



UNIVERSIDAD DE CUENCA
Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Bioquímica y Farmacia

“Evaluación de la calidad microbiológica de *hot dogs*, vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador”

**Trabajo de titulación previo a
la obtención del título
de Bioquímico Farmacéutico**

AUTORES:

Jhoselyn Mishell Vivanco Gallardo
CI: 0704430388

Oscar Martín Yauri Calle
CI: 0302212006

DIRECTORA:

Dra. Silvana Patricia Donoso Moscoso Mgt.
CI: 0102590569

CUENCA-ECUADOR
2019



RESUMEN

Las ventas ambulantes han crecido en los últimos años en Ecuador. El objetivo de este trabajo es evaluar el control microbiológico de hot dogs expendidos de forma ambulante en la Ciudad de Cuenca.

Se seleccionaron a 10 vendedores de hot dogs por medio del Departamento de Control Urbano del GAD Municipal. Se tomaron 20 muestras en un periodo de 4 semanas. La muestra consistió en hot dog tipo perrito caliente formado por pan, salchicha, refrito (cebolla y tomate) y aderezos (mayonesa, salsa de tomate y mostaza).

En la normativa ecuatoriana no existen parámetros para hot dog, por ello el análisis se basó en las Normas de Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), embutidos con tratamiento térmico (N°10.11) y comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (N°15.1). Estas exigen la determinación de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Estafilococo aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y coliformes totales.

Los resultados indican el incumplimiento de la Norma N° 10.11 de aerobios mesófilos 5%, *Escherichia coli* 5%, *Salmonella spp* 45% y *Listeria monocytogenes* 10%. El incumplimiento de la Norma N° 15.1 para coliformes totales es de 10%, los demás parámetros poseen los mismos porcentajes de la Norma N°10.11. Por esto el alimento podría no ser apto para el consumo en un 60% de las muestras.

Se realizó una capacitación a los vendedores ambulantes de hot dogs sobre medidas de control para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos con la finalidad de mejorar la calidad de este producto.

Palabras claves: Hot dog. Venta ambulante. Control microbiológico.



ABSTRACT

Street sales have grown in recent years in Ecuador. The objective of this work is to evaluate the microbiological control of hot dogs sold in a traveling way in the City of Cuenca.

Ten vendors of hot dogs were selected through the Urban Control Department of the Municipal Gad. 20 samples were taken in a period of 4 weeks. The sample consisted of a hot dog type perrito caliente consisting of bread, sausage, rehash (onion and tomato) and dressings (mayonnaise, tomato sauce and mustard).

In the Ecuadorian regulations there are no parameters for hot dog, so the analysis was based on the General Directorate of Environmental Health (DIGESA), sausages with heat treatment (No. 10.11) and prepared meals that carry ingredients with and without heat treatment (No. 15.1). These require the determination of mesophilic aerobes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and total coliforms.

The results indicate the non-compliance of Standard No. 10.11 of mesophilic aerobes 5%, *Escherichia coli* 5%, *Salmonella* spp 45% and *Listeria monocytogenes* 10%. The non-compliance of Standard N ° 15.1 for total coliforms is 10%, the other parameters have the same percentages of Standard N ° 10.11. Therefore, the food may not be suitable for consumption in 60% of the samples.

Training was given to street vendors of hot dogs on control measures to prevent foodborne diseases in order to improve the quality of this product.

Keywords: Hot dog. Peddling. Microbiological control.



Contenido

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	15
1. MARCO TEÓRICO	16
1.1 <i>Calidad de los alimentos</i>	16
1.2 <i>Inocuidad alimentaria y Enfermedades transmitidas por alimentos</i>	16
1.3 <i>Principales vías de contaminantes alimentarios</i>	17
1.4 <i>Venta ambulante</i>	17
1.5 <i>Descripción del alimento de análisis: Hot Dog</i>	18
1.6 <i>Requisitos microbiológicos del Hot Dog</i>	20
1.7 <i>Grupo de microorganismos</i>	22
1.7.1 <i>Microorganismos indicadores de alteración.</i>	22
1.7.2 <i>Microorganismos indicadores de higiene</i>	22
1.7.3 <i>Microorganismos patógenos</i>	24
1.8 <i>Factores que influyen directamente sobre el crecimiento microbiano.</i>	27
2 METODOLOGÍA	28
2.1 <i>Tipo de estudio</i>	28
2.2 <i>Área de Estudio y toma de muestra</i>	28
2.3 <i>Materiales, equipos y reactivos</i>	28
2.4 <i>Métodos y técnicas de análisis</i>	29
2.5 <i>Placas compact DRY</i>	29
2.5.1 <i>Aerobios mesófilos, Compact Dry TC</i>	30
2.5.2 <i>Coliformes/Escherichia coli, Compact Dry EC</i>	30
2.5.3 <i>Staphylococcus aureus, Compact Dry X-SA</i>	30
2.5.4 <i>Medio SPS Agar</i>	31
2.5.5 <i>Método Reveal 2.0 para Salmonella</i>	32
2.5.6 <i>Reveal 2.0 para Listeria</i>	32
2.6 <i>Cálculos</i>	33
2.7 <i>Análisis estadístico</i>	33
2.8 <i>Mapeo</i>	33
2.9 <i>Capacitación</i>	34
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
4.1 <i>Conclusiones</i>	37
4.2 <i>Recomendación</i>	37



5	BIBLIOGRAFÍA	39
5.	ANEXOS	41

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1	Vendedores ambulantes de la ciudad de cuenca	41
ANEXO 2	Mapeo	43
ANEXO 3	Metodología de la preparación de diluciones.....	44
ANEXO 4	Descripción del procedimiento e interpretación para aerobios mesófilos en placas compact dry	45
ANEXO 5	Descripción del procedimiento e interpretación para <i>Escherichia coli</i> en placas compact dry	46
ANEXO 6	Descripción del procedimiento e interpretación para <i>Estafilococo aureus</i> en placas compact dry.....	47
ANEXO 7	Descripción del procedimiento e interpretación para <i>Clostridium perfringens</i>	48
ANEXO 8	Informe técnico de los resultados de <i>Clostridium perfringens</i> del laboratorio externo	49
ANEXO 9	Resultados del análisis microbiológico.....	50
ANEXO 10	Procedimiento para determinación de reveal 2.0 para <i>Salmonella spp</i>	51
ANEXO 11	Procedimiento para determinación de reveal 2.0 para <i>Listeria</i>	52
ANEXO 12	Capacitación	53
ANEXO 13	Fotos de carritos de hot dogs	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Límites microbiológicos del análisis de embutidos con tratamiento térmico para hot dogs de la Norma DIGESA N°10.11	21
Tabla 2	Límites microbiológicos para comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico de la Norma DIGESA 15.1.....	21
Tabla 3	Resultados del análisis microbiológico de embutidos para hot dogs.....	34
Tabla 4	Resultados del análisis microbiológico de comida preparada.....	35
Tabla 5	Dirección de los vendedores participantes y fecha del análisis.	41
Tabla 6	Resultados de los análisis microbiológicos.....	50

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Hot dog perrito caliente	18
Figura 2	Preparación de hot dogs	19
Figura 3	Mapa del muestreo de hot dogs de la Ciudad de Cuenca	43
Figura 4	Modelo de los resultados de <i>Clostridium perfringens</i> emitidos por el Laboratorio extremo	49
Figura 5	Diapositivas de apoyo para la capacitación	53
Figura 6	Tríptico de capacitación sobre medidas de control para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos.....	54
Figura 7	Certificado de asistencia a la capacitación sobre medidas de control para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos.....	55
Figura 8	Foto de los asistentes a la capacitación con sus certificados.....	55



Universidad de Cuenca

Figura 9 Fotos de carritos de hot dogs	56
Figura 10 Convenio entre la Universidad de Cuenca y el Municipio de Cuenca	61

INDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1 Forma de preparación de diluciones usadas en el análisis	44
Flujograma 2 Descripción del procedimiento e interpretación para aerobios mesófilos en placas compact dry	45
Flujograma 3 Descripción del procedimiento e interpretación para <i>Escherichia coli</i> en placas compact dry	46
Flujograma 4 Procedimiento e interpretación para <i>Estafilococo aureus</i> en placas compact dry	47
Flujograma 5 Procedimiento e interpretación para <i>Clostridium perfringes</i>	48
Flujograma 6 Procedimiento e interpretación para determinación de reveal 2.0 para <i>Salmonella</i>	51
Flujograma 7 Procedimiento para determinación de reveal 2.0 para <i>Listeria</i>	52



Cláusula de propiedad intelectual

Jhoselyn Mishell Vivanco Gallardo, autora del Trabajo de Titulación “**Evaluación de la calidad microbiológica de *hot dogs*, vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Cuenca, 29 de enero del 2019

Jhoselyn Mishell Vivanco Gallardo

0704430388



Cláusula de propiedad intelectual

Oscar Martín Yauri Calle, autor del Trabajo de Titulación “**Evaluación de la calidad microbiológica de *hot dogs*, vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Cuenca, 29 de enero del 2019

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized initials and a surname, enclosed within a large, loopy oval shape.

Oscar Martín Yauri Calle
CI: 0302212006



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Jhoselyn Mishell Vivanco Gallardo en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “**Evaluación de la calidad microbiológica de hot dogs vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador**”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 29 de enero del 2019

Jhoselyn Mishell Vivanco Gallardo

0704430388



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Oscar Martín Yauri Calle en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "**Evaluación de la calidad microbiológica de hot dogs, vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador**", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 29 de enero del 2019

Oscar Martín Yauri Calle
CI: 0302212006



ARADECIMIENTO

Agradecemos en primera instancia a Dios por permitirnos culminar una etapa más en nuestra vida, a todas las personas, profesores y compañeros que nos acompañaron a lo largo de nuestra carrera, agradecemos a la Universidad de Cuenca por brindarnos una educación de calidad y formarnos, no solo a nivel académico sino también como personas, para llegar a ser profesionales, con amor al trabajo, dedicación, honradez y sobre todo humildad.

De manera especial agradecer a Felipito por brindar siempre su apoyo y abrir las puertas, al Nene por su amistad y su trabajo.

De igual manera agradecemos a la Dra. Silvana Donoso por ser parte fundamental del proyecto, al igual que la Dra. María Augusta Idrovo por su apoyo.



DEDICATORIA

Esperanza Gallardo, mi madre, es a quien dedico este trabajo de manera muy especial, por ser mi motivo para superarme, por ser quien me enseñó a luchar ante toda adversidad, por ser mi ejemplo. Mi persona favorita de carácter fuerte, quien día a día demuestra amor incondicional para su familia y nos da todo de sí.

A mi padre Luis y a mi hermana Shirley, por apoyarme y darme su cariño sincero, demostrando que la familia es lo más importante.

A mis amores chiquitos, Sebastián y Renata, mis sobrinos, quienes me enseñaron que el amor puro y real existe, esto me ha inspirado a culminar mis metas para ayudarlos a conseguir sus sueños.

Agradezco a todos mis amigos y amigas que me han acompañado en cada paso, por compartir momentos inolvidables y brindarme la oportunidad de formar parte su familia.

A mi compañero de tesis por ser mi apoyo en el transcurso de este trabajo de titulación y por convertirse en un verdadero amigo.

Dios, te dedico mi vida porque tu tiempo es perfecto.

Mishell Vivanco



DEDICATORIA

Es un orgullo dedicarle este trabajo a la persona más importante en mi vida, mi madre, una mujer que no decayó por más adversas que sean las circunstancias y la cual nunca dejo de luchar por lo máspreciado para ella: “Una educación superior para todos sus hijos”. Este trabajo llevara su nombre Israel del Rocío Calle para hacerle llegar mi agradecimiento más grato a todo su apoyo.

A mis hermanos por ser un apoyo fundamental en mi proceso de educación, en formar cada uno un pilar.

A mi compañeros y amigos, principalmente a mi compañera de tesis por ser un gran apoyo para este logro.

Martin Yauri



INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) anualmente declara miles de casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). Existen muchos alimentos considerados de alto riesgo como los hot dogs, pues, poseen características que ayudan a la proliferación de microorganismos, por su alto contenido proteico y alto porcentaje de humedad, que conjuntamente con una deficiencia de higiene en el proceso de elaboración o manipulación del alimento resultará un foco de contaminación. Este alimento se acompaña con salsa de tomate, mostaza y mayonesa que requieren un almacenamiento y manipulación controlada. (Moreno & Alarcón, 2015)

El análisis e identificación de los microorganismos presentes en los alimentos ayuda a determinar la inocuidad y calidad, para así concluir si el alimento es apto o no para el consumo. (Alvarez, 2014)

Los hot dogs de venta ambulante se han convertido en una fuente de trabajo en la ciudad de Cuenca, debiendo, por parte de las entidades municipales aumentar el control sanitario de este tipo de alimentos. Por ello este trabajo va enfocado en detectar la carga microbiana que poseen las muestras de hot dogs, basados en la Norma DIGESA N°10.11 y N°15.1 que exige la determinación de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Estafilococo aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* y coliformes totales. (DIGESA, 2015).

A través de un convenio entre la Universidad de Cuenca y el Departamento de Control Urbano del GAD municipal se efectuó este proyecto, incluyendo capacitación a los vendedores participantes para garantizar al consumidor productos de calidad, que cumplan con los parámetros establecidos en la norma antes mencionada.



