

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“ANÁLISIS DE BACTERIAS PATÓGENAS EN “SARDINA” SALADA-SECA (ORDEN CLUPEIFORMES) PROCESADA ARTESANALMENTE EN LA BAHÍA DE JIQUILÍSCO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

Br. KARLA EUGENIA ESCOBAR AMAYA.  
Br. CAROLINA ESPERANZA HERNÁNDEZ HERRERA.

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, NOVIEMBRE 2012.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“ANÁLISIS DE BACTERIAS PATÓGENAS EN “SARDINA” SALADA-SECA (ORDEN CLUPEIFORMES) PROCESADA ARTESANALMENTE EN LA BAHÍA DE JIQUILÍSCO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

Br. KARLA EUGENIA ESCOBAR AMAYA.  
Br. CAROLINA ESPERANZA HERNÁNDEZ HERRERA.

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

ASESORA: \_\_\_\_\_

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

CIUDAD UNIVERSITARIA, NOVIEMBRE 2012.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“ANÁLISIS DE BACTERIAS PATÓGENAS EN “SARDINA” SALADA-SECA (ORDEN CLUPEIFORMES) PROCESADA ARTESANALMENTE EN LA BAHÍA DE JIQUILÍSCO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

Br. KARLA EUGENIA ESCOBAR AMAYA.  
Br. CAROLINA ESPERANZA HERNÁNDEZ HERRERA.

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

JURADO: \_\_\_\_\_

M.Sc. MARÍA EVELYN SÁNCHEZ DE RAMOS

JURADO: \_\_\_\_\_

DR. RIGOBERTO AYALA

CIUDAD UNIVERSITARIA, NOVIEMBRE 2012.

**AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

**DOCTORA ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA**

FISCAL:

LIC. FRANCISCO CRUZ LETONA

DECANO:

MSc. MARTÍN GUERRA

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE BIOLOGÍA

LIC. RODOLFO MENJIVAR

CUIDAD UNIVERSITARIA, NOVIEMBRE 2012

**ASESORES Y JURADOS**

ASESORA:

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

JURADO:

M.Sc. MARÍA EVELYN SÁNCHEZ DE RAMOS

JURADO:

DR. RIGOBERTO AYALA

CUIDAD UNIVERSITARIA, NOVIEMBRE 2012

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>Contenido</b>	<b>Pág.</b>
<b>Índice de Cuadros</b>	<b>III</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>IV</b>
<b>Índice de Anexos</b>	<b>V</b>
<b>I-Introducción</b>	<b>VI</b>
<b>II-Objetivos</b>	<b>7</b>
<b>III-Fundamento Teórico</b>	<b>8</b>
<b>3.1 Microbiología de Alimentos</b>	<b>8</b>
<b>3.2 Ecología Microbiana</b>	
<b>3.2.1 Algunos factores físicos y químicos que afectan a los microorganismos.</b>	<b>8</b>
<b>3.3 Crecimiento Bacteriano</b>	<b>10</b>
<b>3.4 Microorganismos contaminantes de alimentos</b>	<b>11</b>
<b>3.5 Factores que influyen en las poblaciones microbianas existentes en los alimentos.</b>	<b>12</b>
<b>3.5.1 Factores Intrínsecos</b>	<b>13</b>
<b>3.5.2 Factores Extrínsecos</b>	<b>15</b>
<b>3.6 Métodos de Preservación de los alimentos</b>	<b>16</b>
<b>3.7 Normativas que regulan la comercialización de alimentos</b>	<b>17</b>
<b>3.7.1 Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)</b>	<b>17</b>
<b>3.8 Microorganismos utilizados como parámetros microbiológicos por el RTCA 67.04.50:08 grupo 9 para Pescados</b>	<b>18</b>
<b>3.9 Enfermedades Transmitidas por Alimentos ETAs</b>	<b>21</b>
<b>3.10 Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)</b>	<b>23</b>
<b>3.11 Peces Pelágicos</b>	<b>24</b>
<b>3.11.1 “Sardinas” dentro del Orden Clupeiformes</b>	<b>24</b>
<b>3.12 Composición química del pescado</b>	<b>25</b>
<b>3.13 Composición Microbiológica del pescado</b>	<b>25</b>
<b>3.14 Pescado como alimento para el ser humano</b>	<b>25</b>
<b>3.14.1 Microorganismos en pescado seco-salado</b>	<b>26</b>
<b>3.15 Proceso de salado y secado en pescados</b>	<b>27</b>
<b>3.15.1 Salado</b>	<b>27</b>
<b>3.15.2 Secado</b>	<b>28</b>

3.16 Pesca Artesanal	28
3.17 Placas Petrifilm™	29
3.17.1 Placa Petrifilm™ para Recuento de <i>E. coli</i> / Coliformes	29
3.17.2 Placa Petrifilm™ Staph Express para recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
IV- Metodología	31
4.1 Descripción del Área de Estudio	31
4.2 Fase de Campo	32
4.3 Fase de Laboratorio	37
4.3.1 Métodos de análisis para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	37
4.3.2 Método de análisis para <i>Salmonella spp.</i>	39
V- Planeamiento de Hipótesis	42
VI- Resultados	43
6.1 Siembra en placas 3M Petrifilm para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	43
6.2 Siembra en placas 3M Petrifilm para Recuento de <i>E. coli</i> y Coliformes (EC)	43
6.3 Siembra por el método tradicional para Presencia o ausencia de <i>Salmonella spp.</i>	43
6.4 Resultados de aislados en Agar Salmonella Shigella	43
6.5 Resultados de aislados en Agar RAMBACH	44
6.6 Resultados de pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp.</i>	44
VII- Análisis Estadístico	45
VIII- Discusión	60
IX- Conclusiones	67
X- Recomendaciones	69
XI- Revisión Bibliográfica	70
XII- Anexos	79
XIII- Siglas y Acrónimos	96
XIV- Glosario	97

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
1 Medidas de tendencia central y dispersión determinados por los niveles de UFC/g de <i>Staphylococcus aureus</i> en el proceso artesanal de “sardina”	<b>46</b>
2 Prueba de Kolmogorov- Smirnov en “sardina” fresca de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>47</b>
3 Prueba de Kolmogorov- Smirnov en “sardina” salada-seca de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>47</b>
4 Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardina” fresca para <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>48</b>
5 Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” frescas y el RTCA.	<b>48</b>
6 Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardinas” saladas-secas para <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>49</b>
7 Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” Saladas-secas y el RTCA.	<b>49</b>
8 Resumen de las diferencias entre las muestras “sardinas” frescas y saladas-secas.	<b>50</b>
9 Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon de la comparación entre “sardinas” frescas y saladas-secas	<b>50</b>
10 Medidas de tendencia central y dispersión determinados por los niveles de NMP/g de <i>Escherichia coli</i> en el proceso artesanal de “sardina”	<b>52</b>
11 Prueba de Kolmogorov- Smirnov en “sardinas” frescas de <i>Escherichia coli</i>	<b>53</b>
12 Prueba de Kolmogorov- Smirnov “sardinas” saladas-secas de <i>Escherichia coli</i> .	<b>53</b>
13 Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardinas” frescas para <i>Escherichia coli</i> .	<b>54</b>
14 Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” frescas y el RTCA.	<b>54</b>
15 Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardina” salada- seca para <i>Escherichia coli</i> .	<b>55</b>
16 Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” saladas-secas y el RTCA.	<b>55</b>
17 Resumen de las diferencias entre las muestras “sardinas” frescas y saladas-secas.	<b>56</b>
18 Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon de la comparación entre “sardinas” frescas y saladas-secas para <i>Escherichia coli</i> .	<b>56</b>



## INDICE DE FIGURAS

		Pág.
1	Ubicación geográfica de la Bahía de Jiquilisco, en el Departamento de Usulután, El Salvador.	31
2	Pescadores con la red de cedazo capturando las “Sardinas”	33
3	Pescadores limpiando y salando las “sardinas”	34
4	“Sardinas” saladas y secadas al sol en el muelle de Puerto El Triunfo por los pescadores.	34
5	Muestras de “sardinas” frescas embolsadas y guardadas para el traslado al laboratorio después de la pesca.	35
6	Secado de las “sardinas” en el muelle y pesado para su posterior comercialización en el mercado.	36
7	a) Pesado de “sardinas” frescas y saladas-secas en balanza b) Muestras homogenizadas en el Stomacher por 1 minuto c) Vertido a los Erlenmeyer de las muestras previamente mezcladas.	37
8	Inoculación de las muestras en placas Petrifilm para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	38
9	Incubación de las placas Petrifilm durante $24 \pm 2$ horas.	38
10	Pesado de muestras de “sardinas” frescas y saladas- secas.	39
11	Caldo Lactosado con las muestras de “sardinas” frescas y saladas- secas.	39
12	a) Muestra con Caldo Lactosado después de 24 horas de incubación, b) Tubos con Caldo Tetrionato después de 24 horas de incubación c) Estriados en Salmonella-shigella y Agar Rambach d) Incubación de placas Petri durante 24 horas.	40
13	Comparación de medias aritméticas de “sardinas” saladas-secas con sardina fresca de <i>Staphylococcus aureus</i> .	51
14	Grafica de comparación de medias de “sardina” fresca y salada-seca de <i>Escherichia coli</i> .	57

**Tabla 1** Porcentaje de contaminación de bacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* en “sardinas” frescas y saladas- secas. En los muestreos de abril-julio 2012.

**58**

IV

iv

## INDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
1 Curva típica de Crecimiento de una población bacteriana	79
2 Resolución de RTCA (2009)	80
3 Enfermedades causadas por microorganismos detectados en alimentos	82
4 Composición química de algunos pescados	83
5 Algunos microorganismos que se encuentran en los pescados	83
6 Imagen del diseño de las Placas Petrifilm	84
7 Señalamiento del área de pesca de la “sardina” en la Bahía de Jiquilisco.	84
8 Marcha Analítica para Detección de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestra de “sardinas” frescas y saladas-secas.	85
9 Marcha Analítica para Detección de <i>Escherichia coli</i> en muestra de “sardinas” frescas y saladas-secas.	86
10 Tabla de conversión UFC a NMP	87
11 Marcha Analítica para Detección de <i>Salmonella spp.</i> en muestra de “sardinas” frescas y saladas-secas	88
12 Pruebas Bioquímica de la <i>Salmonella spp.</i>	89
13 Placas 3M Petrifilm para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> con colonias color rojo-violeta y se confirma con el Disco Petrifilm Staph Express con zonas rosadas.	90
14 Conteo de Colonias <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	90
15 Placas 3M Petrifilm para Recuento de <i>Escherichia coli</i> con colonias color azul con presencia de gas.	91
16 Muestras inoculadas en Caldo Tetrionato (TT) e incubados por $24 \pm 2$ horas a $35 \pm 0.2$ °C	91
17 Placas de Agar Salmonella-Shigella y Agar Rambach sembradas por duplicado y estriado en placas Petri luego de ser incubadas 24 horas.	92
18 Presencia de <i>Salmonella spp</i> en Agar Salmonella – Shigella.	92
19 Presencia de <i>Salmonella spp.</i> en Agar Rambach	93
20 Pruebas positivas de presencia de <i>Salmonella spp.</i> en Agar TSI.	93
21 Prueba positiva con la formación del anillo rojo en reacción de indol	93
22 Prueba Rojo de Metilo positiva en el medio MR-VP con la aparición de color rojo.	94
23 Prueba positiva en medio SIM con el crecimiento en forma de sombrilla	94
24 Reacción positiva en MR- VP con la aparición de color rosado dentro de los tubos.	94
25 Charla impartida a los miembros de la Cooperativa ACOPPSEMPET (octubre 2012).	95

## AGRADECIMIENTOS

Agradecer ante todo a Dios por habernos permitido finalizar con éxito esta investigación a pesar de las dificultades presentadas en el desarrollo de esta, por nunca abandonarnos, fortalecernos y concedernos paciencia en los momentos más difíciles, por habernos puesto en nuestro camino a aquellas personas que han sido nuestro soporte y compañía durante todo el período de este estudio.

Agradecer hoy y siempre a nuestros padres Joaquín Hernández y Lidia de Hernández, Rafael Escobar y Marina de Escobar, hija /sobrina Hazel Carolina, hermanos José Hernández y Gabriela Escobar, abuelos Alicia Rodríguez, Guillermo Escobar y Rosa Emilia de Escobar por darnos todo el apoyo económico, moral y la fortaleza necesaria para seguir adelante ya que sin ellos no hubiese sido posible este logro.

Queremos agradecer a nuestros amigos que siempre estuvieron ahí con nosotras respaldándonos con su apoyo, consejos, ánimos y hasta regaños que hoy valoramos tanto.

Karla: quiero agradecer al resto de mi familia por estar pendientes de mi; también a mis amigos por siempre estar ahí demostrándome su verdadera amistad en los momentos de mayor quebranto con sus excepcionales ánimos; gracias Lorena Isabel Campos, Elías David Carías, Bianca Rosalía Cornejo y obviamente quien soporto mis momentos de estrés, tristeza, locura, abandono etc. a Carolina Hernández Herrera, los quiero mucho.

Carolina: quiero darles las infinitas gracias a mis amigos por darme todas las porras y ánimos en los momentos de decepción y empujarme a no rendirme y por cuidar de mi princesa en algunas oportunidades gracias: Carmen Elena Castro, Nancy Carolina Castro, Otto Molina, René Valencia, Gustavo Vásquez y sobre todo a Karla Escobar por el apoyo incondicional desde un principio y ser una pieza clave en el desarrollo de esta investigación y por aguantar desánimos, decepciones juntas, alegrías, tristezas aventuras que contaremos a nuestros nietos y a pesar de todo hacer de nuestra amistad mucho mas fuerte, los quiero mucho!!

Muchas gracias por darnos consejos y guiarnos en la realización de este trabajo de graduación a nuestra asesora MSc. Virginia Guerrero al igual que a nuestros jurados por brindarnos sus recomendaciones para mejorar la investigación a MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos y al Dr. Rigoberto Ayala.

Agradecimientos para el Ing. Oscar Lemus por dedicarnos horas de su valioso tiempo para estructurar el planteamiento de las hipótesis y parte del estadístico a utilizar, al igual queremos agradecer especialmente al Licdo. Wilson Ernesto Pacheco por su incalculable ayuda, apoyo, paciencia en la asesoría del análisis estadístico aplicado a esta investigación.

Darle las gracias al personal del laboratorio de Microbiología de CENSALUD por colaborarnos cuando necesitábamos de su ayuda en los análisis de laboratorio, muchas gracias a Lic. Juan José Rivas y Lic. Amy Elieth Morán Rodríguez.

Un Agradecimiento a los miembros de la Cooperativa ACOSEMPPET (Asociación Cooperativa de Producción Pesquera de Servicios Múltiples de Puerto El Triunfo de R.L. ), en especial al Presidente el Sr. Juan Urías y al Sr. Juan Ramón Mejía por su invaluable ayuda y facilidades proporcionadas para el trabajo de campo que se realizó en el Muelle Artesanal de Puerto El Triunfo.

Infinitas gracias a todos los anteriormente mencionados que Dios los Bendiga.

Gracias

Carolina Hernández y Karla Escobar

## RESUMEN

En este estudio se determinaron los niveles de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en “sardinas” saladas-secas procesada artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco, El Salvador; como lo dicta el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos. Dicho estudio fue realizado, con la finalidad de afirmar o negar la efectividad del salado como método de preservación, con respecto a la inhibición de bacterias patógenas en dicho producto (analizando “sardinas” frescas como saladas-secas). Los resultados obtenidos de un total de 15 muestras de “sardinas” frescas y 15 “sardinas” saladas-secas en los meses de abril – junio, reflejaron que con base a los niveles de *Salmonella spp.* (Presencia de esta bacteria), *Escherichia coli* ( $> 3\text{NMP/gr.}$ ) detectados en el proceso artesanal de las “sardinas” la cantidad de muestras superan el límite máximo permisible requerido por el RTCA, afirmando que su calidad sanitaria no es apta para el consumo humano; aunque los niveles de *Staphylococcus aureus* hayan sido  $<10^2$  UFC/gr. Esta contaminación fecal puede ocurrir por la falta de aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene, que durante todo el proceso de salado y secado de las “sardinas” no se emplearon en ningún momento durante el proceso, al igual que algunos posibles factores que influyeron en estos resultados, fueron la contaminación orgánica por los desagües residuales de afluentes de zonas aledañas, por la acción antropogénica, actividades ganaderas, etc.

## ABSTRACT

In the present study we determined the levels of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* in "sardines" salt-dried and handmade processed in Bahia de Jiquilisco, El Salvador; according to the Centroamerical Technical Regulations (CTR) 67.04.50:08 for food. The study was conducted in order to confirm or deny the effectiveness of salt as a method of preservation to inhibit the development of pathogenic bacteria in the product (analizing both "fresh sardines" and "salt-dried sardines"). The results obtained from a total of 15 samples of "fresh sardines" and 15 "salt-dried sardines" from April to June, showed that, based on the levels of *Salmonella spp.* (presence of the bacteria), *Escherichia coli* (> 3NMP/gr.), the local handmade process exceeds the maximum permissible limit required by RTCA, demonstrating the quality of the product is not suitable for human consumption even when the levels of *Staphylococcus aureus* were <102 UFC/gr. This fecal contamination can occur at the lack of application of good hygiene practices throughout the process of salting and drying of the "sardines", this practices were never applied in the process, also other factors that may have influenced this study were: organic contamination (contamination via wastewater effluent coming from surrounding areas), anthropogenic action, livestock, etc.

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el océano representa para la humanidad la mayor fuente de recursos naturales sobre el planeta (Cifuentes *et. al* 1997). En El Salvador en 2007 en el sector pesquero, en general, se produjeron 41.9 millones de kilogramos de productos marinos; pero en 2008, la producción se redujo a 38.5 millones de kilogramos de productos, según cifras obtenidas del Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería (Láinez 2009).

La extracción de productos marinos ha permitido a muchas personas la subsistencia diaria ya sea con el consumo directo ó la comercialización de ellos, y para lo cual tienen que aplicar ciertas normas de higiene como las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM o por sus siglas en inglés GMPs Good Manufacturing Practices) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o por sus siglas en inglés HACCP Hazard Analysis Critical Control Point) para ofrecer un alimento inocuo y de calidad.

Los peces del orden Clupeiformes, que incluyen a las sardinas, anchoas o anchovetas, etc., constituyen uno de los grupos de peces de mayor importancia en la pesca mundial. Desde la antigüedad, dichos peces han sido capturados, principalmente con fines de alimentación y obtención de una serie de subproductos de interés comercial (Silva & Pequeño 2007).

En El Salvador se realiza la pesca de estos peces, con el fin de comercializarlos para ser consumidos como alimento humano y para conservarlos deben aplicarse métodos para que estos puedan permanecer comestibles, un método tradicional que aplican los pescadores artesanales de “sardina” es el salado y secado al sol.

La presente investigación es pionera para el país y tiene como finalidad el análisis de bacterias patógenas en las “sardinas” saladas-secas procesada artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco; para afirmar o negar la efectividad de este método de preservación.

Con la realización de este estudio se benefician los pescadores artesanales que contarán con información concreta de cómo se encuentra el producto que comercializan; además podrán conocer el estado bacteriológico del producto que consume la población salvadoreña.

## II. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL:

- ✓ Analizar las bacterias patógenas en “sardina” salada-seca procesada artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco.

### OBJETIVO ESPECIFICOS:

- ✓ Describir el proceso artesanal de salado-secado de “sardinas” en la Bahía de Jiquilisco.
- ✓ Investigar *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en las “sardinas” saladas-secas procesadas artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco.
- ✓ Comparar los resultados del estado microbiológico de las “sardinas” frescas con el final del proceso artesanal de salado y secado.
- ✓ Exponer a los pescadores la recopilación de recomendaciones por medio de una charla que les sirva de apoyo para tener una mejor manipulación de las “sardinas” durante el proceso artesanal de salado y secado.



### **III. FUNDAMENTO TEORICO**

#### **3.1 Microbiología de Alimentos**

La microbiología de los alimentos es la rama de la microbiología que se ocupa entre otros aspectos del estudio de microorganismos que pueden afectar la calidad sanitaria de los alimentos y el agua. El área de la microbiología de alimentos es vasta y compleja, pues incluye además las características generales de estos microorganismos, su ecología, su resistencia al medio ambiente, su capacidad para sobrevivir y desarrollarse en los alimentos, las consecuencias de este desarrollo y los factores que influyen en este proceso (Caballero 2008).

#### **3.2 Ecología Microbiana**

La ecología microbiana estudia cómo se relaciona un microorganismo con el ambiente que lo rodea, utilizando los nutrientes que encuentra y produciendo desechos que lo alteran de forma substancial (Rugama & Castillo 2010).

El ambiente afecta las actividades de los microorganismos a través de factores físicos, químicos y biológicos. Conocerlos implica interpretar su distribución en la naturaleza y permite idear métodos para controlar los microorganismos indeseables.

##### **3.2.1 Algunos factores físicos y químicos que afectan a los microorganismos en diferentes ambientes:**

**a) Temperatura:** Es un factor fundamental que actúa sobre los organismos vivos aumentando, por un lado, la velocidad de las reacciones metabólicas y el crecimiento; y más allá de ciertos límites, actúa inactivando proteínas, ADN, ARN, etc.

Los microorganismos son muy variables en cuanto a las temperaturas a las que pueden crecer pudiendo ir estas desde  $-12^{\circ}\text{C}$  a más de  $100^{\circ}\text{C}$ , aunque un mismo microorganismo no puede soportar estos rangos (Serrano 2011).

**b) Agua:** La disponibilidad del agua es uno de los factores más importantes que afecta el crecimiento de los microorganismos en sus ambientes naturales, ya que ésta constituye entre el 80 y 90% de su peso. El parámetro que mide la disponibilidad de agua es la actividad de agua ( $a_w$ ), que es la relación entre la presión de vapor del agua del aire sobre una sustancia o solución, dividida por la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura. La  $a_w$  se expresa como fracción de la unidad (Benintende *et al.* 2010).

**c) pH:** El grado de acidez o alcalinidad de una solución es el pH, definido como el menos logaritmo de la concentración de  $\text{H}^+$  ( $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ ). Cada organismo tiene un rango de pH dentro del cual se puede desarrollar adecuadamente. Generalmente los microorganismos crecen entre pH que varían entre 5 y 9 (Serrano 2011).

**d) Radiación:** Se define como la transmisión de una fuente de energía de un lugar a otro a través del aire o espacio exterior, incluyen ondas hertzianas (sin efecto biológico), los rayos infrarrojos (producen calentamiento), la luz visible (380 a 720 nm de longitud de onda). La radiación ultravioleta (200 a 380 nm) tiene efecto perjudicial para los microorganismos por lo cual la radiación UV y las radiaciones ionizantes se emplean para el control de microorganismos (Benintende *et al.* 2010).

**e) Oxigenación:** Los microorganismos son afectados por la presencia o ausencia de  $\text{O}_2$  de manera diferente.

**f) Carbono:** (C) todos los organismos requieren Carbono para sintetizar los componentes celulares.

**g) Nitrógeno, azufre y fósforo:** estos elementos se requieren para la síntesis de DNA, RNA, proteínas y ATP. Las bacterias pueden obtener nitrógeno (N) ya sea fijándolo

directamente de la atmósfera o también pueden obtener este elemento de compuestos inorgánicos que contengan N como nitritos, nitratos, sales de amonio o amino ácidos.

Las bacterias pueden obtener azufre de iones de sulfato, sulfito de hidrógeno y amino ácidos con azufre. El fósforo es esencial para la síntesis de ácidos nucleicos y membranas celulares. Una fuente para obtener fósforo son los iones de fosfato y el ATP (Serrano 2011).

### **3.3 Crecimiento Bacteriano**

El crecimiento microbiano es un proceso autocatalítico: no habrá crecimiento sin la presencia de al menos una célula viable y la tasa de crecimiento aumentará de acuerdo con la cantidad de biomasa viable presente. La pauta de crecimiento es la misma para bacterias y para hongos. Por tales razones es muy importante tener en cuenta la calidad de las materias primas para la elaboración de los alimentos (Leyva *et al.* 2010).

Las bacterias requieren ciertas condiciones para multiplicarse rápidamente, esta multiplicación rápida es la que causa problemas con relación a la seguridad del alimento. En condiciones ideales este crecimiento rápido puede llegar a un tiempo de generación menor de 20 minutos (Caballero 2008).

Si se adicionan a los microorganismos a un medio en el cual se incluyen todos los nutrientes necesarios para su crecimiento (los alimentos suelen contener esos nutrientes) y se someten a condiciones favorables, éstos se multiplican por fisión binaria. Normalmente el crecimiento de los microorganismos en el medio suele seguir cuatro fases, que se observan en una curva de crecimiento (Ver anexo 1) (Larre 2009).

**1.- Fase de latencia** Cuando los microorganismos son expuestos a un nuevo medio de crecimiento, éstos necesitan un período de adaptación cuya duración suele ser variable según el tipo de microorganismo. Normalmente suele rondar las dos horas y durante este tiempo no crecen y se dedican a aumentar su tamaño y a crear nuevos materiales (Leyva *et al.* 2010).

**2.- Fase logarítmica** Durante esta fase los microorganismos se multiplican y aumentan cuantitativamente de forma logarítmica. El tiempo de multiplicación es variable según el tipo de microorganismo, por ejemplo, *Escherichia coli* es uno de los más rápidos y se multiplica cada 20 minutos aproximadamente en condiciones óptimas (Quijano 2004).

**3.- Fase estacionaria** En este momento, el número de microorganismos en el medio se mantiene constante, porque el crecimiento ha cesado o porque el crecimiento ha decrecido, y es igual a la muerte bacteriana. Se produce como consecuencia de un empobrecimiento de nutrientes en el medio o bien por un enriquecimiento en los materiales de desecho provocado por el metabolismo microbiano (Quijano 2004).

**4.- Fase de declive** Es la última fase y el número de microorganismos decrece (Larre 2009).

### **3.4 Microorganismos contaminantes de alimentos**

En los alimentos existe gran diversidad de microorganismos, en general, el número y tipo de microorganismos en un producto alimenticio terminado están influenciados por:

- El medio ambiente general del cual fue obtenido el alimento.
- La calidad microbiológica del alimento en su estado fresco o antes de ser tratado.
- Las condiciones higiénicas bajo las cuales el alimento fue manipulado y tratado.
- La adecuación de las posteriores condiciones de envasado, manipulación y almacenamiento para mantener la microbiota en un nivel bajo (Caballero 2008).

En el momento de producir alimentos comerciales de buena calidad es importante mantener los microorganismos en nivel bajo por razones estéticas, de salud pública y de vida útil (Caballero 2008).

Flores *et al.* (1996) mencionan que los grupos de microorganismos que cubren el campo de acción de la microbiología sanitaria son tres: 1) los que afectan las características organolépticas de los alimentos, 2) los patógenos, que guardan una estrecha vinculación

con la microbiología médica, y 3) los microorganismos indicadores que señalan fuentes de contaminación o que sugieren prácticas indeseables durante el manejo de los alimentos.

Rugama & Castillo (2010) mencionan que la selección de microorganismos indicadores, bajo un enfoque preventivo, depende fundamentalmente de los riesgos implicados y de lo que se requiera para mejorar el alimento. El análisis microbiológico de alimentos suele utilizar técnicas para la búsqueda de estos microorganismos indicadores, y estas técnicas permiten evaluar:

- Calidad de la materia prima, problemas de almacenamiento, abuso de temperatura, vida útil (recuento de aerobios mesófilos)
- La potencial contaminación fecal o posible presencia de patógenos (*Escherichia coli*, Coliformes fecales)
- Contaminación por manipulación humana (*Staphylococcus aureus*)
- Contaminación post tratamiento térmico (coliformes, enterobacterias, estreptococos fecales)
- Productos metabólicos de patógenos que indican un peligro para la salud.

### **3.5 Factores que influyen en las poblaciones microbianas existentes en los alimentos.**

Entre los factores más importantes que influyen en el desarrollo de las asociaciones microbianas en los alimentos tanto bióticos como abióticos son los siguientes:

- Intrínsecos, es decir, relativos a las propiedades físicas, químicas biológicas del alimento.
- Efecto del tratamiento o procesado, como consecuencia del método físico o químico de elaboración del alimento.
- Extrínsecos, que resultan de las propiedades físicas y químicas del ambiente en el que es mantenido el alimento.
- Implícitos que son interacciones sinérgicas o antagónicas entre los componentes de la estructura de la comunidad microbiana primaria que se ha desarrollado bajo la influencia de los factores intrínsecos y extrínsecos (Mossol *et al.* 2003).

### 3.5.1 Factores Intrínsecos

Los factores intrínsecos constituyen los derivados de la composición del alimento: actividad de agua ( $a_w$ ), pH, potencial redox, nutrientes, estructura del alimento, agentes antimicrobianos presentes, etc. Y a continuación se definen algunos de ellos:

**Nutrientes.** Muchos microorganismos son capaces de utilizar de los alimentos los nutrientes y la energía que requieren para su desarrollo y en dependencia de los nutrientes que tenga un alimento en particular, éste se considerará de mayor o menor riesgo (Caballero 2008).

**pH.** Si a un alimento se le cambia el pH ya sea por encima o por debajo del neutro, los microorganismos crecerán más lentamente. La capacidad del pH bajo para limitar el crecimiento microbiano, ha sido aprovechada desde los tiempos más antiguos en la conservación de alimentos, con la adición de los ácidos acético y láctico. En los alimentos con pH menores a 4.0, no se produce crecimiento de microorganismos patógenos o indicadores de contaminación fecal tales como, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulasa positiva*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, entre otros (Leyva et al. 2010).

**Potencial redox.** En relación con los microorganismos, el potencial redox indica las relaciones de oxígeno entre los mismos y es utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células. Los microorganismos aerobios necesitan para crecer valores redox positivos (presencia de oxígeno), mientras que los anaerobios requieren valores redox negativos (ausencia de oxígeno). La mayoría de los microorganismos importantes para la salud pública en los alimentos, son facultativos, o sea, pueden crecer en presencia y ausencia de oxígeno. Una forma de reducir el crecimiento microbiano es controlando la atmósfera de los alimentos, creando condiciones de anaerobiosis (Rugama & Castillo 2010).

**Actividad de agua ( $a_w$ ).** Es el agua que se encuentra en los alimentos no involucrada con el soluto. La mayoría de los microorganismos y especialmente las bacterias se desarrollan a  $a_w$  cercanas a 1 (0.993-0.998); la  $a_w$  del agua pura es 1. A valores inferiores de  $a_w$ , la velocidad de crecimiento o la masa celular final disminuye y la fase de latencia aumenta, conservándose mejor los alimentos.

Entre las prácticas más frecuentes que ha empleado el hombre para alargar la vida útil de un alimento se encuentra la deshidratación, como es el proceso de salazonados (utilizando sal como soluto para eliminar el agua de los alimentos, tales como carnes, pescados); también se han utilizado azúcares para aumentar la presión osmótica del producto, este es el caso de los dulces en almíbar, las mermeladas, etc. Los alimentos se pueden clasificar en tiempo y función de su  $a_w$  en perecederos (tienen una vida útil corta y requieren refrigeración para detener la proliferación microbiana; semiperecederos, (tienen una vida útil un poco más larga que los perecederos), y no perecederos (pueden conservarse a temperatura ambiente) (Caballero 2008).

**Constituyentes antimicrobianos.** La estabilidad de ciertos alimentos frente al ataque microbiano se debe a la presencia en los mismos de determinadas sustancias, que han demostrado poseer actividades antimicrobianas. La cubierta de algunos alimentos proporciona una excelente protección contra la entrada y subsiguiente ataque de los microorganismos productores de alteraciones. Estructuras de este tipo son la membrana testácea de las semillas, la cubierta externa de los frutos, la cáscara de las nueces, la piel de los animales y la cáscara de los huevos. Por supuesto, una vez agrietada la cubierta, los mohos atacan su contenido. La leche fresca contiene lacteninas y una sustancia que se ha denominado factor anticolidiforme, teniendo ambas la propiedad de ser antimicrobianas. El complejo de lactoperoxidasa de la leche cruda es activo frente a algunos estreptococos. La lisozima está presente en la clara de huevo. Los Lípidos y aceites esenciales, especialmente el eugenol del clavo y el aldehído cinámico de la canela, poseen propiedades antimicrobianas (FDA 2001).

### 3.5.2 Factores Extrínsecos

Los factores extrínsecos son derivados de las condiciones físicas del ambiente en el que se almacena el alimento como la humedad, temperatura, agotamiento de oxígenos, etc. (Soto 2010). Mencionando a continuación algunos de ellos:

**Humedad relativa.** La humedad relativa del medio en que se realiza el almacenamiento es importante, tanto desde el punto de vista de la  $a_w$  en el interior de los alimentos como desde el crecimiento de los organismos en las superficies. Cuando la  $a_w$  de un alimento es de 0.60 es importante almacenarlo en condiciones que no le permitan recuperar humedad a partir del aire, pues si no se hace así, aumentaría su propia  $a_w$  superficial y subsuperficial hasta un nivel compatible con la proliferación microbiana (Caimanque & Escudero 2009).

**Temperatura.** La temperatura es uno de los parámetros ambientales más importantes que condicionan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos. La temperatura afecta a la velocidad de crecimiento (y por lo tanto al tiempo de generación). Cada bacteria (suponiendo que el resto de condiciones ambientales se mantienen constantes) muestra una curva característica de tasa de crecimiento en función de la temperatura, donde podemos distinguir tres puntos característicos llamados temperaturas cardinales: a) temperatura mínima: por debajo de ella no hay crecimiento b) temperatura máxima: por encima de ella tampoco existe crecimiento. c) Temperatura óptima: permite la máxima tasa de crecimiento.

El margen entre la temperatura mínima y la máxima se suele llamar “margen de crecimiento”, y en muchas bacterias suele comprender unos 40 grados. Por encima de la temperatura mínima la tasa de crecimiento va aumentando proporcionalmente hasta alcanzar la temperatura óptima, debido a que las reacciones metabólicas catalizadas por enzimas se van aproximando a su óptimo; en dicha temperatura óptima las enzimas y reacciones se dan a su máxima tasa posible (Quijano 2004).



### **3.6 Métodos de Preservación de los alimentos**

En general los alimentos son perecederos, por lo que necesitan ciertas condiciones de tratamiento, conservación y manipulación. Su principal causa de deterioro es el ataque por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) (Gamboa 2010).

Muchos de los métodos empleados para preservar los alimentos se basan en retrasar su crecimiento y no en la destrucción o eliminación de los microorganismos, refiriendo a continuación algunos de ellos:

- Tratamientos tradicionales: Son el salado (se utiliza por ejemplo para conservar el arenque, bacalao, jamón serrano), el ahumado (por ejemplo el salmón ahumado), el confitado (por ejemplo la fruta confitada) y los fermentados (pan, yogur, cerveza, vino, quesos). El fundamento de este último método consiste en que unos microbios no patógenos dificultan la vida de otros que sí son patógenos (Solanes 2010).
- Conservación en frío: Es la conservación en refrigeradores, aparatos que mantienen una temperatura entre 4 y 8 °C, en la cual los microorganismos apenas pueden multiplicarse. También pertenece a este tipo la conservación en congeladores, aparatos que mantienen una temperatura inferior a los -18°C (Mecalco 2005).
- Conservación por calor: Son la pasteurización o calentamiento del alimento entre 72 y 80°C durante sólo 15 o 20 segundos (es lo que se hace por ejemplo con la leche fresca) y la esterilización o calentamiento del alimento a más de 100°C (Solanes 2010).
- Conservación por eliminación de agua: Es la deshidratación o evaporación del agua mediante aire caliente, y la liofilización o congelación y posterior sublimación (extracción) del agua helada mediante vacío. Así se obtiene el café en polvo, la leche en polvo, el puré de patata en polvo, las sopas en sobre, etc. (Gamboa 2010).

- Irradiación: Es la utilización de radiaciones ionizantes sobre alimentos; se usa para retardar la maduración de los frutos y para destruir los insectos y microorganismos que puedan contener (Jimeno 2004).
- Aditivos alimentarios: Son sustancias químicas que se añaden a los alimentos para ayudar a conservarlos y mantener su aspecto (color, olor y textura) (Jimeno 2004).

### **3.7 Normativas que regulan la comercialización de alimentos.**

A nivel general las normativas para una buena regulación de alimentos que pueden estar basadas en los diferentes países o regiones, están la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura) Codex Alimentarius, (Código de alimentos), FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos), OMS (Organización Mundial para la Salud), y el RTCA (Reglamento Técnico Centroamérica) en el que está basado este estudio.

#### **3.7.1 Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)**

Los organismos encargados de realizar el estudio o la adopción de los Reglamentos Técnicos son los respectivos Comités Técnicos de Normalización y de Reglamentación Técnica a través de los Entes de Normalización y de Reglamentación Técnica de los Países de la Región Centroamericana y sus sucesores y estos están conformados por representantes de los sectores Académico, Consumidor, Empresa Privada y Gobierno (RTCA 2009).

El documento utilizado como guía en este estudio para los parámetros microbiológicos y límites de aceptación de la inocuidad de los alimentos, fue aprobado como Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de los alimentos, por el subgrupo de alimentos y bebidas y el subgrupo de medidas de Normalización. La oficialización de este reglamento técnico conlleva la ratificación por el Consejo de Ministros de Integración Económica Centroamericana (COMIECO) (RTCA 2009).

El Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 se divide en 17 grupos para clasificar los diferentes tipos de alimentos, siendo el grupo 9 para pescados y productos de la pesca y esta amplia categoría se subdivide en 5 categorías para el pescado fresco y diversos productos pesqueros elaborados; siendo el grupo 9.2 subgrupo de pescado y crustáceos, precocidos, cocidos, salados y ahumados (RTCA 2009) (Ver anexo 2).

### **3.8 Microorganismos utilizados como parámetros microbiológicos por el RTCA 67.04.50:08 grupo 9 para Pescados**

- ✓ *Staphylococcus aureus* es una bacteria esférica (coco), que aparecen en pares, cadenas cortas o agrupadas como racimos de uvas; estos organismos son Gram-positivos, algunas cepas son capaces de producir una toxina proteínica altamente estable al calor que causa enfermedades en los seres humanos (FDA 2009).

Los estafilococos existen en el aire, polvo, aguas residuales, agua, leche, en el equipo que manipula los alimentos, las superficies del medio ambiente, los seres humanos y animales que son reservorios primarios de estos microorganismos. Los estafilococos están presentes en las fosas nasales, garganta, pelo y la piel de un 50% o más de los individuos sanos. Esta incidencia es aún mayor para aquellos que se asocian con o que están en contacto con personas enfermas y los ambientes de hospitales (FDA 2009).

La toxina de esta bacteria es increíblemente potente, la ingestión suficiente de la toxina provoca náuseas, vómitos, calambres estomacales, y deseo de estar acostado para reducir el dolor de estómago; la muerte por esta intoxicación es rara (Oleaga 2008).

Generalmente, los estafilococos se eliminan durante la cocción, altos recuentos en alimentos sometidos a procesos térmicos se deben a contaminación posterior a este tratamiento (manipulación, contacto con equipo o aire contaminado y/o

conservación inadecuada del mismo - falta de refrigeración) (Rugama & Castillo 2010).

La presencia de *Staphylococcus aureus* puede indicar un riesgo potencial para la salud. Un número elevado de estafilococos puede indicar la presencia de toxinas termoestables (enterotoxinas en los alimentos), no obstante, un recuento bajo no significa ausencia de las mismas, ya que una población numerosa pudo haberse reducido a un número más pequeño debido a una etapa del proceso, por ejemplo, calentamiento o fermentación (Rugama & Castillo 2010).

#### ✓ *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* es un habitante común de los intestinos de todos los animales, incluyendo el hombre. Normalmente esta bacteria tiene la útil función en el cuerpo humano de suprimir el crecimiento de peligrosas bacterias y contribuir a la síntesis de un apreciable volumen de vitaminas. Una minoría de cepas de *E. coli* son capaces de causar enfermedades al ser humano a través de diferentes mecanismos (Tarragó & Acosta 1997).

Actualmente existen cuatro categorías principales de la bacteria *Escherichia coli* que produce gastroenteritis en el hombre. Entre ellas está *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteropatogénica, *E. coli*. enteroinvasiva. Estas bacterias son Gram-negativas, en forma de bastón que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae (Tarragó & Acosta 1997).

La infección en los seres humanos generalmente ocurre por la ingestión de alimentos contaminados. No se transmite por el aire ni a través del contacto normal interpersonal, aunque la transmisión de persona a persona en hogares, centros de atención de niños y ancianos por la vía fecal-oral, sí puede ocurrir. Los niños pequeños usualmente expulsan los organismos en sus heces durante una semana o dos después de haber rebasado la enfermedad. Los niños mayores raramente son portadores asintomáticos (Tarragó & Acosta 1997).

✓ *Salmonella spp.*

Los integrantes de este género son bacilos Gram-negativos no esporulados, oxidasa negativa, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. La mayoría fermentan la lactosa y son móviles, son aerobios o anaerobios facultativos, contienen endotoxinas, generalmente son termolábiles y resisten la coagulación (Caballero 2008).

Los alimentos de mayor riesgo de contaminación por *Salmonella* son por ejemplo: las carnes crudas, aves de corral, pescado, camarón, huevo, leche, productos lácteos, ensaladas, entre otros. También se incluye en el grupo de bacterias causantes de intoxicaciones a *Shigella spp.*, causante de la shigellosis que corresponde a aproximadamente el 10% de las afectaciones por alimentos contaminados. Esta bacteria raramente se encuentra en los animales y es comúnmente encontrada en aguas contaminadas con heces fecales (Rugama & Castillo 2010).

La principal forma de contagio es la vía oral, se puede transmitir de manera directa a través del contacto de las heces fecales de personas enfermas o por medio de alimentos (leche y sus derivados, verduras, frutas, carne, huevos, etc.) o agua contaminada y hasta por objetos infectados por moscas o ratas (Caballero 2008).

Otro tipo de alimentos en los que recientemente se ha descubierto que existe un riesgo de intoxicarse con *Salmonella* es por consumir frutas y verduras, aunque se hayan lavado. En un estudio realizado por Heribert Hirt, de la Universidad de Viena, analizó berros para esta bacteria y menciono que justamente 3 horas después de que la bacteria entrase en contacto con la raíz, ellas habían penetrado dentro de las células, recomendando que habría que tener un control más estricto sobre los fertilizantes orgánicos y el agua de riego (Oleaga 2008).

### **3.9 Enfermedades Transmitidas por Alimentos ETAs**

Las Enfermedades Transmitidas por medio de los alimentos (ETAs) son cualquier síndrome originado por la ingestión de productos alimenticios y/o agua que contengan agentes causales en ciertas cantidades que afecten la salud del consumidor a escala individual o grupos de población. Estas se producen en cualquiera de las etapas de la cadena alimentaria (producción, transporte, almacenamiento, elaboración, distribución y consumo de alimentos) Se clasifican en intoxicaciones e infecciones (Rugama & Castillo 2010).

Los microorganismos en los alimentos pueden causar alteraciones de dos tipos, alteración del poder nutritivo y de las propiedades organolépticas.

Existen numerosos tipos de ETAs que presentan diferentes sintomatologías, dependientes del tipo de contaminación y de la cantidad de alimento contaminado consumido. Los signos más comunes son vómitos y diarreas pero también pueden presentarse dolores abdominales, dolor de cabeza, fiebre, síntomas neurológicos, visión doble y otros (Kopper 2009).

En general, las ETAs son determinadas por la invasión, multiplicación y alteraciones de los tejidos del huésped producidas por los gérmenes transportados por los alimentos. Ejemplos típicos de las infecciones alimentarias son la salmonelosis, la listeriosis, la triquinosis, la hepatitis A y la toxoplasmosis, entre otras (Ver anexo 3) (Kopper 2009).

Las enfermedades causadas por las bacterias mencionadas en esta investigación como lo son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* se presentan a continuación:

**Intoxicación estafilocócica:** La intoxicación alimentaria estafilocócica resulta del consumo de alimentos en los que *Staphylococcus aureus* se ha multiplicado hasta niveles del orden  $10^6$ /g o ml y producido enterotoxinas. Este tipo de intoxicación alimentaria se

caracteriza por vómito violento y diarrea profunda, que aparecen 2-8 horas después de la ingestión del alimento que contenía la enterotoxina (Mossol 2003).

El origen de *Staphylococcus aureus* son las lesiones de la piel (acné, forúnculos, heridas infectadas, etc) y la garganta del hombre y de los animales y también son frecuentes los portadores nasales humanos (Mossol 2003).

***Escherichia coli*** es un habitante normal del intestino de todos los animales, algunas personas infectadas (sobre todo cuando ocurre en los niños) pueden desarrollar el síndrome urémico hemolítico, caracterizado por una falla renal y una anemia temporal. Esta enfermedad puede dejar como secuela una insuficiencia renal. Los alimentos asociados son la carne bovina cruda o molida (hamburguesas), leche cruda, lechuga, jugos de manzana y todo alimento que se haya contaminado con materia fecal (Rugama & Castillo 2010).

**Salmonelosis:** La Salmonelosis es una toxi-infección alimentaria causada por *Salmonella*, generalmente se define como el tipo menos grave de gastroenteritis febril producida por las salmonellas de la “enteritis”, es decir, por las que no son ni *Salmonella typhi* ni *Salmonella paratyphi*.

Los síntomas clínicos generalmente aparecen 13-36 horas (variación de 12-48 horas) después de la ingestión del alimento con *salmonella*, la enfermedad se caracteriza por una diarrea grave, acompañada de fiebre, y con frecuencia de dolor de cabeza y malestar general. Su duración varía desde unos pocos días a algunas semanas. La mayoría de las cepas colonizan el íleon, se fijan o adhieren al epitelio y producen enterotoxinas. Algunas son citopatógenas y causan diarrea sanguinolenta (Mossol 2003).

Aunque en la salmonelosis está implicada una larga lista de alimentos, la mayoría de los casos son consecuencia del consumo de: carne de mamíferos y de aves y alimentos marinos, otros productos de origen animal tales como ovoproductos no pasteurizados, leche no pasteurizada y productos lácteos no pasteurizados, etc. (Mossol 2003).

### **3.10 Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)**

Para reducir al mínimo la contaminación de los productos alimenticios por bacterias patógenas u otros microorganismos indeseables en ellos, es necesario aplicar en el proceso de producción de alimentos las Buenas Prácticas de Manufactura o Higiene.

El Código Internacional Recomendado de Prácticas- Principio Generales de Higiene de los Alimentos fue adoptado por la Comisión del Codex Alimentarius y estos Principios Generales siguen la cadena alimentaria desde la producción hasta el consumidor final, resaltándose los controles de higiene básicos que se efectúan en cada etapa (Caballero 2008)

En los Principios Generales de Higiene de los Alimentos están descritos los controles fundamentales que se tienen que aplicar internacionalmente para asegurar que los alimentos sean inocuos y aptos para el consumo. Estos Principios Generales se recomiendan a gobiernos, a la industria (incluidos los productores individuales primarios, los fabricantes, los elaboradores, los operadores de servicios alimentarios y los vendedores), así como los consumidores. Todos tienen la responsabilidad de garantizar que los alimentos son inocuos para el consumidor y de disminuir la incidencia de enfermedades provocadas por los alimentos, así como su deterioro y descomposición (Caballero 2008)

Según Caballero (2008) las Buenas Prácticas de Manufactura son etapas y procedimientos generales que mantienen bajo control las condiciones operacionales dentro de un establecimiento y permiten condiciones favorables para la producción de alimentos inocuos.

El cumplimiento de estas prácticas son indispensables para garantizar la inocuidad de los alimentos, donde se deben considerar las condiciones estructurales de los establecimientos, la cantidad y la calidad del agua, el control de los vectores, los residuos sólidos y los residuales líquidos, la higiene y la salud de los manipuladores para lo cual es necesario desarrollar la educación sanitaria de los alimentos y de los productos terminados, etc., y todo lo que directa o indirectamente tiene relación con la calidad de los alimentos (Caballero 2008)



### **3.11 Peces Pelágicos**

Los peces pelágicos tienen gran importancia a nivel ecológico, como organismos exportadores e importadores de energía a lo largo de extensas zonas oceánicas. La explotación de que son objeto es mejor conocida dentro del ámbito de la pesca industrial, sin embargo, también forman parte importante de la pesca artesanal de varias zonas costeras (Guevara 2002).

#### **3.11.1 “Sardinias” dentro del Orden Clupeiformes**

Las “sardinias” se ubican en el orden Clupeiformes los cuales son de alta importancia económica, pues se encuentran especies de interés comercial; estas son de apariencia fusiforme y boca filtradora para alimentarse de plancton; son cosmopolitas, es decir, se distribuyen por todo el mundo. Algunas de estas especies son anádromas (cuando son adultos migran a los ríos para reproducirse). Su estructura es bastante esquelética, desprendiéndose rápidamente de las escamas, algunas incluso no tienen escamas (Riedl 1996).

Dos Familias pertenecientes a este orden son la Clupeidae y la Engraulidae y son especies marinas, aunque algunas toleran salinidades bajas; son peces generalmente pequeños, muchas especies se agrupan en grandes cardúmenes que forman la base de importantes pesquerías comerciales; algunas especies tienen valor para el consumo humano, mientras otras se utilizan para carnada, harina o aceites (Riedl 1996).

Clasificación Taxonómica de las “Sardinias” según Animal Diversity Web (ADW 2008):

Reino: Animal

Phylum: Chordata

Sub phylum: Vertebrata

Clase: Actinopterygii

Orden: Clupeiformes

Familias: Chirocentridae, Clupeidae, Engraulidae, Pristigasteridae, Denticipitidae.

### **3.12 Composición química del pescado.**

La composición química del pescado puede variar dependiendo de la especie (Ver anexo 4), la edad del pescado, su ambiente y sexo, pero aproximadamente se puede decir que su composición química es la siguiente: 20% de proteína 1-2 % de componente no proteico y un 78% de lípidos y agua, la concentración de agua y lípidos varia dramáticamente con la estación del año y la especie, sin embargo, esta variación raramente suele afectar la microbiología del pescado (Morales 2007).

### **3.13 Composición Microbiológica del pescado.**

A diferencia de los productos como la carne de res, de cerdo o de otros animales y sus derivados; los pescados abarcan una gran cantidad de especies y ambientes de los que provienen; causa por la cual, la microbiología clásica del pescado, puede variar principalmente por el ambiente en el que se encuentra y no tanto por la especie. (Morales 2007). En el anexo 5 se presentan principales grupos de microorganismos que se encuentran en pescados y mariscos.

### **3.14 Pescado como alimento para el ser humano.**

El pescado presenta una composición nutricional que lo identifica como alimento de excelente calidad, con valores proteicos superiores a 21%, bajo contenido de grasas saturadas y elevadas grasas insaturadas, por lo que es un alimento muy apreciado (Morillo 2007).

Como consecuencia de su composición química y de la reacción poco ácida de su carne, el pescado constituye un alimento altamente perecedero, debido a que sufre procesos autolíticos de degradación rápida y un acelerado crecimiento microbiano. El pescado, se puede deteriorar por la acción de enzimas autolíticas endógenas y el desarrollo de una flora contaminante variada. La flora contaminante se encuentra, básicamente, sobre la piel,

branquias e intestino. Como consecuencia de este crecimiento aparecen los compuestos volátiles que confieren mal olor al pescado, principalmente: trimetilamina, amoníaco, mercaptanos, sulfuro de dimetilo, aldehídos, indol, entre otros. Las mismas son características del proceso de putrefacción (Bourgeus 1994).

La trimetilamina es el producto típico que se origina en la descomposición; de todos los cambios deteriorantes que pueden ocurrir en el pescado, uno de los que produce mayor impacto sobre su calidad, es el ocasionado por la acción de los microorganismos (Bourgeus 1994).

#### **3.14.1 Microorganismos en pescado seco-salado.**

El proceso de salazón del pescado se utiliza como una técnica de conservación del mismo, la cual se origina por la falta de refrigeración, sin embargo, aún sigue siendo utilizada por la industria pesquera en muchas regiones del país. El efecto conservador fundamental se debe a que contribuye a disminuir la actividad del agua ( $a_w$ ) del pescado, pero sino se realiza un buen método de salado se originan productos en condiciones higiénicas inapropiadas que favorece el crecimiento de microorganismos (Bourgeus 1994).

La descomposición del pescado seco-salado puede ocurrir debido al crecimiento de halobacterias o mohos, entre las cuales podemos citar: *Pseudomonas salinaria*, *Pediococcus halophylus*, *Serratia salinaria*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y entre los mohos el *Aspergillus terreus*, *Aspergillus penicillioides*, *Aspergillus niger* (Morillo 2007).

Este tipo de microorganismo (bacterias) tiene características proteolíticas causando mal olor, ablandamiento de carnes. Y en el caso de los hongos y levaduras producen el efecto “Dun”, caracterizada por la aparición de manchas o puntos de color pardo tostado en la superficie de la carne (Morillo 2007).

### **3.15 Proceso de salado y secado en pescados**

El proceso de salar y secar el pescado, a pesar de haberse originado debido a la falta de refrigeración, aún sigue siendo una técnica utilizada por la industria pesquera en muchas regiones del mundo (Barboza *et al.* 1999).

#### **3.15.1 Salado**

El efecto más importante del salado es la extracción de la carne de pescado, al punto de retardar la acción enzimática y microbiana. Ciertas bacterias dañinas no pueden vivir en condiciones salinas, y una concentración del 6 al 10 % de sal en los tejidos del pescado previene su actividad. Sin embargo, hay un grupo de microorganismos (conocidos como bacterias halófilas) que se desarrollan perfectamente en ambientes salinos y pueden dañar el pescado salado. Una nueva extracción de agua mediante el secado inhibe la acción de dichas bacterias (Maddison *et al.* 1999).

La extracción de agua que tiene lugar durante el salado del pescado ocurre porque la solución salina exterior al pescado tiene mayor concentración que el agua residual en la carne del pescado. A medida que el agua se extrae de la carne, la sal va penetrando en ella. Si la concentración de la sal externa del pescado es igual que la interior de la carne, no ocurrirá ningún movimiento ni de agua ni de sal. Cuando esto sucede, debe añadirse más sal a la solución para que el salado pueda continuar (Maddison *et al.* 1999).

Según el mismo autor la efectividad de la operación del salado para la preservación depende de:

- ✓ La concentración de la uniformidad de la sal en la carne del pescado
- ✓ La concentración de la solución de sal y el tiempo tomado para el salado.
- ✓ La combinación del salado con otros métodos de preservación tales como el secado.

### **3.15.2 Secado**

El secado requiere de la transferencia de humedad del producto al aire circundante; evidentemente, tanto la cantidad (flujo de aire) como la sequedad (humedad relativa) del aire, así como la propia naturaleza del producto, afectarán el modo en que éste se seque. La humedad relativa del aire disminuye rápidamente con el incremento de la temperatura, y la capacidad de absorción de agua del aire seco con poca humedad relativa es mucho mayor que la del aire húmedo con alta humedad relativa. Hay dos etapas en el proceso de secado: la primera corresponde a la extracción de la humedad superficial, y la segunda, a la extracción de la humedad interna del pescado (Maddison *et al.* 1999).

El mismo autor menciona que el porcentaje de secado durante la primera etapa depende únicamente de la capacidad del aire que pasa sobre el pescado para absorber y extraer la humedad. Y la segunda etapa que se extrae el agua del interior del pescado y depende del porcentaje de migración de la humedad a través de los tejidos hacia la superficie, donde se evapora.

### **3.16 Pesca Artesanal**

Los términos, pesca artesanal o pesca a pequeña escala, generalmente se refieren a los pescadores que trabajan con equipo y artes de pesca relativamente sencillos y que su volumen de captura es pequeño, ya sea para su consumo individual, familiar o para venta en el mercado local. Los pescadores artesanales también se caracterizan por sus pequeñas inversiones en cuanto a capital se refiere. El aprendizaje y la experiencia acumulada por generaciones son transmitidos de padres a hijos (Tay & Castellanos 1998).

Las embarcaciones utilizadas en la pesca artesanal costera, pueden medir entre 7 y 15 metros de longitud, pueden ser de fibra de vidrio o de madera con revestimiento de fibra de vidrio por lo general usan motores fuera de borda que van de 25-40 HP. los cuales utilizan gasolina principalmente como combustible. El arte de pesca de mayor uso por los pescadores artesanales es el trasmallo, atarrayas, anzuelos, etc. El recurso humano utilizado durante la faena, es un promedio de 2-3 personas por embarcación y la duración de la faena

es de 1- 5 días dependiendo que producto marino se desea capturar (Tay & Castellanos 1998).

Los autores antes mencionados exponen que el paso a seguir después de haber extraído el producto, es darle un proceso para que el producto se conserve; el proceso artesanal se lleva a cabo manualmente sin empleo de maquinaria. Este consiste en limpiar el producto y arreglarlo de tal manera que esté en condiciones óptimas para que tenga como última finalidad la preservación del producto y no su transformación. Generalmente el proceso que recibe el producto extraído, en el caso de la pesca artesanal, es el salado. Este consiste en eviscerar y descabezar (depende del tamaño del pescado) en el caso de pescados muy pequeños, como las “sardinias” se dejan enteros, estos se introducen en un recipiente con bastante sal, y depositar en todo el cuerpo abundantes cantidades de sal, el efecto que causa la sal en la carne es de extraer la mayor humedad posible del pescado, para luego sacarlo y que se seque con la radiación solar.

### **3.17 Placas Petrifilm™**

Método microbiológico que consiste en una familia de placas listas para usarse diseñadas para ofrecer ahorro de tiempo, incremento de productividad, fiabilidad y eficiencia. Su diseño tiene una película rehidratante cubierta con nutrientes y agentes gelificantes, proporciona resultados en tres pasos: inoculación, incubación y recuento.

Las placas petrifilm™ están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas biológicas incluyendo: recuento de aerobios, recuentos de coliformes, recuento de *E. coli*/ coliformes, recuento de enterobacterias, recuento de alta sensibilidad de coliformes, recuento rápido de coliformes, recuento de *Staphylococcus aureus*, recuento de mohos y levaduras y *Listeria* en ambientes (Ver anexo 6) (Alonso & Poveda 2008).

#### **3.17.1 Placa Petrifilm™ para Recuento de *E. coli* / Coliformes**

Placa Petrifilm™ para Recuento de *E. coli*/ Coliformes está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno conteniendo nutrientes del medio VRBG (Bilis Rojo Violeta con Glucosa), el indicador 5-bromo-4-

cloro-3-indolilbeta-D-glucurónido (BCIG) y un agente gelificante soluble en agua fría (El área donde se desarrollan los microorganismos está definida por una película intermedia de espuma). Se completa en la parte superior con otra lámina de polipropileno que contiene gel soluble en agua fría y tricloruro de trifeniltetrazolio (ó TTC) como indicador.

La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce un precipitado azul asociado con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por la lactosa que fermentan *E. coli* y Coliformes son colonias rojas asociadas con burbujas de gas (Alonso & Poveda 2008).

Estas placas son incubadas por  $24 \pm 2$  horas a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  para cuantificar Coliformes y *E. coli* en carne, aves y mariscos. Las placas Petrifilm para *E. coli* y Coliformes pueden ser usadas para la enumeración de estos organismos en alimentos diversos así como para el monitoreo ambiental y superficial en áreas de procesamiento y manipuladores (Alonso & Poveda 2008).

### **3.17.2 Placa Petrifilm™ Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus***

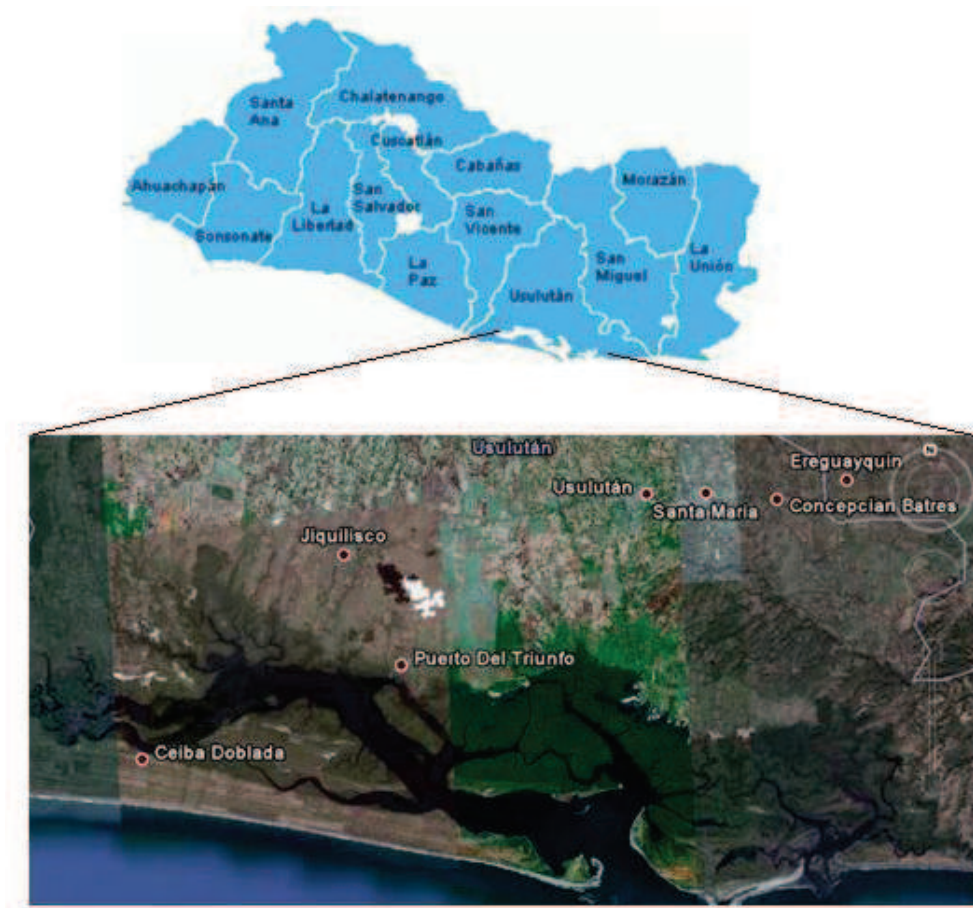
El sistema de recuento 3M Petrifilm™ Staph Express consiste en una placa de recuento Petrifilm Staph Express y un disco Petrifilm Staph Express, la placa de recuento contiene un sistema de medio de cultivo preparado. El medio cromogénico de Baird-Parker modificado de la placa es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*, quien aparece como colonias rojo-violeta en la placa. Otras colonias que no sean de color rojo-violeta también pueden aparecer en la placa (Alonso & Poveda 2008).

El disco Petrifilm Staph Express ha sido diseñado para la detección de las reacciones de desoxiribonucleasa (DNasa) específicas de *Staphylococcus aureus*, aislado en la placa de recuento Petrifilm Staph Express; contiene azul-O-toluidina que facilita la visualización de las reacciones de DNasa. El disco Petrifilm Staph Express debe de usarse siempre que aparezcan en la placa otras colonias que no sean de color rojo-violeta (Alonso & Poveda 2008).

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 Descripción del Área de Estudio

La Bahía de Jiquilisco se encuentra ubicado en la región oriental de El Salvador en el Departamento de Usulután, entre los 13° 15' y 13° 18' Latitud Norte y 88° 48' y 88° 15' Longitud Oeste, forma parte del sistema de paisaje "Llanura costera central" de El Salvador; siendo declarada además el 31 de octubre del 2005 como sitio Ramsar, en el marco del convenio internacional sobre humedales, debido a su singularidad y fragilidad, por cuanto es el hábitat de la mayoría de aves marino-costeras del país (MARN 2004) (Figura 1).





La altitud mínima es 0 metros sobre el nivel del mar y la máxima son 40 metros sobre el nivel del mar, en tierra firme. Los suelos cercanos a los esteros son halomórficos (MARN/MOP 2003).

## CLIMA

Posee por otro lado, un clima de sabana caliente-tropical (Según la clasificación de las regiones climáticas de Copen). El clima local sigue el patrón nacional y su distribución está influenciada por la vegetación de los esteros y manglares. La precipitación anual promedio oscila entre el rango de 1660-2019 mm, y la temperatura anual promedio es de 26.7 °C, con un nivel máximo de 34.6 °C y un nivel mínimo de 20.3 °C. Los vientos locales son muy débiles, con una velocidad promedio de 7 km/h. La humedad relativa del aire es de 65.15% durante la época seca y de 78.15 % durante la época lluviosa y pertenece a las cuencas hidrográficas del Lempa, El Espino, El Potrero, Nanachepa, Aguacayo, El Cacao, El Quebrado, La Poza, Grande de San Miguel, El Convento, La Ringlera, Seca y Mungía (MARN 2004).

## VEGETACIÓN

En cuanto a las especies de flora que existen en las formaciones de manglar se encuentran: “mangle colorado” (*Rhizophora mangle*), “mangle rojo gigante” (*Rhizophora harrisonii*), “madresal” (*Avicennia germinans*), (*Avicennia bicolor*), “botoncillo” (*Conocarpus erecta*), e “istaten” (*Laguncularia racemosa*) (MARN 2004).

Históricamente la Bahía de Jiquilisco ha tenido una gran importancia para la economía del país, tanto por la producción agrícola como por la extracción de los productos del mar: sal, camarón y peces. Además la zona de la bahía en su conjunto constituye una importante reserva de recursos naturales que presta diferentes bienes y servicios ambientales de beneficio tanto a nivel local como nacional (MARN 2004).

### **4.2 Fase de Campo**

Los viajes se realizaron a la Bahía de Jiquilisco que es el lugar de pesca de las “sardinias” en El Salvador (Ver anexo 7) específicamente se dirigió al muelle artesanal de

Puerto El Triunfo donde se observó el proceso artesanal de salado-secado, y se hicieron recorridos con los pescadores por toda la Bahía para la búsqueda de las “sardinas” por un período de 3 meses haciendo un viaje por mes.

Los pescadores hacen recorridos por toda la Bahía de Jiquilisco para la búsqueda de las “sardinas” y el período de tiempo de este tipo de pesca depende de las mareas bajas, siendo estas las aptas para la pesca de “sardinas”, ya que la pesca se desarrolla en lugares de poca profundidad para el mejor manejo de la red; el tiempo máximo de pesca es de un solo día.

La tripulación que requieren para esta pesca es de 4 ó 5 pescadores, en el recorrido que realizan van observando el agua para detectar los cardúmenes de estos peces, una vez fijado el objetivo los pescadores tiran la red de cedazo al agua y con la ayuda de la lancha rodean el cardumen procurando que no escapen; luego empiezan a recoger la red donde está la captura y la trasladan a canastas con agujeros dentro del agua, para poder limpiarla de otras especies de peces que no les son útiles, hojas, raíces, lodo, etc. (Figura 2).



Figura 2: Pescadores con la red de cedazo capturando las “Sardinas”

Las “sardinas” limpias son colocadas en un recipiente donde les agregan sal (todas las capturas del día son colocadas en el mismo depósito y si no caben en este, preparan la salmuera en el suelo de la lancha), la cantidad de sal depende de la cantidad de la captura, y los pescadores por su experiencia calculan cuanto necesitan de sal, ya que no tiene una medida determinada para agregarle a una cierta cantidad de “sardinas” (Figura 3).



Figura 3. Pescadores limpiando y salando las “sardinas”

El proceso descrito anteriormente lo realizan en la misma jornada tantas veces localicen cardúmenes (lances), el capitán de la embarcación decide cuando regresar al muelle y al llegar a este desembarcan y colocan las “sardinas” que están en salmuera sobre redes de cedazo extendidas en el suelo para que se sequen al sol, el secado puede tardar de unas 3 o 4 horas (dependiendo de lo soleado o nublado del día) y están listas para ser vendidas a los consumidores que llegan al muelle a comprarlas (Figura 4).



Figura 4. “Sardinas” saladas y secadas al sol en el muelle de Puerto El Triunfo por los pescadores.

El Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 2009) menciona que la verificación de los parámetros microbiológicos indicados en este reglamento deberá estar limitada a 5 veces durante el período de vigencia (5 años)<sup>1</sup> del registro sanitario para la vigilancia de alimentos, pero en esta investigación se tomaron más muestras para tener una mayor representatividad de los datos.

Colectando en cada viaje 10 muestras, cinco muestras de “sardinias” frescas y cinco muestras de “sardinias” saladas-secadas al sol. Las muestras se obtuvieron según se desarrolló la pesca artesanal de las “sardinias” en los lugares y períodos de tiempo que realizaron los pescadores y a la vez se fue observando paso a paso el desarrollo del proceso artesanal de salado y secado de “sardinias” para su posterior comercialización.

Fase 1. “Sardinias” frescas: Durante el recorrido con los pescadores se tomaron muestras de todos los lances de cada jornada de pesca en bolsas estériles con capacidad para un libra y se colocaron en una hielera con hielo manteniendo la temperatura a 4 °C para su transporte al laboratorio en un período menor de 24 horas (Figura 5).

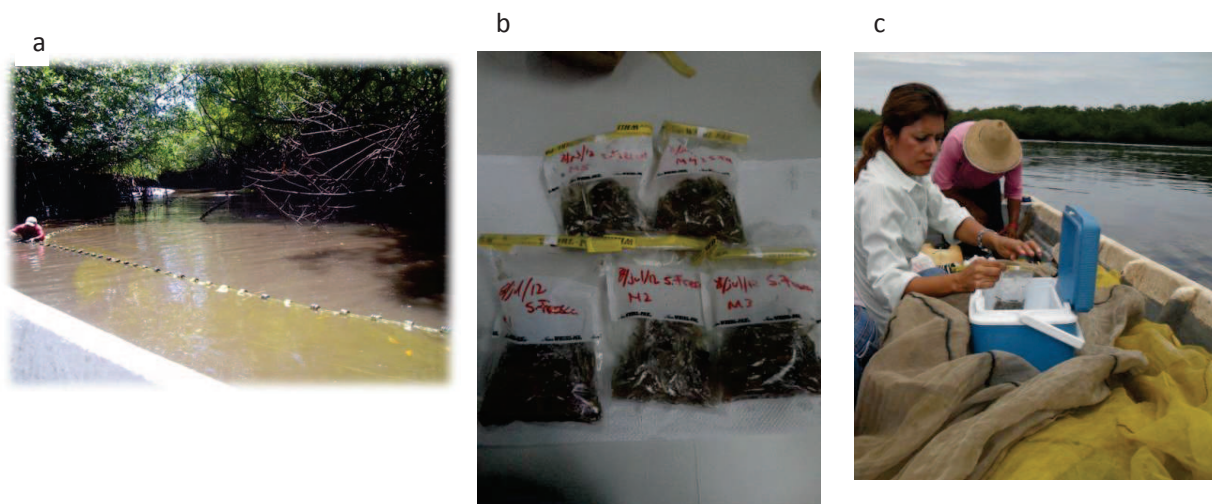


Figura 5. Muestras de “sardinias” frescas embolsadas y guardadas para el traslado al laboratorio después de la pesca a) Captura de las “sardinias” b) cinco muestras de “sardina” fresca c) Empaquetado y guardadas en hielera .

<sup>1</sup> Información proporcionada por Ing. Ana de Urbina. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Fase 2. “Sardinias” saladas-secas: para que las “sardinias” se sequen los pescadores colocan en el suelo solo las redes de pesca (el cedazo) y ahí extienden las “sardinias” que tienen en salmuera (preparación de las “sardinias” con sal y agua), por un lapso de 3 o 4 horas al sol para el secado (este período de tiempo depende de lo soleado o nublado del día); luego de esa exposición al sol se tomaron las muestras y se transportaron al laboratorio en bolsas estériles con capacidad para una libra. Estas muestras se tomaron del



Figura 6. Secado de las “sardinias” en el muelle y pesado para su posterior comercialización en el mercado. mismo lote de “sardinias” de las que se obtuvieron las “sardinias” frescas (Figura 6).

Todas estas muestras se tomaron el mismo día, y el siguiente día se llevaron al laboratorio de CENSALUD (Centro de Investigación y Desarrollo en Salud) en la Universidad Nacional de El Salvador en un período menor a 24 horas.

Se partió a la cooperativa ACOPPSEMPET (Asociación Cooperativa de Producción Pesquera de Servicios Múltiples de Puerto El Triunfo de R.L.) en la Bahía de Jiquilisco, el 18 de octubre de 2012 a exponerle a los pescadores la recopilación de recomendaciones por medio de una charla que les servirá de apoyo para tener una mejor manipulación de las “sardinias” durante el proceso artesanal de salado y secado, luego se les entregara un copia del documento final.

### 4.3 Fase de Laboratorio

A las muestras obtenidas de “sardinas” tratadas artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco se les realizaron los análisis microbiológicos para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* por duplicado para cada análisis, según lo propone el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) basado en los métodos de análisis establecidos por la FDA (Administración de Medicamentos y Alimentos o por sus siglas en inglés Food and Drug Administration).

Para el desarrollo de los análisis de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se utiliza el Recuento de Placas Petrifilm 3M, Sistema de Recuento Staph Express y Placas para Recuento de *E. coli* y Coliformes, respectivamente y para *Salmonella spp.* se emplea el método tradicional.

Se utiliza el Manual de Microbiología de Alimentos de CENSALUD (Centro de Investigación y Desarrollo en Salud), donde se muestran los procedimientos a realizar para *Salmonella spp.*, y para los análisis de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se utilizaron las placas indicadoras para recuento microbiológico de muestras 3M Petrifilm™, siendo métodos oficiales para placas Petrifilm de la AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales o por sus siglas en inglés Association of Official Analytical Chemists).

#### 4.3.1 Método de Análisis para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Se pesaron 25 gr. de la muestras tanto para “sardina” fresca y “sardina” salada- seca y se le agregaron 225 ml de agua peptonada al 0.1 % N (Figura 7) se homogenizaron las muestras en un Stomacher por 1 minuto (3M Petrifilm 2002) (Ver Anexo 8 y 9).



Figura 7. a) Pesado de “sardinas” frescas y saladas-secas en balanza b) Muestras homogenizadas en el Stomacher por 1 minuto c) Vertido a los Erlenmeyer de las muestras previamente mezcladas. 37

Para la inoculación en las placas Petrifilm (se harán duplicados por cada análisis) cada una de ellas se colocaron en una superficie nivelada, se levanto el film superior con una jeringa dispuesta de forma perpendicular a la placa Petrifilm y se puso 1 ml de la muestra en el centro del film Inferior; se bajo el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire (3M Petrifilm 2002) (Figura 8).



Figura 8. Inoculación de las muestras en placas Petrifilm para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Para distribuir el inóculo sobre la superficie circular antes de la formación del gel se utilizó un aplicador circular específico para dicha función, y se esperó 1 minuto a que solidificara el gel; luego se incubaron las placas cara arriba en pilas o columnas durante  $24 \pm 2$  horas a una temperatura de  $35 \pm 2$  °C para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Figura 9).



Figura 9. Incubación de las placas Petrifilm durante  $24 \pm 2$  horas.

Para *Staphylococcus aureus* se espera que aparezcan colonias rojo-violetas después de  $24 \pm 2$  horas de incubación y si aparecen colonias con esas coloraciones, se coloca el Disco Petrifilm Staph Express para incubarlo por un período de 3 horas y si aparecen zonas rosas es la confirmación de la presencia de *Staphylococcus aureus*.

La presencia de *Escherichia coli* se indica con colonias azules con gas, al leer los resultados se consulta con la Guía de Interpretación 3M Petrifilm, Placas para Recuento de *E. coli* y Coliformes (3M Petrifilm 2002).

Los resultados de *Escherichia coli* por el método Petrifilm se obtendrían en UFC/gr., y el Reglamento Técnico Centroamericano estipula límites en NMP/gr.; para obtener los resultados como NMP/gr. por lo tanto se utiliza la tabla de conversión de 3M Petrifilm *E. coli* para convertir las UFC/gr. a NMP/gr (Ver anexo 10)

#### 4.3.2 Método de Análisis para *Salmonella spp.*

El método se basa en el análisis de 25 gr. de la muestra a una relación de 1:9 muestra/caldo. Asépticamente se pesaron 25 gr. de la muestra de “sardina” fresca y “sardina” salada-seca (Figura 10), dentro de un Erlenmeyer estéril, se agregaron 225 ml de Caldo Lactosado y se homogenizaron por 1 minuto en stomacher a 260 rpm; se tapó el recipiente con la muestra y se mezclaron, luego se incubaron  $24 \pm 2$  horas a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 11) (González & Sánchez 2008) (Ver anexo 11)



Figura 10. Pesado de muestras de “sardinas” frescas y saladas- secas

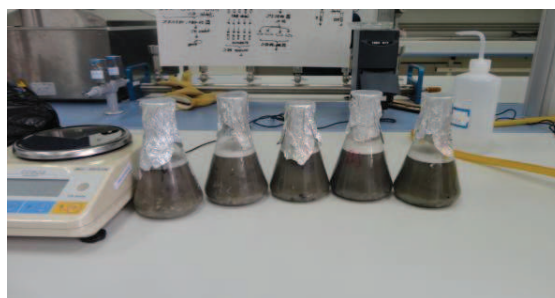


Figura 11. Caldo Lactosado con las muestras de “sardinas” frescas y saladas- secas.



•Aislamiento de *Salmonella spp.* en muestras de “sardinas” frescas y salada-secas.

Luego de haber transcurrido las primeras 24 horas de incubación se mezclaron manualmente en el Erlenmeyer y se transfirió 1 ml de mezcla a 10 ml de Caldo Tetrionato (TT) y se incubaron por  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 0.2$  °C estos análisis se hicieron por duplicados (Figura 12) (González & Sánchez 2008)

De los tubos de Cado Tetrionato se estriaron con una asa bacteriológica previamente esterilizada en Agar Salmonella- Shigella (SS) y en Agar Rambach (RBC), se incubaron las placas por  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 0.2$  °C; luego se examinaron las placas buscando colonias sospechosas de *Salmonella spp.* (Figura 12)

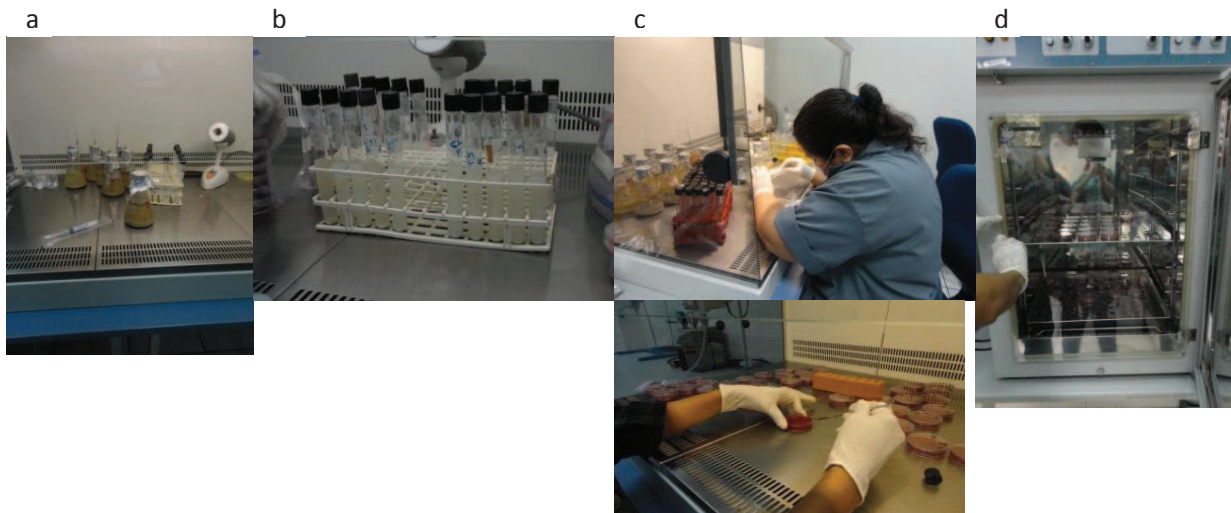


Figura 12. a) Muestra con Caldo Lactosado después de 24 horas de incubación, b) Tubos con Caldo Tetrionato después de 24 horas de incubación c) Estriados en Salmonella-shigella y Agar Rambach d) Incubación de placas Petri durante 24 horas.

En Agar Salmonella-Shigella (SS) aparecen colonias translúcidas (de color anaranjado claro) con centro negro. Y para agar Rambach presenta colonias de color violeta.

• Identificación Bioquímica de *Salmonella spp.*

De las muestras positivas de “sardinas” tanto frescas y saladas secas en la identificación de *Salmonella spp.* se realizaron pruebas bioquímicas a las colonias con coloraciones transparentes con centros negros para Salmonella-Shigella y violeta para Agar

Rambach para terminar la confirmación de este microorganismo en las muestras se procedió como a continuación se menciona (Ver anexo 12):

- ✓ Agar TSI: con un asa bacteriológica se tomo una muestra del centro de la colonia sospechosa, que luego se inoculo en un tubo con Agar TSI (Triple azúcar Hierro) por punzada en el fondo y se estrió en la superficie y se incubó a  $37 \pm 1$  °C por 24- 48 horas (González & Sánchez 2008).
- ✓ Reacción de Indol: De los tubos con coloraciones negras en TSI se inóculo la colonia en prueba en agua de triptona, se incubo durante 24 horas a  $37 \pm 1$  °C, luego se agregaron 0.5 ml de Reactivo de Erlich y la formación de un anillo rojo es reacción positiva (González & Sánchez 2008).
- ✓ Rojo de Metilo: en los tubos con medio MR-VP se inocularon las colonias en prueba de *Salmonella spp.* y se incubaron por 24 horas a  $37 \pm 1$  °C luego se agregaron 1-2 gotas de reactivo Rojo de Metilo y la aparición de color rojo es reacción positiva (González & Sánchez 2008).
- ✓ Prueba de Movilidad: De las colonias sospechosas se inocularon por punzada en el fondo los tubos con medio SIM y se incubaron por 24 horas a 37 °C para luego confirmar la presencia de *salmonella spp* con la manifestación en forma de sombrilla en el medio, indicando la reacción positiva para esta prueba (González & Sánchez 2008).
- ✓ Voges-Proskauer: En los tubo con medio MR-VP se inocularon las colonias en prueba y se incubaron por 24 horas a 37 °C, transcurrido el tiempo de incubación se le agregaron 2 gotas de solución alcohólica de alfa naftol y luego 2 gotas de solución de Hidroxido de potasio (KOH) y la formación de un color rosado desarrollado dentro de los 15 minutos indicó reacción positiva (González & Sánchez 2008).

## V. PLANTEAMIENTO DE HIPOTESIS

### **Hipótesis Nulas:**

El proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” cumple con los estándares ordenados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos, para *Staphylococcus aureus* con un límite máximo de  $10^2$  UFC/gr.

El proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” cumple con los estándares ordenados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos, para *Escherichia coli* con un límite menor a 3 NMP/gr.

El proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” cumple con los estándares ordenados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos, para *Salmonella spp* .requiriendo la ausencia de este microorganismo.

### **Hipótesis Alternativas:**

El proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” no cumple con los estándares ordenados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos, para *Staphylococcus aureus* con un resultado mayor de  $10^2$  UFC/gr.

El proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” no cumple con los estándares ordenados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos, para *Escherichia coli* con un resultado mayor a 3 NMP/gr.

El proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” no cumple con los estándares ordenados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos, para *Salmonella spp*. Existiendo la presencia de este microorganismo.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 Siembra en placas 3M Petrifilm para Recuento de *Staphylococcus aureus*.

Las muestras de “sardinas” fresca y saladas-secas fueron homogenizadas en agua peptonada incubadas a 35°C durante 24 horas, resultando las 30 muestras (con sus respectivas repeticiones) positivas en su totalidad por la presentación de colonias color rojo-violeta y confirmando los resultados con el Disco Petrifilm Staph Express con la aparición de zonas rosadas, tomando en cuenta estas coloraciones se realizó el conteo de colonias (Ver Anexos 13 y 14).

### 6.2 Siembra en placas 3M Petrifilm para Recuento de *E. coli* y Coliformes (EC).

La siembra de las muestras extraídas en la Bahía de Jiquilisco en las placas Petrifilm, fueron homogenizadas en agua peptonada, incubadas a 35°C durante 24 horas; se obtuvo un total de 30 muestras positivas en su totalidad, ya que presentaron puntos de color azul con presencia de gas, manifestado por una burbuja formada a la par de la colonia, utilizando estos indicadores se hicieron los conteos de las colonias (Ver Anexos 14 y 15).

### 6.3 Siembra por el método tradicional para Presencia o ausencia de *Salmonella spp*.

Las 30 muestras extraídas de “sardinas” frescas y saladas- secas estuvieron en pre-enriquecimiento en Caldo lactosado por 24 horas a 35° C. Luego estas muestras fueron inoculadas en Caldo Tetrionato (TT) y se incubaron por 24 ± 2 horas a 35 ± 0.2 °C (Ver Anexo 16).

### 6.4 Resultados de aislados en Agar *Salmonella Shigella*.

Las 30 muestras positivas inoculadas en Caldo Tetrionato (TT) se sembraron por duplicado y estriado en placas Petri (Ver anexo 17), cada muestra positiva con coloraciones anaranjado con centro negro (Ver Anexo 18), que son presuntivos de presencia de *Salmonella spp*, incubando estas muestras durante 24 horas a 35° C se obtuvo un total de presencia de *Salmonella spp*. en las 60 replicas en el medio.

## **6.5 Resultados de aislados en Agar RAMBACH**

Las 30 muestras positivas inoculadas en Tetracionato se sembraron por duplicado y estriado en placas petri, resultando cada muestra con coloraciones de color violeta (Ver Anexo 19) que son presuntivos de presencia de *Salmonella spp*, incubando estas muestras durante 24 horas a 35° C. Se obtuvo un total de presencia de *Salmonella spp*. en las 60 replicas en el medio.

## **6.6 Resultados de pruebas bioquímicas para *Salmonella spp*.**

De las colonias positivas sembradas en Agar Salmonella-Shigella y Agar Rambach se inocularon en Agar TSI por 24 horas a 35° C presentando en todos los tubos coloraciones negras indicando reacción positiva. (Anexo 20).

Reacción de Indol. De los 30 tubos con agua de triptona se inoculo la colonia en prueba, se incubo durante 24 horas a  $37 \pm 1$  °C, transcurrido el tiempo se agregó 0.5 ml de Reactivo de Erlich resultando positivos los 30 tubos, la formación de un anillo rojo es reacción positiva (Ver Anexo 21).

Rojo de Metilo. En los 30 tubos con medio MR-VP se inocularon las colonias en prueba y se incubaron por 24 horas a  $37 \pm 1$  °C luego se agregaron 1-2 gotas de reactivo Rojo de Metilo, resultando los tubos con una coloración roja que es una reacción positiva (Ver Anexo 22)

Prueba de Movilidad. De los 30 tubos con medio SIM se inoculo la colonia sospechosa y transcurridas las 24 horas a 37°C se confirmo el crecimiento en forma de sombrilla en todos los tubos (Ver Anexo 23)

Voges-Proskauer. El resultado 30 tubos con medio MR-VP se inoculo la colonia en prueba y pasada las 24 horas a 37°C se agregaron 2 gotas de solución alcohólica de alfa naftol y luego 2 gotas de solución de Hidróxido de potasio (KOH) y la formación de un color rosado desarrollado en 15 minutos confirmo la reacción positiva (Ver Anexo 24).

## VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos de cada uno de los microorganismos analizados *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* se obtuvieron por medio del muestreo aleatorio simple en las 2 condiciones de “sardinas” frescas y saladas-secas y fueron tratadas individualmente en el análisis estadístico.

Se plantearon hipótesis acerca del cumplimiento o no del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) en el proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” en la Bahía de Jiquilisco. Para ello se aplicaron pruebas de normalidad, con el objeto de probar si el fenómeno en estudio se distribuye como una normal, para las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, apoyados en las técnicas de Kolmogorov Smirnov. Luego para la comparación de la media muestral con los parámetros del RTCA; se utilizaron pruebas no paramétricas en específico la técnica de Wilcoxon<sup>1</sup>; para determinar si existe suficiente diferencia significativa entre los datos observados y el parámetro establecido por el RTCA.

Y en el caso de *Salmonella spp.* por tratarse de una variable cualitativa el análisis estadístico se enfocó en determinar si globalmente existía suficiente evidencia estadística de ausencia o presencia de *Salmonella spp.* en las muestras.

Para los resultados que se obtuvieron de *Salmonella spp.* con respecto a la ausencia o presencia de este microorganismo se aplicaría una proporción binomial<sup>2</sup>. Para la aceptación o negación de hipótesis, auxiliándonos con el paquete estadístico SPSS versión 15 y Statgraphics Centurion 16.1.15 para la comparación de resultados en las dos condiciones (Comunicación personal<sup>2,3</sup>).

---

<sup>2</sup> Lic. Wilson Ernesto Pacheco Jefe del Centro de opinión pública de la Universidad Francisco Gavidia.

<sup>3</sup> Ing. Oscar Lemus. Profesor Catedrático Escuela de Matemática. Universidad de El Salvador.

### *Staphylococcus aureus*

Para *Staphylococcus aureus* interesó probar la hipótesis que si cumple con el RTCA que pide como un límite máximo de  $10^2$  UFC/gr., es decir:

$$H_0: \mu_{Sa} = 10^2 \text{ UFC/gr.}$$

$$H_1: \mu_{Sa} \neq 10^2 \text{ UFC/gr.} \quad (\text{Sea Sa: } \textit{Staphylococcus aureus})$$

$$\text{Donde: } \mu_{Sa} = \frac{\mu_{1Sa} + \mu_{2Sa} + \mu_{3Sa}}{n}$$

Siendo:

$\mu_{Sa}$ : Promedio de la suma de los 3 muestreos de “sardinas” saladas-secas para *Staphylococcus aureus*.

$\mu_{1Sa}$ : Promedio de muestras saladas-secas del muestro 1 para *Staphylococcus aureus*.

$\mu_{2Sa}$ : Promedio de muestras saladas-secas del muestreo 2 para *Staphylococcus aureus*.

$\mu_{3Sa}$ : Promedio de muestras saladas-secas del muestreo 3 para *Staphylococcus aureus*.

n: número de muestreos.

Y se realizó el mismo procedimiento para las muestras frescas en los análisis de *Staphylococcus aureus*.

**Cuadro 1.** Medidas de tendencia central y dispersión determinados por los niveles de UFC/g de *Staphylococcus aureus* en el proceso artesanal de “sardina”

<b>Estadísticos</b>			
		Sardinas Fresca (UFC/gr.)	Sardina Seca-salada (UFC/gr.)
N	Válidos	15	15
	Perdidos	0	0
Media		121,67	130,33
Mediana		95,00	100,00
Moda		90 <sup>a</sup>	95 <sup>a</sup>
Desv. típ.		76,290	71,626
Mínimo		75	45
Máximo		385	325

a. Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

Los datos de la desviación típica, la mediana, la moda y los niveles mínimos y máximos de la bacteria en estudio durante los muestreos en la Bahía de Jiquilisco, demuestran que las “sardinas” frescas tienen menos niveles de contaminación fecal que las “sardinas saladas-secas que presentaron mayores niveles.

### Pruebas de normalidad para *Staphylococcus aureus*

Hipótesis nula: Los datos provienen de una distribución normal.

Hipótesis alternativa: Los datos no provienen de una distribución normal.

**Cuadro 2.** Prueba de Kolmogorov- Smirnov en “sardina” fresca de *Staphylococcus aureus*.

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Sardinas Fresca (UFC/gr.)
N		15
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	121,67
	Desviación típica	76,290
Diferencias más extremas	Absoluta	,323
	Positiva	,323
	Negativa	-,270
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,252
Sig. asintót. (bilateral)		,087

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

**Cuadro 3.** Prueba de Kolmogorov- Smirnov en “sardina” salada-seca de *Staphylococcus aureus*.

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Sardina Seca-salada (UFC/gr.)
N		15
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	130,33
	Desviación típica	71,626
Diferencias más extremas	Absoluta	,197
	Positiva	,197
	Negativa	-,117
Z de Kolmogorov-Smirnov		,764
Sig. asintót. (bilateral)		,603

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.



Los cuadros 2 y 3 representan en resumen la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para *Staphylococcus aureus*, presente en “sardinas” frescas y “sardinas” saladas-secas. Demostrando que los datos provienen de una distribución normal, puesto que el p valor es significativo para ambas condiciones, 0.087 para “sardinas” frescas y 0.603 “sardinas” salada-seca por consiguiente aceptamos la hipótesis nula y afirmamos que los datos provienen de una distribución normal.

**Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para el cumplimiento del RTCA de *Staphylococcus aureus* en “sardinas” frescas.**

**Cuadro 4.** Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardina” fresca para *Staphylococcus aureus*.

		<b>Rangos</b>		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
RTCASaureus - Sardinas Fresca (UFC/gr.)	Rangos negativos	6 <sup>a</sup>	11,00	66,00
	Rangos positivos	8 <sup>b</sup>	4,88	39,00
	Empates	1 <sup>c</sup>		
	Total	15		

- a. RTCASaureus < Sardinas Fresca (UFC/gr.)
- b. RTCASaureus > Sardinas Fresca (UFC/gr.)
- c. RTCASaureus = Sardinas Fresca (UFC/gr.)

**Cuadro 5.** Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” frescas y el RTCA.

<b>Estadísticos de contraste<sup>b</sup></b>	
	RTCASaureus - Sardinas Fresca (UFC/gr.)
Z	-,853 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,394

- a. Basado en los rangos positivos.
- b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El cuadro 4 indica que fueron 6 la cantidad de muestras que sobrepasaron el límite que indica el RTCA, 9 fueron las muestras que se mantuvieron debajo o igual al límite establecido.

En el cuadro 5 utilizando la prueba de Wilcoxon resultó que el p valor es significativo (0.394) por lo tanto no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que las “sardinas” frescas sobrepasan los límites permisibles para el RTCA.

**Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para el cumplimiento del RTCA de *Staphylococcus aureus* en “sardinas” saladas-secas.**

**Cuadro 6.** Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardinas” saladas-secas para *Staphylococcus aureus*

		Rangos		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
RTCASaureus - Sardina Seca-salada (UFC/gr.)	Rangos negativos	7 <sup>a</sup>	9,07	63,50
	Rangos positivos	6 <sup>b</sup>	4,58	27,50
	Empates	2 <sup>c</sup>		
	Total	15		

- a. RTCASaureus < Sardina Seca-salada (UFC/gr.)
- b. RTCASaureus > Sardina Seca-salada (UFC/gr.)
- c. RTCASaureus = Sardina Seca-salada (UFC/gr.)

**Cuadro 7.** Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” Saladas-secas y el RTCA.

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>	
	RTCASaureus - Sardina Seca-salada (UFC/gr.)
Z	-1,259 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,208

- a. Basado en los rangos positivos.
- b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El Cuadro 6 indica que fueron 7 la cantidad de muestras que sobrepasaron el límite que indica el RTCA, 8 fueron las muestras que se mantuvieron debajo o igual al límite establecido.

En el Cuadro 7 utilizando la prueba de Wilcoxon resultó que el p valor es significativo (0.208) por lo tanto no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que las “sardinas” saladas-secas sobrepasan los límites permisibles para el RTCA.

**Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para el cumplimiento del RTCA de *Staphylococcus aureus* comparando “sardinas” frescas con saladas-secas.**

**Cuadro 8.** Resumen de las diferencias entre las muestras “sardinas” frescas y saladas-secas.

		Rangos		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
Sardina Seca-salada (UFC/gr.) - Sardinas Fresca (UFC/gr.)	Rangos negativos	8 <sup>a</sup>	7,19	57,50
	Rangos positivos	7 <sup>b</sup>	8,93	62,50
Empates		0 <sup>c</sup>		
Total		15		

- a. Sardina Seca-salada (UFC/gr.) < Sardinas Fresca (UFC/gr.)
- b. Sardina Seca-salada (UFC/gr.) > Sardinas Fresca (UFC/gr.)
- c. Sardina Seca-salada (UFC/gr.) = Sardinas Fresca (UFC/gr.)

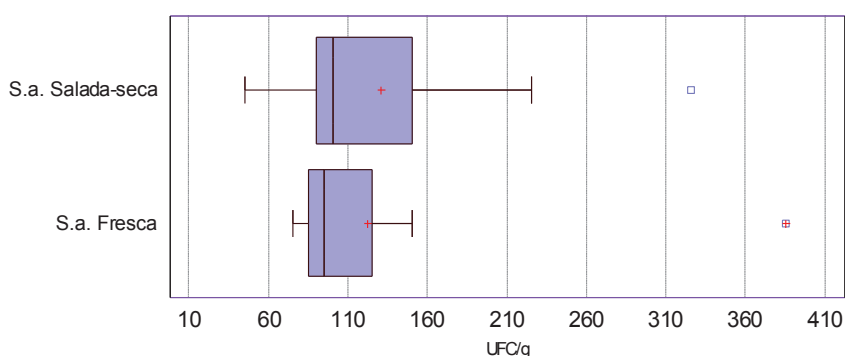
**Cuadro 9.** Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon de la comparación entre “sardinas” frescas y saladas-secas.

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>	
	Sardina Seca-salada (UFC/gr.) - Sardinas Fresca (UFC/gr.)
Z	-,142 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,887

- a. Basado en los rangos negativos.
- b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El Cuadro 8 indica que fueron 8 la cantidad de “sardinas” frescas que salieron con mayor nivel de UFC/gr que las “sardinas” saladas-secas y 7 la cantidad de “sardinas” frescas que salieron con menor nivel de UFC/gr. que las “sardinas” saladas-secas.

En el Cuadro 9 utilizando la prueba de Wilcoxon resultó que el p valor es significativo (0.887) por lo tanto, no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que existe diferencia entre las “sardinas” frescas y las “sardinas” saladas-secas con respecto al análisis de *Staphylococcus aureus*.



**Figura 13.** Comparación de medias aritméticas de “sardinas” saladas-secas con sardina fresca de *Staphylococcus aureus*.

La argumentación anterior, se afirma al comparar las medias de los datos de *Staphylococcus aureus* determinados para cada una de las dos condiciones durante los tres muestreos (abril-julio 2012), se reconfirma la tendencia general en la que los valores mínimos de contaminación ocurrieron en “sardinas” frescas (Figura 13).

### ***Escherichia coli***

Para *Escherichia coli* tanto de “sardinas” fresca y salada seca interesó probar la hipótesis que si cumple con el RTCA que pide como límite menor 3 NMP/gr., es decir:

$$H_0: \mu_{Ec} = 3 \text{ NMP/gr.}$$

$$H_1: \mu_{Ec} \neq 3 \text{ NMP/gr.} \quad (\text{Sea } Ec: \textit{Escherichia coli})$$

$$\text{Donde: } \mu_{Ec} = \frac{\mu_{1Ec} + \mu_{2Ec} + \mu_{3Ec}}{n}$$

Siendo:

$\mu_{Ec}$ : Promedio de la suma de los 3 muestreos de sardinas saladas-secas para *Escherichia coli*

$\mu_{1Ec}$ : Promedio de muestras saladas-secas para *Escherichia coli*.

$\mu_{2Ec}$ : Promedio de muestras saladas-secas para *Escherichia coli*.

$\mu_{3Ec}$ : Promedio de muestras saladas-secas para *Escherichia coli*.

n: número de muestreos

**Cuadro 10.** Medidas de tendencia central y dispersión determinados por los niveles de NMP/g de *Escherichia coli* en el proceso artesanal de “sardina”

		Sardina Fresca (NMP/gr.)	Sardina Seca-salada (NMP/gr.)
N	Válidos	15	15
	Perdidos	0	0
Media		7,347	18,37
Mediana		6,190	6,19
Moda		6,2	6
Desv. típ.		6,0835	36,633
Mínimo		3,0	3
Máximo		28,6	149

Los datos de la desviación típica, la mediana, la moda y los niveles mínimos y máximos de la bacteria en estudio durante los muestreos en la Bahía de Jiquilisco, demuestran que las “sardinas” frescas tienen menos niveles de contaminación fecal que las “sardinas saladas-secas que presentaron mayores niveles.

#### **Pruebas de normalidad para *Escherichia coli***

Hipótesis nula: Los datos provienen de una distribución normal.

Hipótesis alternativa: Los datos no provienen de una distribución normal.

**Cuadro 11.** Prueba de Kolmogorov- Smirnov en “sardinas” frescas de *Escherichia coli*.

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Sardina Fresca (NMP/gr.)
N		15
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	7,347
	Desviación típica	6,0835
Diferencias más extremas	Absoluta	,433
	Positiva	,433
	Negativa	-,237
Z de Kolmogorov -Smirnov		1,675
Sig. asintót. (bilateral)		,007

- a. La distribución de contraste es la Normal.  
 b. Se han calculado a partir de los datos.

**Cuadro 12.** Prueba de Kolmogorov- Smirnov “sardinas” saladas-secas de *Escherichia coli*.

**Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra**

		Sardina Seca-salada (NMP/gr.)
N		15
Parámetros normales <sup>a,b</sup>	Media	18,37
	Desviación típica	36,633
Diferencias más extremas	Absoluta	,382
	Positiva	,382
	Negativa	-,337
Z de Kolmogorov -Smirnov		1,479
Sig. asintót. (bilateral)		,025

- a. La distribución de contraste es la Normal.  
 b. Se han calculado a partir de los datos.

Los cuadros 11 y 12 representan las pruebas de normalidad, pero como el p valor es 0.007 para “sardinas” frescas y 0.025 “sardinas” saladas-secas rechazamos la hipótesis nula, ya que no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que los datos provienen de una distribución normal.

**Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para el cumplimiento del RTCA de *Escherichia coli*. en “sardinas” frescas.**

**Cuadro 13.** Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardinas” frescas para *Escherichia coli*.

		Rangos		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
RTCAEcoli - Sardina Fresca (NMP/gr.)	Rangos negativos	12 <sup>a</sup>	6,50	78,00
	Rangos positivos	0 <sup>b</sup>	,00	,00
	Empates	3 <sup>c</sup>		
	Total	15		

a. RTCAEcoli < Sardina Fresca (NMP/gr.)

b. RTCAEcoli > Sardina Fresca (NMP/gr.)

c. RTCAEcoli = Sardina Fresca (NMP/gr.)

**Cuadro 14.** Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” frescas y el RTCA.

Estadísticos de contraste <sup>b</sup>	
	RTCAEcoli - Sardina Fresca (NMP/gr.)
Z	-3,097 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,002

a. Basado en los rangos positivos.

b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El cuadro 13 indica que fueron 12 la cantidad de muestras que sobrepasaron el límite por lo tanto las medias de “sardinas” frescas es mayor al RTCA, 3 fueron las muestras que se mantuvieron al límite establecido.

En el cuadro 14 utilizando la prueba de Wilcoxon resultó que el p valor es significativo (0.002) por lo tanto hay suficiente evidencia estadística para afirmar que las “sardinas” frescas sobrepasan los límites permisibles para el RTCA.

**Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para el cumplimiento del RTCA de *Escherichia coli* en “sardinas” saladas-secas.**

**Cuadro 15.** Diferencias entre el RTCA y los datos de las “sardina” salada- seca para *Escherichia coli*.

		<b>Rangos</b>		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
RTCAEcoli - Sardina Seca-salada (NMP/gr.)	Rangos negativos	12 <sup>a</sup>	6,50	78,00
	Rangos positivos	0 <sup>b</sup>	,00	,00
	Empates	3 <sup>c</sup>		
	Total	15		

a. RTCAEcoli < Sardina Seca-salada (NMP/gr.)

b. RTCAEcoli > Sardina Seca-salada (NMP/gr.)

c. RTCAEcoli = Sardina Seca-salada (NMP/gr.)

**Cuadro 16.** Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon entre “sardinas” saladas- secas y el RTCA.

<b>Estadísticos de contraste<sup>b</sup></b>	
	RTCAEcoli - Sardina Seca-salada (NMP/gr.)
Z	-3,072 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,002

a. Basado en los rangos positivos.

b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El cuadro 15 indica que fueron 12 la cantidad de muestras que sobrepasaron el límite por lo tanto las medias de “sardinas” saladas secas es mayor al RTCA, 3 fueron las muestras que se mantuvieron al límite establecido.

En el cuadro 16 utilizando la prueba de Wilcoxon resultó que el p valor es significativo (0.002) por lo tanto hay suficiente evidencia estadística para afirmar que las “sardinas” saladas secas sobrepasan los límites permisibles para el RTCA. Y rechaza la hipótesis nula diciendo con esto que si existe diferencia significativa entre las dos poblaciones.



**Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para el cumplimiento del RTCA de *Escherichia coli* comparando “sardinas” frescas con saladas-secas.**

**Cuadro 17.** Resumen de las diferencias entre las muestras “sardinas” frescas y saladas-secas.

		Rangos		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
Sardina Seca-salada (NMP/gr.) - Sardina Fresca (NMP/gr.)	Rangos negativos	2 <sup>a</sup>	2,00	4,00
	Rangos positivos	8 <sup>b</sup>	6,38	51,00
	Empates	5 <sup>c</sup>		
	Total	15		

a. Sardina Seca-salada (NMP/gr.) < Sardina Fresca (NMP/gr.)

b. Sardina Seca-salada (NMP/gr.) > Sardina Fresca (NMP/gr.)

c. Sardina Seca-salada (NMP/gr.) = Sardina Fresca (NMP/gr.)

**Cuadro 18.** Resumen de la prueba de contraste de Wilcoxon de la comparación entre “sardinas” frescas y saladas-secas para *Escherichia coli*.

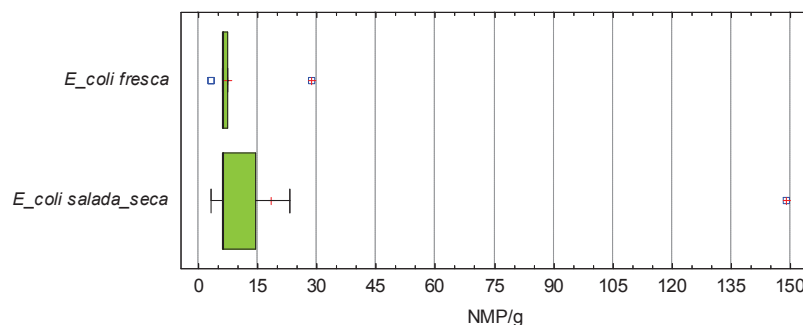
Estadísticos de contraste <sup>b</sup>	
	Sardina Seca-salada (NMP/gr.) - Sardina Fresca (NMP/gr.)
Z	-2,403 <sup>a</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,016

a. Basado en los rangos negativos.

b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El Cuadro 17 indica que fueron 2 la cantidad de muestras de “sardinas” saladas-secas que salieron con menor nivel de UFC/gr que las “sardinas” frescas y 8 la cantidad de “sardinas” saladas-secas que salieron con mayor nivel de UFC/gr. que las “sardinas” frescas.

En el Cuadro 18 utilizando la prueba de Wilcoxon resultó que el p valor es significativo (0.16) por lo tanto, no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que existe diferencia entre las “sardinas” frescas y las “sardinas” saladas-secas con respecto al análisis de *Escherichia coli*.



**Figura 14.** Grafica de comparación de medias de “sardina” fresca y salada-seca de *Escherichia coli*.

La argumentación anterior, se afirma al comparar las medias de los datos de *Escherichia coli* determinados para cada una de las dos condiciones durante los tres muestreos (abril-julio 2012), se reconfirma la tendencia general en la que los valores mínimos ocurrieron en “sardinas” frescas (Figura 14).

Para *Salmonella spp.* tanto de “sardinas” fresca y salada seca interesó probar la hipótesis que si cumple con el RTCA que pide la ausencia de estos microorganismos en los alimentos, es decir:

$$H_0: \mu_S = 0.5$$

$$H_1: \mu_S \neq 0.5 \quad (\text{Sea } S: \textit{Salmonella spp.})$$

$$\text{Donde: } \mu_S = \frac{\mu_{1S} + \mu_{2S} + \mu_{3S}}{n}$$

Siendo:

$\mu_S$ : Promedio de la suma de los 3 muestreos de sardinas saladas-secas para *Salmonella spp.*

$\mu_{1S}$ : Promedio de muestras saladas-secas para *Salmonella spp.*

$\mu_{2S}$ : Promedio de muestras saladas-secas para *Salmonella spp.*

$\mu_{3S}$ : Promedio de muestras saladas-secas para *Salmonella spp.*

n: número de muestreos

Y se realizó el mismo procedimiento para las muestras frescas en los análisis de *Salmonella spp.*

**Tabla 1.** Porcentaje de contaminación de bacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* en “sardinas” frescas y saladas- secas. En los muestreos de abril-julio 2012.

Bacterias patógenas	% de contaminación de “sardinas” fresca	% de contaminación de “sardinas” salada- seca
<i>Escherichia coli</i>	80%	80%
<i>Staphylococcus aureus</i>	40%	46%
<i>Salmonella spp</i>	100 %	100%

### CALIDAD SANITARIA DE LAS MUESTRAS

Considerando el valor máximo permisible para *Staphylococcus aureus* (equivalente  $\leq 100$  UFC /g) para consumo humano propuesto por RTCA (2009) se detectó que el 40 % que corresponde a las 6 muestras recolectadas de “sardinas” fresca, de un total de 15 muestras, sobrepasaron ese límite máximo. El 46% que corresponde a las 7 muestras de “sardinas” seca – salada de un total de 15 muestras superó el nivel antes mencionado (Tabla 1).

Los valores máximo permisibles para *Escherichia coli* (equivalentes a  $< 3$  NMP/g) para consumo humano propuesto por el RTCA (2009), se detecto que el 80% de las muestras recolectadas que corresponde a 12 muestras en “sardinas” frescas de un total de 15 muestras sobrepasaron el límite máximo. El 80% del total de las muestras de “sardinas” seca- salada que corresponden a 12 muestras sobrepaso los niveles antes mencionada (Tabla 1).

Al agrupar las 30 muestras de las dos condiciones en *Salmonella spp* se determinó que el 100% del total de muestras analizadas se encuentra arriba del límite permisible, reflejando un alto grado de contaminación fecal en el proceso artesanal de “sardinas” en Bahía de Jiquilisco. Ya que dicho reglamento propone la ausencia total de este microorganismo.

## **Charla de recomendaciones a los miembros de la Asociación Cooperativa de Producción Pesquera de Servicios Múltiples de Puerto El Triunfo de R.L. (ACOPPSEMPET)**

En la Estación Regional de CENDEPESCA el día jueves 18 de Octubre del 2012 se tuvo una reunión con los cooperativistas a las 10:00 am de ese día, para exponerles los resultados obtenidos del proceso artesanal de “sardinas” frescas y salada-seca (Anexo 25).

Por las observaciones desde los meses de Abril a Julio que se dieron durante el proceso de salado y secado al sol, se les expuso que tomaran en cuenta que en uno de los viajes durante este periodo se colocaron las “sardinas” directamente a la lancha en salmuera y la manera de ubicar la pesca del día sobre el cedazo sin lavar, donde son pateadas, tanto por los pescadores, animales domésticos, que pasan por el lugar.

En dicha charla se les dio a conocer los puntos más importantes de los objetivos del estudio, los resultados obtenidos de las dos condiciones, se les explicó que debido a la incorrecta manipulación de las “sardinas” aumenta la contaminación fecal. Ya que se presentaron valores más altos en salada-seca y las respectivas recomendaciones para una mejor manipulación del producto desde el momento de la pesca hasta el proceso de salado y secado, el proceso de transporte, los recipientes y demás utensilios a utilizar, y aplicando algunos puntos de las Buenas Prácticas de Manufacturas.

Se dio a conocer el estado actual del proceso para mejorar la calidad del producto, se les explicaron los pasos realizados en el campo como en el laboratorio y los resultados para los respectivos análisis estadísticos.

Los pescadores expresaron sus opiniones acerca de la temática siendo consientes de la problemática en cierta parte ya que ellos aportaban al pleno que iban a tener un mejor cuidado de los cedazos y atribuían la contaminación fecal a la sal (Anexo 25). Ellos expresaban que debían de hacerse estudios a las salineras, como también aceptando que el paso de animales domésticos a dicha área de secado al sol, es un factor de contaminación, después de haber expuestos sus sugerencias y concientizarse de la problemática, acordaron tener un mejor cuidado en la manipulación del producto y se les expuso que se les proporcionara una copia del documento final para posteriores investigaciones.

## VIII. DISCUSIÓN

En general los alimentos son perecederos, y pueden estar expuestos a diversos peligros y consecuentemente perder inocuidad por múltiples agentes físicos, químicos o microbiológicos, los cuales potencialmente pueden provocar un daño en la salud del consumidor esto según Caballero (2008) y De la Fuente & Barboza (2010).

Y como lo menciona Medina (2008) a menudo la contaminación de los alimentos se debe a la incorrecta manipulación y para ello Caballero (2008), expone que se necesitan determinadas condiciones de tratamiento, conservación y buena manipulación de los alimentos.

Por tal razón Kopper *et al.* (2009) señala que cada vez es más importante conocer la historia de un alimento desde su origen y producción hasta el consumo, dar seguimiento a las rutas que ha transcurrido el alimento desde su origen, las posibles causas de contaminación durante las fases de manipulación, procesamiento, almacenamiento, transporte, distribución y la exposición de cada alimento hasta que llega finalmente al consumidor.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) son un problema que debe ser considerado en un ámbito de carácter social, tecnológico, económico, cultural y político más aun en los países en desarrollo según Kopper *et al.* (2009)

Loaharanu (2001) menciona que también en muchos países industrializados, existen brotes de enfermedades transmitidas por alimentos que indican que los alimentos crudos, incluidos la carne de ave, de res, los productos cárnicos, los alimentos marinos, las frutas y los vegetales, suelen estar contaminados con una o varias bacterias patógenas, como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria*, *Shigella*, *Vibrio*, y *E. coli* 0157:H7, y parásitos como los protozoos, nematodos, etc.

Al conocer de la existencia de estas enfermedades transmitidas por alimentos la población está interesada en consumir alimentos libres de patógenos, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado

y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades (De la Fuente & Barboza 2010)

Según Kopper *et. al* (2009) la salud y la vida de las personas dependen en gran parte de la calidad nutricional de los alimentos que consumen diariamente, la cual a su vez depende de la calidad higiénica y sanitaria a que estos son sometidos en toda la cadena productiva, desde el campo hasta la mesa del consumidor. Si bien la falta de higiene y de sanidad en el procesamiento y preparación de los alimentos es un problema que puede ocurrir en cualquier lugar del mundo, la incidencia de enfermedades causadas por los alimentos mal procesados o pobremente preparados es un problema crítico, severo y que se encuentra con más frecuencia en los países en vías de desarrollo.

Sola (1998) y Mecalco *et. al.* (2005) citan que un grupo importante de alimentos son los marinos en especial los pescados que proporcionan un gran valor nutricional a las personas y como lo dicen Morillo *et. al.* (2007) y Gallo (2004) estos alimentos son altamente perecederos por tener alto contenido acuoso y cualquier proceso que reduzca su contenido de humedad tendrá un efecto importante de conservación, existiendo diversos métodos de conservación como la congelación, ahumado, salado, etc. (Mecalco *et. al.* 2005)

Si al tratar a pescados y productos marinos por cualquier método como los de conservación por salado y secado no se manipulan y elaboran correctamente, el consumidor puede correr riesgos ingiriendo alimentos contaminados con microorganismos patógenos (FAO, 2009 y Morillo *et al.*, 2007)

Esta investigación pionera para El Salvador se realizó con el propósito de analizar las bacterias patógenas en las sardinas saladas-secas tomando como parámetros microbiológicos los establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano que sirve para el registro y vigilancia de alimentos en Centroamérica; estos parámetros son *Staphylococcus aureus* con un máximo de  $10^2$  UFC/gr., *Escherichia coli* con un límite  $<3$  NMP/gr. y *Salmonella spp.* requiriendo la ausencia de esta bacteria.

Los resultados de esta investigación para *Staphylococcus aureus* en “sardina” fresca estadísticamente según la prueba de Wilcoxon el P-valor es de 0.394 y como este valor es

alto comparado con el porcentaje de probabilidad del 5% se acepta la Hipótesis nula; estando dentro de los parámetros que establece el RTCA.

En este estudio *Staphylococcus aureus* esta dentro de los límites permitidos por el RTCA para “sardinias” frescas, al igual que mencionan Elotmani *et al.* (2003) que analizaron la microflora de “sardina” fresca en la Costa marroquí y reportaron que los niveles de la microflora analizados fueron significativamente inferiores al límite de  $10^6$ -  $10^7$  UFC/gr. recomendado por el ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Food) dentro de la microflora estudiada se encontró la presencia de *Staphylococcus spp.*, en este estudio anterior como también lo mencionan Morillo *et al.* (2007) la alteración por acción microbiana en los pescados depende de factores como la microflora inicial asociada al ambiente de procedencia, estación del año, arte de pesca, procesado inicial del pescado, condiciones de almacenaje, etc.

Al igual Corrales *et al.* (2011) realizaron una investigación en pescados frescos Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*) en el Municipio de Cundinamarca, Colombia comparando los valores obtenidos con la Resolución 776<sup>4</sup> de 2006 para productos de la pesca, en la cual se expone que el valor máximo permisible para un producto de buena calidad es de 10 UFC/25gr y para un producto de calidad aceptable es de 400 UFC/25gr, teniendo ambas especies de pescados <100 UFC/ 25gr para *Staphylococcus aureus*.

De acuerdo con los datos proporcionados por el estudio se puede concluir que los recuentos para Bagre aunque se encuentran dentro de la norma son bastante elevados en comparación con los que arrojó el análisis de la Mojarra Roja, esto posiblemente porque el pescado Bagre tiene un proceso de cortado antes de su venta y tiene mayor contacto con el manipulador, con superficies y utensilios contaminados exponiendo el alimento a un mayor riesgo de proliferación de *Staphylococcus spp.* situación que puede resultar similar en las “sardinias” frescas de la Bahía de Jiquilisco por la inadecuada manipulación.

Una técnica de conservación para los pescados es el proceso de salazón siendo el efecto fundamental que contribuye a disminuir la actividad del agua ( $a_w$ ) del pescado, pero si no se realiza un buen método de salado se originan productos en condiciones higiénicas inapropiadas que favorece el crecimiento de microorganismos según Morillo *et al.* (2007)

Los valores obtenidos para *Staphylococcus aureus* en “sardina” salada-seca según el estadístico de la prueba de Wilcoxon el P-valor es de 0.208 siendo este valor mayor al porcentaje de probabilidad del 5% indicando con esto que se acepta la hipótesis nula, demostrando con esto que *Staphylococcus aureus* esta dentro de los parámetros microbiológicos dados por el RTCA.

Las “sardinias” saladas-secas están dentro de la Norma que es aplicada en el país (RTCA) similar es la investigación realizada por Barboza *et al.* (1999) que analizaron seis especies diferentes de pescado salado que se consumen mayormente en la ciudad de Maracaibo en Venezuela, comparando los resultados con la Norma COVENIN<sup>5</sup> que establece un valor menor de  $1.0 \times 10^2$  y un valor máximo de  $1.0 \times 10^4$ , el recuento de *Staphylococcus aureus* se mantuvo dentro de los valores máximos permitidos por la Norma antes mencionada, oscilando los datos entre  $3.23 \log_{10}$  a  $3.73 \log_{10}$  a excepción de una de las especie que fueron analizadas (Bagre), que sobrepaso los valores permitidos con un valor de  $4.48 \log_{10}$ .

Otra investigación realizada en pescados salados-secos por el contrario a este estudio, Gutiérrez *et al.* (2003) menciona que se realizó la evaluación de productos de origen pesquero elaborados en forma artesanal en las comunidades Warao del delta del Orinoco, Venezuela; con tal objetivo se tomaron 14 muestras de productos salados-secos (pescado y huevas de pescado) en estas comunidades evaluando indicadores microbiológicos como *Staphylococcus aureus* existiendo la presencia de estos microorganismos en pescados secos-salados sobrepasando las Normas del COVENIN indicando que fueron manipulados, por lo menos, sin observar las buenas prácticas de manufactura durante el proceso, pudiendo existir otros factores como heridas, contacto con

---

<sup>5</sup> Comisión Venezolana de Normas Industriales



animales, suelo, agua u otros, que son considerados como vectores principales de contaminación por este microorganismo; mismos factores que pudieran estar contaminando las “sardinas” saladas-secas.

El crecimiento de *Staphylococcus aureus* en alimentos, representa un peligro potencial de salud pública, ya que dicha cepa produce una enterotoxina que produce envenenamiento si es ingerida (Barboza *et al.* 1999).

En cuanto a los resultados de *Escherichia coli* en sardina fresca estadísticamente según la prueba de Wilcoxon el P-valor es de 0.002 y como este valor es más bajo que el porcentaje de probabilidad del 5% se rechaza la Hipótesis nula, demostrando con esto que no cumple con los parámetros establecidos por el RTCA requiriendo un límite < 3 NMP/gr.

En contraste con los datos obtenidos en esta investigación y los arrojados por Corrales *et al.* (2011) en el estudio bacteriológico de la calidad del pescado fresco, comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia) comparando los resultados de *Escherichia coli* para las 2 especies de pescados analizados (Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*)) con la Resolución Colombiana 776 de 2006<sup>4</sup> el análisis bacteriológico permitió confirmar que los datos obtenidos estaban dentro de los límites permitidos por la Resolución antes mencionada.

Pero los autores hacen la aclaración que aunque las dos especies de pescados estaban dentro de la Resolución; el bagre presentó recuentos más altos que los de la Mojarra roja esto posiblemente porque el Bagre tiene una mayor manipulación como ya se mencionó anteriormente factores que podrían estar causando la contaminación de las sardinas frescas con *Escherichia coli*.

Los resultados obtenidos para *Escherichia coli* en “sardina” salada-seca según el estadístico de Wilcoxon el P-valor es de 0.002 siendo este valor menor al porcentaje de probabilidad del 5% indicando con esto que se rechaza la hipótesis nula, ya que para este análisis estadístico hay diferencias significativa entre el valor obtenido con el establecido

---

<sup>4</sup> y <sup>6</sup> Resolución 776 de 2006. Establecimiento del reglamento técnico sobre los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplir los productos de la pesca, en particular pescados, moluscos y crustáceos para consumo humano, Colombia. 2006.

por el RTCA teniendo como límites máximos  $< 3$  NMP/gr., indicando con esto que las muestras analizadas si sobrepasa los limites establecidos.

Confrontando los resultados de esta investigación con los obtenidos en los estudios realizados por Barboza *et al.* (1999) y Gutiérrez *et al.* (2003) en la evaluación microbiológica del pescado salado consumido en la Ciudad de Maracaibo, como en la evaluación de productos de origen pesquero elaborados en forma artesanal en las comunidades Warao del Delta del Orinoco, respectivamente, ambas investigaciones hechas en Venezuela, comparando los resultados obtenidos en cada uno de los estudios con la Norma del COVENIN, revelaron que los pescados salados están dentro de los limites permitidos por la Norma ( $<3$  NMP/gr.).

Sin embargo, los resultados de ambas investigaciones difieren con los resultados obtenidos en “sardinias” saladas-secas procesadas artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco con una media geométrica de 18.37 NMP/gr. ya que estos sobrepasan los límites permitidos por el RTCA ( $<3$  NMP/gr.).

Referente al análisis de *Salmonella spp.* en “sardina” fresca los datos para esta investigación dieron un 100% de la presencia de esta bacteria, al igual que lo mencionan Herrera & Santos (2005) que estudiaron la prevalencia de *Salmonella spp.* en pescado fresco comercializado en mercados como en la calle de Pamplona, Colombia encontrando una alta prevalencia de esta bacteria en muestras de pescado fresco para ambos lugares tanto formales como los que no lo son, indicando con esto que quizás el parámetro más importante a considerar sea el lugar de procedencia del pescado, como la contaminación del hábitat donde se encontraba el pescado al momento de la captura; estas investigaciones coinciden con los resultados obtenidos por Armas (1998) en pescados del Lago de Amatitlán, Guatemala y se producen estos datos por la contaminación fecal que existe en el lago .

Al contrario el estudio realizado por Corrales *et al.* (2011) que ya se menciona anteriormente, reportan que no se encontró *Salmonella spp.* en ambas especies de pescados como lo establece la normativa con la que se rigió el estudio; al igual que Morales (2007) revela con su investigación la ausencia de esta bacteria en pescados crudos por lo que

concluyo que la calidad de estos pescados que son comercializados en San Pedro Cholula se encuentran dentro de los requerimientos de las normas oficiales Mexicanas, y por lo tanto se pueden considerar como de buena calidad, esto se puede deber a que lo manipuladores de los productos tienen las mínimas normas de higiene.

En “sardina” salada-seca al igual que la fresca hubo presencia al 100% de *Salmonella spp.* pero no se encontraron investigaciones referentes a la temática específicamente de pescados salados-secos; por ser esta la primera investigación evaluando este tipo de producto procesado artesanalmente contaminado con *Salmonella spp.*, estos resultados se presumen reflejan la nula aplicación de normas higiénicas que tienen los manipuladores del producto.

Comparando las “sardinias” frescas con las saladas-secas de los resultados de las 3 bacterias patógenas analizadas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*) revelan que este producto está contaminado desde que la “sardina” es pescada hasta el salado-secado de la misma, aumentando la carga bacteriana a un 100% debido a la total presencia de *Salmonella spp.* y que los valores de *Escherichia coli* sobrepasaron los límites permisibles dados por el RTCA y esto indica que el producto tiene una alta contaminación fecal.

La contaminación de las “sardinias” pudo ser por los depósitos sin lavar para colocar la salmuera, la exposición de estas al polvo, moscas, animales domésticos y los mismos pescadores que caminan sobre las redes de pesca donde son secadas al sol, entre otras.

Esta contaminación fecal puede ocurrir a la falta de aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene que durante todo el proceso de salado y secado de las “sardinias” no se emplearon en ningún período del proceso. Como lo menciona Caballero (2008) las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son etapas y procedimientos generales que mantienen bajo control las condiciones operacionales dentro de un establecimiento y permiten condiciones favorables para la producción de alimentos inocuos, estas BPM deberían aplicarse en el proceso artesanal de salado y secado de “sardinias” en la Bahía de Jiquilisco.

## IX. CONCLUSIONES

Esta investigación es la primera que se realiza en el país analizando las bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*). presentes en el proceso artesanal de secado y salado de “sardinas”, por lo tanto se considera importante para nuevas investigaciones.

Los estadísticos de tendencia central reflejaron que las “sardinas” saladas-secas en los análisis para *E. coli* presentaron mayor contaminación fecal, considerando que los factores que influyeron principalmente en estos resultados, fueron la contaminación orgánica por el desagüe residuales de afluentes de zonas aledañas, por la acción antropogénica, actividades ganaderas, etc.

Por los resultados obtenidos se demuestra que las “sardinas” saladas-secas procesadas artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco no cumplen con las normas requeridas por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) ya que menciona como parámetros microbiológicos de pescados salados a *Staphylococcus aureus* (< 100 UFC/gr) , *Escherichia coli* (<3 NMP/gr.) y *Salmonella spp.* (ausencia) y los análisis realizados tanto a muestras de “sardina” fresca como de “sardina” salada-seca revelaron que hay una elevada carga bacteriana en las muestras obtenidas para ambas condiciones. Dando a conocer con esto que el proceso de salado y secado al final no tiene un efecto inhibitor de estas bacterias

La manipulación y el tratamiento artesanal que se aplicó durante la realización de este estudio en las “sardinas” salada-secas no se ven reflejada una disminución en la carga bacteriana.

Con base a los niveles de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* detectados en el proceso artesanal de la “sardinas” la cantidad de muestras superan el límite máximo permisible, afirmando que su calidad sanitaria no es apta para el consumo humano.

Se comprueba que se aceptan las hipótesis nulas ya que no se detectaron estadísticamente diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los valores *Staphylococcus aureus*, con la excepción de las comparaciones “Sardinas” frescas y “sardinas” saladas, *Escherichia coli* de donde sí se detectaron dichas diferencias, rechazando las hipótesis nulas; indicando mayores niveles de contaminación en el proceso. Y para *salmonella spp.* indicando la presencia total de esta bacteria en los dos tratamientos.

## X. RECOMENDACIONES

Desarrollar más estudios sobre niveles de contaminación en estas bacterias en diferentes mercados y en otros puntos de las zonas costeras del país, ya que este tipo de alimentos de “sardinas” saladas-secas son consumidos por muchas personas dentro del territorio salvadoreño.

De igual forma instituciones como el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales, CENDEPESCA, Ministerio de Salud debe de crear estudios y actividades para la inocuidad de los alimentos, y promover las Buenas Prácticas de Manufacturas (BPM).

Lavar con agua potable los cedazos, los depósitos donde se salan las “sardinas”, las cestas con que se pesan y cualquier otro instrumento que tenga contacto con ellas.

Se les recomienda al sector sardinero de la cooperativa ACOPPSEMPET llevar 2 o 3 depósitos para colocar las “sardinas” pescadas y no colocarla directamente en la lancha.

Cuando las “sardinas” se están secando en los cedazos, se tiene que levantar unos centímetros del suelo, para que no tenga contacto directo con el suelo, zapatos de pescadores, ni animales domésticos que pasen por encima de las sardinas que se están secando.

Para consumir las “sardinas” requiere de una buena cocción para bajar la carga de bacterias patógenas (OMS, 2007).

Se recomienda que para próximas investigaciones se realicen estudios tanto por el método tradicional y por el uso de placas 3M Petrifilm™ para este tipo de alimentos.

## XI. BIBLIOGRAFIA

ADW Animal Diversity Web, 2008, Junta de Regentes de la Universidad de Michigan y de Licencia (en línea) Estados Unidos. Consultado 18/08/2010. Disponible en:  
<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/classification/Clupeiformes.html#Clupeiformes>

Alonso L. X. & Poveda J.A., 2008, Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas Petrifilm™ 3M™ para el análisis de alimentos. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia, 213 pp.

Armas Z. J., 1998, Cuantificación de Coliformes y determinación de *Salmonella spp.* en pescados del Lago de Amatitlán, Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, Guatemala. 58 pp.

Barboza de Martínez Y., Izquierdo P., González E., Torres G., Márquez E.; 1999, Evaluación Microbiológica y Características Químicas del Pescado Salado Consumido en la Ciudad de Maracaibo, Venezuela; Unidad de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia; Revista Científica, FCV- LUZ/ Vol. IX, N° 2, 134-137.

Benintende, S; Sanchez C; F Sterren M; 2011, Ecología Microbiana. Universidad Nacional entre Rios, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Argentina.

Blacio G., 2009, Métodos de Pesca, Taller Náutico 2009, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL); Ecuador.

Caballero T.A., 2008. Temas de Higiene de los Alimentos. Cap. 3, Principales Bacterias Patógenas en Alimentos. Editorial Ciencias Médicas, Cuba. 382 pp.

Calderón, G. 2009. Estudio de caso. Enfermedades transmitidas por alimentos con El Salvador, FAO. El Salvador

Castelo, EB. 2004. Guía para la Elaboración de Manuales de Procedimientos (en línea). Sonora, México. Consultado 11/03/2011. Disponible en:

<http://www.cgeson.gob.mx/downloads/GU%C3%8DA%20M.%20PROCED.%202004%20.pdf>

Cochrone Kevern L., 2005, Guía del Administrador Pesquero, Medidas de Ordenación y su Aplicación, FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) Documento Técnico de Pesca 424, Roma.

Corrales R. L., Alvarado O.A., Castillo F.L. & Camacho B. Y., 2011, Estudio Bacteriológico de la calidad del pescado fresco, Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*) comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia), NOVA, Publicación científica en Ciencias Biomédicas, vol.9 N° 15.

De la Fuente S. N. & Barboza C. J., 2010, Inocuidad y Bioconservación de Alimentos, Ciencias de la Salud, Acta Universitaria, Universidad de Guanajuato, México, Vol.20 N° 1 43-52 pp.

Delgado Bottini A., Valls Puig J., & Tomé Boschian E., 2000; Evaluación de Aminas Biógenas, Microbiológica y Sensorial de Sardina (*Sardinella aurita*) Durante su Almacenamiento en Hielo, Revista Científica FCV-LUZ/ vol. X, N° 6, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad de Venezuela, Venezuela, 494-502 pp.

Elotmani F., Assobhei O., RevolJurelles A.M., & Milliére J.B.; 2003; Microflora de la Sardina (*Sardina pilchardus*) Fresca y Refrigerada de la Costa Atlántica Marroquí. Ciencias Marinas, Diciembre, año/vol. 30, número 004, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México, 627-635 pp.



Fall C., Delgado D.C, Quentin E., Jiménez M.C. & Hoyos S.E, 2003. Agua Potable para Comunidades Rurales, Reuso y Tratamientos Avanzados de Aguas Residuales Domésticos, Indicadores de Contaminación Fecal en Aguas, Cap. 20; (en línea) Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua (RIPDA-CYTED) y Centro Interamericano de Recursos del Agua, Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de México (CIRA-UAEM), México. Consultado 11/03/2011. Disponible en:  
<http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsair/e/repindex/rep184/vleh/fulltext/acrobat/agua.pdf>

FAO FOCUS, 1999. La Pesca y la Seguridad Alimentaria (en línea). Consultado el 03/12/2010. Disponible en <http://www.fao.org/FOCUS/S/fisheries/nutr.htm>

FAO, 2003. Tecnología de la Captura de Peces. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO (en línea). Roma. Consultado el 15/11/2010. Disponible en <http://www.fao.org/fishery/topic/3384/es>

FDA U.S. Food and Drug Administration, 2009. *Staphylococcus aureus*. Bad Bug Book; Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook; (en línea). Consultado 11/03/2011.

Disponible en:  
<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm070015.htm>

FDA. US, Food and Drug Administration. 2001. Factors that Influence Microbial Growth (en línea). Disponible en:

<http://www.fda.gov/food/scienceresearch/researchareas/safepacticesforfoodprocesses/ucm094145.htm>

Félix M. M., Ramírez E. E., & Yeannes M.I., 2006, Bacterias Halófilas Extremas Deteriorantes en Anchoita Salada; Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos Vol. 24. Argentina.

Flores A.J., Suárez H.J., Navarrete M.R., Puc M.A., & Monsreal J.F., 1996; Calidad Microbiológica de los Alimentos Marinos en la Ciudad de Mérida, Yucatán, Vet. México, vol. 27 N° 4, 319-324 pp.

Gallo M., 2004, Procesamiento de productos pesqueros salados en el Perú, Instituto Tecnológico Pesquero del Perú, Seminario Virtual de las Ciencias del Mar, OANNES <http://www.oannes.org.pe/seminario/pagalloprocesamientoproductossalados.html>

Gamboa, S.G. 2010. Deterioro microbiano, Facultad de Farmacia, Universidad central de Venezuela, Venezuela.

González D. C. A. & Sánchez R. M.E., 2008. Manual de Microbiología de Alimentos, Curso superior de Microbiología de Alimentos, Inocuidad y Gestión de Calidad CENSALUD-UES. Universidad de El Salvador. El Salvador, 86 pp.

Guevara C.L. G., Plata A. C. & Medina G.G.2002. La Pesca Artesanal de Pelágicos Mayores en la Costa Chica de Oaxaca. Mem. I Foro Científico de Pesca Ribereña. Universidad de Mar. Instituto de Recursos. Puerto Ángel. Oaxaca. 3 pp.

Gutiérrez C., González D., Marín M., Salazar A., Villarroel Y., & Figueroa N., 2003, Evaluación de Productos de Origen Pesquero Elaborados en Forma Artesanal en las Comunidades Warao del Delta del Orinoco, Venezuela, Fundación La Salle de C. N., Estación de Investigaciones Marinas de Margarita. Porlamar. Isla de Margarita. Venezuela.

Graü C., Elguezabal L., Vallenilla O., & Zerpa A., 2003, Evaluación de la Flora Microbiana Halófila Contaminante del Pescado Seco-Salado Elaborado en el Estado de Sucre, Universidad de Oriente, Postgrado de biología Aplicada, Instituto Universitario de Tecnología de Cumaná, Instituto de Investigaciones Agrícolas, Estado de Sucre, Venezuela. Revista Científica FCV-LUZ/ vol. XII, N° 4 319-325 pp.

Herrera A. F. & Santos B. J., 2005, Prevalencia de Salmonella spp. en pescado fresco expendido en Pamplona (Norte de Santander) Bistua, Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, Julio, año/vol. 3 N° 002, Universidad de Pamplona, Colombia.

Jiménez, I. & L. Sánchez-Mármol, 2004. Complejo Bahía de Jiquilisco. Propuesta de Sitio Ramsar. MARN/AECI. San Salvador. El Salvador C.A.

Jimeno, A. 2004. Los alimentos y la salud, España con línea. Consultado el 01/12/11. Disponible:

<http://www.ikerlarre.e.telefonica.net/paginas/microbiologia.htm>

Kopper G., Calderón G., Schneider S., Dominguez W. & Gutiérrez G., 2009, Enfermedades Transmitidas por Alimentos y su Impacto Socioeconómica, FAO, Informe Técnico sobre Ingeniería Agrícola y Alimentaria, Roma, Italia.

Kopper, G. 2009, Estudio de caso, Enfermedades transmitidas para alimentos en Costa Rica, FAO. Costa Rica.

Laínez V. Ileana, 30 de Octubre de 2009. Pesca Artesanal Deprimida. El Diario de Hoy, El Salvador. (En línea). Noticias OSPESCA. Consultado 07/09/2010. Disponible en <http://www.sica.int/busqueda/Noticias.aspx?IDItem=42697&IDCat=3&IdEnt=47&Idm=1&IdmStyle=1>

Llamas O. José Ma., 2004; Prontuario de Pescados y Mariscos ANTAD, Asociación Nacional de tiendas de autoservicio y Departamentales, A.C., México, 126 pp.

Larre. I; 2009. Microbiología Alimentaria, San Sebastian, España, consultado 07/04/2011. Disponible en:

<http://www.fda.gov/food/scienceresearch/researchareas/safepacticesforfoodprocesses/ucm094145.htm>

Leyva, V. Martino, I; Puig, Y; Carrera, J & Cabrera, M. 2010. ¿Qué factores influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos en los alimentos, Instituto de Nutrición e higiene de los alimentos, Cuba

Loaharanu P., 2001, Creciente demanda de alimentos inocuos. La Tecnología de las radiaciones constituye una respuesta oportuna, Boletín del OIEA, 43/2. 37-42 pp.

Maddison A., Machell K., Adams L.; 1999, Libro de Consulta sobre Tecnologías Aplicadas al Ciclo Alimentario, Procesamiento del Pescado; Intermediate Technology Development Group, United Nations Development Fund for Women, Lima ITDG, Perú 84 pp.

Manuel G.V.S, 2007. Microorganismos: Interés y Métodos de Estudio, (en línea) Recursos de Biología y Geología. Consultado el 30/07/2010. Disponible en:  
[http://www.bioygeo.info/pdf/19\\_Microorganismos\\_interes\\_y\\_estudio.pdf](http://www.bioygeo.info/pdf/19_Microorganismos_interes_y_estudio.pdf)

Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN), 2004: Plan de Manejo del Área Natural y Humedal Bahía de Jiquilisco. San Salvador, El Salvador.

MARN/MOP, 2003: Plan Nacional de Ordenamiento Territorial: Sistema Biofísico-Paisaje.

Mecalco, S; Pantoja, D; Natividad, B; & Albuero, J; 2005. Alimentos marinos. Tipificación y proceso de almacenamiento. Revista Digital Universitaria. Volumen 6, N°9. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto politécnico Nacional, México

Medina Paz A.S., 2008, Evaluación Higiénico Sanitaria de las Plantas Transformadoras de Productos Hidrobiológicos del Puerto de San José y Generación de un Sistema de Gestión de la Calidad para Asegurar Niveles Adecuados de Inocuidad. Proyecto FODECYT. N°96-2006, Guatemala, 98 pp.

Morales Artiguez, G. M. 2007. Determinación de la Calidad Microbiológica del Pescado Crudo y Cocido que se Vende en San Pedro Cholula. (en línea) Tesis Licenciatura. Ciencias Farmacéuticas. Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Consultado el 29/07/2010. Disponible en: [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lcf/morales\\_a\\_gm/capitulo\\_8.html](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lcf/morales_a_gm/capitulo_8.html)

Morillo, N. Belandria, J. F. Berrio, N. 2007, Microbiota del pescado fresco salado y enlatado, Elaboracion de productos Agrícolas, Instituto Nacional de investigaciones Agrícolas. Venezuela.

Mossol, D.A., Morono, B. & Trujik C.B.; 2003. Microbiología de los Alimentos, 2º edición, Editorial Acribia, España, 239- 287 pp.

OMS (Organización Mundial de la Salud), 2007. Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos, Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria de la OMS, Suiza, 27 pp.

3M Petrifilm, Sistema de Recuento Staph Express, 2002, Instrucciones de uso y Guía de Interpretación; Departamento de Microbiología 3M España.

3M Petrifilm, Placas para recuento de *E. coli* y Coliformes, 2002, Instrucciones de uso y Guía de Interpretación; Departamento de Microbiología 3M España.

Quijano, O.E, 2004. Crecimiento microbiano, Escuela de Biotecnología y laboratorio clínico, Universidad de Antioquia. Colombia.

Riedl R.; 1996. Ciencia y Biología, (en Línea). Consultado el 6/09/2010. Disponible en: <http://www.cienciaybiologia.com/zoologia/orden-cupleiformes.htm>

Reglamento Técnico Centroamericano, 2009 RTCA 67.04.50:08; Alimentos, Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos; ICS 67.050, ratificado por Consejo de Ministros de Integración Económica Centroamericana (COMIECO)

Rugama A.F. & Castillo Y. 2010. Un Enfoque Práctico Para la Inocuidad Alimentaria; Curso Microbiología de los Alimentos, (en línea). Universidad Nacional de Ingeniería UNI Norte, Nicaragua. