp. evidenció que el 26.66 % (4 de 15 establecimientos en estudio) de las muestras resultaron positivas, estableciéndolas como ‘insatisfactorias’ según lo estipulado en la norma Minsa/Digesa-v.591 que enfatiza la ausencia de *Salmonella* spp. en este tipo de alimento.

Además, La Red Canaria de Vigilancia Epidemiológica (2015) publicó un informe con resultados de brotes de toxoinfección alimentaria (TIA) en la comunidad autónoma de Canarias entre el año 2008 y 2015 mostrando que el 1.4 % de los casos está relacionado a la salmonelosis por el consumo de ensaladas, hortalizas y verduras.

2.6 Requisito microbiológico

En la Tabla 1 se describe los requisitos microbiológicos para los alimentos preparados de consumo humano que no cuentan con tratamiento térmico, según descritos en la norma Peruana “MINSA”.

Tabla 1. Requisitos microbiológicos para ensaladas frescas

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Milite por g o mL	
					m	M
Aerobios mesófilos (*)	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁶
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10 ²
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Salmonella</i> spp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----

(*) No procede para el caso de yogurt de fabricación casera

Fuente: MINSA (2008, p.20)

Elaborado por: La Autora

Donde:

n: unidades de muestra que se seleccionan al azar.

c: número permisible de muestras que pueden presentar valores microbianos entre m y M.

m (minúscula): límite microbiológico que acepta o rechaza una muestra.

M (mayúscula): valores mayores que “M” son rechazados, representan un peligro para la salud (MINSA, 2008).

2.7 Normas para el control de calidad e inocuidad

2.7.1 HACCP.

El sistema HACCP (Análisis de Puntos Críticos de Control y Riesgos) fue desarrollado principalmente con el fin de brindar alimentos seguros a los astronautas de la NASA, y actualmente es un programa muy amplio que se emplea en las industrias alimentarias de cualquier tipo. El objetivo principal es garantizar la seguridad del producto, aspecto básico para brindar un alimento de calidad (Carreño y Camacho, 2016, p.146).

El sistema HACCP se basa en 7 principios básicos que hacen que su funcionamiento sea efectivo para asegurar la inocuidad de los alimentos; Apaico (2017) clasifica los principios en los siguientes:

- Análisis de peligros e identificación de medidas preventivas
- Identificación de los puntos críticos de control PCC
- Establecer los límites críticos de control
- Establecer un sistema de vigilancia de los puntos críticos
- Establecer las medidas correctivas
- Establecer un sistema de verificación
- Crear un sistema de documentación o registro

La OIRSA (2016) determina que aquellas personas participantes en la producción de alimentos y plantas de proceso, deban utilizar el sistema HACCP como instrumento para evaluar los peligros y establecer sistemas de

control centrados en la prevención de las ETA, o por la normativa de cada país y requieran de un sistema HACCP, deben estar comprometidas en la implementación del sistema, sus principios y la elaboración del plan.

2.7.2 BPM (Buenas Prácticas de Manufactura).

La Agencia Nacional de Regulación Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) (2015) define a las BPM como, el conjunto de medidas preventivas y prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado y almacenamiento de alimentos para consumo humano, con el objetivo de garantizar que los alimentos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan así los riesgos potenciales o peligros para su inocuidad. (p.4)

Por otro lado, las buenas prácticas de manufactura también cumplen el deber de mantener la higiene del personal, controlar enfermedades de los mismos, influir en hábitos personales de aseo y las prácticas operativas. Por tal motivo, es imprescindible que las empresas que comercializan alimentos mantengan controles de salud de los empleados para evitar la contaminación y garantizar alimentos inocuos (Gaibor, 2015).

Las buenas prácticas de manufactura ayudan a mantener una correcta manipulación de los alimentos en cada una de las operaciones de la cadena alimentaria, tratando de mantener la higiene en cada paso y etapa del proceso para evitar contaminación cruzada y que se mantenga el principio de 'marcha hacia delante'. Además, las BPM son un gran punto de apoyo para la implementación del sistema HACCP o cualquier otro sistema sobre calidad e inocuidad alimentaria (Pacheco, 2017).

2.7.3 POES.

El mantener la higiene en una planta procesadora de alimentos es una condición esencial para asegurar la inocuidad de los productos que allí se elaboren. Una manera eficiente y segura de llevar a cabo las operaciones de saneamiento es la implementación de los Procesamientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES). Estos procedimientos describen los

métodos de saneamiento diario a ser cumplidos por el establecimiento y son aplicados antes, durante y después de las operaciones de elaboración (Acosta, 2008, p.154).

Poner en práctica los POES y las BPM establece un punto de partida para el diseño e implementación del sistema HACCP. Robles (2010) establece los beneficios de la adopción de este tipo de procedimientos:

- Procedimientos detallados para las prácticas de saneamiento en planta.
- Evitar contaminaciones físicas, químicas o biológicas
- Ofrecen una planificación previa para asegurar la aplicación de las acciones correctivas.
- Provee herramientas de capacitación a los empleados
- Compromiso de todo el personal de planta con la inocuidad a los clientes y entes supervisores externos.

2.8 Técnicas para análisis microbiológicos

2.8.1 Siembra en superficie.

Este método se basa en distribuir la muestra sobre una superficie de medio de cultivo preparado que luego se incubará dependiendo el tiempo y temperatura del microorganismo y permitirá obtener una serie de colonias visibles y contables que arrojará un recuento de microorganismos determinados en la muestra analizada (Gamboa, 2015a).

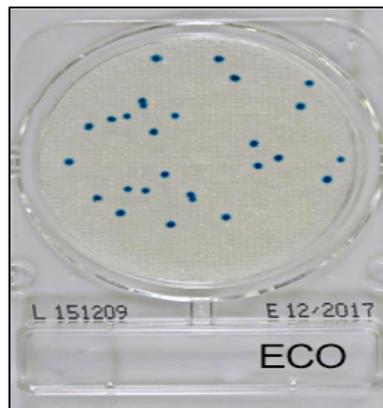
2.8.2 Siembra en profundidad.

La siembra por profundidad se basa en primero adicionar en una caja Petri un volumen determinado de muestra y posteriormente se vierte el medio de cultivo fundido a 45 ° C, que al solidificarse el agar los microorganismos quedan inmovilizados y se desarrollan como colonias visibles después de la incubación (recuento de microorganismos en la muestra) (Comba, Pérez y Vanegas, 2015, p.89).

2.8.3 Compact Dry.

En el Gráfico 1 se muestra la placa Compact Dry, cuyo procedimiento en este tipo de placa establece el número de microorganismos presentes en una muestra. Las placas Compact Dry vienen preparadas con el medio de cultivo según el microorganismo que se desea analizar. Tienen un sistema sencillo de uso, el mismo que consiste en utilizar 1 mL de muestra sobre la placa, se homogeniza e incuba para luego realizar el proceso de observación en un cuenta colonias (MicroPlanet, 2019).

Gráfico 1. Placa Compact Dry.

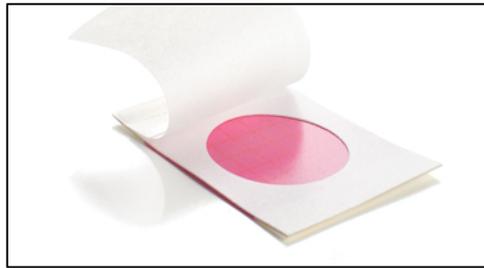


Fuente: Hyserve (2010)

2.8.4 Petrifilm.

En el Gráfico 2 se muestra la placa Petrifilm. Este tipo de placas están compuestas por una lámina delgada de medio de cultivo. Además se recubren por una película de polipropileno para atrapar el gas que producen las bacterias. También tienen una cuadrícula para facilitar el recuento de las ufc. Estas placas vienen diseñadas para recuento de aerobios mesófilos, coliformes, *Escherichia coli*, mohos y levaduras (Gamboa, García, Hernández y Rodríguez, 2005, p.141).

Gráfico 2. Placa Petrifilm 3M



Fuente: 3M (2020)

En la Tabla 2 se presentan las ventajas y desventajas entre el uso de métodos tradicionales y las placas Petrifilm para la siembra de microorganismos. El método Petrifilm será conveniente a utilizar en la parte experimental para realizar los análisis microbiológicos a las muestras de ensaladas.

Tabla 2. Ventajas y Desventajas de placas Petrifilm

	Método Petrifilm	Métodos tradicionales
Ventajas	No requiere de preparación de material, placas listas para usarse, no requiere de equipo especializado, método estandarizado, bajo costo.	Ayudan a comprender los microorganismos y para fines académicos son buenos.
Desventajas	Tienen tiempo de vida relativamente corto y si no se tienen los cuidados necesarios se pueden contaminar.	Métodos muy laboriosos, tiempo de incubación largos e interferencia de organismos antagónicos.

Fuente: Arones (2019)

Elaborado por: La Autora

Cabe mencionar que en un estudio realizado por Muguruza (2019) sobre la evaluación microbiológica de alimentos en una feria gastronómica en Perú, para analizar microbiológicamente los alimentos sin tratamiento térmico del lugar se utilizó la técnica de siembra en placas Petrifilm para *E. coli*, coliformes totales, *S. aureus* y aerobios mesófilos siguiendo los Métodos Oficiales de la AOAC. De esta manera, los resultados obtenidos en el estudio

fueron válidos para hacer recuentos y poder evaluar la calidad de este tipo de alimento.

Del mismo modo en Colombia, un estudio realizado por Cordero, Martínez y Vera (2014) sobre la relación de las ETA y los microorganismos causantes en un terminal de transporte de Cúcuta, se utilizaron las placas Petrifilm para determinar la presencia de *E. coli*, técnica por la cual se pudo constatar la presencia de colonias de *Escherichia coli* en el 50 % de las bebidas específicamente y también se identificaron colonias de coliformes.

Así mismo, en la ciudad de Guayaquil un estudio realizado por Carpio (2017) para determinar indicadores entéricos *Salmonella*, *Shigella* y *E. Coli* en *Lactuca sativa* que se expende en los mercados municipales: Central y Sauces IX, para el caso de la detección de *E. coli* se utilizó la técnica del Petrifilm según la AOAC método oficial 991.14. Como conclusión del estudio, los análisis microbiológicos presentaron presencia de colonias de *E. coli* en todas las muestras tomadas de los dos diferentes mercados, pero encontrándose éstas dentro de los límites permitidos.

De la misma manera Arosquipa (2014) en un estudio sobre “Calidad Microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el programa de complementación alimentaria de los Comedores pertenecientes al Distrito Coronel Gregorio Albarracín de la Ciudad de Tacna”, se obtuvieron recuentos para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* utilizando la técnica de siembra en placas petrifilm, siguiendo los métodos de la AOAC 911.14 para *E. coli* y método de la AOAC 2003.07 para *S. aureus*, por consiguiente, el estudio consiguió evaluar la calidad microbiológica de los alimentos con los resultados obtenidos mediante el uso de esta técnica.

Existen varios métodos para poder realizar los análisis microbiológicos a los alimentos y obtener diversidad de resultados certeros. El objetivo de estos métodos, es determinar la calidad microbiológica, detectar malas prácticas de higiene, encontrar puntos críticos y de riesgo. Cada país mantiene normas de análisis en alimentos muy similares, ya que se mantienen

las prácticas de laboratorio globalizadas. Las normas INEN en el Ecuador, por ejemplo, describen desde el inicio de la práctica, involucrando la toma de muestras, la preparación de la misma, esterilización de materiales, procedimientos a seguir, hasta los requisitos microbiológicos para cada producto alimenticio (Gamboa, 2015b).

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación del ensayo

El Gráfico 3 muestra la ubicación del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, ubicada en la avenida Carlos Julio Arosemena Tola km 1 ½ vía a Daule, en el cantón Guayaquil, provincia del Guayas, donde se desarrollarán los diferentes análisis microbiológicos.

Gráfico 3. Ubicación del trabajo práctico



Fuente: Google maps (2020)

3.2 Condiciones climáticas

Según la información provista por la página Climate-Date.org (2020), la temperatura media anual en Guayaquil se encuentra a 25.7 °C, siendo Abril el mes donde la temperatura llega hasta 31 °C, siendo Agosto el mes más frío y seco con temperaturas de hasta 19 °C y 0 mm de precipitación. La mayor cantidad de precipitación ocurre en Marzo, con un promedio de 199 mm.

3.3 Ubicación geográfica de la población de estudio

En el Gráfico 4 se muestra un mapeo de los centros comerciales que están ubicados en la zona norte de la ciudad de Guayaquil. En el mapa se han señalado a los centros comerciales con el símbolo de una estrella y una numeración del 1 al 14.

Gráfico 4. Ubicación de Centros Comerciales



Elaborado por: La Autora.

3.4 Población

En las Tablas 3, 4 y 5 se han clasificado los centros comerciales de la zona norte de la ciudad de Guayaquil en una primera y segunda parte, respectivamente, seguido de un listado de los locales de comida que comercializan ensaladas frescas. Cada una de las Tablas contienen siete centros comerciales con los respectivos locales de comida, en total son 14 centros comerciales y 142 locales de comida que comercializan ensaladas.

Tabla 3. Lista de locales de comida (primera parte)

C. C	Alban Borja	Aventur a Plaza	Garzocentro	Mall del Sol	Plaza Mayor	Plaza Quil	Plaza Triángulo
1	Benchos	Bandejitas Grill	El Chef	American Deli	Plaza Café	Almadraba	Dalce Gusto
2	COTI	Bobby Miles	El toque Ecuador	Buffalos	Zollers	Bossa Café	
3	Dragon Dorado	Che Marcelo	Elbita	Burger King		Cocina del Tio Bolo	
4	Italian Deli	Eddy's	Filippo	Cajun		Coffee and Lunch	
5	Jugos y Frutas	Jalapeño	Green Beers	Casa Res		D'Picar	
6	Monster Fries	Linea de Mar		Charros Express		Guayaco' s Friends	
7	Tacos Californianos	Mofongos		Chop Chops		KFC	
8	Trinchete	Nostrum		Dolce Incontro			
9		Perucho		Don Camarón			
10		Pique y Pase		El Corral			
11		Señor Cangrejo		El Español			
12		Tarantella		El Torito			
13		Wingers		Flagers			
14				Freshii			
15				Go Green			
16				Il Capo di Mangi			
17				Italian Deli			
18				KFC			
19				Little Italy			
20				Mayflower			
21				Mc Donalds			
22				NOE			
23				Sol de Manta			
24				Sports Planet			
25				Subway			
26				Texas Chicken			
27				Todo Tipico			

Elaborado por: La Autora

Tabla 4. Lista de locales de comida (segunda parte)

C.C	Policentro	San Marino	Las Vitrinas	RioCentro Ceibos	City Mall	RioCentro Norte	La Rotonda
1	Burger King	AKAI	Alameda Perú	AKAI	American Deli	Cajun	El Imán
2	El Dolar	American Deli	Bombay Masala	Cajun	Cajun	Carls jr.	Mathan
3	El Español	Buffalos	La Fogata	Carls jr.	Cebiches de la Rumiñahui	Chilis	Rincón Típico Carmita
4	Italian Deli	Burger King		Chilis	El Español	Chop Chops	Sazón 593
5		Cajun		Chop Chops	El Sabroso	Comidas de Victor	
6		Casa Res		Dolce Incontro	El Torito	D'Leña	
7		Cebiches de la Rumiñahui		El Español	Go green	KFC	
8		Chop Chops		Go green	GUS	La tablita del Tartaro	
9		El Español		Il Capo di Mangi	KFC	Mar Azul	
10		Fridays		KFC	KOBE	Mayflower	
11		Go Green		La tablita del Tartaro	La parrilla de Sol	Menestras del Negro	
12		Gourmet Deli		Mayflower	La tablita del Tartaro		
13		Il Capo de Mangi		Mc Donalds	Mc Donalds		
14		KFC		Puerto Moro	Menestras del Negro		
15		Mayflower		Subway	Sol de Manta		
16		Mc Donalds		Taco Way	Tijuana		
17		Menestras del Negro		Tierra Santa			
18		NOE		Top Ribs			
19		Segundo Muelle					
20		Signori					
21		Sports Planet					
22		Subway					
23		Tablita del Tartaro					

Elaborado por: La Autora

Tabla 5. Resumen Tablas 3 y 4

Centro Comercial (C.C)		Número de locales de comida
1.	Albán Borja	8
2.	Aventura Plaza	13
3.	Garzocentro	5
4.	Mall del Sol	27
5.	Plaza Mayor	2
6.	PlazaQuil	7
7.	Plaza Triángulo	1
8.	Policentro	4
9.	San Marino	23
10.	Las Vitrinas	3
11.	RioCentro Ceibos	18
12.	City Mall	16
13.	RioCentro Norte	11
14.	Rotonda	4
TOTAL		
14		142
Centros Comerciales		Locales de Comida

Elaborado por: La Autora.

Criterio de inclusión: Todo local de comida que comercialice ensaladas frescas o incluya ensaladas frescas en el plato (alimento vegetal sin tratamiento térmico).

Criterio de exclusión: Todo local de comida que no comercialice ensaladas frescas o no incluya ensaladas frescas en el plato (alimento vegetal con tratamiento térmico).

3.5 Muestra.

Para la determinación del tamaño de la muestra se utilizó la fórmula para poblaciones finitas publicada por Sampértegui (2016) en su estudio sobre evaluación de calidad microbiológica en ensaladas frescas.

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q *}{d^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Donde:

N: población

z: nivel de confianza 1.96

p: probabilidad a favor 0.5

q: probabilidad en contra 0.5

d: precisión 0.05

Para este caso N es igual a 142 que representa el número total de establecimientos que comercializan ensaladas vegetales en los distintos centros comerciales del norte de la ciudad de Guayaquil. Por lo que:

$$n = \frac{142 * 1.96^2 * 0.5 * 0.5 *}{0.05^2 * (142 - 1) + 1.96^2 * 0.5 * 0.5}$$

$$n = 103.87 \approx 104$$

El estudio presenta un tipo de muestreo probabilístico; el resultado de la ecuación es de 104 locales de comida, los cuales mediante un muestreo aleatorio simple serán seleccionados entre los 14 centros comerciales, para luego tomar de la misma forma aleatoria las muestras de ensaladas.

Para el presente estudio se ha establecido una clasificación equitativa del número de muestreos por cada uno de los locales de comida.

La Tabla 6 muestra el número de locales de comida que serán evaluados en cada centro comercial. Para este caso 'm' es el número de locales que serán considerados para la toma de muestras, valor que fue ajustado a 8 debido a que 7 en el global, representa 98, el cual es menor a 104.

Tabla 6. Número de locales de comida (m) por centro comercial

Centros Comerciales	Locales de comida	n	m
14	142	104	7.42≈8

m= locales de comida/centros comerciales

Elaborado por: La Autora.

3.6 Variables

Las variables en estudio serán:

- Dependiente: calidad microbiológica de las ensaladas frescas de vegetales.
- Independiente: ufc (Unidades Formadoras de Colonias, basados en las Norma MINSA 071 XV: alimentos preparados, subgrupo XV.1).

En la Tabla 7 se establece la clasificación de las variables.

Tabla 7. Clasificación de variables

	Definición de variables	Dimensión de variables	Indicador	Instrumento
Independiente: ufc	Unidades formadoras de Colonias	Aerobios mesófilos, <i>E. coli</i> , coliformes, <i>S.aureus</i> y <i>Salmonella spp</i>	Presencia y recuento de microorganismos	Contador de colonias
Dependiente: Calidad microbiológica	Grado de cumplimiento de requisitos microbiológicos	Cantidad de microorganismos	Limites permisibles para cada microorganismo	Norma MINSA N071

Elaborado por: La Autora

3.7 Tipo de estudio y enfoque

El diseño de la investigación es no experimental debido a que las variables no son modificadas bajo ninguna condición para realizar el estudio, es decir, no hay tratamientos (Sousa, Driessnak, Costa, 2007).

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, lo que permite medir variables por medio de datos numéricos y cuenta con un diseño apropiado para de esta manera apoyar a la hipótesis de investigación (Hernández, Fernández y Baptista, 2014).

El nivel de investigación del presente trabajo es descriptivo, ya que mediante los análisis microbiológicos se describe y analiza la calidad de las ensaladas frescas de vegetales (Morales, 2010).

El tipo de la investigación es de campo, debido a que las muestras se toman directamente de los locales de comida de los centros comerciales del norte de la ciudad de Guayaquil. Además, es una investigación observacional, ya que no se realizan manipulaciones en las variables y es transversal porque se recolectan las muestras en un único momento (Müggenburg y Pérez, 2007).

3.8 Plan de Muestreo

Se tomarán las muestras de ensaladas de los locales de comida con los cuidados de sanidad (bioseguridad) necesarios para evitar contaminaciones. La muestra se envasará en bolsas de plástico con cierre y se etiquetará de manera que sea imposible remover el contenido, el cual para el estudio indicará lo siguiente:

- Local de comida
- Centro comercial
- Fecha

Se recolectará la muestra en las mismas condiciones de venta del alimento según el local de comida.

En un periodo de 6 meses se hará la toma de las muestras de las ensaladas de vegetales de los diferentes locales de comida.

Las muestras serán conservadas en una hielera de foam manteniendo una temperatura de 0 a 5 °C para ser trasladadas al laboratorio y realizar el análisis por triplicado de manera inmediata.

3.9 Materiales

- Bolsas plásticas con cierre
- Marcadores
- Hielera de foam
- Guantes
- Mascarillas
- Mandil
- Cofia
- Placas Petrifilm 3M para aerobios mesófilos, coliformes y *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella*
- Balanza o gramera
- Pipetas
- Vasos de precipitación
- Incubadora
- Autoclave
- Contador de colonias
- Alcohol
- Materiales esenciales de laboratorio

3.10 Registro y análisis de resultados microbiológicos

En las Tablas 8, 9, 10, 11 y 12 se registrarán los resultados de los análisis microbiológicos para cada microorganismo. Luego los resultados serán analizados utilizando estadística descriptiva usando el software Infostat para el cálculo del análisis de la varianza y medias aplicando la prueba Tukey se fijará un nivel de confianza del 95 % y un margen de error de 0.05, presentando los resultados en tablas y gráficos de barras.

Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos serán evaluados mediante los parámetros establecido por la NTS N° 071-

MINSA/DIGESA-V.01, por motivo de que las Normas Técnicas Ecuatorianas INEN no cuentan con una especificación de criterios microbiológicos para ensaladas.

Tabla 7. Registro de resultados Aerobios mesófilos

Centro comercial	Muestra (Local)	Análisis (A, B o C)	Aerobios mesófilos ufc/g	Cumple/No cumple	Promedio
-------------------------	------------------------	----------------------------	---------------------------------	-------------------------	-----------------

Elaborado por: La Autora

Tabla 8. Registro de resultados coliformes

Centro comercial	Muestra (Local)	Análisis (A, B o C)	coliformes. Ufc/g	Cumple/No cumple	Promedio
-------------------------	------------------------	----------------------------	--------------------------	-------------------------	-----------------

Elaborado por: La Autora

Tabla 9. Registro de resultados *E. coli*

Centro comercial	Muestra (Local)	Análisis (A, B o C)	<i>E. coli</i> ufc/g	Cumple/No cumple	Promedio
------------------	--------------------	------------------------	-------------------------	---------------------	----------

Elaborado por: La Autora

Tabla 10. Registro de resultados para *Staphylococcus aureus*

Centro comercial	Muestra (Local)	Análisis (A, B o C)	<i>S. aureus</i> ufc/g	Cumple/No cumple	Promedio
------------------	--------------------	------------------------	---------------------------	---------------------	----------

Elaborado por: La Autora

Tabla 11. Registro de resultados para *Salmonella* spp.

Centro comercial	Muestra (Local)	Análisis (A, B o C)	<i>Salmonella</i> spp. Presencia/Ausencia	Cumple/No cumple	Promedio
---------------------	--------------------	------------------------	--	---------------------	----------

Elaborado por: La Autora

3.11 Procedimientos para siembra en placas Petrifilm

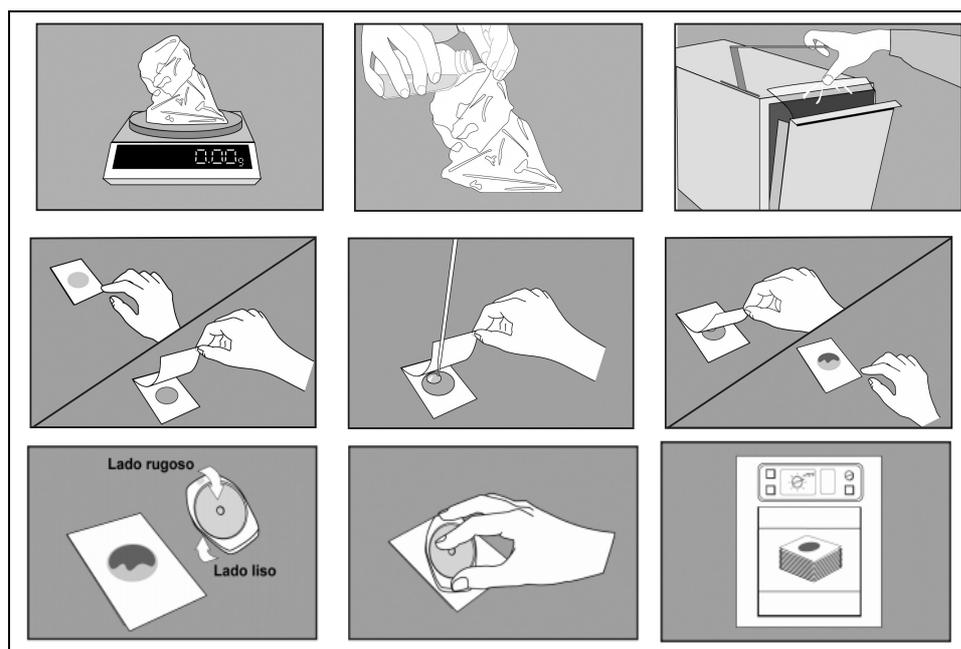
El análisis microbiológico se realizará mediante la metodología establecida por la AOAC (Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales) detallada en las guías de uso de placas Petrifilm 3M™ para cada uno de los diferentes tipos de microorganismos, donde también contiene la guía de interpretación de resultados.

Con los resultados que se obtendrán se verificará si las muestras se encuentran dentro de los límites de la norma Peruana “MINSA”.

Antes de realizar las siembras en las placas se deberá limpiar el área de trabajo con alcohol al 70 % y se mantendrá prendido el mechero bunsen cerca del área de la manipulación durante todo el proceso de las siembras en las placas; el uso de mascarillas, cofias, mandiles y guantes es indispensable para el momento de realizar el trabajo de laboratorio.

El Gráfico 5 muestra los pasos para sembrar microorganismos según el método de placas petrifilm 3M para aerobios mesófilos, *E. coli*, coliformes y *S. aureus*.

Gráfico 5. Pasos para la siembra en placas Petrifilm 3M



Fuente: 3M (2017)

3.11.1 Siembra de Aerobios mesófilos.

Para esta técnica se utiliza el Método Oficial AOAC 990.12 (2002) en el que se detallan los siguientes pasos:

- Se Preparará una dilución de 1:10 de muestra de ensalada (la preparación de una dilución 1:10 se hará con 11 g de muestra y 99 mL de diluyente estéril). Se pesarán 25 g de muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Se adicionará agua de peptona al 0.1 %
- Mezclar u homogenizar la muestra con movimientos horizontales.
- Se colocará la Placa Petrifilm en una superficie plana y se levantará la lámina superior.
- Con una pipeta se colocará 1 mL de dilución de muestra en el centro de la cuadrículada inferior.
- Se soltará lentamente la película superior y dejar que caiga sobre la dilución evitando formar burbujas de aire.
- El dispersor se colocará sobre la lámina superior cubriendo toda la muestra. (Lado rugoso hacia abajo).
- Luego se presionará el dispersor suavemente sin girarlo ni deslizarlo, así se distribuye la muestra.
- Se retirará el esparcidor para dejar solidificar el gel por 1 minuto y luego se procederá a la incubación.
- Se incubaran las placas cara arriba en pila de no más de 20 piezas por 48 ± 3 horas a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Se contarán las colonias inmediatamente después de la incubación utilizando un contador de colonias estándar.

Revisar el Anexo 1 para la interpretación de los resultados de aerobios mesófilos.

Consultar el Anexo 2 si los resultados de aerobios mesófilos presentan colonias muy numerosas para contar.

Revisar Anexo 3 si los resultados para aerobios mesófilos presentan licuefacción del gel y partículas de producto.

3.11.2 Siembra de coliformes y *E. Coli*.

Para esta técnica se utiliza el método oficial AOAC 991.14 (2002) en el que se detallan los siguientes pasos:

- Se preparará una dilución de la muestra de alimento. Se pesarán 11 g de muestra y se adicionarán 99 mL de agua de peptona al 0.1 en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Se mezclará u homogenizará la muestra mediante los métodos usuales.
- Se colocará la Placa Petrifilm en una superficie plana y levantar la lámina superior.
- Con una pipeta se colocará 1 mL de la muestra en el centro de la lamina inferior.
- Con cuidado colocar la lamina superior sobre el inóculo
- Se distribuirá la muestra presionando suavemente en el centro del dispersor (lado liso hacia abajo).
- Se dejará solidificar el gel por 1 minuto
- Las placas se incubarán cara arriba en grupos de no más de 20 piezas por 24 ± 2 horas a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Se contarán las colonias inmediatamente después de la incubación utilizando un contador de colonias estándar.

Revisar Anexo 4 para la interpretación de resultados de coliformes y *E. coli*.

Revisar el Anexo 5 para comparar los resultados de recuento de coliformes y *E. coli*

Consultar el Anexo 6 para interpretar los resultados de coliformes y *E. coli* si se presentan colonias Muy Numerosas Para Contar (MNPC).

Revisar el Anexo 7 si los resultados presentan burbujas después de la siembra.

3.11.3 Siembra de *Staphylococcus aureus*.

Para esta técnica se utiliza el método oficial AOAC 2003.07 (2006) en el que se detallan los siguientes pasos:

- Se preparará una dilución de la muestra con 11 g de muestra y 99 mL de agua de peptona al 0.1 % y se colocarán en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Se mezclará u homogenizará la muestra mediante los métodos usuales.
- La placa Petrifilm se deberá colocar en una superficie plana y nivelada, levantar lamina superior e inocular 1 mL de la muestra en el centro de la lámina inferior.
- Cuidadosamente se deja caer la lámina superior en el inóculo.
- Distribuir la muestra presionando suavemente con el esparcidor, retirarlo y dejar solidificar el gel.
- Se incubarán las placas a $35\text{ °C} \pm 1$ o $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 24 ± 2 horas en pilas de no más de 20 unidades.
- Se contarán las colonias con un contador de colonias estándar, observar solo colonias coloreadas rojo-violeta como *S. aureus*.

En el caso de que se presenten colonias de colores diferentes además del rojo-violeta, se utilizará el Disco Petrifilm *Staph Express*:

- Se insertará el disco en medio de las laminas de la placa
- Se aplicará una ligera presión en el área del disco deslizando con el dedo, garantizando el contacto uniforme.
- Se llevará a incubación posición cara arriba en pila de no mas de 20 placas por 3 horas a $35 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ó $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$
- Se contarán las zonas rosadas aunque no presenten colonias

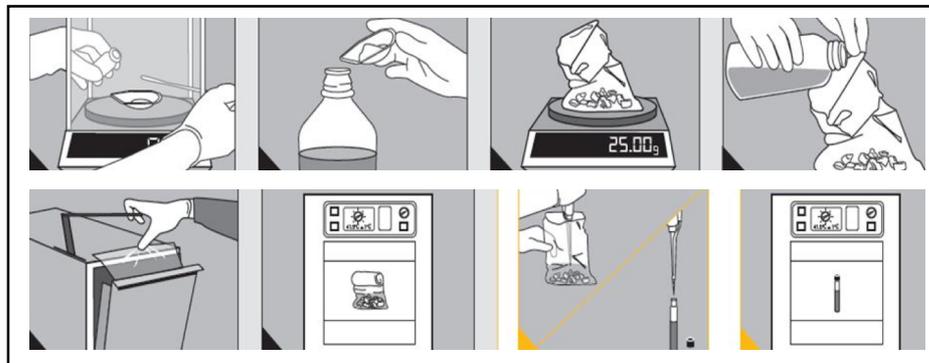
Revisar Anexo 8 para la interpretación de los resultados de *Staphylococcus aureus*.

Ver anexo 9 para la interpretación de los resultados de *S. aureus* con el uso del disco.

3.11.4 Siembra de *Salmonella* spp.

El Gráfico 6 muestra los procedimientos para el enriquecimiento de la muestra previo a la siembra de *Salmonella* en la placa Petrifilm.

Gráfico 6. Pasos para el enriquecimiento de muestra



Fuente: 3M (2014)

Para esta técnica se utiliza el Método Oficial AOAC 2014.01 (2014) en el que se detallan los siguientes pasos:

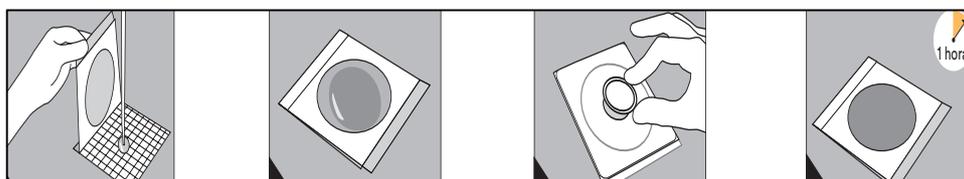
- a) Enriquecimiento de la muestra

- Se pesarán 37 g de 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* y se agregarán en 1 L de agua destilada, se mezclará hasta uniformar y llegar a la dilución total (para mejores resultados se deberá seguir el procedimiento según el prospecto del producto).
- Luego se pesarán 50 mg de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para *Salmonella* y se dejará temperar el suplemento de 20 °C hasta llegar a 24 °C finalmente se agregará el Suplemento al Enriquecimiento base y se homogenizará mezclando vigorosamente.
- De la muestra se pesarán 25 g en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado y se agregarán 225 mL del enriquecimiento para *Salmonella* previamente preparado.
- Se homogenizará la muestra con movimientos horizontales
- Las muestras enriquecidas se incubarán a 41.5 ± 1 °C durante 18 a 24 horas.
- Transferir 0.1 mL a 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (R-V R10) (revisar prospecto del producto para preparación y otras indicaciones).
- Incubar a 41.5 °C de 8 a 24 horas

b) Hidratación de placas Petrifilm.

En el Gráfico 7 se muestran los procedimientos para la hidratación de la placa Petrifilm previo a la incubación.

Gráfico 7. Pasos para la hidratación de placa Petrifilm 3M



Fuente: 3M (2014)

- Se usará agua destilada para hidratar las Placas 3M™ Petrifilm SALX.

- Se colocará la Placa 3M™ Petrifilm sobre una superficie nivelada y plana.
- La película superior se levantará y con la pipeta en posición perpendicular se distribuirán 2 mL ± 0,1 mL de agua destilada en la lámina inferior y bajar la lámina superior suavemente.
- Se presionará ligeramente con el dispersor para distribuir el diluyente de manera uniforme, se debe esparcir la dilución por toda el área de crecimiento de la placa Petrifilm antes de que se forme el gel. No se deberá deslizar el difusor a través de la película.
- Se retirará el dispersor manteniendo la placa intacta durante al menos 1 minuto.
- Se mantendrá la placa Petrifilm sobre la superficie plana 1 hora a temperatura ambiente (20 °C - 25 °C / < 60 % humedad relativa) sin exponerla a la luz para que se forme el gel.

c) Siembra en placas Petrifilm 3M para *Salmonella*.

En el Gráfico 8 se muestra el Asa de 10 µL que se utiliza para tomar el volumen adecuado para sembrar por estriado en la placa.

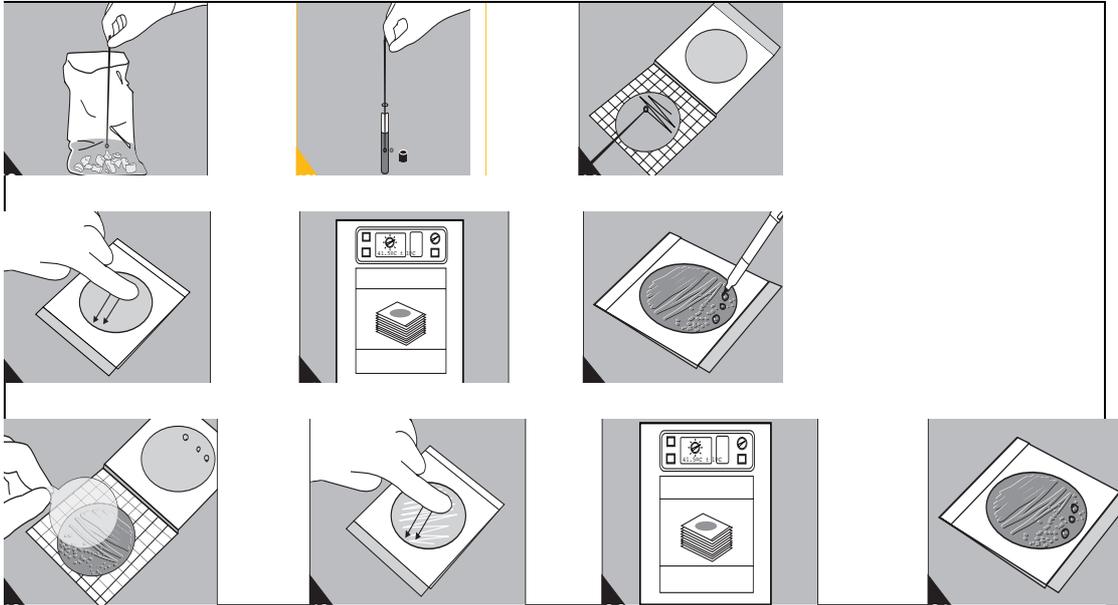
Gráfico 8. Asa de 10 µL



Fuente: 3M (2014)

En el Gráfico 9 se muestran los pasos para sembrar *Salmonella* en la placa Petrifilm con el uso del Asa.

Gráfico 9. Pasos para la siembra de *Salmonella* en placa Petrifilm 3M



Fuente: 3M (2014)

- Se usará un asa estéril de $10 \pm \mu\text{L}$ para extraer muestras
- Se levantará la lámina de la placa y se realizará la siembra por estriado sobre el gel haciendo una línea para obtener colonias aisladas.
- Se bajará la lámina superior suavemente para cerrar la placa Petrifilm. Y se aplicará una leve presión de barrido para remover cualquier burbuja de aire.
- Se incubarán las placas a $41.5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas en pilas de no más de 20 unidades.
- Con un marcador permanente de punta ultra fina se encerrarán en un círculo al menos cinco colonias positivas presuntivas en la lámina superior de la placa (colonias color rojo a marrón con una zona amarilla o una burbuja de gas o ambas).
- De las placas marcadas, se levantará la lámina superior y se insertará el disco de confirmación girándolo sobre el gel y evitar atrapar burbujas de aire. Se cerrará la lámina superior y con movimientos suaves de barrido se aplicará presión para remover burbujas de aire.

- Se incubarán las placas con el disco a $41.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 – 5 horas
- Se retirarán las placas de la incubadora y se procederá a leer los resultados. La concentración será solo en las colonias marcadas en el círculo.

Ver Anexo 10 para la guía de interpretación de resultados de la siembra de *Salmonella* en placas petrifilm 3M.

Ver Anexo 11, Anexo 12 y Anexo 13 para verificar resultados de la siembra en placa Petrifilm para *Salmonella*.

4 RESULTADOS ESPERADOS

4.1 Académico

La investigación podrá brindar información sobre la microbiología en alimentos, la importancia sobre las normas de calidad, brindará información sobre otros estudios relacionados a la microbiología en ensaladas y vegetales. Además se conocerá sobre nuevas tendencias en análisis microbiológicos en alimentos.

4.2 Técnico

El trabajo desarrollado ofrecerá información para poder realizar análisis microbiológicos utilizando nuevas técnicas de siembra microbiológica. Metodología rápida que ayudará a futuras investigaciones sobre trabajos de microbiología para conseguir resultados a tiempo.

4.3 Económico

El trabajo determinará la calidad microbiológica de las ensaladas y según los resultados se esperará que estos cumplan con los requisitos para evitar pérdidas de productos que no deberán ser comercializados.

4.4 Participación Ciudadana

El trabajo desarrollado dará una explicación de nivel microbiológico, para demostrar la importancia de la buena conservación y cuidados indispensables en la manipulación de alimentos y así evitar su contaminación. Especialmente alimentos vegetales que son expendidos al público en centros comerciales. La participación de los manipuladores de los alimentos es indispensable, pues de ellos depende la sanidad de los mismos.

4.5 Científico

Para el desarrollo del trabajo de investigación se utilizará un paquete estadístico que ayudará a interpretar los valores como resultados del análisis microbiológico, para ser evaluados y de esta determinar la calidad de las ensaladas expendidas dentro los locales de comida. Además, la metodología utilizada brinda información científica sobre le manejo y manipulación de

microorganismos, la toma de muestras y aspectos claves sobre los análisis respectivos.

4.6 Tecnológico

Durante el trabajo de investigación se utilizará la tecnología que facilite el proceso para realizar los análisis microbiológicos. También, se utilizarán sistemas para registrar datos y resultados para establecer un adecuado orden de la información durante el proceso del trabajo. La aplicación de las técnicas de análisis descritas en el trabajo permitirá direccionar nuevas investigaciones en el ámbito agroalimentario.

4.7 Social

Las personas del sector podrán tener un conocimiento sobre lo que conlleva tener una buena conservación, manejo e higiene de los alimentos para mantener la buena calidad de ensaladas que serán expendidas al público.

4.8 Ambiental

Durante el proceso de la investigación se mantendrán las precauciones para evitar la contaminación de las muestras y utilizar el material necesario para los análisis de laboratorio. Es preciso indicar que los resultados que se obtendrán permitirán identificar los locales que realizan inadecuadamente el manejo y control de la sanidad de los alimentos lo cual perjudica la salud de los consumidores y por ende el desequilibrio del ecosistema.

4.9 Cultural

El trabajo brindará información que podrá ser aplicada en cualquier local de comida, o lugar que se manipulen alimentos para ser expendidos. Además, ofrecerá información sobre la importancia de las buenas prácticas de manufactura para evitar enfermedades y no perder la inocuidad de los alimentos. Los resultados de la investigación además permitirán fomentar un cambio en la cultura alimenticia de la población.

4.10 Contemporáneo

La metodología utilizada permitirá dar un conocimiento a nuevas técnicas de análisis microbiológicos y la facilidad que brindan las placas Petrifilm. Además dará información sobre cómo obtener resultados de manera rápida y ordenada al momento de analizar resultados. Para de esta forma incentivar a que se realicen más trabajos sobre calidad microbiológica en otros alimentos de consumo diario.

5 DISCUSIÓN

Los alimentos comercializados en los locales de comida que no mantienen los controles sanitarios adecuados presentan un riesgo de contaminación que puede perjudicar la salud pública. Es necesario que los manipuladores de alimentos conozcan el problema de contaminación microbiana especialmente en los vegetales y tener la conciencia para lograr mantener la calidad de los productos hortícolas.

A nivel nacional, dentro de los últimos cinco años los estudios sobre calidad microbiológica en ensaladas han podido demostrar resultados de contaminación microbiana para este tipo de alimentos clasificándolo como alimento no apto para el consumo humano, tal es el ejemplo en la ciudad de Ambato donde en un estudio realizado por Fiallos (2017), los resultados para aerobios mesófilos en todas las muestras de ensaladas excedieron los límites permisibles de la normativa, por otro lado, en la ciudad de Guayaquil un estudio realizado por Soto (2015) demostró la presencia de *Staphylococcus aureus* en ensaladas frescas; en otras circunstancias, Sampértegui (2016) en su estudio microbiológico realizado en la ciudad de Cuenca informó que el 15 % de las muestras estuvieron contaminadas por *E. coli* y coliformes.

Las ensaladas están presentes en la mayoría de los platos de comida, por tal motivo es necesario evaluar la calidad microbiológica de este tipo de alimento, especialmente analizar las hortalizas antes de ser preparadas ya que las ensaladas son de consumo crudo o mínimamente procesadas.

A pesar de lo expuesto anteriormente sobre el lavado y desinfección de las materias primas vegetales previo a su procesamiento, un estudio realizado por Tolentino, Bailon y Avila (2015) demostró en su investigación que el 45 % de las 60 muestras que fueron lavadas con agua insegura resultaron positivas para la prueba de *E. coli*. De la misma manera el estudio realizado por Fiallos (2017) pudo demostrar que los vegetales como la col blanca, el nabo, la acelga, la lechuga y la espinaca superaron los límites de análisis

microbiológicos para enterobacterias tras haber sido tratadas con agua de riego contaminada por microorganismos patógenos.

Sin embargo, existen alternativas que han ayudado a reducir la carga microbiana de materias primas vegetales, como en un estudio realizado por Bonifaz (2015) donde pudo reducir cargas microbianas para aerobios mesófilos, coliformes y *E. coli* en ensaladas listas para el consumo utilizando agua de plata para tratar los vegetales previo a la preparación de las ensaladas y logró reducir las ufc para estos dos tipos de microorganismos. Incluso Soto (2016) en su investigación logró reducir la carga microbiana de ensaladas frescas tras el uso de zumo de *Citrus latifolia* que hizo efecto en el recuento de *E. coli* y aerobios mesófilos reduciendo el conteo de las ufc/g.

Cabe mencionar que la contaminación microbiana de ensaladas puede darse en cualquier tipo de establecimiento que se comercialicen, tal es el ejemplo del estudio realizado por Antillón y Arias-Echadi (2000) donde en hoteles de 4 y 5 estrellas se verificó la presencia de *Salmonella* spp. en ensalada tipo rusa y el 70 % de las muestras presentaron coliformes fecales en ensaladas servidas; otro ejemplo es el estudio de Cantú, González y Yeverino (2019) donde el 70 % de las muestras tomadas de restaurantes y cafeterías superaron los límites para aerobios mesófilos y el 100 % de las muestras superó el límite de coliformes fecales. En este mismo sentido, Gómez et al. (2018) manifestaron que el 26.66 % de las muestras que se expenden en puestos ambulantes resultaron positivas para *Salmonella* spp.

El estudiar las ensaladas frescas para evaluar su calidad microbiológica y darle una calificación entre apta y no apta para ser consumida por el humano, permite que se conozcan los riesgos que pueden intervenir en la inocuidad. De esta manera, los manipuladores, especialmente los que laboran en locales de comida podrán conocer la importancia de aplicar las buenas prácticas de manufactura, de mantener la higiene personal y mantener la limpieza del área de manipulación, equipos y utensilios.

Por otro lado, los métodos para determinar la presencia de microorganismos en los alimentos se han actualizado y han podido facilitar los procesos de siembra microbiológica, especialmente si se los necesita para una gran cantidad de análisis. Tal es el caso de las placas Petrifilm 3M, un método actual donde la placa ya viene lista solo para sembrar y hacer un trabajo rápido, salvo de algunas donde si necesita una previa preparación de la muestra. Sin embargo, es un método que ha ayudado a los analistas para hacer un trabajo de manera rápida.

En un estudio realizado por Muguruza (2019) sobre evaluación microbiológica de alimentos expendidos en una feria gastronómica, se empleó el método de siembra en placas Petrifilm 3M para analizar alimentos sin tratamiento térmico y determinar la presencia de *E. coli*, coliformes totales, *S. aureus* y aerobios mesófilos. Con un total de 40 muestras el estudio logró obtener los resultados para determinar la conformidad o no conformidad de este tipo de alimentos. Del mismo modo, en una investigación realizada por Arosquipa (2014) sobre calidad microbiológica en Perú, se procedió a implementar el método de siembras en placas Petrifilm 3M para determinar *E. coli*, coliformes y *S. aureus* en 34 muestras cada uno, elaborando un total de 102 análisis donde los resultados fueron aceptables para poder hacer la evaluación microbiológica en este tipo de alimentos.

Las placas Petrifilm son una alternativa para realizar análisis microbiológicos y también han sido utilizadas en diferentes tipos de estudios referentes a los microorganismos, ya sea para evaluar la calidad, determinar la presencia de cierto microorganismo, o algún otro interés, tal es el ejemplo de un estudio realizado por Cordero, Martínez y Vera (2014) donde se determinó la asociación de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos referente a microorganismos presentes en alimentos. Utilizando las placas petrifilm 3M se pudo constatar la presencia de colonias de *Escherichia coli* y colonias de coliformes, de esta manera el estudio logró establecer asociación de ETA con este tipo de microorganismo presente en alimentos de venta en el terminal de transporte en la ciudad de Cúcuta.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

El estudio evalúa la calidad microbiológica de las ensaladas vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales del norte de la ciudad de Guayaquil, de acuerdo con lo establecidos en la NTS MINSA 071, que indica específicamente los requisitos microbiológicos que deben cumplir las ensaladas frescas (alimentos sin tratamiento térmico).

El trabajo cuenta con una población de 142 locales de comida que comercializan ensaladas de vegetales en 14 centros comerciales ubicados al norte de la ciudad de Guayaquil, la distribución equitativa resulta de 8 locales a tomar las muestras por cada centro comercial. Los análisis se realizan por triplicado mediante la técnica de siembra en placas petrifilm en cinco tipos de microorganismos: aerobios mesófilos, coliformes, *E. Coli*, *S. aureus* y *Salmonella* spp.

Los resultados de los análisis microbiológicos se evalúan utilizando la estadística y gráficos de barra por cada uno de los microorganismos mediante los datos de la tabla de resultados.

De los resultados obtenidos se identifica la cantidad de locales que cumplen o no con los requisitos microbiológicos para ensaladas vegetales y mediante el promedio total de los resultados se determina una calificación para la evaluación microbiológica.

6.2 Recomendaciones

Sería recomendable poder solicitar a las autoridades que se realicen capacitaciones a los locales de comida que no cumplan con las buenas prácticas de manufactura y sobre todo que no cumplan con los requisitos microbiológicos para ensaladas. Para que de esta manera se mantenga la calidad microbiológica.

También se recomendaría que se programen charlas para los manipuladores sobre la importancia de mantener la higiene personal y del local.

Se recomienda que los locales de comida mantengan inspecciones frecuentes para evitar que estos incumplan las buenas prácticas y que no se utilicen alimentos pasados y de esta manera evitar ofrecer alimentos inseguros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 3M. (2014). *Guía de interpretación Salmonella express*. Recuperado de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1625718O/3m-sistema-petrifilm-salmonella-express-pfsx-gua-de-interpretacin.pdf>
- 3M. (2017). *Guía de interpretación Staphylococcus aureus*. Recuperado de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409682O/guia-interpretacion-petrifilm-staph-express.pdf>
- 3M. (2020). *Todos los Productos Food Safety*. Recuperado 23 de julio de 2020, de https://www.3m.com.ec/3M/es_EC/inicio/todos-los-productos-3m/~~/Todos-los-productos-3M/Seguridad-alimentaria-y-microbiología/?N=5002385+8711017+8711414+3294547179&rt=r3
- Acosta, R. (2008). *Saneamiento ambiental e higiene de los alimentos*. España. Editorial Brujas. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=g7YIShB-SXsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=poes&f=false
- Agudo, J. (2016). *Pioneros de la Microbiología: Louis Pasteur*. Recuperado de <https://idus.us.es/handle/11441/48735>
- Alarcón-Lavín, M., Oyarzo, C., Escudero, C., Cerda-Leal, F., y Valenzuela, F. (2017). Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico tipo A, en frotis nasofaríngeos en manipuladores de alimentos. *Revista médica de Chile*, 145(12), 1559-1564. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872017001201559>
- Albrecht, C., Cervilla, N., Garneró, S., Scavuzzo, M., y Zizich, N. (2019). *Manual de frutas y hortalizas: Propiedades físico-químicas y condiciones de manipulación y conservación*. Recuperado de

https://www.researchgate.net/profile/Carlos_Scavuzzo2/publication/337496272_Manual_de_frutas_y_hortalizas_propiedades_fisico-quimicas_y_condiciones_de_manipulacion_y_conservacion/links/5ddc04db92851c1fedb1c461/Manual-de-frutas-y-hortalizas-propiedades-fisico-quimicas-y-condiciones-de-manipulacion-y-conservacion.pdf

Andino, F., y Castillo, Y. (2010). *Microbiología de los alimentos: Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria*. Recuperado de <https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>

Antillón, F., y Arias-Echandi, M. (2000). Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. *Revista biomédica*, 11(2), 113-122. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v11i2.226>

AOAC. (2002a). *AOAC Official Method 990.12 Aerobic Plate count in foods*. Recuperado de https://www.edgeanalytical.com/wp-content/uploads/Food_AOAC-990.12.pdf

AOAC. (2002b). *AOAC Official Method 991.14 Coliform and escherichia coli counts in foods*. Recuperado de http://edgeanalytical.com/wp-content/uploads/Food_AOAC-991.14.pdf

AOAC. (2006). *AOAC Official Method 2003.07 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods*. Recuperado de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1759930O/aoac-oma-2003-07-enumeration-of-staph-aureus-in-processed-food.pdf>

AOAC. (2014). *AOAC Official Method 2014.01 Salmonella in Selected Foods*. Recuperado de <https://cld.bz/bookdata/316KdTt/basic-html/page-31.html>

Apaico, B. (2017). *Riesgos y puntos críticos de control en la preparación de comidas frías, en el comedor universitario, Ayacucho 2015* (Tesis de grado). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Recuperado de <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/1669>

Araújo, D., Correia, G., Fernandes, L., Leão, P., y Pinheiro, P. (2012). Gestión de calidad del servicio de alimentos y bebidas. La importancia del manipulador de alimentos en la calidad del servicio hotelero de la ciudad de João Pessoa, Brasil. *Estudios y Perspectivas en Turismo*, 21(3), 763-777. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180724044012>

ARCSA. (2015). *Dirección general de registro civil, identificación y cedulación: Norma Técnica Sustitutiva de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados*. 48.

Arones, J. (2019). *Uso del método petrifilm 3M para asegurar la calidad sanitaria y de producto terminado en una empresa de alimentos (Lurín-Lima)* (Tesis de grado). Universidad Nacional Federico Villarreal. Recuperado de <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/3865>

Arosquipa, P. (2014). *Calidad Microbiológica de los alimentos preparados sin tratamiento térmico por el programa de complementación alimentaria de los comedores pertenecientes al distrito Coronel Gregorio Albarracín de la ciudad de Tacna* (Tesis de grado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Perú. Recuperado de <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1898>

Avila, E., Bailon, C., y Tolentino, W. (2015). Contaminación fecal de ensaladas expendidas en las principales pollerías de Huánuco. *Investigación Valdizana*, 9(1), 43-46.

Baldini, M., Gentili, A., Marzocca, M., y Oriani, A. (2017). Calidad bacteriológica de ensaladas de zanahoria rallada y eficacia de tratamientos previos a su consumo. *Respyn Revista de Salud Pública y Nutrición*, 16(1), 9-15. <https://doi.org/10.29105/respyn16.1-2>

Barranzuela, E. (2017). *Incidencia del consumo y la preparación de ensaladas en la gastronomía de la provincia de Lima en el año 2017*. (Tesis de grado).

- Universidad Ricardo Palma, Perú. Recuperado de <http://repositorio.urp.edu.pe/handle/URP/1461>
- Barreiro, J., y Sandoval, A. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Equinoccio. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=r7y3XuFAB8UC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Basualdo, M., Castro, M., Díaz, E., Gomez, C., y Ugnia, L. (2018). Inocuidad en ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas listas para su consumo. *Ab Intus*, 1(1), 37-42.
- Bello, J. (2012). *Calidad de vida, Alimentos y Salud Humana: Fundamentos científicos*. Ediciones Díaz de Santos.
- Bonifaz, D. (2015). *Evaluación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo en cafeterías de una institución de educación superior* (Tesis de grado). Pontifica Universidad Católica del Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10163/CD%20disertacion.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cantú, M., González, M., y Yeverino, M. (2019). *Calidad microbiológica de ensaladas listas para su consumo en área metropolitana de la cd. De Monterrey, N.L. México*. Recuperado de <http://someicca.com.mx/wp-content/uploads/Memorias-Congreso-Internacional-CUCCAL-12-Sobre-Inocuidad-Calidad-y-Funcionalidad-de-los-Alimentos-en-la-Industria-y-Servicios-de-Alimentaci%C3%B3n.pdf#page=407>
- Carpio, W. (2017). *Determinación de indicadores entéricos Salmonella, Shigella y E. coli en Lactuca Sativa que se expenden en los mercados municipales: Central y Saucos IX de la Ciudad de Guayaquil*. (Tesis de grado). Universidad de Guayaquil. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/19364>

- Carreño, Á., y Camacho, A. (2016). *Gestión de la calidad en la industria alimentaria*. Recuperado de https://www21.ucsg.edu.ec:2653/en/ereader/ucsg/128553?as_all=haccp&as_all_op=unaccent__icontains&as_themes=Alimentos,Microbiolog%C3%ADa,Food,%20Microbiology&as_themes_op=icontains&prev=as
- Climate-Data.Org. (2020). *Clima Guayaquil: Temperatura, Climograma y Temperatura del agua de Guayaquil—Climate-Data.org*. Recuperado 23 de julio de 2020, de <https://es.climate-data.org/america-del-sur/ecuador/provincia-del-guayas/guayaquil-2962/>
- Codex Alimentarius. (2009). *Higiene de los Alimentos: Textos básicos*. Roma.
- Comba, N., Pérez, X., y Vanegas, J. (2015). *Manual de Microbiología General: Principios Básicos de Laboratorio*. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=qjCjDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Cordero, C., Martínez, K., y Vera, D. (2014). Asociación de ETAS con los microorganismos de mayor frecuencia en alimentos de venta en el terminal de transporte de Cúcuta. *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 12(1). Recuperado de http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/ALIMEN/article/view/1332/652
- Cuevas, V. (2006). *APPCC aplicado a la comercialización de productos vegetales: Guía básica de aplicación*. Ideas propias Editorial S.L. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=e-GhTXGp_OkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Díaz, I. (2019). *Disminución de coliformes totales y turbidez mediante coagulantes naturales (Opuntia ficus indica) del río Cunas, provincia de Chupaca*. (Tesis de

grado). Universidad Nacional del Centro del Perú. Recuperado de <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/5540>

Díaz, J., Gutiérrez, A., y Peña, L. (2018). Obtención de biogás mediante la fermentación anaerobia de estiércol. *Revista Estudiantil AGRO - VET*, 2(2), 185-191.

El Comercio. (2019). Al menos 10 virus y bacterias infectan la comida en las calles. *El Comercio*. Recuperado de <https://www.elcomercio.com/actualidad/virus-bacterias-infectan-comida-ecuador.html>

Elles, E. (2018). *Guía de laboratorio de bromatología y microbiología de alimentos*. Recuperado de <http://site.curn.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/25/3/Guia%20de%20laboratorio%20Bromatolog%c3%aca.pdf>

FAO. (2004). *FAO - 24ª Conferencia regional de la FAO para Europa*. Recuperado 11 de mayo de 2020, de <http://www.fao.org/3/j1875s/j1875s.htm>

FAO. (2019). *Inocuidad de los alimentos: Un asunto de todos*. Recuperado 2 de mayo de 2020, de https://www21.ucsg.edu.ec:2653/en/ereader/ucsg/125144?as_all=importancia_de_la_calidad_microbiologica_alimentos&as_all_op=unaccent__icon__contains&as_themes=Alimentos,Microbiolog%C3%ADa,Food,%20Microbiology&as_themes_op=icon__contains&prev=as

Fiallos, M. (2017). *Cuantificación de metales pesados y calidad microbiológica de frutas y vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato*. (Tesis de grado). Universidad técnica de Ambato. Recuperado de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25296/1/BQ%20111.pdf>

Flores, G. (2015). Este 7 de abril se celebra el día mundial de la Salud 2015. *El Comercio*. Recuperado de

<https://www.elcomercio.com/tendencias/diamundialdelasalud-alimentosinsalubres-consecuencias-enfermedades-oms.html>

Gaibor, E. (2015). *Desarrollo de un manual de buenas prácticas de manufactura y manipulación de alimentos para el Restaurante Don Boris de la Ciudad de Quito*. (Tesis de grado). Universidad Tecnológica Equinoccial. Recuperado de <http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/handle/123456789/16044>

Gaitán, A. (2014). *Operaciones y control de almacén de conservas vegetales*. INAV0109. IC Editorial.

Gamboa, M. (2015a). *Actualización de pruebas de laboratorio microbiológicas para el control de calidad en alimentos* (Tesis de grado). Pontifica Universidad Católica del Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/8719/MONICA%20GAMBOA%20MONOGRAFIA%20%2023%20marzo%202015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gamboa, M. (2015b). *Actualización de pruebas de laboratorio microbiológicas para el control de calidad en alimentos* (Tesis de grado). Pontifica Universidad Católica del Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/8719/MONICA%20GAMBOA%20MONOGRAFIA%20%2023%20marzo%202015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gamboa, M, Garcia, J., Hernández, F., y Rodríguez, E. (2005). *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio*. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=vwB0fgirgN0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Gisslen, W. (2011). *Professional cooking* (7th ed). Hoboken, N.J: John Wiley & Sons. Recuperado de https://www.academia.edu/27493779/Professional_Cooking_7th_Edition_

- Gómez, A., Toledo, L., Quintero, G., Donado, Y., Roo, Y., y Leal, K. (2018). Calidad microbiológica de ensaladas crudas que se expenden en puestos ambulantes de comida rápida de la ciudad de Maracaibo-Venezuela. *Kasmera*, 46(2), 116-126.
- Gómez, B. (2016). *Manual del manipulador de alimentos*. Recuperado de https://books.google.es/books?id=ofapDQAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbg_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- González, C. (2018). *Análisis de la calidad microbiológica de los alimentos procedentes de cadenas de comida rápida*. Recuperado de https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/21542/GonzalezRodriguez_Cristina_TFG_2018.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Google Maps. (2020). *Google Maps, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil*. Recuperado de: <https://www.google.com.ec/maps/place/Universidad+Cat%C3%B3lica+de+Santiago+de+Guayaquil/@-2.1818893,-79.9074705,16z/data=!4m8!1m2!2m1!1suniversidad+catolica+de+santiago+de+guayaquil!3m4!1s0x902d6d80d5fc034f:0x173636d8f79dec15!8m2!3d-2.1815037!4d-79.9041704>
- Guerrero, M. (2016). *Incidencia de los microorganismos mesófilos en las enfermedades transmitidas por alimentos que se presentan en los grupos vulnerables*. Recuperado de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/7739>
- Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P., Méndez, S., y Mendoza, P. (2014). *Metodología de la investigación*. México, D.F.: McGraw-Hill Education. Recuperado de <http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>

- Hinostroza, G. (2019). *Determinar la presencia en enteroparásitos en ensaladas de pollerías del Cercado de Tacna 2013* (Tesis de grado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann -Tacna. Recuperado de http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3789/1653_2017_hinostroza_zarate_gl_fcag_medicina_veterinaria_y_zootecnia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- HyServe. (2010). HyServe. Recuperado 4 de mayo de 2020, de Compact Dry. website: <https://hyserve.com/produktgruppe.php?lang=es&gr=1&pr=>
- NTE INEN 1529-6. (1990). *Control microbiológico de los alimentos*. Instituto Ecuatoriano de normalización. Recuperado de <http://archive.org/details/ec.nte.1529.6.1990>
- NTE INEN 1529-14. (1998). *Control microbiológico de los alimentos*. Instituto Ecuatoriano de normalización. Recuperado de <http://archive.org/details/ec.nte.1529.14.1998>
- NTE INEN 1529-5 (2006). *Control microbiológico de los alimentos*. Instituto Ecuatoriano de normalización. Recuperado de <http://archive.org/details/ec.nte.1529.5.2006>
- ISO 9000. (2005). *Sistemas de gestión de la calidad ISO 9000*. Recuperado de http://www.umc.edu.ve/pdf/calidad/normasISO/Norma_ISO_9000_2005.pdf
- Márquez, M. (2017). Inocuidad de Alimentos es Garantía de Consumo. Recuperado 27 de abril de 2020, de Universidad Zamorano website: <https://www.zamorano.edu/2017/05/22/inocuidad-alimentos-garantia-consumo/>
- Michanie, S. (2015). Salmonella en alimentos. Cambio de paradigma. *La Alimentación Latinoamericana, Buenos Aires vol 319(1)*, Recuperado de https://www.academia.edu/18523658/Salmonella_en_Alimentos._Cambio_de_Paradigma

- MicroPlanet. (2019). Compact Dry®, placas miniaturizadas para el cultivo microbiológico. Recuperado 11 de agosto de 2020, de <https://www.microplanet-psl.com/es/noticias/item/86-compact-dry%C2%AE,-placas-miniaturizadas-para-el-cultivo-microbiol%C3%B3gico>
- MINSA. (2008). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. Recuperado de https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf
- Moncayo, A. (2018). *Estudio microbiológico de conservas vegetales y condiciones óptimas del proceso de appertización*. (Tesis de maestría). Universidad de Sevilla. Recuperado de <https://idus.us.es/handle/11441/74768>
- Morales, F. (2010). *Conozca 3 tipos de investigación: Descriptiva, exploratoria y explicativa*.
- Müggenburg, C., y Pérez, I. (2007). Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa. *Enfermería Universitaria*, 4(1). Recuperado de <https://doi.org/10.22201/eneo.23958421e.2007.1.469>
- Muguruza, N. (2019). *Evaluación microbiológica de alimentos en una feria gastronómica, Lima—2014*. (Tesis de grado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Recuperado de <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/UNJFSC/2970>
- Ocampo, J. (2010). *Manual básico “producción de hortalizas”*. Recuperado de https://www.unodc.org/documents/bolivia/DIM_Manual_de_cultivo_de_hortalizas.pdf
- OIRSA. (2016). *Manual de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control*. Recuperado de

<https://www.oirsa.org/contenido/biblioteca/Manual%20de%20an%C3%A1lisis%20de%20peligros%20y%20puntos%20cr%C3%ADticos%20de%20control%20-%20HACCP.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (2018). Salmonella (no tifoidea). Recuperado de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Ospina, M., Pacheco, O., Prieto, F., & Quijada, H. (2018). *Enfermedades Transmitidas por los alimentos ETA*. [Boletín Epidemiológico]. Recuperado de <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>

Pacheco, G. (2017). *Evaluación de las condiciones de salubridad para la propuesta de implementación de un programa de capacitación en buenas prácticas de manipulación (BPM) en el área de elaboración de alimentos de Comedor Servicios Alimenticios y Afine S.A.C (SPCC-Toquepala, 2015)*. (Tesis de grado). Universidad Tecnológica del Perú. Recuperado de <http://repositorio.utp.edu.pe/handle/UTP/939>

Parzanese, T. (2012). Vegetales mínimamente procesados. *Alimentos Argentinos*, 55, 31-39. Recuperado de http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/ediciones/55/productos/R55_vegetales.pdf

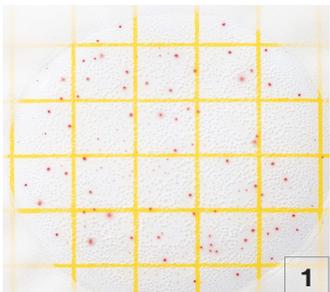
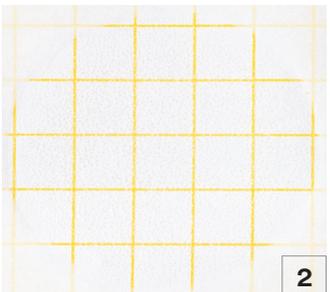
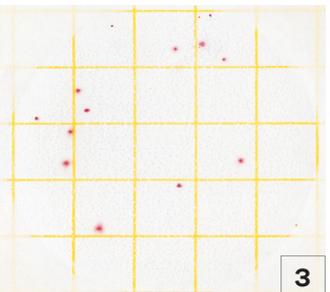
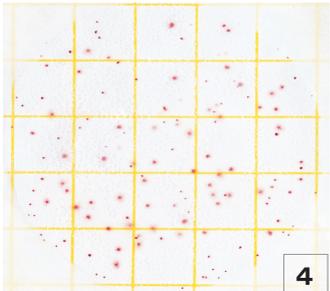
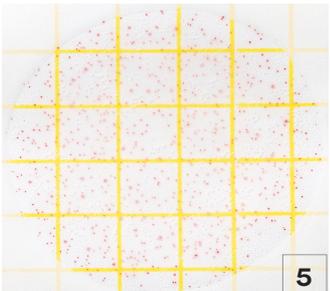
Red Canaria de Vigilancia Epidemiológica. (2015). *Brotos de toxiinfección alimentaria (TIA) ocurridos en Canarias (2008-2015)*. Recuperado de <http://www.datosdelanzarote.com/itemDetalles.asp?idFamilia=36&idItem=8049>

Robles, I. (2010). *Diseño de los procedimientos operativos estandarizados de sanitización para una planta deshidratadora de frutas*. (Tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2872.pdf

- Sampértegui, M. (2016). *Evaluación de la calidad microbiológica de las ensaladas frescas vendidas en dos mercados de la ciudad de Cuenca y su asociación con los factores de riesgo para adquirir enfermedades transmitidas por alimentos* (Tesis de grado). Universidad del Azuay. Recuperado de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6796/1/12780.pdf>
- Soto, D. (2015). *Análisis de staphylococcus aureus en alimentos elaborados en comedores públicos del sector de peca km 11 ½ vía Daule de la parroquia Tarqui de la ciudad de Guayaquil año 2014*. (Tesis de grado). Universidad de Guayaquil. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8173>
- Soto, F. (2016). *Efecto del aceite esencial y zumo de Citrus latifolia tanaka sobre la calidad microbiológica de ensaladas frescas expandidas en el mercado Central de Trujillo*. (Tesis de grado). Universidad César Vallejo. Recuperado de http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/633/soto_cf.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Steve, M. (2017). *Detección de la presencia de Escherichia coli y Salmonella spp. En alimentos por técnicas de cultivo y técnicas moleculares*. (Tesis de grado). Universidad politécnica de Valencia. Recuperado de <https://riunet.upv.es/handle/10251/85541>
- Sousa, V., Driessnack, M., y Costa, I. (2007). Revisión de diseños de investigación resaltantes para enfermería. Parte 1: Diseños de investigación cuantitativa. *Rev latino-am enfermagem*, 15(3), 1-6. Recuperado de https://www.scielo.br/pdf/rlae/v15n3/es_v15n3a22
- Tortora, G., Funke, B., y Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. Ed. Médica Panamericana. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=Nxb3iETuwplC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

ANEXOS

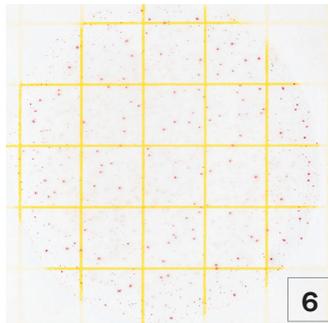
Anexo 1. Interpretación de resultados para aerobios mesófilos

 <p>1</p>	 <p>2</p>	 <p>3</p>
<p>Recuento de bacterias aerobias = 152 El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.</p>	<p>Recuento de bacterias aerobias = 0 La Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios es de fácil interpretación. La figura 2 muestra una placa sin crecimiento de colonias.</p>	<p>Recuento de bacterias aerobias = 16 La figura 3 muestra una Placa Petrifilm AC con crecimiento bajo de colonias.</p>
 <p>4</p>	 <p>5</p>	
<p>Recuento de bacterias aerobias = 143 El rango recomendado de recuento en la Placa Petrifilm AC está entre 25-250 colonias. Obsérvese la figura 4.</p>	<p>Recuento de bacterias aerobias = 560 "estimado" Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se puede observar en la figura 5), por su excesivo crecimiento, los recuentos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en un cuadrado (1 cm²) y multiplíquelo por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de inoculación de Petrifilm AC es de 20 cm².</p>	

Fuente: 3M (2017)

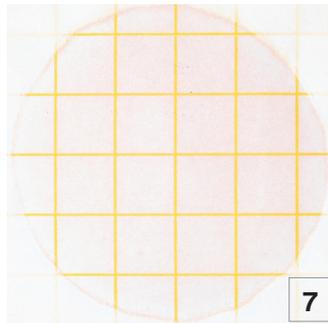
Anexo 2. Interpretación de resultados para aerobios mesófilos MNPC

MNPC (Muy Numerosas Para Contar): para obtener un recuento más preciso, diluya la muestra



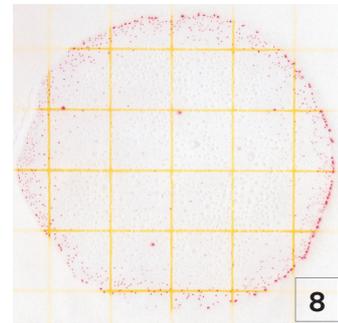
6

Recuento de bacterias aerobias = MNPC
Recuento estimado: 10^3
La figura 6 muestra una Placa Petrifilm AC con colonias muy numerosas para contar.



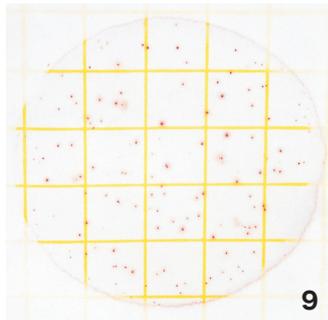
7

Recuento de bacterias aerobias = MNPC
Recuento estimado: 10^5
Con recuentos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse de rosa, como se muestra en la figura 7. Usted podría observar colonias individuales solo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre este recuento como muy numeroso para contar (MNPC).



8

Recuento de bacterias aerobias = MNPC
Recuento estimado: 10^3
Ocasionalmente, la distribución de las colonias puede aparecer de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8. Esto también es una indicación de un resultado MNPC.

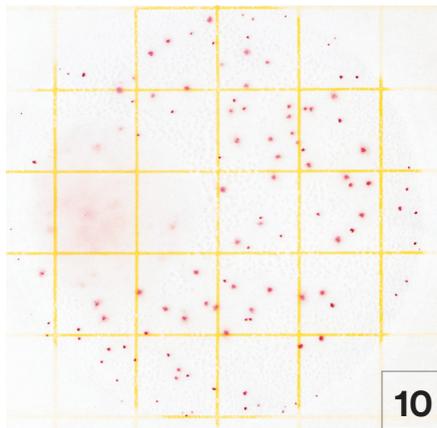


9

Recuento de bacterias aerobias = MNPC
Recuento estimado: 10^7
Las colonias de la figura 9 podrían confundirse como contables a primera vista. Sin embargo, si usted observa detalladamente el borde o filo del área de crecimiento, podrá visualizar una alta concentración de colonias. Registre este resultado como MNPC.

Fuente: 3M (2017)

Anexo 3. Aerobios mesófilos Licuefacción del gel

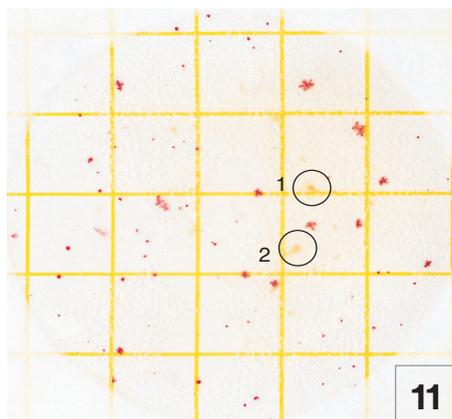


Recuento de bacterias aerobias = 160

Como se aprecia en la figura 10, algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las Placas Petrifilm AC.

Cuando esto ocurra:

1. Determine el promedio en los cuadros no afectados y estime los resultados.
2. Realice recuentos preliminares para verificar el crecimiento; la licuefacción generalmente se presenta de manera tardía.

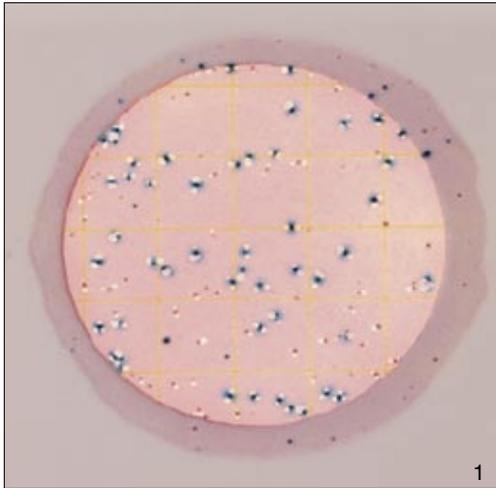


Recuento de bacterias aerobias = 83

Debido a que en las Placas Petrifilm AC las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se las puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).

Fuente: 3M (2017)

Anexo 4. Interpretación de resultados para Coliformes y *E. coli*



La identificación de la *E. coli* puede variar de país a país (ver en "Recomendaciones de uso" tiempos de incubación y temperaturas).

Método validado por la AOAC Internacional

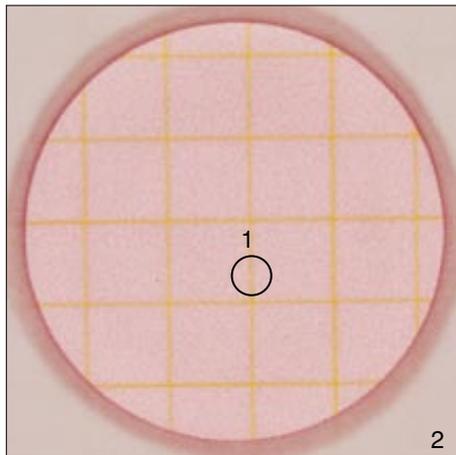
E. coli = **49** (colonias azules con gas)

Total coliformes = **87** (colonias rojas y azules con gas)

(NO use esta placa sola para la detección de *E. coli* O157. Como la mayoría de otros medios para enumeración de *E. coli* coliformes, esta placa no señalará específicamente si está presente algún O157).

Fuente: 3M (2006)

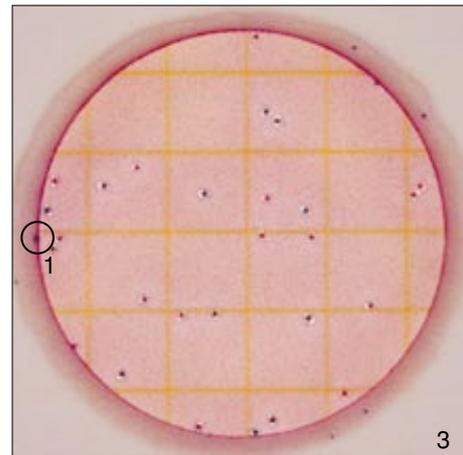
Anexo 5. Recuento de Coliformes y *E.coli*



No crecimiento = 0

Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el círculo 1.

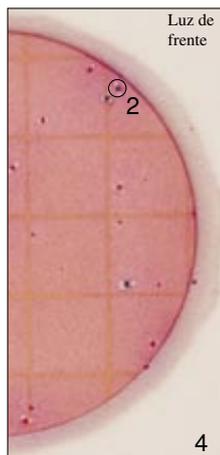
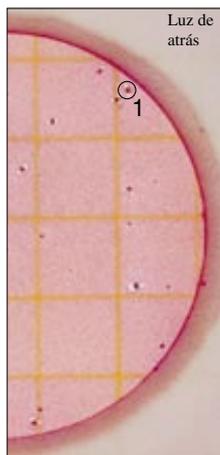


Recuento de *E. coli* = 13

Total de recuento de coliformes = 28

El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150.

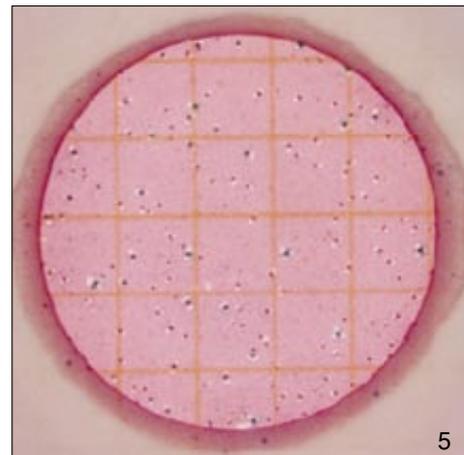
No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.



Recuento de *E. coli* = 3

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia.

El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.



Recuento de *E. coli* = 17

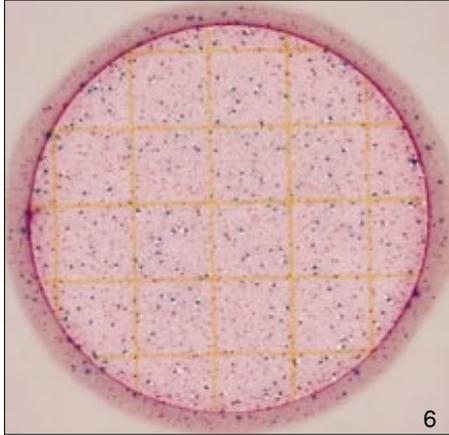
Recuento total estimado de coliformes = 150

El área circular de crecimiento es de aproximadamente 20 cm². El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el conteo estimado por placa.

Fuente: 3M (2006)

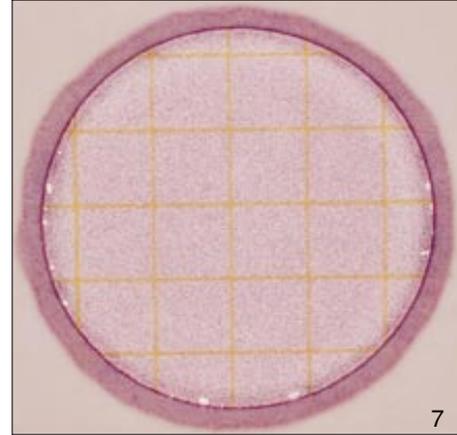
Anexo 6. Interpretación de resultados para coliformes y *E. coli* MNPC

MNPC (Muy Numerosas Para Contar): para obtener un recuento más preciso, diluya más la muestra



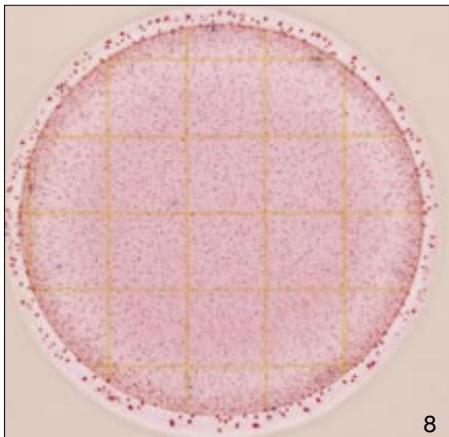
Recuento actual aprox. $\sim 10^6$

Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.



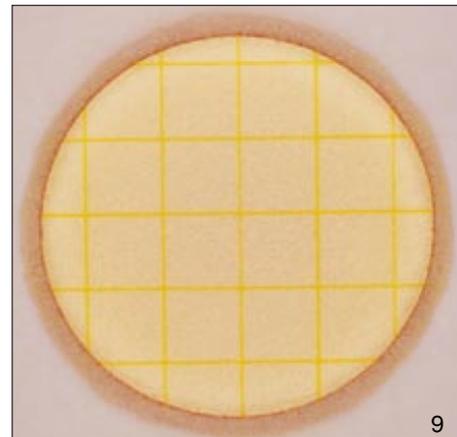
Recuento actual aprox. $\sim 10^8$

Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.



Recuento presuntivo de *E. coli* ~ 8

Recuento total estimado de coliformes aprox. $\sim 10^8$
Cuando existen cifras altas de coliformes (10^8), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuento todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *E. coli*. Si es necesaria la confirmación, aisle las colonias azules con gas para su posterior identificación.

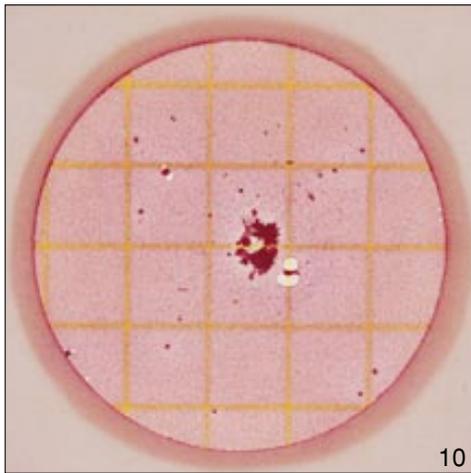


Recuento actual aprox. de $\sim 10^8$

Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.

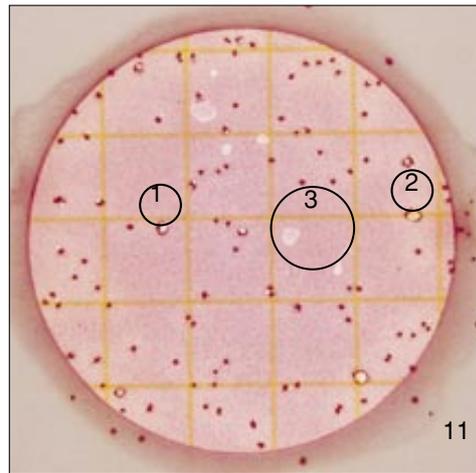
Fuente: 3M (2006)

Anexo 7. Interpretación de resultados para Coliformes y *E.coli*, Burbujas



Recuento total de coliformes = 3

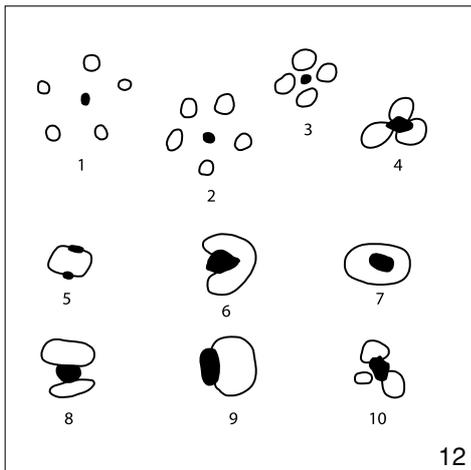
Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



Recuento total de coliformes = 78

Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2.

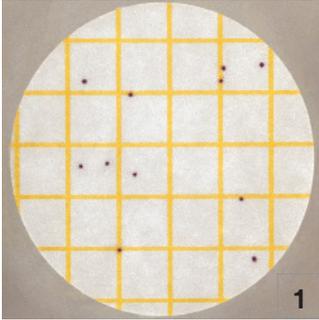
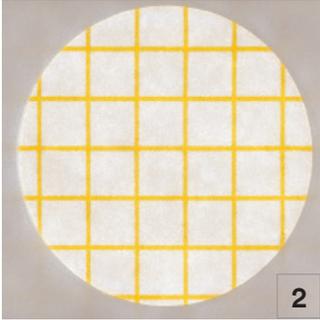
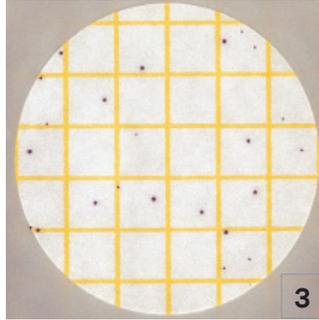
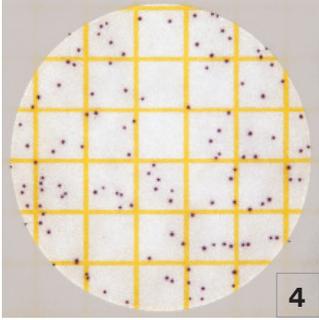
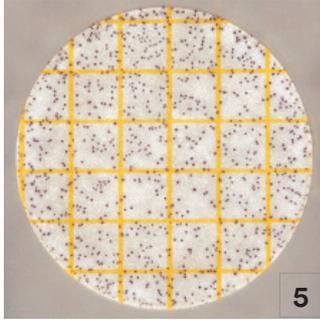
Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3.



Los ejemplos 1 a 10 muestran varios patrones de burbujas asociados con colonias que producen gas. Todas deben ser enumeradas.

Fuente: 3M (2006)

Anexo 8. Interpretación de resultados para *Staphylococcus aureus*

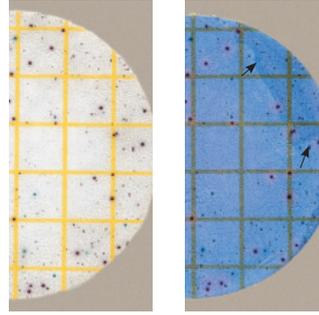
		
<p>Recuento de <i>S. aureus</i> = 11 Considere todas las colonias rojo-violeta como <i>S. aureus</i>. Cuando solo se encuentren presentes colonias rojo-violeta, la prueba se habrá completado.</p>	<p>Recuento de <i>S. aureus</i> = 0 Esta Placa Petrifilm no tuvo colonias después de 24 horas de incubación. La prueba se ha terminado.</p>	<p>Recuento de <i>S. aureus</i> = 24 Las colonias de <i>S. aureus</i> pueden variar en tamaño. Independientemente del tamaño, cuente todas las colonias rojo-violeta. Utilice una lupa con luz para poder ver las colonias con mayor facilidad. La prueba se considera terminada.</p>
		
<p>Recuento de <i>S. aureus</i> = 122 El límite de recuento recomendado de una Placa Petrifilm Staph Express es de 150 colonias. La placa de la figura 4 se está acercando al límite del recuento. La prueba se ha terminado.</p>	<p>Recuento de <i>S. aureus</i> ≈ estimado 850 Cuando el número de colonias de <i>S. aureus</i> excede de 150, las colonias se tornan Muy Numerosas Para Contar (MNPC). Haga un estimado del recuento o diluya aún más su muestra. Para hacer la estimación, cuente las colonias en un cuadro representativo y multiplique ese número por 30.</p>	

Fuente: 3M (2017)

Anexo 9. Interpretación de resultados para *S. aureus* Disco Petrifilm

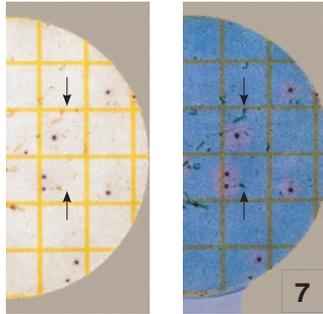
El Disco Petrifilm Staph Express se debe utilizar cuando la placa presente colonias que no sean color rojo-violeta; por ejemplo, colonias negras o azul-verdosas, puesto que éstas pueden oscurecer el *S. aureus*. Las colonias negras pueden ser o no ser *S. aureus*. Las colonias azul-verdosas no son *S. aureus*.

Cuando el Disco se inserta en la placa y se incuba por una hora adicional, se forman zonas rosadas de DNasa. Las zonas rosadas son *S. aureus* la mayoría de las veces, aunque ocasionalmente pueden ser *S. hyicus* o *S. intermedius*. El grupo de organismos comúnmente conocido como coagulasa positiva de Staphylococci abarca principalmente *S. aureus*, *S. hyicus* y *S. intermedius*.



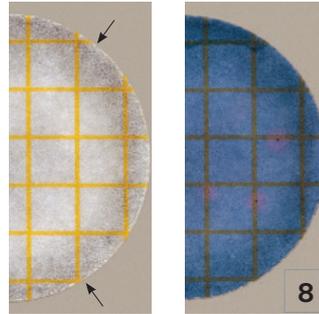
Recuento de *S. aureus* = 17

Cuente las zonas rosadas como *S. aureus*, independientemente del tamaño de la zona. Las flechas de la figura 6 muestran un desprendimiento del gel. Esto no afecta el desempeño de la placa junto con el Disco.



Recuento de *S. aureus* = 7

En la figura 7 se ven partículas de alimentos con forma irregular. Es más fácil contar las colonias de *S. aureus* una vez que se ha insertado el Disco, ya que las zonas rosadas se distinguen con mayor claridad que el alimento.

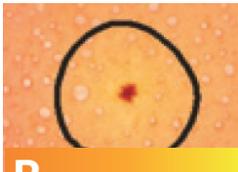
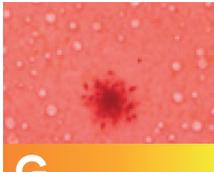
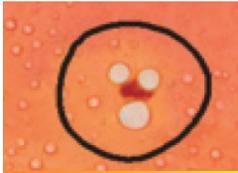
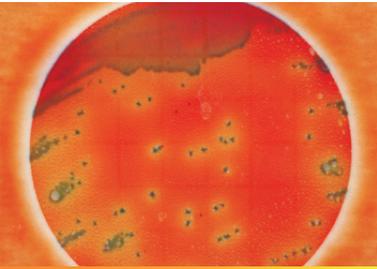


Recuento de *S. aureus* = 3

Es difícil ver las colonias individuales debido al alimento y/o al gran número de bacterias del fondo, como lo muestra la decoloración de la placa de la figura 8. Inserte el Disco y cuente las zonas rosadas como *S. aureus*.

Fuente: 3M (2017)

Anexo 10. Interpretación de resultados para *Salmonella*

Colonias Presuntivas Positivas en la Placa	Colonias de <i>Salmonella</i> Confirmadas con Disco de Confirmación	Colonias No <i>Salmonella</i> en la Placa	Colonia No <i>Salmonella</i> con Disco de Confirmación
 <p>A</p>	 <p>D</p>	 <p>F</p>	 <p>I</p>
<p>Figura A: Colonia roja con zona amarilla y asociada a burbuja de gas.</p>	<p>Figura D: Colonia azul oscuro/negra con precipitado azul.</p>	<p>Figura F: Colonia roja sin zona amarilla y no asociada a burbuja de gas.</p>	<p>Figura I: La colonia mantiene el mismo color rojo sin el precipitado azul después de añadir el disco de confirmación.</p>
 <p>B</p>	 <p>E</p>	 <p>G</p>	
<p>Figura B: Colonia roja con zona amarilla.</p>	<p>Figura E: Colonia azul oscuro/negra con centro rojo oscuro y precipitado azul.</p>	<p>Figura G: Colonia roja con zona magenta.</p>	
 <p>C</p>		 <p>H</p>	<p>Figura J: (1) Colonias rojas aisladas sin zona amarilla y/o asociadas a burbuja de gas. (2) Colonias verde-azules asociadas a burbuja de gas .</p>
<p>Figura C: Colonia roja y asociada a burbuja de gas, sin zona amarilla.</p>		<p>Figura H: Colonia azul verdosa con zona amarilla y asociada a burbuja</p>	
<p>Placa 3M Petrifilm SALX sin presuntivos positivos</p>			
 <p>J</p>			

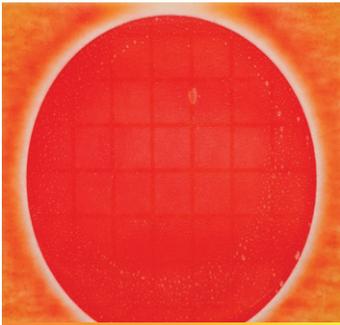
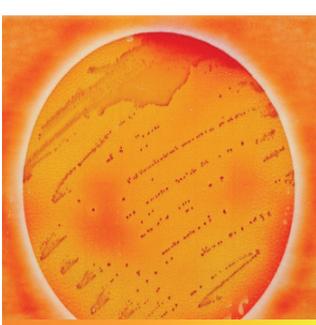
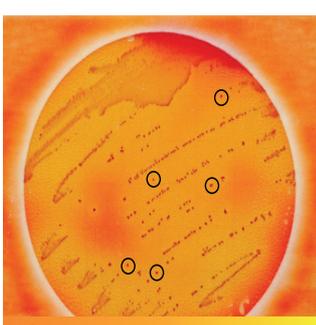
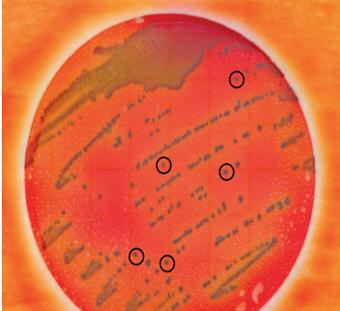
Fuente: 3M (2014)

Anexo 11. Interpretación de especies presuntivas de Salmonella

Color de la Colonia			Metabolismo de la Colonia		Resultado
Rojo	Rojo Oscuro	Marrón	Zona Amarilla	Burbuja de gas	
●●					Presuntiva +
●●					Presuntiva +
●●				●	Presuntiva +
	●●				Presuntiva +
	●●				Presuntiva +
	●●			●	Presuntiva +
		●●			Presuntiva +
		●●			Presuntiva +
		●●●			Presuntiva +

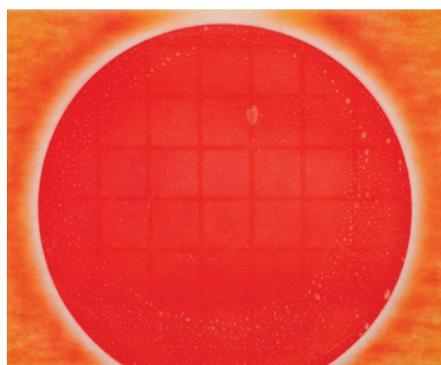
Fuente: 3M (2014)

Anexo 12. Interpretación de resultados para *Salmonella* ejemplo 1

 <p>1A</p>	 <p>1B</p>	 <p>1C</p>
<p>Placa 3M™ Petrifilm™ SALX</p> <p>Observación: Placa de control negativo hidratada con 2ml de diluyente</p>	<p>Placa 3M™ Petrifilm™ SALX con solo colonias presuntivas positivas</p> <p>Observación: Note las colonias rojas aisladas con una zona amarilla.</p>	<p>Placa 3M™ Petrifilm™ SALX con colonias presuntivas positivas marcadas con círculos</p> <p>Observación: Las cinco (5) morfologías más predominantes de colonias aisladas presuntivas positivas (color rojo con zona amarilla) se han marcado con un círculo en la película superior de la placa.</p>
 <p>1D</p>	<p>Placa 3M™ Petrifilm™ SALX con disco de confirmación 3M™ Petrifilm™ SALX</p> <p>Observación: Las colonias presuntivas positivas marcadas con un círculo son de color azul a azul oscuro/negro con un precipitado azul después de la adición del Disco de Confirmación 3M™ Petrifilm™ SALX e incubación. Estas colonias marcadas con un círculo están bioquímicamente confirmadas como positivas para <i>Salmonella</i> especies.</p> <p>Responsabilidades del usuario: No se ha evaluado el desempeño de las Placas 3M™ Petrifilm™ con todas las combinaciones de flora microbiana, condiciones de incubación y matrices alimenticias. Es responsabilidad del usuario determinar que todos los métodos de prueba y los resultados cumplan los requisitos del usuario. En caso de requerirse la reimpresión de esta "Guía de interpretación", las configuraciones de impresión del usuario pueden afectar la calidad de la imagen y los colores.</p>	

Fuente: 3M (2014)

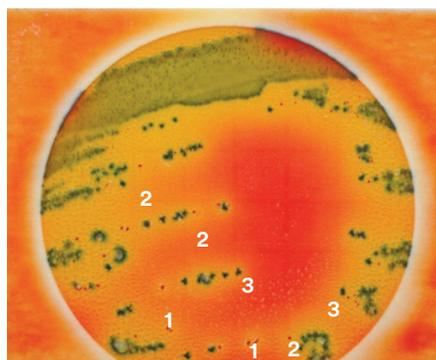
Anexo 13. Interpretación de resultados para *Salmonella* ejemplo 2



2A

Placa 3M™ Petrifilm™ SALX

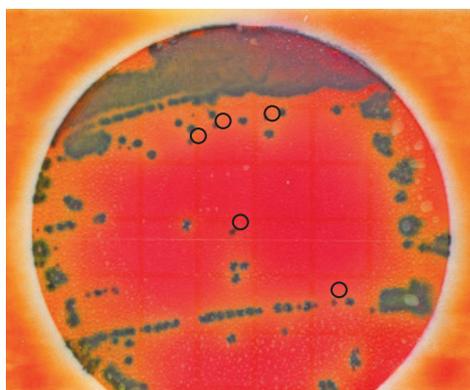
Observación: Placa de control negativo hidratada con 2ml de diluyente



2B

Placa 3M™ Petrifilm™ SALX con colonias de Morfologías Mixtas

Observación: (1) Colonias rojas aisladas con zona amarilla y asociadas a burbujas de gas. (2) Colonias aisladas rojas solo con zona amarilla. (3) Flora de acompañamiento colonias azul, azul verdosas.

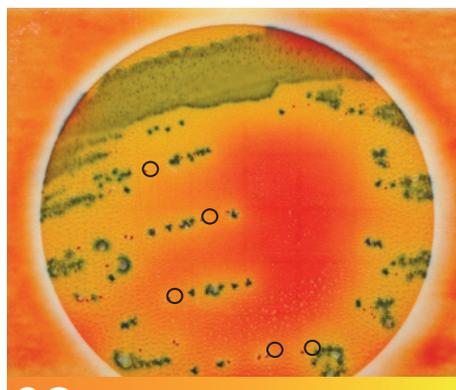


2D

Placa 3M™ Petrifilm™ SALX con disco de confirmación 3M™ Petrifilm™ SALX

Observación: Las colonias presuntivas positivas marcadas con un círculo son de color azul a azul oscuro/negro con un precipitado azul después de la adición e incubación del Disco de Confirmación 3M™ Petrifilm™ SALX. Estas colonias marcadas con un círculo están bioquímicamente confirmadas como positivas para *Salmonella* especies.

Responsabilidades del usuario: No se ha evaluado el desempeño de las Placas 3M™ Petrifilm™ con todas las combinaciones de flora microbiana, condiciones de incubación y matrices alimenticias. Es responsabilidad del usuario determinar que todos los métodos de prueba y los resultados cumplan los requisitos del usuario. En caso de requerirse la reimpresión de esta "Guía de interpretación", las configuraciones de impresión del usuario pueden afectar la calidad de la imagen y los colores.



2C

Placa 3M™ Petrifilm™ SALX con colonias presuntivas positivas marcadas con círculos

Observación: Las cinco (5) morfologías más predominantes de colonias aisladas presuntivas positivas (color rojo con zona amarilla y asociadas a burbujas de gas; color rojo con zona amarilla y no asociadas a burbujas de gas) se han marcado con un círculo en la película superior de la placa.

Fuente: 3M (2014)



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Menoscal Vaca Kathy**, con C.C: # 0918091109 autora del **componente práctico del examen complejo: Evaluación de calidad microbiológica de ensaladas vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales de la zona norte de la ciudad de Guayaquil** previo a la obtención del título de **Ingeniería Agroindustrial** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 17 de **septiembre** de **2020**

f. _____

Nombre: **Menoscal Vaca Kathy**

C.C: **0918091109**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA			
FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN			
TEMA Y SUBTEMA:	Evaluación de calidad microbiológica de ensaladas vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales de la zona norte de la ciudad de Guayaquil.		
AUTOR(ES)	Kathy Menoscal Vaca		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Ing. Jorge Ruperto Velásquez Rivera Ph. D.		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo		
CARRERA:	Ingeniería Agroindustrial		
TÍTULO OBTENIDO:	Ingeniera Agroindustrial		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	17 de septiembre de 2020	No. DE PÁGINAS:	75
ÁREAS TEMÁTICAS:	Calidad microbiológica de alimentos		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Alimentos, calidad, ensaladas, inocuidad, microbiología, vegetales		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):			
<p>La calidad microbiológica cumple un papel importante al momento de procesar los alimentos. El objetivo de este trabajo es evaluar la calidad microbiológica de las ensaladas frescas de vegetales comercializadas por locales de comida de los centros comerciales ubicados en la zona norte de la ciudad de Guayaquil. En la industria alimentaria existen tres tipos de riesgos, el químico, físico y microbiológico, siendo este último el responsable de las enfermedades transmitidas por los alimentos, causadas por la <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Shigella</i> y otros. Varios estudios han demostrado que las malas prácticas de manufactura pueden causar contaminación microbiológica. Para la determinación de la población se estableció un plan de muestreo con base a la distribución de los centros comerciales en la zona norte de la ciudad de Guayaquil, ubicando 14 centros comerciales con un total de 142 locales de comida que expenden ensaladas frescas de vegetales y para establecer el tamaño de la muestra se aplicó la fórmula de poblaciones finitas, obteniendo 104, considerado el número de locales de comida que serán evaluados. Los análisis microbiológicos se realizarán siguiendo los métodos de la AOAC para siembra en placas Petrifilm 3M. La interpretación de los resultados obtenidos serán realizados con la ayuda del software estadístico Infostat. Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos serán evaluados mediante los parámetros establecido por la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593 990 015 491	E-mail: kathy.menoscal94@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::	Nombre: Ing. Noelia Caicedo Coello, M. Sc.		
	Teléfono: +593 987361675		
	E-mail: noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
N° DE REGISTRO (en base a datos):			
N° DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			