



ESCUELA DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS, ANIMALES Y AMBIENTALES
MEDICINA VETERINARIA

**Análisis de la calidad microbiológica en alimentos elaborados por pequeños productores en la
Región de O'Higgins**

CATALINA ALEJANDRA CARRASCO RUBIO

Profesora guía: Claudia Foerster Guzmán
Profesora co-guía: Catherine Monsalve Rojas

Tesina para optar al título profesional de Médica Veterinaria

Abril, 2024
San Fernando, Chile

Agradecimientos

¡Agradezco a Dios, la vida, y el universo! porque siempre supieron qué y a quiénes poner en mi camino. Sin duda, he aprendido de grandes personas y situaciones. Gracias a cada una de las personas que formaron parte de este proceso, por brindarme su hombro y una sonrisa. Me quedo con que los sueños son para cumplirse y creyendo que cada obstáculo es para superarlo.

De igual manera, agradezco a la Universidad de O'Higgins y aquellos profesionales que pude conocer, a mis profesores y en especial a Claudia Foerster, Catherine Monsalve y Viviana Sandoval.

Mis más sinceros agradecimientos a mis abuelos, que sin su ayuda, enseñanzas y valores no sería la mujer y veterinaria que soy. Infinitas gracias por todo el apoyo entregado, las conversaciones y vivencias.

Por sobre todo, agradezco enormemente a Ángel, gracias por todo tu amor, comprensión y paciencia. Por ser mi compañero de vida y muchas veces fuente de inspiración. Gracias por ser mi rayito de sol, por ayudarme a nunca darme por vencida, por ser y estar.

Igualmente, doy gracias a mis amigas por acompañarme, darme su mano y muchas veces unas palabras de aliento, que siempre sirvieron.

Por último, agradezco a Dios por todas las bendiciones, gracias a eso soy la persona que siempre soñé y pensé.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	9
2	HIPÓTESIS	15
3	OBJETIVOS	16
	3.1 Objetivo general	16
	3.2 Objetivos específicos	16
4	MARCO METODOLÓGICO	17
	4.1 Recepción y análisis de muestras.....	19
	4.2 Higiene del personal y de los materiales y equipos.....	19
	4.3. Preparación de medios de cultivo y diluyente	20
	4.4 Análisis microbiológico.....	21
	4.5 Análisis microbiológico de microorganismos indicadores de higiene	22
	4.6 Análisis microbiológico del patógeno <i>Salmonella spp</i>	26
	4.7 Análisis de resultados de colonias características según microorganismos	27
	4.8 Análisis estadísticos	27
5	RESULTADOS.....	28
6	DISCUSIÓN.....	39
	6.1 Limitaciones del estudio	43
7	CONCLUSIÓN	45
8	REFERENCIAS	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos en Chile de los alimentos analizados en esta tesina.	13
Tabla 2. Características de crecimiento de indicadores de higiene de la eficiencia de proceso e indicadores de contaminación fecal.....	24
Tabla 3. Características específicas de siembra de microorganismos indicadores de la eficiencia del proceso e indicadores de contaminación fecal.....	25
Tabla 4. Presencia de microorganismos y cantidad de alimentos analizados.....	28
Tabla 5. Muestras de aceite de maní con presencia de microorganismos indicadores de higiene.	29
Tabla 6. Muestras de leche pasteurizada con presencia de microorganismos indicadores de higiene.....	29
Tabla 7. Muestras de leche no pasteurizada con presencia de microorganismos indicadores de higiene.....	30
Tabla 8. Muestras de manjar con presencia de microorganismos indicadores de higiene.....	30
Tabla 9. Muestras de miel con presencia de microorganismos indicadores de higiene.....	30
Tabla 10. Muestras de queso fresco con presencia de microorganismos indicadores de higiene.	31
Tabla 11. Muestras de queso maduro con presencia de microorganismos indicadores de higiene.	31
Tabla 12. Muestras de sal de Cáhuil con presencia de microorganismos indicadores de higiene.	31
Tabla 13. Muestras de sal Lo Valdivia con presencia de microorganismos indicadores de higiene.	32
Tabla 14. Comparación de los parámetros del Reglamento Sanitario de los Alimentos y la presencia de <i>RAM</i> en la leche no pasteurizada.	33
Tabla 15. Comparación de los parámetros del Reglamento Sanitario de los Alimentos y la presencia de <i>RAM</i> en la miel.....	33
Tabla 16. Comparación de los parámetros del Reglamento Sanitario de los Alimentos y la presencia de <i>E. coli</i> en el queso fresco.	33
Tabla 17. Actividad del agua de los alimentos analizados.	34
Tabla 18. Grupo 1: muestras de alimentos con menos de 0,96 de Actividad del agua.	35
Tabla 19. Grupo 2: muestras de alimentos desde 0,96 de Actividad del agua.	36

Tabla 20. Valor p para microorganismos indicadores de higiene del grupo 1 y 2.....	36
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procedimiento del análisis microorganismos Indicadores de Higiene en alimentos. ..	22
Figura 2. Procedimiento para el recuento de células viables mediante diluciones en serie de la muestra y el método de vertido en placa.....	23
Figura 3. Procedimiento del análisis microbiológico del patógeno <i>Salmonella spp.</i>	26
Figura 4. Alimentos con presencia de microorganismos indicadores de higiene según su Actividad de agua.	35
Figura 5. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura para pequeños productores.....	37
Figura 6. Infografía para público general.....	38

RESUMEN

La producción de alimentos es una de las principales fuentes económicas en Chile, por lo que resulta necesario garantizar que estos no presenten un riesgo para la salud de los consumidores. De esta manera, la producción de alimentos sanos e inocuos mejora el acceso a nuevos mercados, impulsa el desarrollo económico y disminuye las enfermedades transmitidas por los alimentos. El objetivo del estudio fue analizar la calidad microbiológica de los alimentos elaborados por pequeños productores de la Región de O'Higgins y compararlos con la reglamentación chilena y según su Actividad de agua (A_w), para promover una cultura de Inocuidad Alimentaria. Por ello, se realizó un análisis microbiológico en alimentos como aceite, agua potable, leche pasteurizada, leche sin pasteurizar, manjar, miel, queso fresco, queso maduro y sales de mar mediante técnicas tradicionales de recuento en placas, identificando unidades formadoras de colonias (UFC) y presencia/ausencia en gr o ml. Se realizaron los análisis a microorganismos indicadores de higiene como *Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM)*, *Enterobacterias*, *Escherichia coli*, *Esporas sulfito reductoras de Clostridium spp*, hongos, y levaduras, y al patógeno *Salmonella spp*. Como resultados, de las 66 muestras, un 83% tuvo presencia de microorganismos indicadores de higiene, y el 100% presenta ausencia del patógeno *Salmonella spp*. En cuanto a la A_w , se observó una diferencia significativa en los *RAM* y levaduras en aquellos productos con una mayor A_w , mientras que, no se observó diferencia en el promedio de hongos. Como conclusión, en general los productores cumplieron con los parámetros establecidos por el reglamento, demostrando que mantienen prácticas de higiene durante las etapas de producción y elaboración. Por último, para complementar las buenas prácticas se recomienda la implementación del "Manual de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura para pequeños productores".

Palabras claves: alimentos; análisis microbiológico; microorganismos indicadores de higiene; patógeno *Salmonella spp*; inocuidad alimentaria.

ABSTRACT

Food production is one of the primary sources of economic activity in Chile, so it is necessary to guarantee that these do not present risks to consumer's health. In this way, producing healthy and innocuous food improves access to new markets, boosts economic development and reduces foodborne diseases. The objective of the study was to analyze the microbiological quality of foods produced by small producers in the O'Higgins Region and to compare them with Chilean regulations and according to their Water Activity (Aw), in order to promote a culture of Food Safety. To that end, a microbiological analysis was performed on foods such as oil, potable water, pasteurized milk, unpasteurized milk, milk candy, honey, fresh cheese, ripened cheese, and sea salts by traditional techniques of plate count, identifying Colony Forming Units (CFU) and presence/absence in gr or ml. The analyses were performed for microorganisms indicators of hygiene such as *Mesophilic Aerobic Count (APC)*, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *sulfite-reducing spores of Clostridium spp*, fungi, and yeasts, and the pathogen *Salmonella spp*. As results, of the 66 samples, 83% had the presence of microorganisms that are hygiene indicators, and 100% showed absence of the pathogen *Salmonella spp*. Regarding Aw, a significant difference was observed in APC and yeasts in those products with a higher Aw, while, no difference was observed in the average of fungi. In conclusion, in general, the producers complied with the parameters established by the regulation, demonstrating that they maintain hygienic practices during the production and processing stages. Finally, to complement the good practices, it is recommended to implement the "Manual of Good Agricultural Practices and Good Manufacturing Practices for Small Producers".

Key words: food; microbiological analysis; hygiene indicator microorganisms; pathogen *Salmonella spp*; food safety.

1 INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son organismos unicelulares o pluricelulares de tamaño microscópico que colonizan el suelo, agua y ambiente, y que participan de forma vital en todos los ecosistemas e interactúan con las plantas, los animales y los humanos (Montaño, *et al*, 2010; Organización Panamericana de la Salud, 2023). Entre los microorganismos se incluye a bacterias, virus, hongos y parásitos (Mayoral & Reyes, 2018). La mayoría de estos microorganismos cumplen funciones beneficiosas para los seres vivos y el medio ambiente, sin embargo, algunos se asocian tanto con el deterioro de los alimentos, como a las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA's) (Robles & Vázquez, 2023). Las ETA's pueden ser producidas por peligros alimentarios que pueden ser de origen físico, químico o biológico (Ruiz, 2019). Los peligros biológicos causantes de ETA's pueden producirse por bacterias y hongos y sus toxinas, además de virus, parásitos y priones (Fernández, *et al*, 2021). La Inocuidad Alimentaria, se define como un conjunto de condiciones y medidas que aseguran que dicho alimento no presenta un riesgo de salud a los consumidores (Ministerio de Salud (Minsal) y Protección Social, 2023; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) & Organización Mundial de la Salud (OMS), 2003).

Con relación a los alimentos, el *Codex alimentarius* los define como cualquier sustancia elaborada, semielaborada o bruta, que es destinada para el consumo humano, incluyendo las bebidas (FAO & OMS, 2007). Es importante destacar que algunos alimentos tienen condiciones físico-químicas (factores intrínsecos) que pueden beneficiar el crecimiento de los microorganismos patógenos a lo largo de la cadena alimentaria. De igual manera, el ambiente puede favorecer la supervivencia y multiplicación de éstos (Vásquez, 2003). Entre los factores intrínsecos del alimento se encuentra la Actividad del agua (A_w), el pH, entre otras, y entre los factores extrínsecos del ambiente, como la temperatura y la humedad relativa (Cervantes, *et al*, 2017; Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2019). Respecto a la A_w , nos indica el agua disponible en el alimento que facilita el crecimiento microbiano. Cabe destacar que el

crecimiento microbiano comienza con una A_w de 0,6 y llega hasta 0,998 (Vásquez, 2003). De esta manera, sobre 0,6 de A_w proliferan hongos y levaduras, y desde 0,86 puede haber crecimiento de bacterias patógenas, aunque es más frecuente entre 0,995 a 0,998 (Arévalo, 2014; FBX México, 2023). Por otra parte, la adición de azúcares y sales causa reducción en el contenido de agua del alimento, lo que se traduce en desfavorecer el crecimiento microbiano, aunque esto no indica que no exista presencia de microorganismos (Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria (ACHIPIA), 2021; Román, 2021; Tapia, 2020).

Las ETA's ocurren por la ingestión de alimentos, aguas o bebidas contaminadas con microorganismos patógenos que afectan la salud del consumidor (Fernández, *et al*, 2021). La Organización Panamericana de la Salud (OPS) se refiere a un brote de ETA, cuando ocurre un incidente en dos o más personas causando una enfermedad semejante luego del consumo de un mismo alimento (Antunes, *et al*, 2020; OPS/OMS). Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año 600 millones de personas se enferman luego del consumo de un alimento contaminado, y mueren alrededor de 420.000 a nivel mundial (OPS/OMS/Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA), 2022).

En este sentido, en los alimentos puede haber crecimiento microbiano que se clasifica en microorganismos indicadores de higiene y patógenos (OPS, 2019). Los microorganismos indicadores de higiene reflejan la condición microbiológica del alimento, aunque no necesariamente indican riesgo para la salud (OPS, 2019). En cambio, los microorganismos patógenos pueden causar riesgo a la salud del consumidor (Taïpe, 2019). Estos peligros microbiológicos pueden ser adquiridos debido a una manipulación inadecuada de los alimentos, mala higiene, falta de control de temperatura y contaminación cruzada en cualquiera de las etapas productivas de los alimentos (OPS & OMS, 2023).

De esta manera, los microorganismos indicadores de higiene se definen como un organismo o un grupo de organismos, que refleja la condición microbiológica de un alimento, de

la higiene de las máquinas, equipos, manipuladores y del entorno en que se produce o almacena (Huaman, 2021; Ramos, 2022). Dentro de los grupos de indicadores de higiene, se encuentran los microorganismos indicadores de condiciones de manejo o de la eficiencia del proceso y los microorganismos indicadores de contaminación fecal (OPS, 2019). Estos microorganismos indicadores no presentan riesgo en la salud de los consumidores, no obstante, se pueden asociar a patógenos (OPS, 2019). Así pues, los indicadores de la eficiencia del proceso incluyen el *Recuento Aerobios Mesófilos (RAM)*, Coliformes totales, hongos (mohos) y levaduras, y dentro de los indicadores de contaminación fecal se encuentran *las Enterobacterias, Escherichia coli* y *esporas sulfito reductoras de Clostridium spp* (Robles & Vázquez, 2023).

Con respecto a los microorganismos patógenos, son bacterias que pueden provocar enfermedades en los consumidores. A nivel mundial, las más importantes por su frecuencia y/o gravedad son *Salmonella*, *Vibrio*, *E. coli enteropatógena*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, la mayoría asociada a intoxicaciones (OMS, 2020; OPS, 2019). Los patógenos como *Salmonella*, *Vibrio* y *E. coli* se manifiestan principalmente con signos gastrointestinales, además, de fiebre (ACHIPIA, 2017; Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), 2022; Gobierno de España, 2022). Por otro lado, *L. monocytogenes* causa desde sintomatología gastrointestinal en personas inmunocompetentes hasta infecciones más graves como meningitis, infección cerebral e infección sanguínea grave en personas inmunocomprometidas, asimismo, en embarazadas puede causar abortos (Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC), 2020; EFSA, 2020). Cabe mencionar que la OMS indica que la población más vulnerable a las ETA's son niños, lactantes, embarazadas, personas adultas y aquellas con enfermedades crónicas (OMS, 2022). En Chile, desde 2016 hasta 2021, los brotes de ETA diagnosticados corresponden particularmente a *Salmonella spp*, y en menor medida se asocian a patógenos como *S. aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *E. coli*, entre otros. (Ayala, *et al*, 2023; Minsal, 2016; Minsal, 2019).

Es importante destacar que el análisis microbiológico es un método que evalúa los microorganismos que pueden estar presentes durante la obtención de materia prima, la producción y elaboración, el almacenamiento y distribución de los alimentos (Ruiz, 2019). Es esencial que se realice para mantener el control de la calidad de los alimentos, verificar las técnicas de manipulación y producción higiénica, además de realizar investigaciones a través de alimentos (Hernández & Giles, 2021; Ramos, 2017). En cuanto a la calidad de los alimentos, se determina a través de atributos que influyen en el valor del producto, como el origen, color, textura, aroma y método de elaboración (FAO/OMS, 2003).

Debido a los problemas de salud y considerando las pérdidas económicas que implican los brotes por ETA's, se han establecido diversas estrategias para mejorar la inocuidad alimentaria en Chile (Codex Alimentarius, 2022). Por consiguiente, se encuentra disponible el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), el cual estipula los límites permisibles de los microorganismos indicadores de higiene y de patógenos en los alimentos, para que al ser consumidos no generen enfermedades (FAO/OPS, 2017; Ministerio de Salud, 2023). Por ende, esta reglamentación contribuye a la protección de la población por medio de estrategias, programas y hábitos para asegurar la producción, elaboración, envasado, almacenamiento, distribución y venta de alimentos inocuos y seguros.

Por tanto, el reglamento presenta un plan de tres clases que evalúa la calidad de un producto descrito por el "número de muestras (n)", el "valor del parámetro microbiológico que no presenta riesgo para la salud (m)", el "valor del parámetro microbiológico que presenta riesgo para la salud (M)" y el "número máximo de muestras que puede contener un número de microorganismos entre m y M para que el alimento sea aceptable (c)", que se encuentra detallado en la *tabla 1*. Con respecto a esto, el plan de evaluación de acuerdo con los criterios microbiológicos se divide en tres grados de calidad; "aceptable", "medianamente aceptable" y "rechazable". Los alimentos son aceptables cuando están entre "0 y m", son medianamente

aceptables cuanto se encuentra entre “m y M” y son rechazables cuando superan “M” (Minsal, 2023).

Tabla 1. Parámetros establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos en Chile de los alimentos analizados en esta tesina.

Alimento	No presenta riesgo para la salud (m)	Sí presenta riesgo para la salud (M)	Número máximo de muestras que puede contener un microorganismo entre m y M, para ser aceptable (c)
Aceite	Levadura: 100 ufc/ml	Levadura: 1000 ufc/ml	Levadura: 1
Agua potable	<i>E. coli</i> : ausencia <i>Coliformes totales</i> : 5 ufc / 100 ml	<i>E. coli</i> : ausencia <i>Coliformes totales</i> : 1 ufc / 100 cm ³	<i>E. coli</i> : ausencia <i>Coliformes totales</i> : 1 ufc /10 muestras al mes
Leche pasteurizada	RAM: 1.000 ufc/ml <i>Coliformes</i> : 1 ufc/ml	RAM: 50.000 ufc/ml <i>Coliformes</i> : 10 ufc/ml	RAM: 2 <i>Coliformes</i> : 2
Leche no pasteurizada	RAM: 500.000 ufc/ml	RAM: 1.000.000 ufc/ml	RAM: 1
Manjar	Mohos: 10 ufc/gr Levaduras: 10 ufc/gr	Mohos: 100 ufc/gr Levaduras: 100 ufc/gr	Mohos: 2 Levaduras: 2
Miel	RAM: 100 ufc/gr <i>Esporas de Cl</i> : 100 ufc/gr	RAM: 1.000 ufc/gr <i>Esporas de Cl</i> : 1.000 ufc/gr	RAM: 3 <i>Esporas de Cl</i> : 2
Queso fresco	<i>Enterobacterias</i> : 2.000 ufc/gr <i>E. coli</i> : < 3 ufc/gr <i>S. aureus</i> : 10 ufc/gr <i>Salmonella</i> : ausencia	<i>Enterobacterias</i> : 10.000 ufc/gr <i>E. coli</i> : 10 ufc/gr <i>S. aureus</i> : 100 ufc/gr <i>Salmonella</i> : ausencia	<i>Enterobacterias</i> : 1 <i>E. coli</i> : 1 <i>S. aureus</i> : 1 <i>Salmonella</i> : ausencia
Queso maduro	<i>Enterobacterias</i> : 200 ufc/gr <i>S. aureus</i> : 100 ufc/gr <i>Salmonella</i> : ausencia	<i>Enterobacterias</i> : 1.000 ufc/gr <i>S. aureus</i> : 1.000 ufc/gr <i>Salmonella</i> : ausencia	<i>Enterobacterias</i> : 2 <i>S. aureus</i> : 1 <i>Salmonella</i> : ausencia
Sal	No aplica	No aplica	No aplica

Fuente: Elaboración propia.

En definitiva, es importante destacar que una de las principales fuentes económicas en Chile se debe a la producción de alimentos (ACHIPIA, 2018). Así mismo, la demanda de alimentos se ha masificado a nivel mundial, resultando fundamental que estos productos sean inocuos para los consumidores (Codex Alimentarius, 2019). De este modo, la producción de alimentos inocuos mejora el acceso a los mercados y la productividad, como también impulsa el desarrollo económico, aún más en las zonas rurales (OPS, 2019). Por este motivo, el presente estudio tiene como objetivo realizar un análisis microbiológico a alimentos elaborados por pequeños productores de la región de O'Higgins, que incluye alimentos como aceite, agua, leche, miel, manjar, quesos y sales de mar. De igual manera, se desea comparar estos análisis según su Aw, además de sugerir la implementación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para promover una cultura de inocuidad alimentaria, con el fin de prevenir brotes alimentarios y asegurar alimentos inocuos. Así, el análisis microbiológico se realiza mediante técnicas de microbiología tradicional de recuento en placas, identificando unidades formadoras de colonias (UFC) como presencia o ausencia en gr o ml. Conforme a ello, se realiza el análisis a microorganismos indicadores de higiene como *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, *esporas de Cl*, hongos y levadura, y al patógeno *Salmonella spp.*

2 HIPÓTESIS

Pequeños productores de alimentos de la Región de O'Higgins implementan las Buenas Prácticas Agrícolas y de Manufactura, por lo cual sus productos no presentan riesgo para la salud de los consumidores según los límites establecidos en la reglamentación chilena.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Analizar microbiológicamente la calidad de los alimentos elaborados por pequeños productores de la Región de O'Higgins, y compararlos con la reglamentación chilena, para así promover una Cultura de Inocuidad Alimentaria.

3.2 Objetivos específicos

1. Realizar un análisis microbiológico a alimentos elaborados por productores de la región según los indicadores de higiene y patógeno.
2. Comparar la presencia y/o concentración de los microorganismos con lo estipulado en el Reglamento Sanitario de los Alimentos y entre los alimentos según su actividad de agua.
3. Proponer mejoras según las Buenas Prácticas Agrícolas y las Buenas Prácticas de Manufactura para incentivar la cultura de inocuidad alimentaria en los productores y manipuladores de alimentos.

4 MARCO METODOLÓGICO

El estudio formó parte del proyecto de investigación denominado “Transferencia Modelo de Ecoinnovación Agroalimentaria Regional” ejecutado por la Universidad O’Higgins y financiado por el GORE a través del Fondo de Innovación para la Competitividad (FIC), el cual tiene por objetivo crear un sello verde, con el fin de aumentar las oportunidades de mercado en pequeños productores de la Región de O’Higgins. Para esto, se seleccionó un grupo de productores para monitorear los peligros microbiológicos que pudieran presentar en sus productos alimentarios de origen animal y vegetal.

Dentro de los alimentos analizados, se encontraron aceites de oliva y de aceituna, sales marinas, mieles, manjares, quesos frescos, quesos maduros, leches pasteurizadas, leches sin pasteurizar o crudas y aguas potables. Los análisis microbiológicos realizados fueron para microorganismos indicadores de higiene como *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, *esporas de Cl*, hongos y levaduras. Y también se realizó el análisis para el patógeno *Salmonella spp.*

Para cumplir con la finalidad de este estudio analítico, se comenzó con la recepción de muestras y prosiguió con el análisis microbiológico mediante técnicas tradicionales que describen las Normas Chilenas y la Organización Internacional de Normalización (ISO), junto a las técnicas seleccionadas por el Laboratorio de Inocuidad Alimentaria (LIA) de la Universidad O’Higgins.

Materiales, insumos y equipos:

- EPP (mascarilla, cofia, lentes, delantal, cubre calzado, guantes).
- Refrigeradores (5°C +- 3°C).
- Libro de registro y lápiz.
- Frascos reactivos (o Schott).
- Probeta.

- Gradilla para tubos.
- Pesa de precisión.
- Tubos de ensayos.
- Hervidor.
- Utensilios (tijeras y cucharas).
- Microondas.
- Medios de cultivo.
- Diluyente.
- Agua destilada.
- Baño termorregulado de agua.
- Autoclave.
- Cinta de esterilizado.
- Portamuestra.
- Placas Petri.
- Bolsas estériles.
- Homogeneizador (Stomacher) y vórtex.
- Campana de flujo laminar.
- Muestra.
- Basureros biológicos y de residuos domiciliarios.
- Bagpipet.
- Propipeta.
- Asas
- Puntas de bagpipet.
- Pipetas.
- Cinta de anaerobiosis y anaerogen.
- Bandejas.
- Incubadoras (35°C, 44°C y 25°C).
- Contador de colonias.

4.1 Recepción y análisis de muestras

Las muestras fueron recepcionadas en el LIA del Campus Colchagua de la Universidad O'Higgins, de coordenadas UTM X (317541) e Y (6168252). Fueron recibidas y refrigeradas en la sala de recepción de muestras entre 5°C y 8°C hasta el posterior análisis microbiológico, obteniéndose un total de 66 muestras, las cuales fueron analizadas durante los meses de julio y agosto del 2023. Así, la duración del estudio desde la recepción hasta la obtención de resultados fue de 3 meses.

4.2 Higiene del personal y de los materiales y equipos

Para llevar a cabo el estudio sin contaminación por parte del personal y del laboratorio, es importante mantener una higiene de éstos. Por lo tanto, es fundamental el uso de EPP y el lavado de manos en el laboratorio. Por otro lado, los materiales y equipos a utilizar se encontraron limpios, desinfectados y/o esterilizados. Por este motivo, resulta imprescindible mantener medidas de prevención, higiene y seguridad para no contaminar el lugar de trabajo ni a las personas.

En cuanto a la limpieza y eliminación de materiales y equipos, luego de su uso pasaron a la sala de lavado y descontaminación. Para aquellos materiales desechables como las placas petri, pipetas, puntas de bagtips, pipetas, bolsas, entre otros, su eliminación se realizó posterior a la descontaminación mediante la autoclave a 121°C durante 30 minutos, para finalmente ser eliminados en basurales establecidos. Y, los equipos se limpian y desinfectan para evitar la contaminación dentro del LIA. En relación con la temperatura ambiental, estas se mantuvieron controladas según las exigencias del LIA.

4.3. Preparación de medios de cultivo y diluyente

Un medio de cultivo es una sustancia para cultivar y mantener microorganismos en el laboratorio, consta de un sustrato o solución que contiene nutrientes necesarios, pH y temperatura favorable para lograr el crecimiento de microorganismos. Por ello, según las condiciones de crecimiento de los microorganismos, se eligió un medio de cultivo adecuado en el que éste pueda crecer y multiplicarse para dar colonias. Las condiciones de crecimiento fueron determinadas según las Normas Chilenas e ISO.

Los medios de cultivo que se usaron para la incubación de los microorganismos fueron agares y caldos. Por un lado, los agares tienen una composición más sólida en comparación a los caldos, es decir, los caldos se mantienen líquidos durante los cambios de temperatura. Por otro lado, los agares se mantienen en una fase sólida a menores temperaturas, y para su utilización, deben pasar a fase líquida mediante el baño termorregulador de agua.

En cuanto a los diluyentes, estos son medios de enriquecimiento líquido, utilizados en las muestras que fueron analizadas. Este medio presenta cierto valor nutritivo; por lo tanto, permite el enriquecimiento de la muestra. En este estudio, se utilizó agua peptonada como diluyente para enriquecer todas las muestras. Las concentraciones realizadas fueron al 0,1% en microorganismos indicadores de higiene tales como *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, *esporas de Cl*, hongos y levaduras. Y se utilizó la concentración al 1% para analizar la presencia del patógeno *Salmonella spp.*

Los medios de cultivo y los diluyentes utilizados fueron preparaciones comerciales en forma de polvos deshidratados y estériles. Éstos siempre deben mantenerse en sus frascos originales, bien cerrados y a temperatura adecuada según las especificaciones propias de cada proveedor. Al momento de comenzar con las preparaciones, se manipularon los frascos con materiales secos, limpios y esterilizados. Para ambas preparaciones se utilizaron frascos schott,

cucharas y probetas estériles, además de equipos como la pesa de precisión y hervidor. En relación con los cálculos para las preparaciones de los medios de cultivo y diluyente, se encontraron en las instrucciones del envase, y se consideró el volumen requerido para el análisis. Así, luego de agregar la dosis requerida, se adicionó el agua destilada previamente hervida y se agitó vigorosamente hasta obtener una solución homogénea.

Ya finalizando, se adicionó una cinta de esterilizado sobre la tapa de los frascos preparados y se esterilizaron las preparaciones indicadas. La esterilidad de estas soluciones se realizó en la autoclave a 121°C durante 15 minutos. Los medios por utilizar se dejaron en el baño termostático de agua estéril a 46°C, y aquellos que se usaron después, se enfriaron y fueron refrigerados a 5 +/- 8°C.

4.4 Análisis microbiológico

Previo al análisis microbiológico, se completó un registro indicando los datos de la muestra, el personal a cargo, las diluciones a utilizar (-1, -2, -3, -4) y los microorganismos a analizar, además de rotular el material. Es relevante resaltar que el procedimiento del análisis microbiológico se inició con la preparación de los medios de cultivo y diluyentes. Para así proseguir con el pesaje e hidratación de las muestras de los alimentos, que se llevó a cabo en la sala de análisis de siembra del LIA, en esta etapa se pesó 25 gramos de la muestra y se agregó 225 del diluyente (agua peptonada) en una bolsa estéril. Posteriormente, la muestra inicial (1:10 o -1) se homogeneizó durante 60 segundos en el homogeneizador Stomacher, se dejó en el portamuestra y se realizaron las diluciones seriadas pertinentes para finalmente adicionar los agares correspondientes.

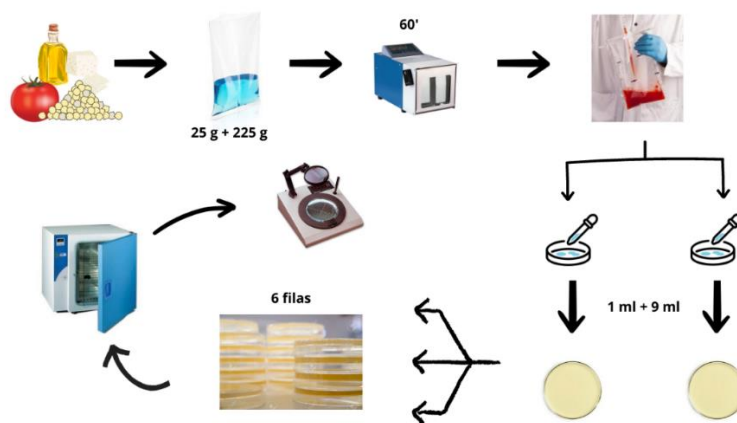
Es importante destacar que todas las muestras se realizaron por duplicado, es decir, de la primera dilución, se inoculó 1 ml en dos placas. Así pues, se realizó un análisis por triplicado a cada muestra; esto quiere decir que, para cada microorganismo que se analizó en cada muestra,

se llevó a cabo 3 análisis. A modo de ejemplo, para la muestra 1 se realizó un análisis microbiológico para *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, esporas de *Cl*, hongos, levadura y *Salmonella spp* 3 veces y así sucesivamente para cada muestra, con la finalidad de añadir confianza a los resultados obtenidos.

4.5 Análisis microbiológico de microorganismos indicadores de higiene

Los análisis realizados en este estudio incluyeron a *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, esporas de *Cl*, hongos y levaduras. En la *figura 1* se observa el procedimiento general del análisis microbiológico para los microorganismos indicadores de higiene. Posterior a la recepción de la muestra, se pesó 25 gramos del alimento y se adicionó 225 gramos de diluyente (agua peptonada al 0,1%) en una bolsa estéril, obteniendo la dilución -1 (1:10), luego se homogeneizó durante 60 segundos y se encontró lista para inocular 1 ml en cada placa. Para obtener una segunda dilución (-2; 1:100) se inoculó 1 ml de la muestra inicial a un tubo con 9 ml de diluyente, así sucesivamente hasta la dilución deseada. Es fundamental homogeneizar las muestras, ya sea en el Stomacher como en el vortex.

Figura 1. Procedimiento del análisis microorganismos Indicadores de Higiene en alimentos.



Fuente: Elaboración propia.

Luego, se agregó el agar correspondiente a las placas y se agitó vigorosa y cuidadosamente con movimientos en círculos hacia la derecha e izquierda y luego de arriba hacia abajo. La placa se dejó reposar hasta su solidificación. Tras finalizar con la incubación se observaron las placas en el contador de colonias.

De igual manera, en la *figura 2*, se ejemplifica la muestra inicial (o muestra problema) hasta la dilución -6 (1:1.000.000). Asimismo, se observan muchas colonias en las diluciones -1 y -2, denominándose placas muy numerosas para contar (MNPC), y pueden ser contables desde la dilución -3 (1:1.000).

Figura 2. Procedimiento para el recuento de células viables mediante diluciones en serie de la muestra y el método de vertido en placa.

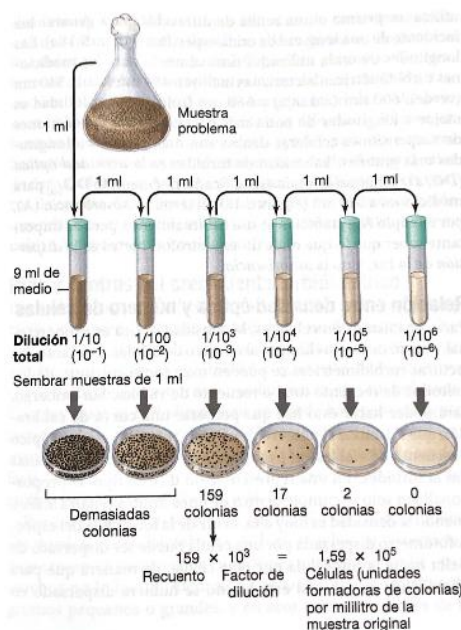


Figura 5.17 Procedimiento para el recuento de viables mediante diluciones en serie de la muestra y el método del vertido en placa. El líquido estéril usado para hacer las diluciones puede ser simplemente agua, pero una solución de sales minerales o un medio de cultivo suele dar mejor resultado. El factor de dilución es la inversa de la dilución.

Fuente: Madigan, *et al* (2015) Brock. Biología de los microorganismos.

Los microorganismos descritos anteriormente tienen características de crecimiento diferentes entre sí. Por ello, cada uno es incubado en un tipo de agar, temperatura y tiempo de incubación distinto según los requerimientos de éstos, los cuales se encuentran detallados en la *tabla 2*.

Tabla 2. Características de crecimiento de indicadores de higiene de la eficiencia de proceso e indicadores de contaminación fecal.

Microorganismo	Tipo de agar	Temperatura de incubación	Tiempo de incubación
<i>Recuento de Aerobios Mesófilos</i>	Agar Plate Count (PC)	35°C +/- 1°C	48 +/- 2 horas
<i>Enterobacterias</i>	Agar de Glucosa de Bilis Rojo Violeta (VRBD o VRBG)	35°C +/- 1°C	24 +/- 2 horas
<i>Escherichia coli</i>	Agar Triptona-Bilis-X- glucurónido (TBX)	44°C +/- 1°C	18 a 24 horas
<i>Esporas sulfito reductoras de Clostridium spp</i>	Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS)	35°C +/- 0,5°C	24 y 48 horas
<i>Hongos y levaduras</i>	Agar Cloranfenicol (YGC)	25°C +/- 1°C	5 días

Fuente: Elaboración propia.

Los indicadores de higiene presentan características específicas para las técnicas de análisis, como distintas condiciones para su incubación y posterior crecimiento. En la *tabla 3* se encuentran las indicaciones que se siguieron para el análisis microbiológico para cada indicador de higiene. Dentro de las características para cada microorganismo se encuentran las condiciones específicas de siembra y la norma o reglamento que establece aquello.

Tabla 3. Características específicas de siembra de microorganismos indicadores de la eficiencia del proceso e indicadores de contaminación fecal.