1. MARCO TEÓRICO

1.1 Calidad de los alimentos

Su definición corresponde a una serie de características y propiedades del alimento que engloba desde la materia prima, proceso de elaboración, dispensación o servicio que satisfacen las necesidades, ya sean implícitas o explícitas del consumidor con características deseadas proporcionando el valor que merece el alimento, en cuanto a parámetros como estado de descomposición, contaminación, decoloración, olor, color, aroma, textura y métodos de elaboración. (FAO, 2017)

1.2 Inocuidad alimentaria y Enfermedades transmitidas por alimentos

La inocuidad alimentaria engloba acciones encaminadas a garantizar la máxima seguridad de toda la cadena alimenticia, desde la producción al consumo, con el objetivo de evitar las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs), la que se define según la OMS como *“Un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento, y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad”*. (FAO, 2017) (OMS, 2016)

Las enfermedades transmitidas por alimentos son producidas por agentes patógenos que se encuentran contaminando un alimento específico en cantidades tales que afecten al consumidor, ya sea por una sustancia que se le ha incorporado al mismo (aderezo, acompañante, agua, etc.) o a su contaminación a través de utensilios utilizados mientras se prepara o distribuye. (FAO, 2017) (Chadán, 2017)

La OMS ha reportado que una de cada diez personas se enferma cada año tras el consumo de alimentos contaminados, llegando a 420000 los cuadros fatales, siendo los grupo más vulnerables los niños, ancianos, enfermos y embarazadas. (FAO, 2017) (Chadán, 2017)

Existen varios mecanismos por los cuales un microorganismo es capaz de producir una ETA.

- **Intoxicaciones causadas por alimentos:** se dan por la ingestión de alimentos que contienen toxinas bacterianas o de mohos en cantidades que afecten a la salud. Estas toxinas no presentan olor o sabor y son capaces de sobrevivir aun después de eliminar al microorganismo formador. (Chadán, 2017)



- **Infecciones transmitidas por alimentos:** enfermedades ocasionadas por el consumo de alimentos y agua contaminada con bacterias o virus enteropatógenos vivos, que invaden y proliferan en el tracto digestivo. Ejemplo: *Salmonella spp.* (Chadán, 2017)
- **Tóxico infección:** se da por la ingesta de agua y alimentos contaminados con células viables de bacterias patógenas (toxinas, mohos), no proliferan en el tracto digestivo, pero esporulan, colonizan o mueren y liberan toxinas. Ejemplo: *Clostridium perfringens.* (Chadán, 2017)

1.3 Principales vías de contaminantes alimentarios

- **Contaminación cruzada**

Se entiende cuando el alimento entra en contacto con sustancias ajenas (microorganismos patógenos, toxinas, etc.) y se puede dar de manera directa por contacto del alimento limpio con un alimento contaminado, o indirecta cuando se da el contacto del alimento con superficies y/o utensilios contaminados con microorganismos o sustancias nocivas para la salud. (DIGESA, 2015)

- **Contaminación de origen**

Se da cuando los alimentos entran en contacto con contaminantes del medio ambiente (tóxicos, insecticidas y/o productos agropecuarios). (DIGESA, 2015)

- **Contaminación por manipulación**

Se da cuando el manipulador contamina directa o indirectamente los alimentos, siendo este la principal fuente de contaminación. Se puede reducir mediante la aplicación de buenas prácticas de manipulación de alimentos encaminada al personal. (DIGESA, 2015)

1.4 Venta ambulante

Es una modalidad de trabajo con el cual los comerciantes expenden sus productos fuera de un establecimiento permanente, esta forma de trabajo ha tenido un crecimiento exponencial en los últimos años, principalmente en Ecuador. (Costa & Gregorio, 2016)

La venta ambulante se caracteriza por no presentar una infraestructura adecuada, sumado a condiciones higiénicas desfavorables, que garanticen una inocuidad de su



Universidad de Cuenca

producto. Así, la mayoría de emprendedores en este tipo de negocios no presentan una capacitación en cuanto al manejo de alimentos, es por esto que presentan varias inconformidades que permite una proliferación de microorganismos patógenos causantes de enfermedades. (Jacome, 2017)

Existen varios inconvenientes con el aumento de este tipo de expendedores sobre todo en la ciudad de Cuenca, pues es necesario un permiso de la entidad municipal para su labor diario; pues así lo refiere el Art.3 capítulo 1 de la ordenanza que regula las actividades de comercio ambulatorio del Cantón Cuenca que manifiesta: “ *Prohíbese en las áreas de uso público del Cantón, la exhibición o venta, ambulatoria o estacionaria, de productos alimenticios primarios, tales como: frutas, verduras, hortalizas, productos cárnicos y demás que se comercializan al interior de los mercados.*” (Municipio de Cuenca, 2017)

Este tipo de trabajo ha generado una fuente de ingresos, sin embargo existe un alto riesgo de contaminación, quedando plasmado en diferentes estudios realizados por la secretaría de Salud, en los cuales se manifiesta algún grado de contaminación. (Jacome, 2017)

Existen dos tipos de modalidades de venta ambulante; sedentaria es aquella en la cual el vendedor presenta una sola ubicación y no sedentaria es aquella en la que el vendedor presenta una ubicación móvil, ayudado con los medios que le permitan ofrecer su producto o mercadería en distintos lugares en el tiempo necesario para efectuar su trabajo. (Cervantes J. , 2014)

1.5 Descripción del alimento de análisis: Hot Dog

Los hot dogs de tipo perrito caliente son un alimento constituido de una salchicha cocida en refrito (cebolla y tomate), con pan blando y alargado; este se acompaña con algún aderezo como salsa de tomate, mostaza y mayonesa. (Real academia de la lengua, 2017)



Figura 1 Hot dog perrito caliente



Los hot dogs se preparan de varias maneras, sin embargo a continuación se describe la forma en la que se realiza según la explicación de los vendedores involucrados en el estudio:

- La salchicha es cocida en medio de cebolla y tomate picado de 5 a 10 min.
- Se sirve la salchicha en medio de pan alargado conjuntamente con el refrito (cebolla y tomate).
- Se acompaña con aderezos: mayonesa (industrial o casera), mostaza y salsa de tomate.



Figura 2 Preparación de hot dogs

El alimento analizado es muy complejo ya que posee varios ingredientes con o sin tratamiento térmico, descritos a continuación:

- **Pan**

Es un alimento horneado de masa previamente fermentada, elaborado a base de: harina, agua, sal, azúcar, levadura, leche, mantequilla y huevos. En panificación se utiliza harinas con alto contenido de proteínas (harinas duras), junto con el agua, lípidos y el amasado dan la contextura adecuada. Formando un producto final que posee alrededor de 73,5% hidratos de carbono, 9,8% de proteínas y 9,9% de grasas; presentando un pH 4.0-4.4 y aw 0,96. Este producto es de fácil deterioro por parte de mohos y levaduras; El control microbiológico exige el análisis de: *Escherichia coli*, *Estafilococo aureus*, *Clostridium perfringens* y *Salmonella spp.* (Falconi & Espin, 2014)

- **Salchicha**

Es un embutido elaborado a base de músculo esquelético de ganado (res y/o cerdo) o pollo, pudiendo ser crudos, cocidos o ahumados introducidos en tripas. Contiene un porcentaje de agua entre 60-70%, hidratos de carbono de 19,9%, proteínas 6-13% y Grasas 12,6-31,9%. El control microbiológico para salchicha es: *mohos y levaduras*, aerobios mesófilos, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Estafilococo aureus* y *Salmonella spp.* (DIGESA, 2015)



- **Salsa de tomate:**

La salsa de tomate es una salsa elaborada a base de jugo y pulpa de tomates que han sido previamente cocidos o no, para obtener la consistencia característica. Contiene un pH inferior a 4,5, acidez 2,5% en ácido acético y aw 0,73. El control microbiológico se basa en el contenido de mohos (hifas) y bacterias acidúricas (*Lactobacilos homofermentadores* y *heterofermentadores*). (INEN 1026, 2010)

- **Mayonesa:**

La mayonesa es una salsa delgada formada por medio de emulsión de aceites vegetales comestibles, yema de huevo, vinagre y agua; además se añade ciertos aditivos como: conservantes, antioxidantes, reguladores de pH, estabilizantes y espesantes. Contiene un pH inferior a 4,2, acidez 0,2% en ácido acético, aw 0,92 y alto contenido graso (70-80%). El control microbiológico se basa en el recuento de aerobios mesófilos, coliformes, *Escherichia coli*, *Estafilococo aureus*, mohos y levaduras, y *Salmonella spp.* (Navarro, 2015) (Valenzuela, 2016)

- **Mostaza.**

La mostaza es una salsa elaborada a partir de semillas de la planta de mostaza, molidas y mezcladas con agua. Contiene un pH inferior a 4,0, acidez 0,3% en ácido acético. El control microbiológico se basa en el recuento de aerobios mesófilos y detección *Salmonella spp.* (Paunero, 2015)

1.6 Requisitos microbiológicos del Hot Dog

En la normativa ecuatoriana no existe parámetros microbiológicos para el alimento hot dog tipo perrito caliente, por lo que el análisis se basa en la Norma Peruana DIGESA que incluye parámetros microbiológicos para “Embutidos con tratamiento térmico” (Tabla1) y “Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico” (Tabla 2).



Universidad de Cuenca

Tabla 1 Límites microbiológicos del análisis de embutidos con tratamiento térmico para hot dogs de la Norma DIGESA N°10.11

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	C	Límite por gramo	
					M	M
<i>Aerobios Mesófilos</i>	3	3	5	1	5×10^4	5×10^5
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>Clostridium perfringens</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>Salmonella spp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	

Categoría: Serie de factores que relacionan el peligro de la presencia de determinadas especies o grupos bacterianos en un alimento (1 a 15 categorías)

Clase: Criterios de decisión (dos categorías o de tres categorías)

n: Número de unidades a analizar

C: Número máximo de unidades defectuosas que se pueden aceptar

m: Número máximo de bacterias pertinentes/g

M: Valor iguales o superiores son inaceptables.

Fuente: (DIGESA, 2015)

Tabla 2 Límites microbiológicos para comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico de la Norma DIGESA 15.1

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	C	Límite por gramo	
					m	M
<i>Aerobios Mesófilos</i>	2	3	5	2	10^5	10^6
<i>Coliformes</i>	5	3	5	2	10^2	10^3
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Salmonella spp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	

Categoría: Serie de factores que relacionan el peligro de la presencia de determinadas especies o grupos bacterianos en un alimento (1 a 15 categorías)

Clase: Criterios de decisión (dos categorías o de tres categorías)

n: Número de unidades a analizar

C: Número máximo de unidades defectuosas que se pueden aceptar

m: Número máximo de bacterias pertinentes/g

M: Valor iguales o superiores son inaceptables.

Fuente: (DIGESA, 2015)



1.7 Grupo de microorganismos

1.7.1 Microorganismos indicadores de alteración.

Son los microorganismos asociados a la vida útil y alteración del producto; pudiendo ser aerobios mesófilos, mohos y levaduras. Los microorganismos crecen selectiva y competitivamente en el alimento, iniciando el deterioro con una población heterogénea, conforme avanza el deterioro del alimento se reduce a poblaciones más homogéneas, hasta que finalmente sobrevive un solo tipo de microorganismo. De modo que una variedad inicial de microorganismo indica poco deterioro, al contrario una población homogénea o un solo tipo de microorganismo presente indica un deterioro avanzado. (DIGESA, 2015)

- **Aerobios mesófilos**

Estima la microflora total sin especificar el tipo de microorganismo presente, es además un indicador de calidad del producto, así como las condiciones higiénicas con las que fueron manipulados los alimentos desde su manufactura hasta su distribución. A este grupo pertenecen todas las bacterias aerobias, con una temperatura óptima de 30-40°C. (Passalacqua & Cabrera, 2015)

Los cálculos estiman el número de microorganismos presentes en un producto, pero la presencia o ausencia de microorganismos patógenos no depende del alto o bajo número de colonias. La interpretación de los resultados va a depender de varios factores del alimento como tipo de alimento (madurados con bacterias o con conservantes), manipulación, almacenamiento y conservación de los mismos. (Passalacqua & Cabrera, 2015)

Este tipo de microorganismo permite evaluar la calidad de un alimento así como de los ingredientes del producto final, demostrando; contaminación de la materia prima, deficiente manipulación durante el proceso de elaboración, inmediata alteración del producto, prediciendo así la vida útil de un alimento. (Ramiro, 2015)

1.7.2 Microorganismos indicadores de higiene

Son microorganismos no patógenos indicadores de la eficacia de los procesos de sanitización y desinfección de diversos productos. Ponen en manifiesto deficiencias microbiológicas de un alimento, el principal son Coliformes. (DIGESA, 2015)



- **Coliformes**

Son microorganismos Gram-negativos, bacilos cortos, aerobios o anaerobios facultativos, capaces de fermentar la lactosa y sacarosa con producción de ácido y gas a las 48h de incubación a 37°C. A este grupo pertenecen los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Siendo el género más representativo el de *Escherichia* la especie *coli*. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)

Los coliformes se eliminan fácilmente por tratamiento térmico, por lo cual son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación postproceso térmico. (Campuzano, 2015)

- ***Escherichia coli***

Es un bacilo corto móvil, Gram negativo termotolerantes (35 a 43°C), que está presente en el intestino del ser humano y animales de sangre caliente, estos constituyen el 1% de la flora normal del intestino, es utilizado como indicador de contaminación fecal de agua y de los alimentos. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)

La ausencia de este microorganismo permite demostrar una eficacia del control a nivel de cadena de frío así como también de procesos térmicos como pasteurización, ya que presenta su límite máximo de crecimiento en 7°C y es sensible a temperaturas superiores a 70°C. La congelación no garantiza la destrucción de bacterias viables presentes en un alimento. Otros factores que influyen en el desarrollo de este microorganismo son el pH y la aw, así un alimento altamente ácido y/o con aw de 0,94 influirá negativamente en la proliferación de este microorganismo. (Chadán, 2017) (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)

Existen varias cepas de *E. coli* patógeno como:

- a) ***E. coli* enterotoxigénicas:** más conocida como “diarrea del viajero”. son capaces de producir dos tipos de enterotoxinas: una termolábil que se inactiva a 60°C por 30 min y otra termoestable que resiste a 100°C por 15 min. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)
- b) ***E. coli* enterohemorrágica:** son productoras de citotoxinas capaces de destruir las células intestinales y causan colitis hemorrágicas caracterizadas por cólicos graves y diarreas. Puede llegar a desencadenar el síndrome urémico hemolítico provocado por fallo renal y anemia hemolítica. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)



- c) ***E. coli* enteroinvasiva:** son productoras de citotoxinas, inducen a enfermedades graves como colitis y una forma de disentería acompañada de fiebre y heces sanguinolentas. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)
- d) ***E. coli* enteropatógena:** es el principal causante de diarrea en niños, aún se desconoce su mecanismo. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)
- e) ***E. coli* enteroagregante:** son productoras de toxinas que estimulan la secreción intestinal capaz de originar diarrea persistente en niños. (Vázquez, O`Neill, & Legnani, 2013)

1.7.3 Microorganismos patógenos

Corresponde aquellos microorganismos responsables de trastornos gastrointestinales ya que poseen mayor virulencia o incidencia de causar ETAs, pueden ser bacterias, virus y parásitos. Las bacterias patógenas más destacables son *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, entre otros, de los cuales la cantidad de células viables condicionan su peligrosidad. Existen otros microorganismos cuya sola presencia indican peligrosidad para la salud como: *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*. (DIGESA, 2015)

- ***Staphylococcus aureus***

Es una bacteria esférica pequeña, Gram positiva. Son anaerobios facultativos pero crecen mejor en presencia de aire, todas las estirpes son coagulasa positivo, crecen entre 7 y 48°C con una temperatura óptima de 35-37°C. Son productoras de enterotoxinas que sobreviven por largos periodos de tiempos en ambientes secos y en alimentos con alto contenido de sales y azúcares. Estos microorganismos son capaces de producir rápidamente toxinas resistentes al calor, congelamiento y radiación; por lo que se considera como una bacteria causante de intoxicación alimentaria, después de ser ingeridas actúan de forma rápida manifestando síntomas de forma inmediata ya que resisten a enzimas proteolíticas (pepsina y tripsina). También produce infección de forma directa por destrucción e invasión tisular local la cual se disemina por vía sanguínea. (Calderon & Maria, 2010)



Este microorganismo se lo considera un indicador de deficiencia en la manipulación de alimentos, pues esta especie se encuentra habitualmente en piel y mucosas de los seres humanos y animales, formando parte de la flora normal. Los portadores se clasifican en, portadores sanos ocasionales, intermitentes o permanentes de este microorganismo. Por lo que no solo indica contaminación por manos sucias o infecciones. (Calderon & Maria, 2010) (Cervantes & García, 2014)

- ***Clostridium perfringens***

Son bacilo Gram positivo, anaerobio y formador de esporas pero aerotolerante, no móvil, productor de enterotoxinas, crecen entre 20 - 50°C, con una temperatura óptima de 45°C. Ampliamente distribuida en la naturaleza (suelo) e intestino de animales y el hombre. (Renapra & Anmat., 2015)

Es la tercera causa de infección alimenticia, después de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*.

Existen 5 tipos de *C. perfringens* (A,B,C,D y E), siendo el tipo A el causante de brotes de ETAs, produce dos tipos de toxinas, una termoresistente (resisten a temperaturas de ebullición por 1 a 3 horas, equivalente a un 10%) y otra termolábil (se aíslan en un 90% del intestino animal). El *Clostridium perfringens* tipo C produce enteritis nefrótica.

Las enterotoxinas se producen al momento de la esporulación del microorganismo, se unen al receptor de membrana, alterando la permeabilidad calcio dependiente, desencadenado un daño tisular o lisis por el desequilibrio electrolítico. (Renapra & Anmat., 2015)

Las temperaturas de cocción deficiente ayudan a la eliminación de las formas vegetativas más no elimina las formas esporuladas, las cuales proliferan cuando existe un descenso de temperatura muy lento entre 50 y 25°C. (Renapra & Anmat., 2015)

- ***Salmonella spp***

Son bacterias Gram negativas, anaerobias facultativas, mesófilos, con una temperatura óptima de 35-37°C, presenta un límite de crecimiento de 7°C, aunque a una temperatura de 15°C o menos se reduce significativamente. Las serovariedades zoonóticas son consideradas como *Salmonella no Typhi*, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en el reino animal, siendo las aves y los derivados fuente común de infección, además es responsable de causar millones de casos de ETAs cada año según la OMS. (Heredia & Vinuesa, 2018)



Constituye una de las principales causas de gastroenteritis con cuadros febriles en el hombre, presenta un período de incubación variado por lo general de 8 a 72 horas, a veces inferior a 6 horas, y en repetidas ocasiones en períodos mayores a 72 horas. Salmonella no sobrevive a temperatura de pasteurización, así tampoco a pH por debajo de los 4.5 y su mayor característica es que resisten a la deshidratación. (Heredia & Vinueza, 2018)

Este microorganismo tiene la capacidad de producir dos cuadros clínicos, gastroenteritis causada por varios serotipos como *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, y fiebre tifoidea caracterizada principalmente por temperaturas corporales de 39 a 40°C, es causada por *S. paratyphi* A, B y C. En algunas ocasiones estos cuadros clínicos pueden causar bacteriemia e infecciones focalizadas o sistémicas. (Heredia & Vinueza, 2018) (Martínez, 2016)

Se ha reportado que los infectados pueden ser un foco de contaminación por varios días o semanas después, incluso por más de un año. (Heredia & Vinueza, 2018) (Martínez, 2016)

Los principales alimentos portadores o vehículos son carne, leche, aves de corral y principalmente huevos, este último es utilizado para la preparación de aderezos como mayonesa, de forma casera puede ser un foco de contaminación pues no posee una previa cocción. La contaminación del huevo se puede dar de forma transovárica o después de la puesta, los microorganismos ingresan a través de los poros de la cáscara, siendo la principal fuente la yema por su alto contenido de nutrientes. (Heredia & Vinueza, 2018) (Martínez, 2016)

- **Listeria monocytogenes**

Es un bacilo corto Gram positivo, no esporulado móvil a 25°C e inmóvil a 35°C, aerobio o anaerobio facultativo, intracelular oportunista, que se desarrolla de 1 a 45°C con una temperatura óptima de 30 a 37°C. Soporta condiciones adversas de frío (<0°C), calor (>50°C), acidez (pH >4.3) y salinidad (12% NaCl). (Price, Jayeola, Niedermer, & Parsons, 2017)

Produce dos tipos de manifestaciones clínicas, invasiva la cual se da cuando las bacterias atraviesan la barrera intestinal avanzando a sistemas y órganos que son blanco de infección; y, no invasiva la cual se caracteriza por gastroenteritis como diarrea



fiebre y mialgias. (Price, Jayeola, Niedermer, & Parsons, 2017) (Svetoslav & Otavio, 2018)

La *Listeria monocytogenes* es un microorganismo ambiental capaz de formar bio películas como barrera de protección frente a los agentes antimicrobianos, por ello se adhieren a las superficies persistiendo en equipos y utensilios por tiempos prolongados, siendo el único método de eliminación la pasteurización. (Price, Jayeola, Niedermer, & Parsons, 2017) (Svetoslav & Otavio, 2018) (Muñoz, Chavez, & Rodriguez., 2015)

1.8 Factores que influyen directamente sobre el crecimiento microbiano.

Factores intrínsecos

- Composición del alimento: hace referencia a la cantidad de nutrientes que posee el alimento (hidratos de carbono, grasas, proteínas, vitaminas y minerales) y que requiera el microorganismo para proliferar.
- pH y acidez: cada microorganismo necesita de pH específico para proliferar, y la acidez inhibe hasta cierto punto el crecimiento bacteriano.
- Actividad acuosa (aw): es la relación que existe entre el agua libre y el agua total presente en el alimento, a mayor cantidad acuosa mayor será la probabilidad de crecimiento bacteriano. (Moreno & Alarcòn, 2015)

Factores extrínsecos.

- Concentración de oxígeno: constituye un factor selectivo para los microorganismos, ya sean aerobios (requieran oxígeno para proliferar), anaerobios (requieren ausencia) o facultativos (crecen en presencia o ausencia de oxígeno).
- Temperatura: un 60% de microorganismos crecen entre 5-60°C siendo la temperatura optima de 37 °C, es por esto que se debe mantener a los alimentos por encima o debajo de estas temperaturas.
- Humedad: mayor humedad mayor proliferación. (Moreno & Alarcòn, 2015)



2 METODOLOGÍA

2.1 Tipo de estudio

Este trabajo de titulación fue un estudio observacional de diseño transversal de tipo descriptivo.

2.2 Área de Estudio y toma de muestra

Puestos de ventas ambulantes de hot dogs localizados en la Ciudad de Cuenca-Ecuador. Según el catastro del Departamento de Control Urbano del GAD municipal constan 10 expendedores de este tipo de alimento, considerando este el número de muestras base para el estudio, los cuales no fueron localizados en su mayoría por lo que se buscó nuevos vendedores de diferentes localidades de la Ciudad, descritos en el ANEXO N°1 y ubicados en el ANEXO N° 2.

La muestra consistió en el hot dog completo (pan y vienesa), aderezos (mayonesa, salsa de tomate y mostaza) e ingredientes adicionales (cebolla y tomate cocidos).

Se tomaron 20 muestras, en 10 puestos de venta ambulante. Siendo la unidad muestral un hot dog, el cual se solicitó al expendedor dividir en dos porciones que fueron recolectadas en fundas herméticas (ziploc), previamente etiquetadas y transportadas según la norma NTE INEN 1529-2:2013, en un envase secundario (cooler) con pilas de hielo a temperatura de refrigeración (2-8°C); la primera porción se utilizó para el análisis de *Clostridium perfringens* llevada al laboratorio externo y la segunda porción fue llevada al laboratorio de microbiología de alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

2.3 Materiales, equipos y reactivos

Materiales

- Lámpara de alcohol
- Pipeta automática
- Tubos de ensayo
- Matraz
- Varilla de vidrio
- Probeta 100ml
- Puntas con filtros estériles



Equipos

- Autoclave N° serie 919997, marca All American, modelo 930.
- Balanza analítica N° serie 14952, marca Ohaus, modelo Scout II
- Estufa Fanem N° serie 91974
- Refrigeradora N° serie 14342, marca Philco, modelo Br 203

Reactivos

- Placas compact Dry TC, EC y X SA
- Reveal 2.0 para *Salmonella* y *Listeria spp.*
- Agua destilada
- Agua de peptona

2.4 Métodos y técnicas de análisis

Para el análisis microbiológico de hot dogs, se realizaron ensayos preliminares de diluciones sucesivas con el fin de determinar las diluciones a utilizar. Las diluciones preliminares utilizadas fueron: 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000; según los resultados se llegó a la conclusión de utilizar las diluciones 1/10 y 1/100 para la determinación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* pues no existió crecimiento en menor dilución, en cambio para la determinación de aerobios mesófilos se utilizó la dilución 1/100 y 1/1000 debido a que la dilución 1/10 dio resultados muy numerosos para contar (MNPC).

Preparación de la muestra para el análisis

Se tomaron 60 g de muestra para el análisis microbiológico: 10 g para el análisis de *S. aureus*, A. mesófilos, *E. coli*; 25g de muestra para análisis de *Salmonella* y 25 g de muestra para el análisis de *Listeria monocytogenes*. Para el análisis de *C. perfringens* se envió al laboratorio externo 60 g aproximadamente.

2.5 Placas compact DRY

Son placas cromogénicas para detección y cuantificación de microorganismo de diversos tipos de muestras, presentan un procedimiento sencillo y seguro, equivalente a procedimientos tradicionales como recuento en placa. La interpretación en estas placas es específica, ya que cada microorganismo desarrolla un color característico debido a indicadores redox y sustratos cromógenos, en los tiempos y temperaturas correspondientes de incubación. (HyServe, 2018)



Las placas Compact Dry se pueden almacenar a temperatura ambiente hasta un periodo de 24 meses. La tapa con cierre giratorio permite transportar las muestras con seguridad. (HyServe, 2018)

2.5.1 Aerobios mesófilos, Compact Dry TC

La determinación de aerobios mesófilos se da mediante las placas compact Dry TC que presenta un agar base de cultivo estándar, el cual proporciona un medio con nutrientes necesarios para un recuento bacteriano viable. Formado por sal de tetrazol e indicador redox que permite una coloración roja de las colonias. (HyServe, 2018).

Antes de la siembra en placa, se realizaron varias diluciones en agua de peptona según ANEXO N°3. El método de siembra de las placas compact Dry consiste en sembrar 1mL con pipeta automática de forma perpendicular a la placa. Se incubaron en la estufa a 37°C de 24 a 48 horas. ANEXO N° 4

2.5.2 Coliformes/*Escherichia coli*, Compact Dry EC

La determinación de coliformes y *Escherichia coli* se da mediante las placas compact Dry EC que contiene dos sustratos enzimáticos cromógenos, magenta-GAL específico para detección de *coliformes* pues desarrolla coloración rosa salmón y X-Glucoronico específico para detección de *E. coli* pues desarrolla coloración azul. La suma total de las colonias da como resultado la cifra total del grupo coliformes. (HyServe, 2018)

Antes de la siembra en la placa se realizaron varias diluciones en agua de peptona según ANEXO N°3, se siembra según método para placas compact Dry. Se incuban en la estufa a 37 +/- 2°C por 24 horas. ANEXO N° 5

2.5.3 *Staphylococcus aureus*, Compact Dry X-SA

La determinación de *Staphylococcus aureus* se da mediante las placas compact Dry X-SA, contiene agar de sal manitol mejorado, la detección se realiza por medio de una reacción de yema de huevo, a efectuar mediante la suspensión Compact Dry SA Egg Yolk. El complejo lípido-proteínico (lecitina) de la yema de huevo se desintegra por obra de cierta lipasa del *Staphylococcus aureus*, y modifica con ello el color del medio ambiental de la colonia a verde azulada. (HyServe, 2018)

Antes de la siembra en la placa se realizaron varias diluciones en agua de peptona según ANEXO N°3, se siembra según método para placas compact Dry. Se incuban en la estufa a 37°C por 24 horas. ANEXO N°6



2.5.4 Medio SPS Agar

Permite el aislamiento selectivo de *Clostridium*, especialmente para *C. perfringens* y *C. botulinum*. Se fundamenta en la utilización de sulfito sódico, el cual es reducido a sulfuro de hidrógeno por la mayoría de los *Clostridium spp*, luego este reaccionará con citrato férrico y formará sulfuro de hierro (precipitado) lo cual le proporcionará un color negro a las colonias. Este medio posee antibiótico lo cual inhibe el crecimiento de bacterias acompañantes en la muestra diferentes de *Clostridium spp*, es selectivo pues si crecen otros microorganismos no producirán SH₂ por lo que no formarán colonias negras. (Microbiología: Laboratorio de aguas y alimentos, 2014)

Composición:

- Peptona de caseína
- Extracto de levadura
- Citrato de hierro (III)
- Sulfito sódico
- Polimixina-B sulfato
- Sulfadiazina sódica
- Agar

Este microorganismo fue analizado por un laboratorio certificado, debido al poco acceso a los medios de cultivos necesarios. Se trabajó según el método tradicional de siembra en profundidad usando el agar SPS y para confirmación tioglicolato.

El método consiste en realizar primero diluciones según ANEXO N°3, luego se siembra por duplicado 1 ml de cada dilución en caja Petri, se agrega 20 ml del agar SPS, se homogeniza cuidadosamente y se deja solidificar. Es opcional agregar una capa extra de agar SPS o agar Nutritivo, con el objetivo de sellar el cultivo. Se incuba en anaerobiosis sin invertir la caja por 20-24 horas a 33 ± 2 °C.

La confirmación se realiza mediante la siembra en Tioglicolato de dos colonias típicas (colonias negras) crecidas en el agar SPS, se incuba en anaerobiosis por 24 horas a 33 ± 2 °C; se debe observar bacilos Gram positivos en tinción Gram.

Los cálculos se realizan a través del conteo de las colonias multiplicado por el factor de la dilución, se expresa en número de *Clostridium perfringens* /g o mL de muestra.

Los resultados por parte del laboratorio externo fueron emitidos en un informe técnico según ANEXO N° 8 y resumidos en ANEXO N° 9.



Universidad de Cuenca

2.5.5 Método Reveal 2.0 para Salmonella

Este método permite una recuperación rápida del microorganismo en muestras alimentarias, concentrados para animales y muestras ambientales en un tiempo de 24 horas. Se fundamenta en la presencia de anticuerpos específicos que pertenezcan a los serotipos somáticos A - E de *Salmonella* entérica, son los serotipos más comunes en alimentos y fuentes no alimentarias. Presenta dos medios:

- a. **Revive**.- Contiene nutrientes para recuperar microorganismos sometidos a estrés o lesión.
- b. **Rappaport-Vassiliadis (RV)**.- Favorece el crecimiento de *Salmonella* spp a niveles que puedan ser detectables. (NEOGEN, Reveal 2.0 for *Salmonella*, 2018)

Para su determinación se procede a incubar la muestra en el medio 1 (Revive) y medio 2 (Rappaport Vassiliadis) según el ANEXO N° 10. Se toma 200 uL de muestra de Reveal y se coloca en un recipiente graduado por 15 min a temperatura ambiente con la tira reactiva, la cual posee anticuerpos anti-*Salmonella* conjugados con partículas de oro coloidales formando un complejo antígeno anticuerpo el que se pronunciará en la zona de reacción como una línea visible. Este procedimiento se debe realizar dentro de las 6 horas después de la incubación.

- El Kit se almacena de 15 a 30 °C, no se debe autoclavar.
- Utilizar agua estéril para la hidratación de los medios.
- Permitir un flujo de aire que ayudará a la proliferación del microorganismo.
- Precalentar agua estéril a 42°C para rehidratación de Revive y 36°C para rehidratación de RV.
- Respetar los periodos y temperaturas de incubación establecidos para evitar resultados erróneos.
- La lectura se debe realizar antes de los 20 min, pues después de ello, se considera un resultado erróneo por sobre explotación del dispositivo de prueba. (NEOGEN, Reveal 2.0 for *Salmonella*, 2018)

2.5.6 Reveal 2.0 para Listeria

Este método permite una recuperación rápida del microorganismo en muestras alimentarias y ambientales en un tiempo de 27-30 horas. Detecta todas las especies de *Listerias* spp, excepto *Listeria grayi*.

Contiene medio LESS (Enriquecimiento de *Listeria* en un solo paso), que permiten un enriquecimiento selectivo de las especies de *Listeria* ANEXO N° 11, seguido se



Universidad de Cuenca

neutraliza 2 mL a temperatura de 80°C, después se añade 200 uL de muestra de Reveal al recipiente graduado y se coloca la tira reactiva o dispositivo Reveal, por 20 min a temperatura ambiente, la cual posee anticuerpos anti *Listeria* específicos conjugados con partículas de oro coloidales formando un complejo antígeno anticuerpo el que se pronunciará en la zona de reacción como una línea visible.

Un resultado positivo se manifiesta con dos líneas cromogénicas en el dispositivo Reveal, en cambio el resultado negativo genera una línea cromogénica en la zona de control, y si no se manifiesta la línea control se considera prueba inválida y se debe repetir el proceso.

- El Kit se almacena de 15 a 30 °C, no se debe autoclavar.
- Utilizar agua estéril para la hidratación de los medios.
- Debe permitirse un flujo de aire que ayudará a la proliferación del microorganismo.
- La lectura se debe realizar después de 20 min pues antes de ello se considera un resultado erróneo. (Neogen Reveal 2.0 for Listeria, 2018)

2.6 Cálculos

Los cálculos de los recuentos se realizaron en base de la siguiente fórmula:

$$N = \frac{(N^o)}{V(1 + 0.1(n))(d)}$$

N^o = número de colonias
V = Volumen de siembra
n = número de placas sembradas
d = Dilución de siembra
Fuente: (INEN 1529-14, 2013)

2.7 Análisis estadístico

El tipo de análisis empleado fue descriptivo para el cual se utilizó el programa Microsoft Excel con las siguientes variables: media, desviación estándar y porcentaje de cumplimiento evaluados en un margen establecidos por las Normas DIGESA para así establecer un criterio de cumplimiento o no de la misma.

2.8 Mapeo

Se realizó un mapeo de los vendedores ambulantes de los hot dogs que forman parte de este análisis en la ciudad de Cuenca por lo que existe una distribución geográfica homogénea. Se utilizó el programa Google Earth pro. ANEXO N° 2



2.9 Capacitación

En conjunto con el Departamento de Control Urbano del GAD municipal de Cuenca, se efectuó una capacitación a los vendedores ambulantes de hot dogs con el tema “Medidas de control para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos”, el día martes 11 de Diciembre del 2018 en el salón de conferencia del GAD municipal. Se elaboró un tríptico informativo y diapositivas los cuales fueron aprobados por las autoridades municipales y entregados a los vendedores el día de la capacitación.
ANEXO N° 12

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio fue de varios sectores de la ciudad de Cuenca, en el cual se analizaron a 10 vendedores ambulantes de hot dogs, por duplicado dando un total de 20 muestras procesadas en 4 muestreos, en un periodo comprendido entre Junio y Julio del 2018.
ANEXO 1

Las muestras analizadas fueron hot dogs tipo perros calientes que consisten en pan, salchicha, refrito (cebolla y tomate), aderezos (mayonesa, salsa de tomate y mostaza).

Los análisis microbiológicos se analizaron en base a las Normas DIGESA “Embutidos con tratamiento térmico” y “Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico”. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla N° 3 y 4, detallados en el ANEXO 9

Tabla 3 Resultados del análisis microbiológico de embutidos para hot dogs.

Microorganismos analizados	Recuento		% de Cumplimiento de la Norma DIGESA N° 10.11	Límites permitidos	
	Media	DE		Mínimo	Máximo
Aerobios Mesófilos	5,9 x10 ^{2*}	4,18 x10 ⁴	95	5x10 ⁴	5x10 ⁵
<i>Escherichia coli</i>	5,45 x10 ^{3**}	0	95	10	10x 10 ²
<i>Estafilococo aureus</i>	0	0	100	10	10x 10 ²
<i>Clostridium perfringens</i>	< 10 ^{***}	0	100	10	10x 10 ²
<i>Salmonella spp.</i>	9 ^{****}	0	55	Ausencia/25g	
<i>Listeria</i>	2 ^{*****}	0	90	Ausencia/25g	

* Media tomada de 19 muestras cuantificadas, 1 muestra con recuento MNPC

** Único dato de las 20 muestras analizadas

*** 15 muestras refieren conteo < 10, y 5 muestras ausencia total

**** Representa el número de muestras con resultado positivo

***** Representa el número de muestras con resultado positivo

Fuente: (DIGESA, 2015)



Tabla 4 Resultados del análisis microbiológico de comida preparada

Microorganismos analizados	Recuento		% de Cumplimiento de la Norma DIGESA N° 15.1	Límites permitidos	
	Media	DE		Mínimo	Máximo
Aerobios Mesófilos	5,9 x10 ² *	4,18 x10 ⁴	95	5x10 ⁵	5x10 ⁶
Coliformes	8,2 x10 ¹ **	1,34 x10 ³	90	10 ²	10 ³
<i>Escherichia coli</i>	5,45 x10 ³ ***	0	95	10	10x 10 ²
<i>Estafilococo aureus</i>	0	0	100	10	10x 10 ²
<i>Salmonella spp.</i>	9 ****	0	55	Ausencia/25g	

* Media tomada de 19 muestras cuantificadas, 1 muestra con recuento MNPC

** Media tomada de 19 muestras cuantificadas, 1 muestra con recuento MNPC

*** Único dato de las 20 muestras analizadas

**** Representa el número de muestras con resultado positivo

.Fuente: (DIGESA, 2015)

El análisis microbiológico de las 10 muestras de hot dogs examinadas con sus respectivos duplicados denotan un porcentaje de cumplimiento de la Norma DIGESA “Embutidos con tratamiento térmico”, para aerobios mesófilos 95%, *Escherichia coli* 95%, *Clostridium perfringens* y *S. aureus* 100%, *Salmonella spp* 55% y *Listeria monocytogenes* 90%.

En base a la Norma DIGESA “Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico” los porcentajes de cumplimientos son los mismos, a pesar de que los límites en cuanto a aerobios mesófilos son mayores. Además, se incluye la determinación de coliformes totales. El cambio de estos dos parámetros se puede basar en que existirá una mayor manipulación debido a los diversos ingredientes que poseen, sometidos o no a tratamiento térmicos.

Se analizó todo el hot dog puesto que en este tipo de alimentos no se asegura una homogeneidad de microorganismos por la variedad de sus componentes.

En los resultados se puede observar que el 100% de las muestras indican presencia de bacterias aerobias sin especificación de su tipo, sin embargo existe un cumplimiento del 95% de este microorganismo según los límites permitidos en las Normas DIGESA N°10.11 y 15.1, con una gran variabilidad del 70% (porcentaje de coeficiente de variación) pudiendo deberse a que los alimentos no han sido manipulados ni conservados correctamente, que cada manipulador presenta su forma de preparación y que el alimento posee varios ingredientes.



Universidad de Cuenca

En este estudio se estableció un 25% de muestras positivas para coliformes totales, del cual el 10% incumplen la Norma DIGESA N°15.1. También se determinó un 5% de muestras positivas para el indicador de contaminación fecal y patogenicidad, *Escherichia coli*, esta bacteria es una de las principales en causar diarreas agudas en niños menores de 5 años (Gómez, 2014). La determinación de *Escherichia coli*, permite identificar una contaminación fuerte y/o reciente por desechos animales o humanos, en cambio sí se detectan coliformes totales pero no *Escherichia coli*, señala que la contaminación es reciente pero de origen no fecal o contaminación fecal lejana, sin supervivencia de coliformes intestinales. (Blanco & Casadiego, Calidad microbiológica de alimentos remitidos a un laboratorio de salud pública, 2016) (Díaz & Rodríguez, 2013)

C. perfringens y *S. aureus* cumplieron con la norma, el recuento del primero indica presencia del mismo en valores por debajo del límite inferior establecidos en la norma.

El análisis de *Salmonella* fue uno de los más importantes por su grado de patogenicidad y por su alta incidencia en las muestras de los hot dogs, 45% de incumplimiento. Esto podría deberse a varios factores principalmente por la manipulación, transporte y almacenamiento de aderezos inadecuados. Además durante el muestreo se indagó la forma de preparación de la mayonesa, pudiendo ser el foco principal de contaminación pues esta es elaborada de forma casera. Se recomienda un análisis con mayor frecuencia y número de muestras de cada vendedor enfocadas a este microorganismo. (Bayona, 2016). En estudios de alimentos preparados a base de huevos, se determinó que no se deberían utilizar huevos sin pasteurizar, menos en alimentos frescos como la mayonesa. (Rincón, Ramírez Rueda, & Vargas, 2015)

En el análisis de *Listeria monocytogenes* los hot dogs analizados dieron un 10% de incumplimiento, este tiene un alto índice de mortalidad (20%) vs otros microorganismo patógenos como *E. coli* y *Salmonella*. (Flor, 2017) No se establece una vía de contaminación específica a este microorganismo pues presenta gran ubicuidad en el medio ambiente. (Fernández, 2016)

La contaminación de hot dogs puede darse por deficiencias sanitarias de la materia prima y/o del manipulador, así como todas las acciones incorrectas que lleve a cabo, transformándose en el principal vehículo de microorganismos patógenos o indicadores de calidad. ANEXO 13 (Blanco, Casadiego, & Pacheco, 2015)



Es muy probable que la contaminación sea por tres vías existentes, la utilización del mismo utensilio en el proceso de preparación del alimento, los aderezos no se encuentren almacenados en recipientes adecuados (sin tapa, frascos reutilizables y/o sucios) y que el área de preparación del alimento presente poca higiene esto podría llevar a causar una contaminación cruzada. Si los vendedores no usan material de protección, ofrecen el alimento con la mano (pudiendo estar sucia y/o con uñas largas) estarían propiciando una contaminación por manipulación o de origen si la materia prima usada está contaminada (embutidos).

Otro problema que incrementa la contaminación podría ser cuando la materia prima se mantiene a temperaturas inadecuadas, centrándonos al hot dog de tipo perrito caliente, según el modo de preparación se mantienen el embutido y el refrito (cebolla y tomate) a temperaturas menores a ebullición o a temperaturas intermitentes propiciando el medio idóneo para la proliferación bacteriana.

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Mediante los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos de hot dog vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca, Ecuador se determina que el 60% de muestras analizadas incumplen con los parámetros establecidos en la Norma DIGESA N° 10.11 de aerobios mesófilos 5%, *Escherichia coli* 5%, *Salmonella spp* 45% y *Listeria monocytogenes* 10%. El incumplimiento de la Norma DIGESA N° 15.1 para coliformes totales es de 10%, los demás parámetros poseen los mismos porcentajes de incumplimiento que la Norma N°10.11. Indica que este producto por su complejidad de componentes presenta facilidad de contaminación es por ello que se debería llevar un control sanitario más riguroso ya que es poco apto para el consumo

La variación de temperaturas durante la cocción del refrito y embutido debe ser controlada para evitar tener el alimento en la zona de peligro (5 a 60°C) por tiempos prolongados.

A través de una capacitación a los vendedores de este tipo de alimentos se pretende mejorar la calidad del producto y mantener un control de buenas prácticas de manufactura.

4.2 Recomendación

Actualizar el registro del GAD municipal de los vendedores ambulantes de hot dogs, de esta forma se tendrá una mayor vigilancia y control de estos productos.



Universidad de Cuenca

Elaborar planes de capacitación constantes en cuanto a la manipulación correcta de los alimentos y así mejorar la calidad de los mismos

Para una evaluación de la inocuidad de los alimentos se debe sumar el análisis de superficies de contacto con el alimento desde la materia prima hasta que llega al consumidor así también como un control sanitario de los manipuladores de hot dogs.



5 BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, V. (2014). *Protocolo de vigilancia y control de enfermedades transmitidas por alimentos*.
- Calderón, V., & María, P. (2010). Metodología analítica para alimentos y bebidas. En *Microbiología Alimentaria* (págs. 41- 60). Madrid: Díaz de Santos S.A. Obtenido de <https://books.google.com.ec/books?id=9Elfkks8uxMC&printsec=frontcover&dq=aerobios+mesofilos+pdf&hl=es->
- Cervantes, E., & García, R. (2014). Características de *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina*, 61(1), 28-40.
- Cervantes, J. (2014). La economía callejera en las ciudades contemporáneas. Las redes efímeras de venta ambulante como modelo para la reconstrucción de lo urbano. Obtenido de <http://rua.ua.es/dspace/handle/10045/42271>
- Chadán, G. (2017). *Universidad Autónoma de los Andes*. Recuperado el Julio de 2018, de https://issuu.com/gina135/docs/investigaci_n_sobre_las_etas_en_el
- Costa, J., & Gregorio, C. (2016). *La venta ambulante y sus mercados*. Investigaciones geográficas (Esp), (1).
- DIGESA. (2015). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. Obtenido de http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf
- Falconi, N., & Espin, J. (2014). *Estudio sobre el crecimiento de moho en el pan común*. Recuperado el Agosto de 2018, de <http://docplayer.es/6147087-Facultad-de-ciencias-quimicas.html>
- FAO (2017). *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación de Inocuidad y calidad de los alimentos*. Obtenido de http://www.fao.org/docrep/MEETING/007/J1875s.HTM#P33_2283
- Gómez, O. (2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* patógenos en Colombia. *Rev Chile Infectol*, 31, 577-586.
- Heredia Coba, A. L. (2018). *Aislamiento y caracterización de resistencia a los antibióticos de Salmonella en coches de supermercados ubicados en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- HyServe. (2018). *Compact Dry*. Recuperado el Agosto de 2018, de https://hyserve.com/files/CompactDry_ES.pdf
- INEN 1026. (2010). *Salsa de tomate*. Recuperado el Septiembre de 2018, de <https://archive.org/details/ec.nte.1026.2010/page/n5>
- INEN 1338:96. (2012). *Carnes y productos cárnicos, salchichas*. Recuperado el Septiembre de 2018, de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/149/4/03%20AGP%2063%20NTE%20INEN%201338.pdf>
- INEN 1529-14. (2013). *Instituto Ecuatoriano de Normalización*. Recuperado el 22 de 01 de 2019, de Control microbiológico de los alimentos : 181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_1529-14-1.pdf
- Jácome, E. (Febrero de 2017). *Diario El Comercio*. Recuperado el Julio de 2018, de 47% de alimentos de la calle incumplen normas, según Secretaría de Salud:



- <https://www.elcomercio.com/tendencias/alimentos-calle-contaminacion-enfermedades-secretariadesalud.html>
- Martínez Núñez, C. E. (2018). *Prevalencia De Salmonella Spp En Muestras De Leche Cruda De Empresas Ganaderas Doble Proposito Del Departamento De Córdoba-Colombia* (Doctoral dissertation).
- Moreno, M., & Alarcón, A. (2015). Higiene alimentaria para la prevención de transtornos digestivos. *Clínica condes*, 749-755. Obtenido de http://www.clinicalascondes.com/area-academica/pdf/MED_21_5/749_755_Dr_Moreno.pdf
- Municipio de Cuenca. (2017). *Ordenanza que regula las actividades del comercio ambulatorio y otras, en los espacios públicos del área urbana del cantón Cuenca*. Recuperado el Julio de 2018, de <http://www.guardiaciudadanacuenca.gob.ec/sites/default/files/ordenanza182-comercio%20ambulatorio.pdf>
- Muñoz, Á. B., Chaves, J. A., Rodríguez, E. C., & Realpe, M. E. (2013). Listeria monocytogenes en manipuladores de alimentos: un nuevo enfoque para tener en cuenta en los peligros de la industria alimentaria. *Biomédica*, 33(2), 283-91.
- Navarro, N. (2015). *Detección e identificación de Salmonella enterica susbp. enterica*. Recuperado el Agosto de 2018, de https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/27914/TESIS_CRISPR_SALM.docx.pdf?sequence=1
- Neogen Reveal 2.0 for Listeria. (2018). Obtenido de <https://foodsafety.neogen.com/en/reveal-2-listeria>
- NEOGEN, Reveal 2.0 for Salmonella. (2018). Obtenido de <https://foodsafety.neogen.com/en/salmonella>
- OMS. (2016). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el Noviembre de 2018, de Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos: [file:///C:/Users/Zona/Downloads/CXG_021s%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Zona/Downloads/CXG_021s%20(3).pdf)
- Passalacqua, N., & Cabrera, J. (2015). *Análisis microbiológicos de los alimentos; microorganismos indicadores*. Recuperado el Agosto de 2018, de http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf
- Paunero, I. (2015). *Investigaciones en mostaza, coriandro y otros*. Recuperado el Agosto de 2018, de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-memoria_tecnica.pdf
- Price, R., Jayeola, V., Niedermer, J., & Parsons, C. (2017). *Listeria monocytogenes key virulence determinants hly and drFa are involved in Biofilm formation and aggregation but not colonization of fresh produce*. Recuperado el Noviembre de 2018, de <http://www.mdpi.com/2076-0817/7/1/18/htm>
- Ramiro, V. (2015). *Análisis de mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y Salmonella spp.* Recuperado el Agosto de 2018, de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1553/1/AGI-2002-T036.pdf>
- Real academia de la lengua. (2017). *Definición de hot dog*. Recuperado el Julio de 2018, de <http://dle.rae.es/?id=SiY2KtS>
- Renapra, & Anmat. (2015). *Enfermedades transmitidas por alimentos; toxico infección por Clostridium perfringes*. Recuperado el Septiembre de 2018, de www.anmat.gov.ar/webanmat/Publicaciones/FT_Clostridium_perfringes.pdf



- Rincón, D., Ramírez Rueda, R., & Vargas, J. (Mayo de 2015). *Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/suis/v43n2/v43n2a08.pdf>
- Svetoslav, D., & Otavio, A. (2018). Combined effect of bactericin produced by Lactobacillus platarum ST8SH and vancomycin propolis or EDTA for controlling biofilm development by Listeria monocytogenes. *Argentina de Microbiología*. Recuperado el Septiembre de 2018, de . (Marzo de 2018). Revista Argentina de Micorbiología. Obtenido de Combined effect of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum ST8SH and vancomycin, propolis or EDTA for controlling biofilm development by Listeria monoc
- Valenzuela, F. (2016). *Características reológicas de la mayonesa*. Recuperado el Agosto de 2018, de http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2010/qf-valenzuela_cf/pdfAmont/qf-valenzuela_cf.pdf
- Campuzano, S., Mejía Flórez, D., Madero Ibarra, C., & Pabón Sánchez, P. (2015). Determination of microbiological and sanitary quality of prepared food sold in the street of the city of Bogota, DC. *Nova*, 13(23), 81-92.
- Vázquez, S., O`Neill, S., & Legnani, M. (2013). *Importancia de los coliformes en los alimentos*. Recuperado el Agosto de 2018, de http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/importancia_de_los_coliformes_en_los_alimentos.pdf

6 ANEXOS

ANEXO 1 Vendedores ambulantes de la ciudad de cuenca

Tabla 5 Dirección de los vendedores participantes y fecha del análisis.

Identificación de muestras	Fecha de análisis	Dirección
----------------------------	-------------------	-----------



Universidad de Cuenca

M1	19 Junio 2018 / 25 Junio 2018	Hurtado de Mendoza y Av. de los Andes
M2		Hurtado de Mendoza y Antisana
M3		Gil Ramírez Dávalos y Chapetones
M4		Calle Vieja y Silban
M5		Camino a Cajamarca y Cojimíes
M6	02 Julio 2018 / 09 Julio 2018	Calle Antonio Vega Muñoz y Padre Aguirre
M7		General Escandón y Roberto Crespo Ordóñez
M8		Av. de las Américas y Juan Pío Montufar
M9		Camino Viejo a Baños
M10		Pío Bravo y Tomás Ordoñez

ANEXO 2 Mapeo

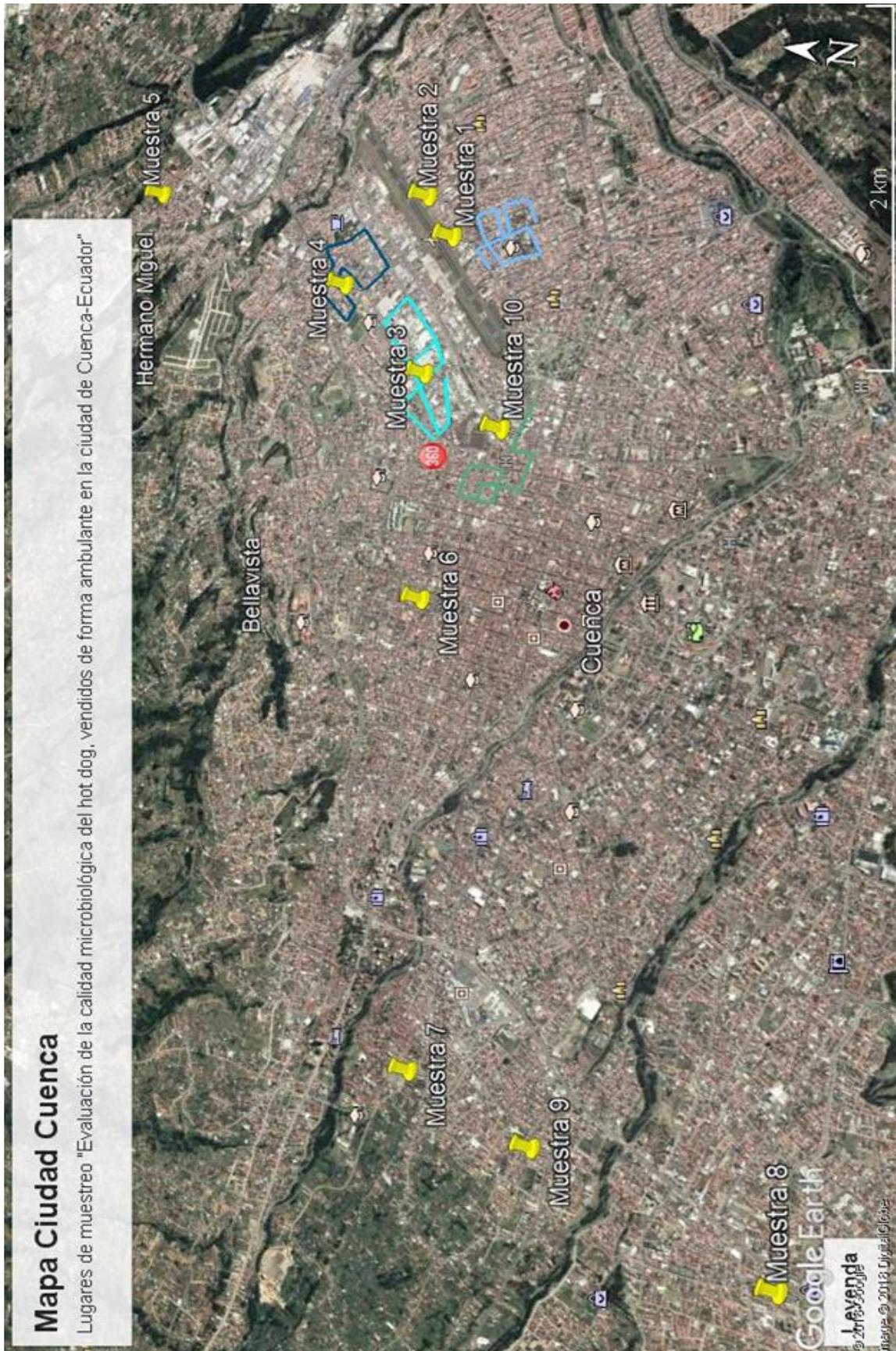
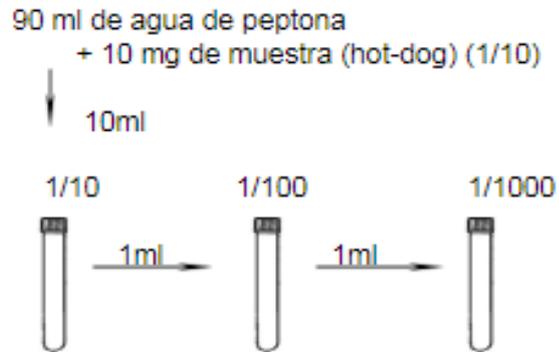


Figura 3 Mapa del muestreo de hot dogs de la Ciudad de Cuenca



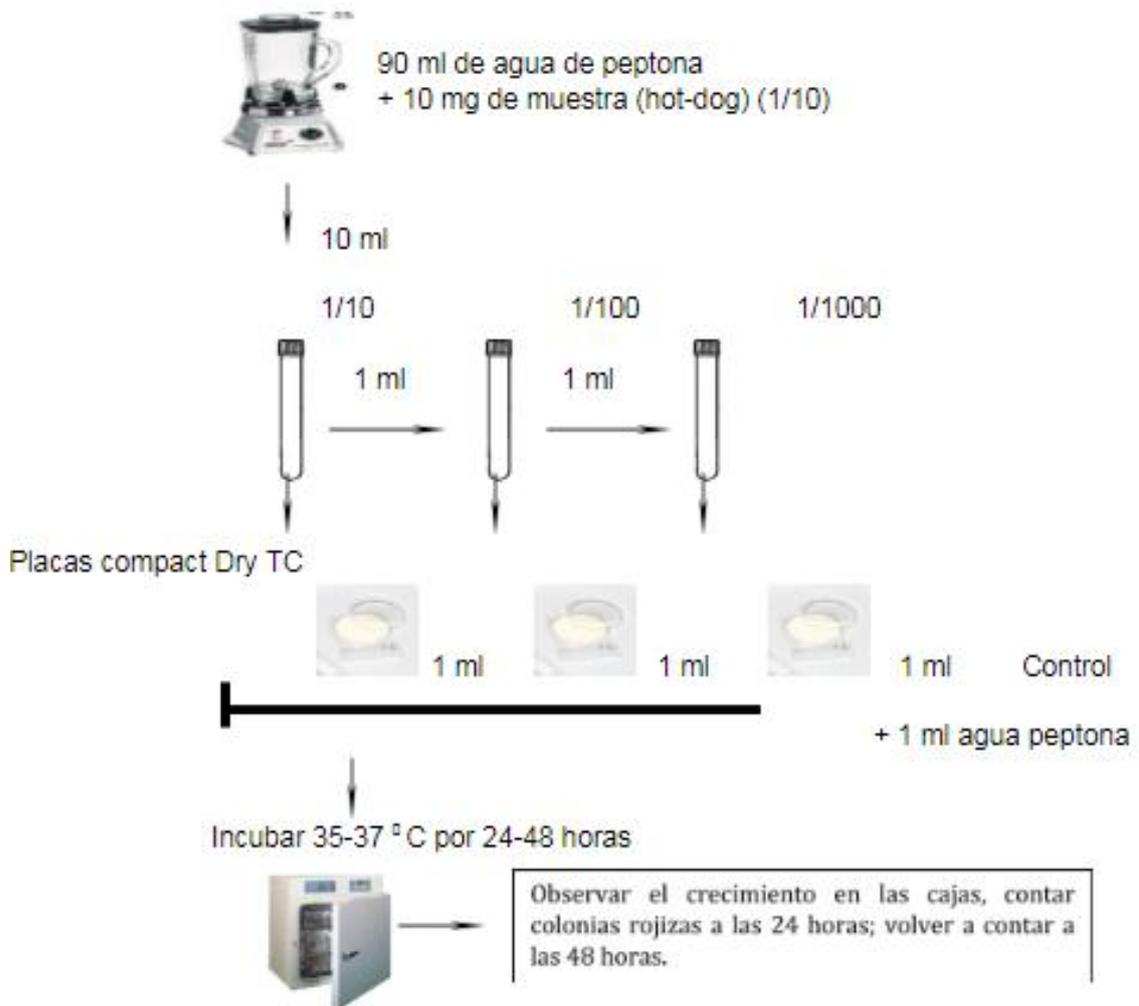
ANEXO 3 Metodología de la preparación de diluciones



Flujograma 1 Forma de preparación de diluciones usadas en el análisis



ANEXO 4 Descripción del procedimiento e interpretación para aerobios mesófilos en placas compact Dry



INTERPRETACIÓN:



Negativo: no se observa ningún crecimiento de colonias, se debe incubar 35-37 °C por 24-48 horas.

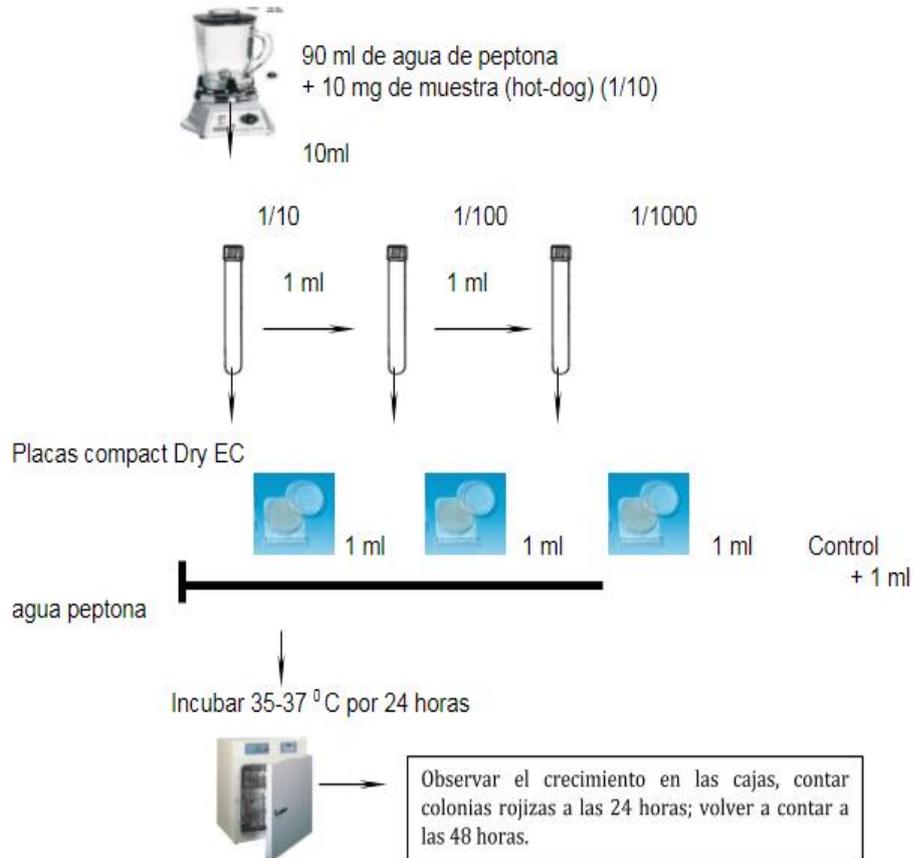
Positivo: Se observan colonias color rojo, las colonias deben ser redondas e uniformes.



Flujograma 2 Descripción del procedimiento e interpretación para aerobios mesófilos en placas compact Dry



ANEXO 5 Descripción del procedimiento e interpretación para *Escherichia coli* en placas compact Dry



INTERPRETACIÓN



Negativo: no se observa ningún crecimiento de colonias, se debe incubar 35-37 °C.

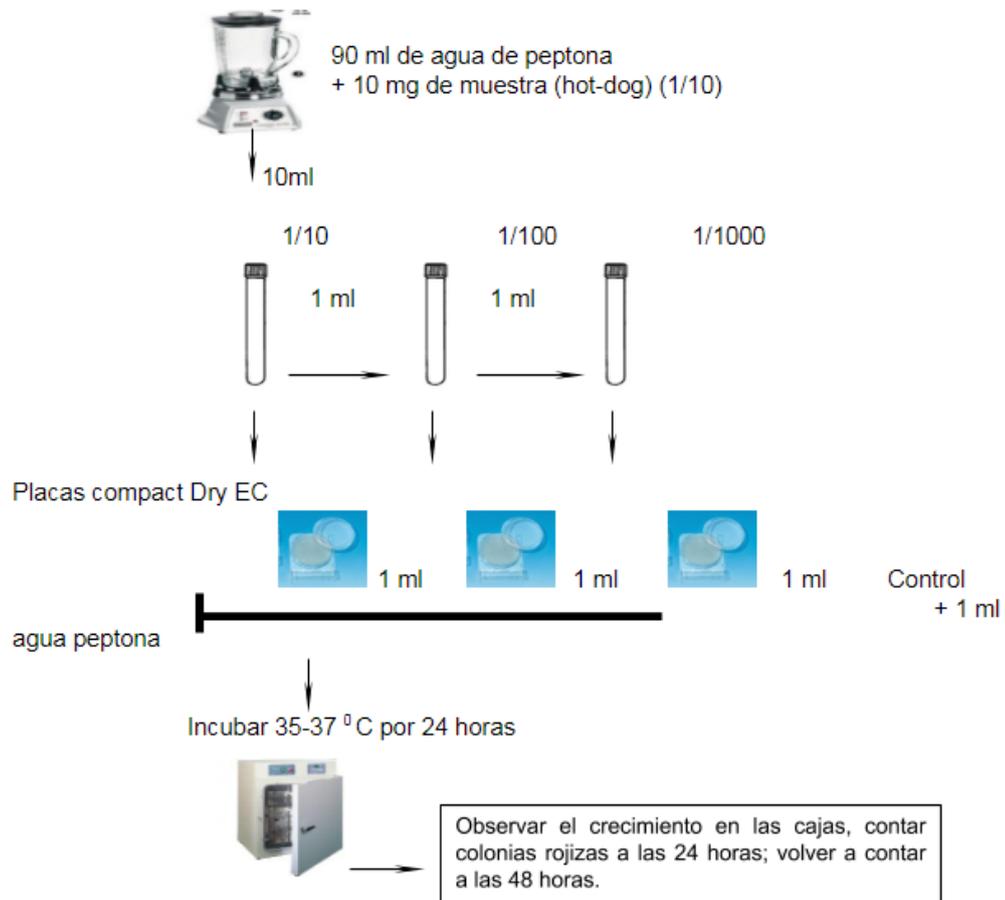
Positivo: Se observan colonias de color rojo característico de las coliformes; se observan colonias azules características de *E. coli*, las colonias deben ser redondas e uniformes.



Flujograma 3 Descripción del procedimiento e interpretación para *Escherichia coli* en placas compact Dry



ANEXO 6 Descripción del procedimiento e interpretación para *Estafilococo aureus* en placas compact Dry



INTERPRETACIÓN:



Negativo: no se observa ningún crecimiento de colonias, se debe incubar 35-37 °C por 24 horas.

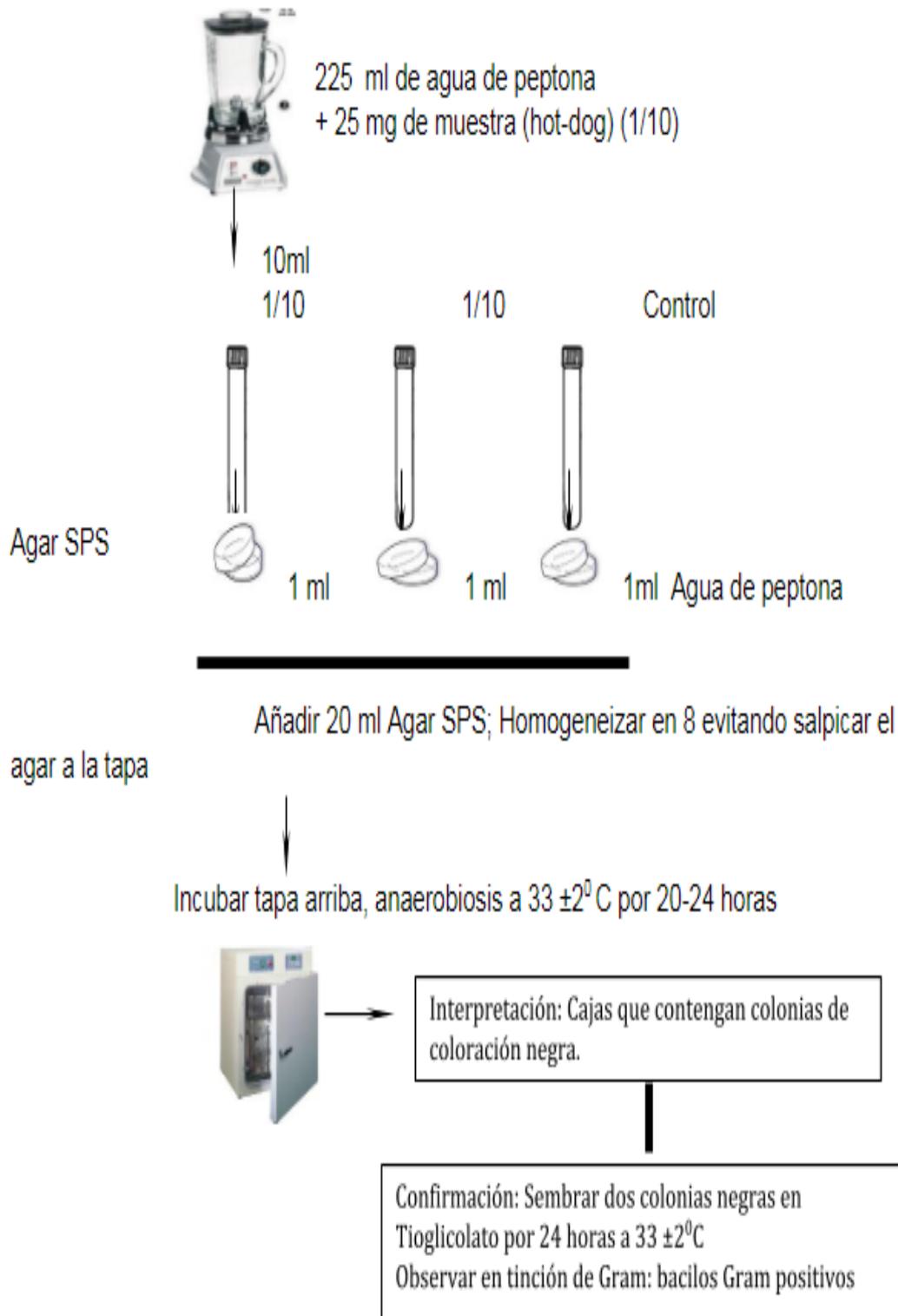
Positivo: Se observan colonias diferenciadas redondeadas de color verde azuladas.



Flujograma 4 Procedimiento e interpretación para *Estafilococo aureus* en placas compact Dry



ANEXO 7 Descripción del procedimiento e interpretación para *Clostridium perfringens*



Flujograma 5 Procedimiento e interpretación para *Clostridium perfringens*



ANEXO 8 Informe técnico de los resultados de *Clostridium perfringens* del laboratorio externo



INFORME TÉCNICO

Informe N°: MSV-IE 100118
Orden de ingreso: OI-406-18

DATOS DEL CLIENTE

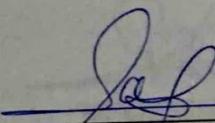
CLIENTE: MARIN YAURI
DIRECCIÓN: AZOGUES
TELÉFONO: 0998872683

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA

NOMBRE DEL PRODUCTO: HOT-DOG M6		FABRICANTE: PAQUE MARIA AUXILIADORA	
MARCA COMERCIAL: NA		ROJAS	
TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO		TIPO DE ENVASE: FUNDA DE POLIETILENO	
PRESENTACIONES: NA		FORMA DE CONSERVACION: REFRIGERACIÓN	
CODIGO MUESTRA: 18406	N° LOTE: NA	FECHA DE ELAB: 10/07/2018	FECHA DE CAD: NA
FECHA DE RECEPCIÓN: 11/07/2018	FECHA DE ANALISIS: 12/07/2018 – 13/07/2018		FECHA DE ENTREGA: 25/07/2018

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (K=2)	REQUISITOS DE NORMA NTS N° 615-2003-SA/DM MINSA/DIGESA-V.0.1	
					m	M
CLOSTRIDIUM PERFRINGENS	BAM CAP 16	UFC/g	< 10	N/A	10	10 ²



Dra. Sandra Guaraca Maldonado
GERENTE DE LABORATORIO

1 Opiniones e interpretaciones están fuera del alcance de acreditación SAE.

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio, no siendo extensivo a cualquier lote. Este informe no será reproducido sin la aprobación del Gerente Técnico.

Los valores de incertidumbre se encuentran disponibles en el laboratorio MSV.

Página 1 de 1

FMC2104-01
LD

Dirección: Avda. Las Américas y Turuhuaico (Redondel Miraflores 3er Piso)
Telf: 4045127 Cel: 0995 354 172 e-mail: sandraegm@hotmail.com

Figura 4 Modelo de los resultados de *Clostridium perfringens* emitidos por el laboratorio externo.



ANEXO 9 Resultados del análisis microbiológico

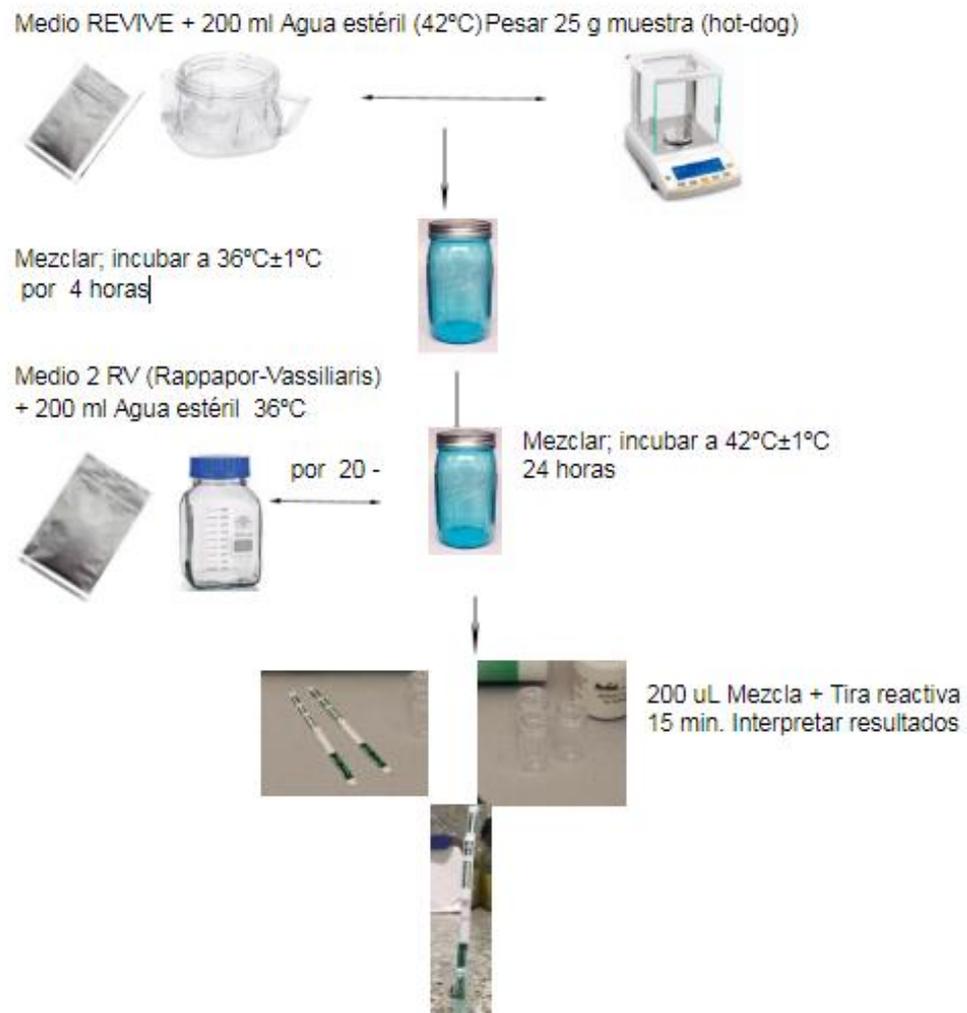
Tabla 6 Resultados de los análisis microbiológicos

Muestras	TC 1/100	TC 1/1000	E. coli 1/10	XSA 1/10	<i>C. perfringens</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Listeria</i>	Coliformes 1/10
1A	1,00E+03	9,09E+02	0	0	< 10	-	-	0
2A	2,06E+04	2,64E+04	0	0	< 10	-	-	0
3A	9,09E+01	0	0	0	< 10	-	-	0
4A	1,00E+05	1,23E+05	5,45E+03	0	< 10	+	-	5,45E+03
5A	1,00E+04	2,27E+04	0	0	< 10	-	-	0
6A	2,18E+03	3,64E+03	0	0	AUSENCIA	-	-	0
7A	8,00E+03	6,36E+03	0	0	AUSENCIA	-	-	2,73E+02
8A	MNPC	3,55E+04	0	0	AUSENCIA	-	-	1,27E+02
9A	5,45E+02	0	0	0	AUSENCIA	+	-	0
10A	2,73E+02	0	0	0	AUSENCIA	+	-	0
1B	5,00E+03	4,55E+03	0	0	< 10	-	-	0
2B	9,27E+03	8,91E+04	0	0	< 10	+	-	0
3B	1,15E+05	9,09E+03	0	0	< 10	-	-	0
4B	9,27E+03	1,24E+05	0	0	< 10	+	-	MNPC
5B	8,45E+03	9,09E+02	0	0	< 10	+	-	2,82E+03
6B	9,09E+03	0	0	0	< 10	-	-	0,00E+00
7B	1,36E+03	1,82E+03	0	0	< 10	+	-	2,73E+01
8B	6,91E+03	6,91E+04	0	0	< 10	+	+	0
9B	1,82E+02	1,82E+03	0	0	< 10	+	-	0
10B	1,10E+03	9,09E+01	0	0	< 10	-	+	0

Indica incumplimiento de la Normas DIGESA



ANEXO 10 Procedimiento para determinación de reveal 2.0 para *Salmonella*



Interpretación:

Resultado positivo: Presenta dos líneas cromogénicas en el dispositivo reveal

Resultado negativo: genera una línea cromogénica en la zona de control

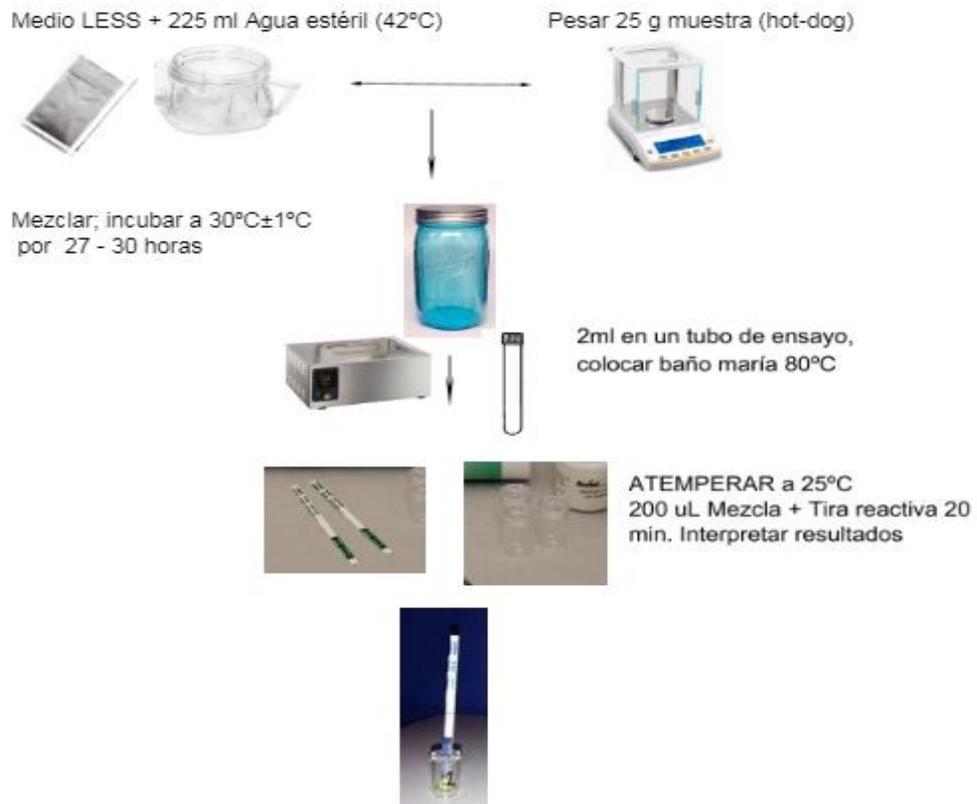
Prueba inválida: no se manifiesta la línea control y se debe repetir el proceso.

La lectura se debe realizar antes de los 20 min

Flujograma 6 Procedimiento e interpretación para determinación de reveal 2.0 para *Salmonella*



ANEXO 11 Procedimiento para determinación de reveal 2.0 para *Listeria*



Interpretación:

Resultado positivo: Presenta dos líneas cromogénicas en el dispositivo reveal

Resultado negativo: genera una línea cromogénica en la zona de control

Prueba inválida: no se manifiesta la línea control y se debe repetir el proceso.

La lectura se debe realizar a los 20 min

Flujograma 7 Procedimiento para determinación de reveal 2.0 para *Listeria*

ANEXO 12 Capacitación

Universidad de Cuenca
Facultad de Ciencias Químicas
Escuela de Bioquímica y Farmacia
Integrantes: Martín Yauri C.
Mishell Vivanco G.

Consejo comunal el GAD municipal de la Ciudad de Cuenca

Medidas de Higiene sobre el alimento "HOT DOG"

¿SABE COMO EVITAR LA CONTAMINACIÓN?

TODAS LAS PERSONAS TIENEN DERECHO A ESPERAR QUE LOS ALIMENTOS QUE CONSUMIEN SEAN INOCUOS Y LÍMPIDOS PARA EL CONSUMO

Objetivo

Capacitar a los vendedores ambulantes de hot dog de la ciudad de Cuenca, acerca de las medidas de higiene que deben aplicar al alimento.

¿Qué es lo que llega a contaminar los alimentos y nos enferma?

Tanto los alimentos como el agua se contaminan con:

Estos microorganismos nos enferman produciendo ETAs (ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS)

ETAs

Las enfermedades alimentarias se define como: Enfermedad producida por agentes biológicos que se encuentra contaminando los alimentos

Principales microorganismos

Salmonella sp

Aerobios mesófilos

Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes

TIPOS DE CONTAMINACIÓN EN LOS ALIMENTOS

Contaminación de Origen, Contaminación cruzada

VINCIACIÓN EN LOS ALIMENTOS

Contaminación de origen

Salchichas contaminadas desde su producción

TIPOS DE CONTAMINACIÓN EN LOS ALIMENTOS

Contaminación Cruzada

Utilizar el mismo utensilio para untar varias salsas en un producto

TIPOS DE CONTAMINACIÓN EN LOS ALIMENTOS

Contaminación manipulación

Mala higiene de manos, uñas largas y sucias

PRINCIPALES SÍNTOMAS DE ETAS

Síntomas: Náuseas, Vómitos, Dolor abdominal, Diarrea, Fiebre, Erupción cutánea

Hot Dog

Descripción del alimento

Medidas higiénicas a tomar

Personal, Equipo e instalaciones, Conservación y almacenamiento

Personal

Higiene personal: Lavar las manos antes y después de manipular los alimentos, Mantener las uñas cortas y limpias, Anudarse y recoger el cabello

Usar ropa de protección

El personal no debe usar joyas al momento de manipular los alimentos

Equipo e instalaciones

Lavar utensilios y superficies continuamente antes y después de servir los alimentos. Usar de modo correcto cada utensilio. Limpiar y desinfectar las instalaciones al caer de hot dog. Tener el bañero apartado de los alimentos. El agua no debe tener gránulos ni impurezas. Debe contar con vitrina para que cubra los alimentos.

Conservación y almacenamiento

Toda la materia prima debe estar etiquetada y separada. Debe mantenerse en frío.

Los alimentos deben conservarse en estantes limpios y protegidos de cada uno.

Los alimentos deben estar conservados en un ambiente fresco y refrigeración si es posible.

AGUA

El agua a utilizar debe estar conservada, almacenada de forma correcta. Debe ser agua potable o hervida. Así evitamos contaminación.

No usar agua de río o de Baño

SÓLO AGUA POTABLE

Cocción y preparación de los alimentos

- Las salchichas debe estar bien cocidas.
- Mantener el refrito con la salchicha a temperatura constante.
- El pan y los alimentos en si no deben ser manipulados con las manos.
- La mayonesa casera no debe ser guardada por más 24 horas.

Resultados

Porcentaje de cumplimiento de la Norma

100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 0%

RECOMENDACIONES:

1. Mantener el refrito con la salchicha a temperatura constante.

2. El pan y los alimentos en si no deben ser manipulados con las manos.

3. La mayonesa casera no debe ser guardada por más 24 horas.

4. Usar agua potable.

Figura 5 Diapositivas de apoyo para la capacitación



Figura 6 Tríptico de capacitación sobre medidas de control para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos



Universidad de Cuenca



Figura 7 Certificado de asistencia a la capacitación sobre medidas de control para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos



Figura 8 Foto de los asistentes a la capacitación con sus certificados



ANEXO 13 Fotos de carritos de hot dogs



Figura 9 Fotos de carritos de hot dogs



Universidad de Cuenca

Convenio de cooperación institucional entre la Universidad de Cuenca y el GAD Municipal del Cantón Cuenca



DIRECCIÓN GENERAL
DE TALENTO HUMANO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CONVENIO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE LA UNIVERSIDAD DE CUENCA Y EL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN CUENCA PARA EL TRABAJO DE TITULACIÓN "EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL HOT DOG VENDIDOS DE FORMA AMBULANTE EN LA CIUDAD DE CUENCA-ECUADOR"

En la ciudad de Cuenca, a los 02 días de mes de Mayo de 2018, comparecen a la celebración del presente Convenio, por parte de la Universidad de Cuenca, el Dr. Pablo Fernando Vanegas Peralta en calidad de Rector, y por parte del GAD Municipal del cantón Cuenca, el Dr. Leonardo Fabián Ochoa Andrade, delegado del señor Alcalde, Ing. Marcelo Cabrera Palacios.

PRIMERA.- ANTECEDENTES:

El Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del cantón Cuenca y la Universidad de Cuenca tienen como interés común organizar, desarrollar y avalar proyectos y actividades de relevancia para las partes y la comunidad local o nacional. Estas actividades se desarrollan en el ámbito académico, investigativo, científico, tecnológico y de vinculación con la sociedad de conformidad con la Ley Orgánica de Educación Superior, el Reglamento de Régimen Académico y demás normativa conexa aplicable. Para instrumentar las actividades a las que se hace referencia, las partes pueden suscribir convenios específicos de cooperación para colaborar en tareas de mutuo interés.

SEGUNDA.-OBJETO:

La Universidad de Cuenca y el GAD Municipal del cantón Cuenca suscriben el presente convenio de cooperación interinstitucional para desarrollar el trabajo de titulación denominado: "Evaluación de la calidad Microbiológica del hot dog vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador", de los estudiantes Jhoselyn Mishell Vivañco Gallardo y Oscar Martin Yauri Calle.

TERCERA.-OBLIGACIONES DE LAS PARTES:

De la Universidad de Cuenca:

- Remitir al GAD Municipal del cantón Cuenca el diseño del proyecto de trabajo de titulación y su aprobación; así como, el nombre del docente-director del mismo.
- Remitir al GAD Municipal del cantón Cuenca, la solicitud de realizar el trabajo de titulación Evaluación de la calidad Microbiológica del hot dog vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador.



DIRECCIÓN MUNICIPAL DE
DESARROLLO INSTITUCIONAL
Y TALENTO HUMANO

Mariscal Sucre y Benigno Maio.
Teléfonos: (07) 2832 959
/ 2845 499 ext. 319
Cuenca, Ecuador
www.cuenca.gob.ec

@fchoaaa

Dirección de Talento Humano
del GAD del Cantón Cuenca



Universidad de Cuenca



DIRECCIÓN GENERAL
DE TALENTO HUMANO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Por el GAD Municipal del cantón Cuenca:

- Brindar el apoyo logístico a los estudiantes para la elaboración de su trabajo de titulación.
- Designar un administrador o responsable del convenio, que será el encargado de velar por su estricto cumplimiento.
- Permitir a los estudiantes el acceso a la información correspondiente para el desarrollo de su trabajo.
- Dar las facilidades para que los estudiantes de la Universidad de Cuenca realice el trabajo de titulación.

CUARTA.- PLAZO

El presente Convenio tendrá un plazo de tres meses y entrará en vigencia a partir de la fecha de suscripción del mismo. El plazo podrá ser prorrogado de mutuo acuerdo o por causas de fuerza mayor o caso fortuito.

QUINTA.- DE LA ADMINISTRACIÓN DEL CONVENIO

La coordinación y control de la ejecución del Convenio estará a cargo del tutor Ing. María Augusta Idrovo, por parte del GAD Municipal del cantón Cuenca. En tanto que por la Universidad de Cuenca estará a cargo de la Dra. Silvana Donoso, Docente de la Universidad de Cuenca.

Todas las comunicaciones se harán por escrito y deberán remitirse a sus personeros, para lo cual se señalan como sus domicilios los siguientes:

Universidad de Cuenca
Dirección: Av. 12 de Abril y Av. Loja
Teléfono: (07) 405-1005

GAD Municipal del cantón Cuenca
Dirección: Calle Sucre entre Benigno Malo y Luis Cordero, edificio Municipal.
Teléfono: 2845499 ext-1316

SEXTA.- PROPIEDAD INTELECTUAL:

De los estudiantes será la responsabilidad de los criterios, conceptos e ideas constantes en su trabajo de titulación. La propiedad intelectual que derive del trabajo de titulación realizado por los estudiantes de la Universidad de Cuenca, bajo el marco de este convenio, estará sujeta a las disposiciones legales aplicables, a las normas del Código de Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación y las Resoluciones del Consejo de



DIRECCIÓN MUNICIPAL DE
DESARROLLO INSTITUCIONAL
Y TALENTO HUMANO

Mariscal Sucre y Benigno Malo.
Teléfonos: (07) 2832 959
/ 2845 499 ext. 319
Cuenca, Ecuador
www.cuenca.gob.ec

@lifchoaa

Dirección de Talento Humano
del GAD del Cantón Cuenca



Universidad de Cuenca



DIRECCIÓN GENERAL
DE TALENTO HUMANO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Educación Superior y a la normativa interna de la Universidad y del GAD Municipal del cantón Cuenca, otorgando el reconocimiento correspondiente a quienes hayan intervenido en la ejecución de dicho trabajo de titulación.

No obstante lo indicado en razón de la firma del presente convenio y las facilidades que el GAD Municipal del cantón Cuenca brinda para el desarrollo del presente trabajo de titulación, puede utilizar los resultados del mismo en el cumplimiento de su objeto social y sus procesos internos, sin que esto implique se le faculte para la comercialización del mismo.

Adicionalmente; y de ser necesario, los estudiantes suscribirán una carta de confidencialidad por la que se comprometa a mantener la confidencialidad de la información recibida del GAD Municipal del cantón Cuenca para la elaboración de su trabajo de titulación.

Las partes aceptan que la autoría de los trabajos objeto del presente acuerdo corresponde a los estudiantes de la Universidad de Cuenca, quienes lo ejecutarán como Trabajo de Titulación para la culminación de su carrera.

El GAD Municipal de Cuenca podrá hacer uso de toda la información técnica entregada a ellos, y podrá, modificarla o cambiarla de acuerdo a sus intereses, sin que para esto deba solicitar permiso a los autores o a la Universidad de Cuenca, sin embargo, se compromete a respetar los derechos de autor.

SÉPTIMA.- DE LA NO EXISTENCIA DE RELACIÓN LABORAL:

Serán de cuenta exclusiva del GAD Municipal del cantón Cuenca y de la Universidad de Cuenca todas las obligaciones para la ejecución del presente convenio; de manera que el GAD Municipal del cantón Cuenca y la Universidad de Cuenca, no tendrán responsabilidad laboral alguna, con los colaboradores, empleados o dependientes de cada una de las partes, ni siquiera a título de solidaridad, aspecto aceptado por las partes expresamente.

Se deja expresa constancia que no existe relación laboral alguna entre los estudiantes de la Universidad de Cuenca aceptada en el marco del presente convenio y el GAD Municipal del cantón Cuenca, sino un relación de desarrollo de trabajos de titulación en el marco de este acuerdo, de las disposiciones legales aplicables del Reglamento de Régimen Académico y de la normativa de la Universidad de Cuenca.



DIRECCIÓN MUNICIPAL DE
DESARROLLO INSTITUCIONAL
Y TALENTO HUMANO

Mariscal Sucre y Benigno Malo.
Teléfonos: (07) 2832 959
/ 2845 490 ext. 319
Cuenca, Ecuador
www.cuenca.gob.ec

@fochooa
 Dirección de Talento Humano
del GAD del Cantón Cuenca



OCTAVA.-PROHIBICIÓN DE CESIÓN:

Se prohíbe a las partes transferir o ceder a cualquier título todo o en parte la ejecución del presente convenio, caso contrario será causal para resolver la terminación anticipada y unilateral del mismo.

Los términos de este Convenio pueden ser modificados, ampliados o reformados de mutuo acuerdo durante su vigencia, siempre que dichos cambios no alteren su objeto ni desnaturalicen su contenido, para lo cual las partes suscribirán los instrumentos que sean necesarios; sin ello no surtirán efecto alguno.

NOVENA.-TERMINACIÓN DEL CONVENIO:

El presente convenio específico de desarrollo de trabajo de titulación se terminará por los siguientes motivos:

- Por el cumplimiento del plazo establecido por el desarrollo del trabajo de titulación;
- Por mutuo acuerdo de las partes;
- Por abandono de desarrollo del trabajo de titulación;
- Por muerte de los estudiantes;
- Por incumplimiento e inobservancia del convenio o de las fases del trabajo de titulación, previa comunicación escrita con treinta días de anticipación a la fecha en la terminación sea efectiva.

DECIMA.- INTERPRETACIÓN Y DEFINICIÓN DE TÉRMINOS:

Los términos del presente convenio deben interpretarse en sentido literal, en el contexto del mismo, y cuyo objeto revela claramente la intención de los comparecientes. En todo caso su interpretación sigue las siguientes normas: 1) Cuando los términos se hallan definidos en las leyes ecuatorianas, se estará a tal definición. 2) Si no están definidos en las leyes ecuatorianas se estará a lo dispuesto en el convenio en sentido literal y obvio, de conformidad con el objeto del acuerdo y la intención de los comparecientes.

DÉCIMA PRIMERA.- DOCUMENTOS HABILITANTES:

Se agregan al Convenio específico como parte integrante del mismo los documentos que habilitan a cada uno de los representantes de las instituciones como intervinientes:

- Copia certificada del nombramiento del Rector de la Universidad de Cuenca.
- Copia certificada de la delegación otorgada al Dr. Leonardo Fabián Ochoa Andrade.





DIRECCIÓN GENERAL DE TALENTO HUMANO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DÉCIMA SEGUNDA.- CONTROVERSIAS:

Las partes convienen que el presente instrumento es producto de la buena fe, por lo que toda controversia e interpretación que se derive del mismo, respecto a su operación, formalización y cumplimiento, será resuelta por ambas partes de manera directa y mediante el diálogo. De no llegar a un acuerdo los comparecientes, de forma expresa renuncian fuero y domicilio, y acuerdan expresamente acudir el trámite de mediación en el Centro de Arbitraje y Mediación de la Procuraduría General del Estado en la ciudad de Cuenca.

DÉCIMA TERCERA.- ACEPTACIÓN:

Los comparecientes en representación de sus representadas aceptan el contenido de las cláusulas estipuladas en este Convenio, por cuanto responden a sus intereses institucionales.

Para constancia y fe de todo lo expresado, suscriben en tres ejemplares de igual tenor y valor.

Dr. Leonardo Fabián Ochoa Andrade

DELEGADO DEL SEÑOR ALCALDE DEL GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN CUENCA

Dr. Pablo Fernando Vanegas Perata
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD DE CUENCA



DIRECCIÓN MUNICIPAL DE DESARROLLO INSTITUCIONAL Y TALENTO HUMANO

Mariscal Sucre y Benigno Malo.
Teléfonos: (07) 2632 959 / 2845 499 ext. 319
Cuenca, Ecuador
www.cuenca.gob.ec

@lfochoaa

Dirección de Talento Humano del GAD del Cantón Cuenca

Figura 10 Convenio entre la Universidad de Cuenca y el Municipio de Cuenca