Microorganismo por identificar	Agares utilizados	Condiciones específicas de siembra	Condiciones de la placa para incubación	Norma aplicada
<i>Recuento de Aerobios Mesófilos</i>	PC	Aerobiosis, siembra por inmersión	Máximo 6 placas apiladas por columna, incubar placas invertidas	NCh2659:OF2002
<i>Enterobacterias</i>	VRBD	Aerobiosis, siembra en doble capa	Máximo 6 placas apiladas por columna, incubar placas invertidas	NCh2676:2002
<i>E. coli B-glucuronidasa positiva</i>	TBX	Aerobiosis, siembra por inmersión	Máximo 6 placas apiladas por columna, incubar placas invertidas	ISO166492:2001
<i>Esporas sulfito reductora de Clostridium spp</i>	SPS	Anaerobiosis, siembra por inmersión	Incubar placas invertidas en bolsa estéril con almohadilla anaeróbica	NCh3132:OF2008
<i>Hongos y levaduras</i>	YGC	Aerobiosis, siembra por inmersión	Máximo 6 placas apiladas por columna, incubar sin invertir la placa	NCh2734:2002

Fuente: Elaboración propia.

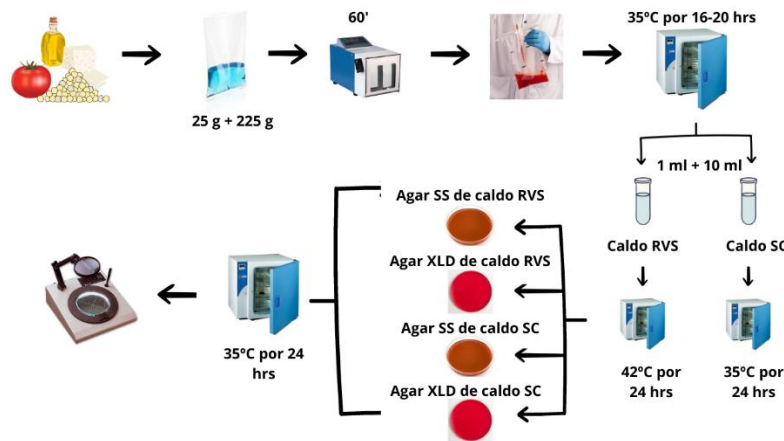
A propósito de las condiciones de siembra, la siembra por inmersión es una técnica simple que se caracteriza por la incorporación del agar en la placa, posterior a la inoculación de la muestra. Y la siembra de doble capa es una técnica en la que, posterior a la inoculación, se vertió 15 ml del agar VRBD esperando la solidificación para continuar con una segunda capa de 5 ml. Mencionar que, posterior a la inoculación de los agares, se homogeneizaron las placas mediante agitación vigorosa. Por otra parte, todos estos análisis son incubados en aerobiosis, es decir, en presencia de oxígeno, mientras que en las *Esporas de Cl.* se incubaron con ausencia de oxígeno (en anaerobiosis).

4.6 Análisis microbiológico del patógeno *Salmonella spp*

En la *figura 3*, se esquematiza el análisis microbiológico para *Salmonella spp*. Primeramente, se comenzó a preparar la muestra agregando 25 gramos del alimento y 225 gramos de agua peptonada al 1%, para luego incubar la muestra pre-enriquecida a 35°C +/- 1°C durante 18 horas. Posterior al pre-enriquecimiento, se realizó un enriquecimiento selectivo de la muestra previamente incubada. Pues, se inoculó 1 ml del pre-enriquecimiento a un tubo de ensayo con 10 ml de caldo Selenito Cistina (SC) y se incubó a 35°C +/- 1°C por 24 horas. De la misma bolsa se añadió 0,1 ml a otro tubo de ensayo con 10 ml del caldo Rappaport-Vassiliadis-Soya (RVS), para ser incubado a 42°C por 24 horas.

Al finalizar con el pre-enriquecimiento selectivo a través de un asa de loop desechable, se realizó la siembra de estriado en la superficie de los agares Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) y el agar *Salmonella Shiguelia* (SS). En el cual, del tubo con el caldo RVS se traspasó la muestra hacia el agar XLD y SS, asimismo, del tubo con el caldo SC, se realizó el traspaso hacia el agar XLD y SS. Estos 4 análisis, se incubaron a 35°C por 24 a 48 horas. Por último, si los resultados arrojan colonias sospechosas, éstas se tendrán que confirmar mediante una técnica denominada batería química API 20E.

Figura 3. Procedimiento del análisis microbiológico del patógeno *Salmonella spp*.



Fuente: Elaboración propia (2023).

4.7 Análisis de resultados de colonias características según microorganismos

Ya terminando el proceso y tras la incubación completa de cada análisis y su microorganismo específico, se prosiguió a retirar las placas de las incubadoras y éstas se observaron y contaron a través del contador de colonias. De este modo, la presencia de los microorganismos indicadores de higiene se determinó como ufc/gr o ml (unidades formadoras de colonias/gramo o mililitros), y en el caso del patógeno *Salmonella spp*, se determinó la presencia o ausencia/gramo.

4.8 Análisis estadísticos

Tras obtener los resultados de los análisis, se comparó la calidad microbiológica, según indicadores de higiene, en función de las limitaciones reglamentarias en Chile y según su Aw. Así pues, mediante revisión bibliográfica se obtuvo la Aw de los productos en cuestión, clasificando aquellos con menor a 0,96 de Aw (grupo 1) y aquellos con igual o mayor a 0,96 de Aw (grupo 2). El grupo incluyó al aceite de maní, manjar, miel, queso maduro y sal, mientras que el grupo 2 incluyó a la leche pasteurizada, leche sin pasteurizar y queso fresco. Luego, a través de la prueba ANOVA (Análisis de la Varianza), se determinó si existe diferencia entre ambos grupos. Esta prueba estadística considera una confianza de 95% y un error del 5%.

Por último, se realizó una revisión bibliográfica para crear y entregar un manual con recomendaciones y sugerencias de BPA y BPM para los pequeños productores. Igualmente, se realizó y difundió una infografía con recomendaciones de buenas prácticas de higiene para la población. En cuanto a las recomendaciones y sugerencias, estas fueron basadas principalmente en entidades oficiales como la Organización Mundial de la Salud, la Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria (ACHIPIA) y el Codex Alimentarius, entre otras.

5 RESULTADOS

En la *tabla 4*, se pueden observar los tipos de alimentos, la cantidad de estos analizados y si tuvieron presencia de microorganismos indicadores de higiene y del patógeno *Salmonella spp.* Así pues, de un total de 66 muestras, el 83% tuvo presencia de microorganismos indicadores de higiene, y un 100% presentó ausencia del patógeno *Salmonella spp.*

Tabla 4. Presencia de microorganismos y cantidad de alimentos analizados.

Alimento	Cantidad	Presencia de indicadores de higiene	Presencia de patógeno <i>Salmonella spp</i>
Aceite de maní	3	3/3	0/3
Aceite de oliva	3	0/3	0/3
Agua potable rural	3	0/3	0/3
Leche pasteurizada	3	3/3	0/3
Leche no pasteurizada	3	3/3	0/3
Manjar	9	7/9	0/9
Miel	21	21/21	0/21
Queso fresco	9	9/9	0/9
Queso maduro	6	6/6	0/6
Sal Cáhuil	3	1/3	0/3
Sal Lo Valdivia	3	2/3	0/3
Ocurrencia		83%	0%

Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se detallan aquellos alimentos que tuvieron presencia de microorganismos indicadores de higiene. De estos se obtuvo la ocurrencia, media, desviación estándar ($\pm D.E$), mediana y el rango intercuartil (IQ) de los siguientes alimentos; aceite de maní,

leche pasteurizada, leche no pasteurizada, manjar, miel, queso fresco, queso maduro y sales marinas.

En la *tabla 5*, se exponen las muestras de aceite de maní, que presentaron *RAM* y hongos.

Tabla 5. Muestras de aceite de maní con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Aceite de maní	<i>RAM</i>	Hongos
Ocurrencia	66,6%	100%
Media ($\pm$ D.E)	10 (0)	5 (0)
Mediana (IQ)	10 (0)	5 (0)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 6*, se exponen las muestras de leche pasteurizada, que presentaron *RAM*.

Tabla 6. Muestras de leche pasteurizada con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Leche pasteurizada	<i>RAM</i>
Ocurrencia	100%
Media ($\pm$ D.E)	463,3 ($\pm$ 98,7)
Mediana (IQ)	510 (180)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 7*, se exponen las muestras de leche no pasteurizada, las que presentaron *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, hongos y levaduras.

Tabla 7. Muestras de leche no pasteurizada con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Leche no pasteurizada	<i>RAM</i>	<i>Enterobacterias</i>	<i>E. coli</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	100%	100%	33,3%	100%	100%
Media ($\pm$ D.E)	876.666,7 ($\pm$ 95.043,8)	6 ($\pm$ 4,6)	1 (0)	136,7 ($\pm$ 20,8)	5.233,3 ($\pm$ 404,1)
Mediana (IQ)	880.000 (190.000)	7 (9)	1 (0)	130 (40)	5.300 (800)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 8*, se exponen las muestras de manjar, que presentaron *RAM*, hongos y levaduras.

Tabla 8. Muestras de manjar con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Manjar	<i>RAM</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	44,4%	22,2%	11,1%
Media ($\pm$ D.E)	236,3 ($\pm$ 146,7)	7,5 ($\pm$ 3,5)	10 (0)
Mediana (IQ)	280 (261,3)	7,5 (2,5)	10 (0)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 9*, se exponen las muestras de miel, que presentaron *RAM*, hongos y levaduras.

Tabla 9. Muestras de miel con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Miel	<i>RAM</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	100%	71,4%	14,2%
Media ($\pm$ D.E)	120,5 ($\pm$ 66,5)	92 ($\pm$ 106,6)	6,6 ($\pm$ 2,9)
Mediana (IQ)	150 (130)	50 (105)	5 (5)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 10*, se exponen muestras de queso fresco, que presentaron *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, hongos y levaduras.

Tabla 10. Muestras de queso fresco con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Queso fresco	<i>RAM</i>	<i>Enterobacterias</i>	<i>E. coli</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	100%	100%	11,1%	22,2%	100%
Media ($\pm$ D.E)	831.111 ($\pm$ 249.521,8)	100,7 ($\pm$ 71,4)	5 (0)	10 ($\pm$ 7,1)	4.500 ($\pm$ 1.315,3)
Mediana (IQ)	920.000 (505.000)	73 (112,5)	5 (0)	10 (0)	4.300 (2.550)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 11*, se exponen muestras de queso maduro, que presentaron *RAM*, hongos y levaduras.

Tabla 11. Muestras de queso maduro con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Queso maduro	<i>RAM</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	100%	100%	100%
Media ($\pm$ D.E)	1.310.000 ($\pm$ 288.097,2)	286,7 ($\pm$ 191,1)	128,3 ($\pm$ 37,1)
Mediana (IQ)	1.350.000 (560.000)	180 (330)	120 (47,5)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 12*, se exponen muestras de sal de Cáhuil que presentaron *RAM*.

Tabla 12. Muestras de sal de Cáhuil con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Sal de Cáhuil	<i>RAM</i>
Ocurrencia	33,3%
Media ($\pm$ D.E)	75 (0)
Mediana (IQ)	75 (0)

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 13*, se exponen las muestras de sal Lo Valdivia que presentaron hongos y levaduras.

Tabla 13. Muestras de sal Lo Valdivia con presencia de microorganismos indicadores de higiene.

Sal Lo Valdivia	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	66,6%	66,6%
Media ($\pm$ D.E)	7,5 ($\pm$ 3,5)	10 (0)
Mediana (IQ)	7,5 (0)	10 (0)

Fuente: Elaboración propia.

A continuación, tras obtener los resultados de los análisis microbiológicos de los alimentos, se prosiguió a comparar aquellos con presencia y/o concentración según los valores establecidos por el RSA en Chile y según su *Aw*. En relación con estos resultados obtenidos, se informa que, de las muestras analizadas, solo 3 alimentos estuvieron fuera de los rangos reglamentarios, que involucran los parámetros de “m” y “c”. En función de lo planteado anteriormente, los análisis a las leches no pasteurizadas superaron el límite para *RAM* en el 100% de las muestras, el 57,1% de las mieles analizadas superaron el límite para *RAM* y, dentro de los análisis a los quesos frescos, el 11,1% superó el límite para *E. coli*. Los datos mencionados se aprecian en las *tablas 14, 15 y 16*, según los microorganismos que regula el Ministerio de Salud en Chile.

En la *tabla 14*, se comparan los parámetros del RSA con los resultados obtenidos. Con respecto a los límites establecidos en la leche no pasteurizada, sólo se contemplan los *RAM*.

Tabla 14. Comparación de los parámetros del Reglamento Sanitario de los Alimentos y la presencia de *RAM* en la leche no pasteurizada.

Parámetros RSA	Ocurrencia	Valores de análisis microbiológico
c = <i>RAM</i> : 1	<i>RAM</i> : 100%	Muestra 13 (<i>RAM</i>): 780.000 ufc/ml
m = <i>RAM</i> : 500.000 ufc/ml		Muestra 14 (<i>RAM</i>): 970.000 ufc/ml
M = <i>RAM</i> : 1.000.000 ufc/ml		Muestra 15 (<i>RAM</i>): 880.000 ufc/ml

Fuente: Elaboración propia.

En la *tabla 15*, se detallan los parámetros de *RAM* en las mieles, y los valores de las muestras analizadas que superaron el parámetro de “m”.

Tabla 15. Comparación de los parámetros del Reglamento Sanitario de los Alimentos y la presencia de *RAM* en la miel.

Parámetro RSA	Ocurrencia	Valores de análisis microbiológico
c = <i>RAM</i> : 3	<i>RAM</i> : 57,1%	Muestra 26 (<i>RAM</i>): 150 ufc/gr Muestra 27 (<i>RAM</i>): 180 ufc/gr
m = <i>RAM</i> : 100 ufc/gr		Muestra 28 (<i>RAM</i>): 190 ufc/gr Muestra 34 (<i>RAM</i>): 180 ufc/gr
M = <i>RAM</i> : 1.000 ufc/gr		Muestra 35 (<i>RAM</i>): 180 ufc/gr Muestra 36 (<i>RAM</i>): 170 ufc/gr
		Muestra 37 (<i>RAM</i>): 170 ufc/gr Muestra 38 (<i>RAM</i>): 210 ufc/gr
		Muestra 39 (<i>RAM</i>): 190 ufc/gr Muestra 43 (<i>RAM</i>): 130 ufc/gr
		Muestra 44 (<i>RAM</i>): 170 ufc/gr Muestra 45 (<i>RAM</i>): 170 ufc/gr

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a los parámetros evaluados en el RSA en el queso fresco, se observaron *Enterobacterias*, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella*. Sin embargo, de las muestras analizadas, solo *E. coli* supera los parámetros de “m” en una muestra, expuesto en la *tabla 16*.

Tabla 16. Comparación de los parámetros del Reglamento Sanitario de los Alimentos y la presencia de *E. coli* en el queso fresco.

Parámetro RSA	Ocurrencia	Valores de análisis microbiológico
c = <i>E. coli</i> : 1	<i>E. coli</i> : 11,1%	Muestra 51 (<i>E. coli</i>): 5 ufc/gr
m = <i>E. coli</i> : < 3 ufc/gr		
M = <i>E. coli</i> : 10 ufc/gr		

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la A_w de los alimentos, éstos se obtuvieron mediante revisión bibliográfica y se detallan a continuación en la *tabla 17*.

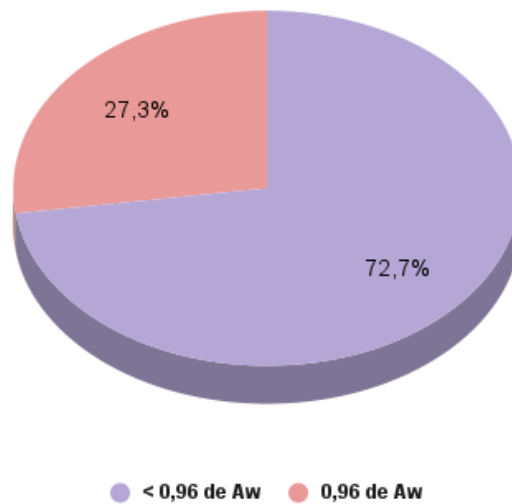
Tabla 17. Actividad del agua de los alimentos analizados.

Alimento	Actividad del agua (A_w)
Aceite	0,4
Agua	1
Leche	> 0,98
Manjar	0,72 – 0,82
Miel	0,56 – 0,75
Queso fresco	0,96
Queso maduro	0,8
Sal	0,75

Fuente: Elaboración propia.

Una vez obtenida la A_w de los alimentos, se compararon aquellos productos con una baja actividad del agua, correspondiendo a $<$ de 0,96 con aquellos con una alta A_w , que va desde los 0,96. Por lo tanto, de las 66 muestras que fueron analizadas, el 83% de los análisis se distribuyó en 2 grupos. De esta manera, en la *figura 4*, se tomó en cuenta a los alimentos con presencia de microorganismos indicadores de higiene, y se agruparon según su actividad de agua mencionada anteriormente. Dentro de los alimentos con menor A_w de 0,96 se encontró el aceite de maní, manjar, miel, queso maduro y sal, perteneciendo al 72,7% del total de alimentos. Por otro lado, los que presentaron una A_w desde 0,96 fueron la leche pasteurizada, la leche no pasteurizada y el queso fresco, correspondiendo al 27,3% restante.

Figura 4. Alimentos con presencia de microorganismos indicadores de higiene según su Actividad de agua.



Fuente: Elaboración propia.

Por consiguiente, en el grupo 1, incluyeron 40 muestras de alimentos, equivalente al 72,7% y en el grupo 2 se incluyeron 15 muestras, correspondientes al 27,3%. Así, en la *tabla 18* se encuentra detallado el grupo 1 y en la *tabla 19*, el segundo grupo. En ambas tablas se consideraron los microorganismos indicadores de higiene presentes; por lo tanto, en el grupo 1 se contempló a *RAM*, hongos y levaduras, en otras palabras, a los microorganismos indicadores de condición de manejo. De igual modo, en ambos grupos se obtuvo la ocurrencia, media, desviación estándar ($\pm$ D.E), mediana y rango intercuartil (IQ).

Tabla 18. Grupo 1: muestras de alimentos con menos de 0,96 de Actividad del agua.

	<i>RAM</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	75%	70%	30%
Media ($\pm$ D.E)	231.281,5 ($\pm$ 519.116,5)	121,8 ($\pm$ 150,2)	60 ($\pm$ 65,6)
Mediana (IQ)	170 (220)	50 (212,5)	10 (110)

Fuente: Elaboración propia.

No obstante, en el grupo 2 se incluyeron a *RAM*, *Enterobacterias*, *E. coli*, hongos y levaduras. Con respecto a los microorganismos presentes en el grupo con $> A_w$, se encontró presencia de *Enterobacterias* en 12 muestras y de *E. coli* en 2 de las muestras analizadas.

Tabla 19. Grupo 2: muestras de alimentos desde 0,96 de Actividad del agua.

	<i>RAM</i>	<i>Enterobacterias</i>	<i>E. coli</i>	Hongos	Levaduras
Ocurrencia	100%	80%	13,3%	33,3%	80%
Media ($\pm D.E$)	674.092,7 ($\pm 398.433,3$)	77 ($\pm 74,5$)	3 ($\pm 2,8$)	86 (± 71)	4.683,3 ($\pm 1.182,3$)
Mediana (IQ)	780.000 (480.000)	71,5 (119,8)	3 (0)	120 (135)	4.700 (2.125)

Fuente: Elaboración propia.

Para finalizar con los objetivos, se realizó la prueba estadística Análisis de Varianza (ANOVA) a través de la calculadora científica “Social Sciences Statistics” para comparar la media de los microorganismos obtenidos de ambos grupos. Por lo que, se compararon los microorganismos indicadores de condiciones de manejo, es decir, los *RAM*, hongos y levaduras. A continuación, en la *tabla 20* se exponen los resultados de valor p, según los microorganismos presentes en ambos grupos.

Tabla 20. Valor p para microorganismos indicadores de higiene del grupo 1 y 2.

Microorganismo indicador de higiene	Valor p
<i>RAM</i>	0,00511
Hongos	0,706048
Levaduras	0,00001

Fuente: Elaboración propia.

Por último, en la *figura 5* y *6*, podemos visualizar el “Manual de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura para pequeños productores”, como la infografía destinada a la comunidad. Este manual contiene 7 capítulos; el capítulo 1 trata sobre los Manipuladores de

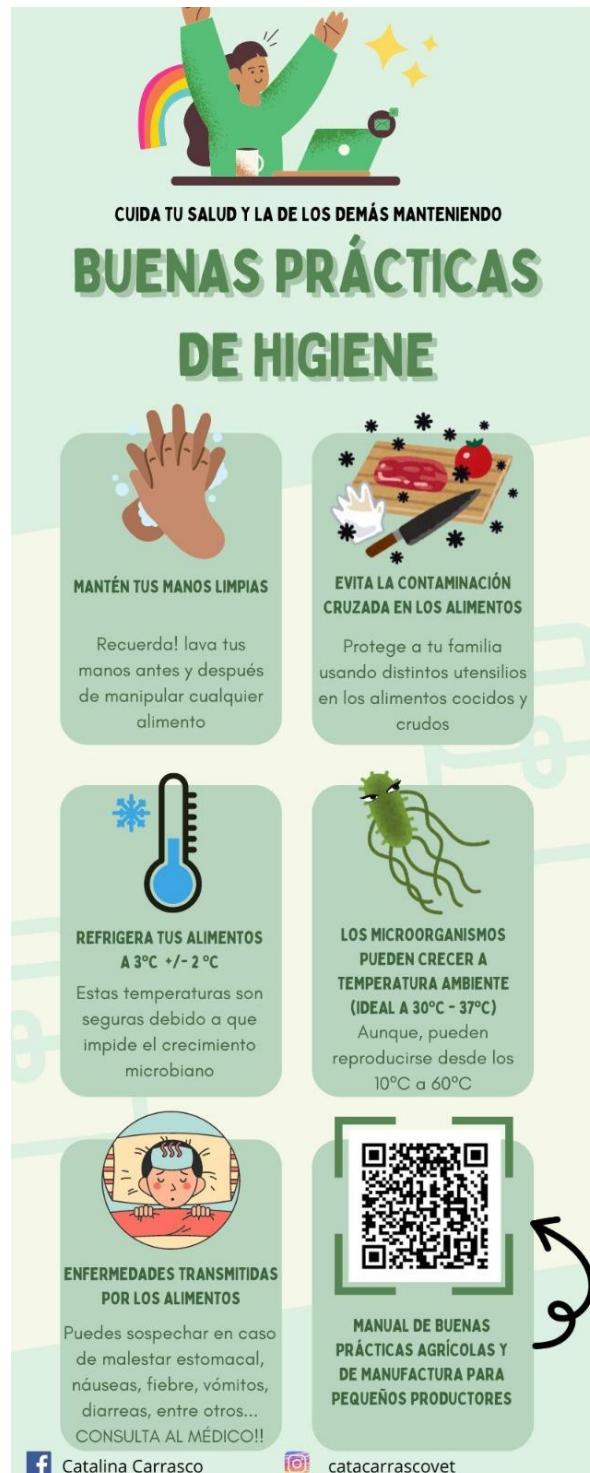
alimentos, el capítulo 2 sobre la Cadena alimentaria, el capítulo 3 sobre los Peligros alimentarios, el capítulo 4 sobre las Buenas Prácticas Agrícolas, el capítulo 5 sobre las Buenas Prácticas de Manufactura, el capítulo 6 sobre la Resolución Sanitaria y el capítulo 7 sobre el Análisis de Peligro y Puntos Críticos de Control (HACCP). Estos capítulos tienen por finalidad educar a los productores y manipuladores de alimentos, para que conozcan los peligros a los que pueden exponerse y las formas de prevenirlos. Así mismo, busca seguir implementando una cultura de Inocuidad Alimentaria basada en las BPA y BPM, para que sus productos sean inocuos y no causen riesgo en la salud de los consumidores.

Figura 5. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura para pequeños productores.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 6. Infografía para público general.



Fuente: Elaboración propia.

6 DISCUSIÓN

Este estudio evalúa la calidad microbiológica de diversos productos alimenticios en la región de O'Higgins. En general, los alimentos analizados cumplen con los parámetros establecidos por la reglamentación chilena. Por ello, estos alimentos se consideran aptos para su uso y consumo. Por lo que reflejan las prácticas de higiene y manipulación realizadas durante el proceso de obtención de materia prima, producción, elaboración, almacenamiento, envasado, distribución y comercialización de los productos analizados.

En particular, la leche no pasteurizada tiene presencia y excede el parámetro “m” para *RAM* en el 100% de sus muestras, lo que indica que estos alimentos pueden presentar riesgo en la salud de los consumidores, ya que sus valores se encuentran cercanos al parámetro “M”. En otras palabras, según los análisis realizados, estos productos presentan deficiencias en las condiciones de producción, lo que se puede inferir tras la presencia de levaduras. Pese a ello, se encuentra dentro de los límites máximos permisibles para *RAM* y se clasifica como “moderadamente aceptable”. Por otro lado, el estudio por Arteaga, *et al.* (2021) tiene valores superiores a la normativa peruana, para coliformes, *Enterobacterias*, *RAM* y *S. aureus*, reflejando deficiencia del manejo higiénico de estos productos. En este mismo sentido, Guaraca & Guaraca (2020) analizaron leche cruda que no cumple con la normativa ecuatoriana para *RAM*. De la misma manera, un estudio realizado por Betelhem, *et al.* (2023) a leches crudas en África indica que el 86% de los análisis realizados presentan una baja calidad según la normativa africana y europea para coliformes totales y *RAM*, no obstante, para *E. coli* sí se encuentra dentro de la normativa africana.

Contrariamente, los análisis a la leche pasteurizada sí cumplen con los parámetros establecidos para *RAM* en el reglamento chileno, considerándose apta para el consumo. De igual forma, el estudio por Santolaya (2018) establece que sus análisis para *Enterobacterias* y *L. monocytogenes* se encuentran dentro de los parámetros legales permitidos por su normativa

española. Al contrario de lo que ocurre en el estudio de Guaraca & Guaraca (2020), debido a que superan los límites para *RAM*, coliformes y *E. coli* establecidos en su normativa ecuatoriana. Así mismo, un estudio por Bethlehem, *et al.* (2023) a leches pasteurizadas indica que el 90% de las muestras no cumplen con la normativa africana ni europea, esto para coliformes totales y *RAM*, en cambio, si cumplen con los parámetros para *E. coli*.

De igual forma, en las muestras analizadas a los quesos frescos, el 11,1% de las muestras superó el parámetro “m” para *E. coli*, no obstante, se mantiene bajo el reglamento chileno. Sin embargo, indica contaminación fecal en el 11,1% mencionada, por lo cual se infiere que no cumplen con las prácticas de higiene correctas. En este sentido, el estudio por Ccaso & Hualpa (2020) en Perú presenta parámetros superiores a los establecidos en su normativa para *S. aureus*, *E. coli* y coliformes en la mayoría de sus quesos frescos. Asimismo, Arteaga, *et al.* (2021) estudio la calidad de quesos frescos artesanales producidos en Ecuador, los cuales presentan un incremento en los parámetros microbiológicos establecidos para coliformes, *RAM*, *Enterobacterias* y *S. aureus*. Otro estudio por Cepida (2022) en Perú no cumple con los parámetros establecidos por su normativa para coliformes totales y fecales, a pesar de ello, sí cumplen con los límites para *S. aureus* y *Salmonella spp.* En 2023, un estudio por García (2023) tiene presencia de *E. coli* y *Salmonella spp.* en el 72,2% y 98,1% de sus quesos frescos artesanales, además de incumplir la normativa peruana. Los antecedentes mencionados reflejan la deficiencia de sanitización e higienización antes, durante y después de la elaboración de los productos (HACCP, 2017). Igualmente, es importante destacar que estos alimentos presentan características intrínsecas y extrínsecas que pueden favorecer el crecimiento de patógenos como *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes*, entre otros (FAO, 2024; Gutiérrez, 2023).

En cuanto a los quesos maduros, éstos cumplen con los parámetros analizados según la reglamentación nacional. Un estudio por Cevallos & Zapata (2020) en Ecuador, indica que la mitad de los quesos mantenidos a temperatura ambiente no cumplen con la normativa, mientras que la otra mitad que se encontraban refrigerados a 3–4°C, sí cumplen con la normativa para

Enterobacterias y *S. aureus*. Otro estudio por Aranda (2021) señala que los quesos analizados en Perú se encuentran dentro de los parámetros estipulados por la normativa para coliformes, *E. coli*, *Salmonella spp* y *S. aureus*. En cambio, Ortiz, *et al.* (2023) señala que los quesos maduros artesanales cumplen con la normativa microbiológica de los coliformes, no obstante, los parámetros de los hongos y levaduras superaron lo establecido por la reglamentación.

Por otro lado, el 57% de las mieles analizadas superan el parámetro “m” para *RAM*, aunque cumple con la reglamentación nacional. Esto es similar a lo observado por Cruz (2022), el cual cumple con su normativa para *RAM*, coliformes, hongos y levaduras en Honduras. De forma similar, en el estudio de Menco, *et al.* (2022) en Colombia realizado entre 2019 y 2020, cumplen con la normativa en el análisis microbiológico de *esporas de Cl*, hongos y levaduras. Otro estudio realizado por Quevedo, *et al.* (2022), igualmente cumple con los parámetros establecidos para mohos, levaduras, *E. coli*, *Salmonella spp* y *B. cereus* en mieles peruanas.

En relación con el manjar y la sal, se encuentran dentro de los parámetros establecidos en el RSA en Chile. Por una parte, sus características intrínsecas impiden el crecimiento de microorganismos debido a la poca disponibilidad de agua (Román, 2021). Por otra parte, estos resultados reflejan las prácticas de higiene y manipulación empleadas en los alimentos. Otro estudio realizado por Tigse (2022) igualmente cumple con los parámetros establecidos para mohos y levaduras en los manjares analizados en Ecuador. Asimismo, Román (2021) cumple con los parámetros microbiológicos de coliformes, *RAM*, hongos, levaduras y *S. aureus* en sus manjares colombianos, y Perriggo & Salinas (2023) cumplen con las normativas peruanas en sus manjares.

En el caso de las sales de mar, los resultados indican una baja presencia de microorganismos, exclusivamente de hongos y levaduras, lo cual confirma lo dispuesto en la Norma Oficial para la Sal de Calidad Alimentaria N°18959 de la República de Costa Rica, FAO (1973). Esto indica que la sal debe estar libre de detritos, impurezas y microorganismos halófilos,

patógenos y cromogénicos que indiquen una manipulación defectuosa del producto. Por ende, el recuento bacteriano no podrá ser mayor de 20.000/gramo.

En cuanto a los análisis de agua potable rural, éstos no tienen presencia de *E. coli*, por tanto, cumplen la reglamentación chilena para este parámetro microbiológico sin causar riesgo al consumirla. Al contrario del estudio por Chacón (2021) en Chile, que no cumple con los límites para *E. coli*, aunque sí para los coliformes totales, realizado a estanques y domicilios particulares. Mientras que los estudios de Chacmana & Blas (2020) y de Gonzales, *et al.* (2023) realizados en Perú, indican que el agua potable presenta riesgo, puesto que no cumplen con los límites permisibles para coliformes y *E. coli* de su normativa. En cambio, el estudio por Morales, *et al.* (2022) evalúa la calidad microbiológica del agua potable en una escuela de Colombia, cumpliendo con la normativa para coliformes totales y fecales.

Por último, los análisis realizados a los aceites cumplen con los límites establecidos por la autoridad sanitaria. En Chile no se encontró comparativo directo para el microorganismo de *RAM*, por lo que se comparó con los límites de la matriz para mantequillas y margarinas, vegetales pre-elaborados, frutas y verduras. De forma similar, los microorganismos de deterioro se encuentran dentro del rango permitido para levaduras y hongos. Es importante precisar que estos microorganismos pueden alterar el aceite durante el procesamiento, almacenamiento y consumo, lo cual puede afectar directamente en la proliferación bacteriana y micótica, tal como lo señala Australian Government (2012) y el investigador Jamie Ayton en el Laboratorio de Investigación de aceites australianos.

Según el reglamento sanitario de los alimentos en Chile, la mayoría de los productos alimenticios analizados se clasifican como “aceptables”, conforme a lo estipulado en el plan de evaluación de calidad del RSA. Entre aquellos alimentos se encuentran el aceite, agua, leche pasteurizada, manjar, miel y queso maduro. Sin embargo, el 100% de las leches no pasteurizadas, el 57,1% de las mieles y el 11,1% de queso fresco se clasifican como “moderadamente aceptables”.

De acuerdo con lo señalado anteriormente, no se rechaza la hipótesis en aquellos alimentos señalados como aceptables, pero sí se rechaza en aquellos productos clasificados como moderadamente aceptables. Lo anterior, debido a que estos productos alimenticios podrían causar riesgo en la salud de los consumidores.

En relación con los parámetros microbiológicos de los alimentos, se conocen los límites de la mayoría de los productos presentes en este estudio. No obstante, el RSA no deja definidos aquellos microorganismos a analizar para establecer la calidad de la sal. Sumado a esto, el reglamento chileno no menciona a aquellas personas susceptibles a ciertos alimentos.

En lo que respecta a la A_w , no hay diferencia en el promedio de hongos entre el grupo 1 y 2, aunque sí existe una diferencia significativa en la presencia de *RAM* y levaduras, siendo mayor en el grupo 2, o sea, en los alimentos con A_w desde 0.96. En este marco, el grupo 2 tiene presencia de *Enterobacterias* y *E. coli*, en el 80% y 13,3% de sus alimentos. A pesar de tener presencia de estos microorganismos, los alimentos producidos en la sexta región cumplen con los parámetros establecidos por el reglamento chileno. Esto demuestra que los productores mantienen prácticas de higiene durante las etapas de producción y elaboración de sus productos alimenticios. Por ello, para complementar las buenas prácticas, se recomienda la lectura y práctica del “Manual de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura para pequeños productores” (*figura 5*). Asimismo, se divulga una infografía para público general, con el fin de promover buenas prácticas en los manipuladores y consumidores de alimentos (*figura 6*).

6.1 Limitaciones del estudio

Dentro de las limitaciones de este estudio, no se pudieron realizar algunos análisis microbiológicos que se evalúan en el reglamento chileno, debido al proceso de acreditación en que se encuentra el laboratorio de la Universidad O'Higgins. De manera que se sugiere volver a

analizar productos alimenticios de diversas comunas de la sexta región para conocer la calidad microbiológica de aquellos alimentos y promover la educación y cultura de Inocuidad Alimentaria.

7 CONCLUSIÓN

En resumen, es importante enfatizar que, de las muestras de alimentos producidas por pequeños productores de la sexta región, el 100% cumple con los parámetros microbiológicos analizados según la reglamentación chilena estipulada. Frente a esto, se infiere que la mayoría de los productores mantienen prácticas de higiene durante la obtención de materia prima, la producción, elaboración, envasado, mantención y comercialización de estos productos. Sin embargo, es importante destacar que aquellos alimentos con recuentos de microorganismos elevados deben realizar mejoras en las prácticas de higiene que mantienen, esto con el fin de evitar alimentos con posible contaminación de patógenos que puedan afectar la salud de la población.

A causa de lo antes mencionado, se entrega un manual con la finalidad de educar y fomentar la producción de alimentos inocuos, además de incentivar una cultura de Inocuidad Alimentaria en los pequeños productores de la Región de O'Higgins. Por tal razón, se sugiere implementar continuas capacitaciones sobre BPA, BPM y prácticas de higiene a los trabajadores y manipuladores de alimentos. Así, la constante aplicación de las recomendaciones y sugerencias de los 7 capítulos contribuye con la entrega de productos sanos e inocuos, lo cual puede incrementar sus ventas a nivel local e internacional. De forma que es primordial considerar que la Cultura de Inocuidad debe reforzarse día a día en todos los grupos etarios, ya que lo anterior permite ir subiendo el nivel de aplicación desde los productores hasta los consumidores.

8 REFERENCIAS

ACHIPIA (2021). Manual para Manipuladores de Alimentos Basado en el modelo de currículum estandarizado.

https://www.achipia.gob.cl/wpcontent/uploads/2021/10/MANUAL_MANIPULADORES_FORMADORES.pdf

ACHIPIA. (2017). *Vibrio parahaemolyticus*.

AESAN. (2022). *Toxiinfección por Escherichia coli*.
https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/Escherichia_coli.htm

Aranda N. (2021). EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL QUESO MANTECOSO A BASE DE LECHE CRUDA Y PASTEURIZADA EN EL ISTP CEFOP CAJAMARCA EN LA PROVINCIA DE SAN MIGUEL. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA. FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.
[https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/4538/TESIS%20NOEMI%20JACQUELINE%20ARANDA%20ESPEJO%20\(4\).pdf?sequence=1](https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/4538/TESIS%20NOEMI%20JACQUELINE%20ARANDA%20ESPEJO%20(4).pdf?sequence=1)

Arévalo M. (2014). DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA Y pH Y SU RELACIÓN EN LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA DE QUESO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO CENTRAL DE MACHALA, 2014. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA “Calidad, Pertinencia y Calidez” UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS.
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2866/3/CD000003-TRABAJO%20COMPLETO-pdf>

Arteaga R., Armenteros M., Colas M., Pérez M. y Fimia R. (2021). Calidad sanitaria de la leche y quesos artesanales elaborados en la provincia de Manabí, Ecuador. Revista de Producción Animal, vol.33 no.3 Camagüey sept.-dic. 2021. Epub 31-Dic-2021.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-79202021000300054&script=sci_arttext&lng=en

Ayton J., Mailer R. y Graham K. (2012). The Effect of Storage Conditions on Extra Virgin Olive Oil Quality.
<https://1.oliveoiltimes.com/library/Olive-Oil-Storage-Conditions.pdf>

- Baracatt, K., Liliana Maier, L., Luis López, N., Ricardo, V., Jacob, A., Lilia, C., María, M. S., Larraín, A., Karla, B., Victor, C. A., Nilsson, R. R., Comité, C. E. E., & Agradecimientos, R. D. (2021). *Manual para Manipuladores de Alimentos*.
- Berber I. (2009). *PRODUCCIÓN DE UN MANUAL MULTIMEDIA SOBRE LA ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS*. Universidad Nacional Autónoma de México.
https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/DGB_UNAM/TES01000645524/3/0645524.pdf
- Betelhem M., Alganesh T., Nahusenay H., Sisayc T., Kovac J., Vipham J. y Zewdu A. (2023). Evaluación de indicadores de higiene microbiana en leche cruda, leche pasteurizada y requesón recolectados a lo largo de la cadena de valor de los lácteos en Etiopía. *Revista Láctea Internacional*, Volumen 136, enero 2023, 105487.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694622001716>
- Cancino M. (2021). Análisis fisicoquímico y microbiológico de agua Purificada en el barrio san ramón del municipio De san cristóbal de las casas, chiapas, acorde A la norma oficial mexicana nom-127-ssa1-1994. UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS. FACULTAD DE INGENIERÍA.
<https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/4381>
- Ccaso Y. & Hualpa F (2020). Análisis microbiológico en relación a las condiciones higiénicas sanitarias de expendio de quesos frescos comercializados en los mercados de la ciudad de Juliaca, 2020. Universidad Maria Auxiliadora. Facultad de Ciencias de la Salud.
<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/471>
- Cepida G. (2022). CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL DISTRITO DE HUANCAMELICA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA. FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA. ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA.
<https://repositorio.unh.edu.pe/items/5bb3dd2c-47ca-47f5-8b76-91a206dd97db>
- Cervantes J., Orihuela R. y Rutiaga J. (2017). Acerca del Desarrollo y Control de Microorganismos en la Fabricación de Papel Sobre el Desarrollo y Control de Microorganismos en la Fabricación de Papel. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México. Instituto Tecnológico de Aguascalientes.

<https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/>

Cevallos S. y Zapata K. (2020). Evaluación del proceso de maduración y almacenamiento del queso andino madurado. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI. FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.

<https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6676>

Chacmana E. & Blas C. (2020). Evaluación de los Parámetros de control obligatorio de la calidad del agua para consumo humano en los reservorios del centro poblado rural Río Seco – Cieneguilla, agosto- 2019. Universidad Norbert Wiener. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.

<https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/3829?locale-attribute=en>

Chacón M. (2021). Análisis del funcionamiento del programa de agua potable rural (APR) ante problemas de abastecimiento y ausencia de saneamiento en la zona Sur de Chile: caso del APR Bahía Mansa. UNIVERSIDAD DE CHILE. FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS.

<https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/182520>

Codex Alimentarius (2019). Plan Estratégico del Codex 2020-2025.

<https://www.fao.org/publications/card/es/c/CA5645ES>

Codex Alimentarius (2022). PRINCIPIOS GENERALES DE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS CXC 1-1969.

https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B1-1969%252FCXC_001s.pdf

Condori C. (2014). DETERIORO Y CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN. FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.

<https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/d3e56e4f-fc6e-47d4-b094-afb3fc67598f/content#:~:text=Los%20factores%20extr%C3%ADnsecos%20m%C3%A1s%20importantes,temperatura%20y%20composici%C3%B3n%20del%20medio.&text=Los%20microorganismos%20necesitan%20de%20agua,a%20otras%20mol%C3%A9culas%20del%20alimento>

- Conrado A. (2022). Determinantes sociales en la mortalidad de las enfermedades transmitidas por el agua en Argentina, a principios del siglo XXI. Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, vol.20 no.3 Asunción Dec. 2022.
http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1812-95282022000300080
- Cruz A. (2022). Evaluación de la calidad microbiana de miel de abeja procesada en la Planta Apícola de Zamorano. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Departamento de Agroindustria Alimentaria. Ingeniería en Agroindustria Alimentaria.
<https://bdigital.zamorano.edu/items/a87d897f-5d94-4e8d-841b-04345f3d1ba4>
- Dávila H. (2022). EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO FRESCO ELABORADO POR CUATRO ASOCIACIONES EN LA CIUDAD DE HUANCAVELICA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA. FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL.
<https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/c066b062-d7f0-4cc1-917f-2aed8c084e81/content>
- Departamento de Epidemiología. (2016). *Brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA)*.
- ECDC. (2020). *Listeriosis*.
- EFSA. (2020). *Listeria in frozen vegetables: how to reduce risks*.
<https://www.efsa.europa.eu/en/news/listeria-frozen-vegetables-how-reduce-risks>
- FAO & OMS. (2003). *Garantía de la Inocuidad y Calidad de los Alimentos: Directrices para el fortalecimiento de los Sistemas Nacionales de Control de los Alimentos*.
<https://www.fao.org/documents/card/ru/c/0b1fd288-68bc-5e81-9430-b9ffcb75ab78>
- FAO & OMS. (2007). Etiquetado de los Alimentos. Quinta edición.
<https://www.fao.org/3/a1390s/a1390s.pdf>
- FAO (1973). Norma Oficial para la Sal de Calidad Alimentaria.
<https://faolex.fao.org/docs/pdf/cos78060.pdf>
- FAO (2014). Portal lácteo. Peligros para la salud.
<https://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/>
- FAO (2024). Peligros para la salud.

<https://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/>

FAO (2024). Portal lácteo. Tipos y características.

<https://www.fao.org/dairy-production-products/products/tipos-y-caracteristicas/es/>

FAO. (2021). *Alimentación en Covid-19*.

<https://www.fao.org/chile/noticias/alimentacioncovid/es/>

FBX MÉXICO (2023). FACTORES QUE AFECTAN AL DESARROLLO BACTERIANO.

<https://fbkmexico.com/factores-que-afectan-al-desarrollo-bacteriano/>

Fernández S., Marcía J., Bu J., Baca Y., Chávez V., Montoya H., Varela I., Ruiz J., Lagos S., y Ore F. (2021).

Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Revista de Ciencia Latina Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284–2298.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433

Fernández S., Marcía J., Bu J., Baca Y., Chávez V., Montoya H., Varela I., Ruiz J., Lagos S. y Ore F. (2021).

Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencias Latina Revista Multidisciplinar*, Vol. 5, número 2.

<https://www.ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/433>

Fondo Nacional de Ahorro. (2008). *Normas Chilenas e ISO*.

García F. (2023). *Escherichia coli* y *Salmonella spp* en queso fresco artesanal comercializado en épocas de lluvia en el Distrito de Baños. UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA. ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA.

<https://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/9258>

Gobierno de Chile (2013). REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS DTO. N° 977/96 (D.OF. 13.05.97).

Gonzales W., Acharte L., Poma J., Sánchez V., Quispe F. y Meseguer R. (2023). Evaluación fisicoquímica y microbiológica del agua de consumo humano en seis comunidades rurales altoandinas de Huancavelica-Perú. *Revista de investigación Altoandinas*, vol.25 no.1 Puno ene./mar. 2023.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572023000100023&script=sci_arttext

González D. (2023). PROCESOS DE PASTEURIZACIÓN RECOMENDADOS POR LA LITERATURA CIENTÍFICA ENTRE 1975 Y 2021: REVISIÓN SISTEMÁTICA. UNIVERSIDAD DE CHILE. FACULTAD DE CIENCIAS

QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA.

<https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/195616>

Graziani, C., Losasso, C., Luzzi, I., Ricci, A., Scavia, G., & Pasquali, P. (2022). *Salmonella* mapa de la historia. *Foodborne Diseases: Third Edition*, 133–169.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00005-X>

Guaraca E. & Guaraca L. (2020). Implementación de una Guía Técnica para la pasteurización de leche y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en la Planta de Lácteos “VIGLAC” ubicada en el cantón Tambo. UNIVERSIDAD DE CUENCA. Facultad de Ciencias Químicas.

<https://core.ac.uk/download/pdf/288584839.pdf>

Gutiérrez M. (2023). Prevalencia de *listeria monocytogenes* como vehículo transmisor de listeriosis humana en queso fresco envasado y a granel de mercados de abasto de los distritos de Huancayo y El Tambo – Junín, 2019. Universidad Nacional Federico Villarreal.

<http://190.12.84.13/handle/20.500.13084/7609>

Hernández, H. A., & Giles, M. (2021). *Métodos Microbiológicos para el Análisis de Alimentos*. Universidad Nacional Autónoma de México.

<http://www.librosoa.unam.mx/handle/123456789/3205>

<https://www.isl.gob.cl/wp-content/uploads/2015/04/D.S-N-----977actualizado-2013.pdf>

Huaman M. (2021). TRABAJO ACADÉMICO REALIZADO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y ECOLOGÍA FORENSE DE LA DIVISIÓN DE LABORATORIO DE CRIMINALÍSTICA-PNP-LIMA, SOBRE LA INCIDENCIA DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO 2018. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA. FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS.

<https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/a81ef858-9fa7-4b11-a152-046c9052b6ad/content>

Huerta P., Oliva C., Pulido J. y Leyton C. (2022). Análisis de la miel de abeja en Chile: un estudio de caso en el sector apícola. Entramado vol.18 no.2 Cali July/Dec. 2022 Epub Oct 10, 2022.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1900-38032022000200203&script=sci_arttext

- Izquierdo, J., & Rodriguez Fazzone, M. (2006). *Buenas Prácticas Agrícolas (BPA)*.
<https://repositorio.uesiglo21.edu.ar/bitstream/handle/ues21/12814/A0718s00.pdf?sequence=1>
- JOSE ALFREDO MONGE ARROYO. (2018). *EVALUACIÓN DE CONOCIMIENTOS DE INOCUIDAD ALIMENTARIA EN MANIPULADORES DE ALIMENTOS DE ESTABLECIMIENTOS DE COMIDA ÉTNICA DE LA COMUNA DE PROVIDENCIA*.
- Kupper T., Apel C., Bertsch D., Giet M., Giet S., Grass M., Cerfontaine C., Haunolder M., Hundt N., Kuhn C., Morrison A., Sonja M., Timmerman L., Wernitz K y Jager J. (2022). Análisis del agua potable local para detectar contaminación fecal en la región de Solu-Khumbu/Monte Everest, Nepal. *Int J Hyg Salud Ambiental*. Septiembre de 2022: 246: 114043.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36240578/>
- León J., Ortiz J., Astudillo D. y Donoso S. (2023). Control microbiológico de alimentos en la vía pública en Cuenca, Ecuador. *Revista Chilena de nutrición. Rev. niño. nutr.* vol.50 no.3 Santiago jun. 2023.
https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182023000300261&script=sci_arttext
- Loncomilla P. (2004). Evolución de maduración de Queso Chanco reducido en grasa, con incorporación de cultivo adjunto y homogenización. UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Ingeniería de Alimentos.
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fal847e/pdf/fal847e-TH.3.pdf>
- Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D. & Stahl D. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos*. 14ª edición (pág 162–163).
- Mayoral S. y Reyes D. (2018). ¿Qué son los microorganismos?. Cronogasi.org.
<https://conogasi.org/articulos/que-son-los-microorganismos/>
- Menco A., Méndez M., Cacéres K. y Vertel M. (2022). Analítica de datos aplicada a la caracterización microbiológica y sensorial de miel de abejas provenientes del departamento de Sucre, Colombia. *MUTIS*, Vol. 12 (1) enero – junio del 2022.
<https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/26860>
- Merchán N., Pineda L., Cárdenas A., González N., Otálora M y Sánchez Y. (2019). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en

las Américas, 2007–2016. Universidad de Boyacá, Tunja, Boyacá, Colombia.

<https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>

Ministerio de Salud (2023). REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS.

<https://www.dinta.cl/wp-content/uploads/2023/03/RSA-decreto-977-96-act-al-26-01-23.pdf>

Ministerio de Salud Pública (2010). DECRETO 735 REGLAMENTO DE LOS SERVICIOS DE AGUA DESTINADOS AL CONSUMO HUMANO.

<https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=197226&idParte=0>

Ministerio de Salud Pública (2010). REGLAMENTO DE LOS SERVICIOS DE AGUA DESTINADOS AL CONSUMO HUMANO. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. Ley, decreto 735.

<https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=197226>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2023). *Calidad e inocuidad de alimentos*.

<https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/inocuidad-alimentos.aspx>

Ministerio de Salud. (2015). *Reglamento Sanitario de los Alimentos*.

<https://www.minsal.cl/reglamento-sanitario-de-los-alimentos/>

Ministerio de Salud. (2019). *BROTOS DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (TEA)*.

Ministerio de Salud. (2020). LEY 21179 Firma electrónica ESTABLECE NORMAS SOBRE ELABORACIÓN, DENOMINACIÓN Y ETIQUETADO DE PRODUCTOS LÁCTEOS O DERIVADOS DE LA LECHE.

<https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=1138206&idParte=10066133&idVersion=2020-08-03>

MINISTERIO DE SANIDAD, CONSUMO Y BIENESTAR SOCIAL (2019). DOCUMENTO DE ORIENTACIÓN PARA LA VERIFICACIÓN DE ESTUDIOS DE VIEDA ÚTIL EN RELACIÓN CON *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN ALIMENTOS LISTOS PARA EL CONSUMO.

https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Verificacion_vida_util.pdf

Montaño N., Sandoval A., Camargo S. y Sánchez J. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. Elementos 77 (15–23).

<https://www.redalyc.org/pdf/294/29411989003.pdf>

Moraga M. (2022). NORMAS MICROBIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS Y ASIMILADOS (superficies, aguas diferentes de consumo, subproductos) Y OTROS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE INTERÉS SANITARIO.

https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/doc_seguridad_alimentaria/es_def/adjuntos/control-alimentos/seguridad-microbiologica/normas-microbiologicas-alimentos-enero-2020.pdf

Morales D., Daza M., Navarro Y., Cuello L. y Munive E. (2022) CALIDAD DEL AGUA EN LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA RURAL ANA JOAQUINA RODRÍGUEZ, SEDE BOCA DEL MONTE, SAN JUAN DEL CESAR LA GUAJIRA. Volumen 4. No. 3. Junio 2022, ISSN: 2711-1814.

<https://fundacionlasirc.org/images/Revista/REVISTALASIRCVolumen4.No.3.pdf#page=101>

Norma Chilena Oficial (2005). Agua potable. Parte 1 Requisitos. NCh409/1
<https://ciperchile.cl/pdfs/11-2013/norovirus/NCh409.pdf>

OMS (2020). Inocuidad de los alimentos.

<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

OMS. (2022). *Enfermedades de transmisión alimentaria.*

https://www.who.int/es/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_3

OPS. (2022). *PANAFTOSA advierte que las enfermedades transmitidas por alimentos pueden ser evitadas con acciones preventivas desde el campo a la mesa – OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud.*

<https://www.paho.org/es/noticias/7-6-2022-panaftosa-advierde-que-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-pueden-ser>

OPS/OMS (2022). PANAFTOSA advierte que las enfermedades transmitidas por alimentos pueden ser evitadas con acciones preventivas desde el campo a la mesa.

<https://www.paho.org/es/noticias/7-6-2022-panaftosa-advierde-que-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-pueden-ser>

OPS/OMS. (2019). Análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP).

<https://www.paho.org/es/documentos/analisis-peligros-puntos-criticos-control-haccp>

- OPS/OMS. (2019). *La inocuidad de los alimentos es responsabilidad de todos*.
<https://www.paho.org/es/noticias/6-6-2019-inocuidad-alimentos-es-responsabilidad-todos>
- OPS/OMS. (2023). *Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)*.
https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0
- OPS/OMS. (2023). *Factores determinantes de las enfermedades transmitidas por alimentos. factores de contaminación, supervivencia y multiplicación*. ANEXO G.
https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10808:2015-anexo-g-factores-determinantes-alimentos&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0
- Organización Mundial de la Salud. Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Z. y E. de T. Alimentaria. (2007). *Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos*.
- Organización Panamericana de la Salud (2023). *Glosario*.
https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10556:2015-glosario&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0
- Ortiz E., Bañuelos R., Delgadillo L., Meza C. y Echavarria F. (2023). Caracterización microbiológica y fisicoquímica de queso maduro denominado añejo comercializado en establecimientos de Zacatecas, Zac. México. XXVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA.) XLVII Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A. C. (AMPA). Palacio de Convenciones. Zacatecas, Zac., México. Abril 26–28, 2023.
https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs_files/article/view/3246/1866
- PATRÍCIA ANTUNES, C. N. and L. P. (2020). *Food to Humans Bacterial Transmission*.
- Peralta G. (2022). Situación internacional y nacional del sector lácteo bovino. Departamento de Política Sectorial y Análisis de Mercado. Artículo producido y editado por la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias – Odepa. Ministerio de Agricultura.
<https://bibliotecadigital.odepa.gob.cl/bitstream/handle/20.500.12650/71892/SituacionSectorLacteo20220927.pdf>

- Pérez E. (2021). Proyecto de Inversión para la Instalación de una planta productora de manjar blanco para el mercado nacional. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.
<https://tesis.usat.edu.pe/handle/20.500.12423/4367>
- Perriggo A. & Salinas L. (2023). Elaboración y caracterización de manjar blanco con aislado proteico de soya (Glycine max), lúcuma (Pouteria lucuma) y edulcorado con panela. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/11852>
- Quevedo T., Gastulo J. y Santa A. (2022). Elaboración de una barra alimenticia de kiwicha, polen y miel de abeja. Llamkasun, 3(1), 130-137.
<https://llamkasun.unat.edu.pe/index.php/revista/article/view/92>
- Quishpe H. & Tigse I. (2022). Evaluación de la concentración de leche y suero lácteo en la elaboración del manjar. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI. FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.
<https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8743>
- Rafaile A. (2022). CARACTERIZACIÓN DEL MANJAR BLANCO A GRANEL DURANTE EL ALMACENAMIENTO A DIFERENTES TEMPERATURAS. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA. FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/5638/rafaile-rupay-alicia-beatriz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ramos B. (2022). Determinación de microorganismos indicadores de higiene en manos de manipuladores de alimentos en sección comidas del mercado Américas de Abancay. UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC. FACULTAD DE INGENIERÍA. ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL.
https://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/1325/T_118.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ramos P. (2017). CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS DE ALTO RIESGO EN SERVICIOS GASTRONÓMICOS DE LA CIUDAD DE CNEL. OVIEDO, CAAGUAZÚ (2015 - 2016).

https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/04/1363416/informe-final-mb-al-ins_pasionaria-ramos.pdf

Robles A. y Vázquez A. (2023). Mapa conceptual sobre la Microbiología en Alimentos. TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO. Instituto Tecnológico de Los Mochis. Ingeniería en Industrias Alimentarias.

<https://es.scribd.com/document/673816667/MOS-EN-IA>

Román S. (2021). Análisis de Factibilidad del Desarrollo de 4 Prototipos de Dulce Blando a Base de Leche Marca Dulcería Lucy. Universidad de Santander. Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias.

<https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/b7cc65d8-b256-493b-b581-d3631aff245b/content>

Ruiz Villar, I. (2019). *PELIGROS ALIMENTARIOS: Alimentando la inocuidad.*

<https://alimentandolainocuidad.com/peligros-alimentarios/>

Santolaya H. (2018) Análisis microbiológico y físico-químico de la leche. Universidad de Jaén, Ciencias de la Salud.

<https://crea.ujaen.es/handle/10953.1/21361>

Silvia R. (2021). Análisis de Factibilidad del Desarrollo de 4° Prototipos de Dulce Blando a Base de Leche Marca Dulcería Lucy. Universidad de Santander. Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias.

<https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/b7cc65d8-b256-493b-b581-d3631aff245b/content>

Taipe C (2019). CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENSALADAS ELABORADAS EN POLLERÍAS DEL CENTRO POBLADO LAS AMÉRICAS – ABANCAY. UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC. FACULTAD DE INGENIERÍA. ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL.

https://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/891/T_0557.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Tapia M. (2020). CONTRIBUCIÓN AL CONCEPTO DE ACTIVIDAD DEL AGUA (aw) Y SU APLICACIÓN EN LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS EN LATINOAMÉRICA Y VENEZUELA. Boletín de la

Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Vol. LXXX, n.º 2, pp. 18-40.

<https://acfiman.org/wp-content/uploads/2022/07/LXXX.N2.P18-40.2020.pdf>

Vargas T. y Villazante L. (2014). Clasificación de los microorganismos. Rev. Act. Clin. Med v44.

http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000500002&lng=pt&nrm=iso

Vásquez G. (2003). La Contaminación de los Alimentos, un Problema por Resolver. Escuela de Nutrición y Dietética. Facultad de Salud. Universidad Industrial de Santander.

Velásquez D. y Goetschel L. (2019). Determinación de la calidad físico-química de la miel de abeja comercializada en Quito y comparación con la miel artificial. Enfoque UTE vol.10 no.2 Quito abr./jun. 2019.

http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?pid=S1390-65422019000200052&script=sci_arttext

World Health Organization African Region (2023). Agua.

<https://www.afro.who.int/health-topics/water>

Zamira Soto Varela, Liliana Pérez Lavalle y Dalidier Estrada Alvarado. (2015). *Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia.*

<http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>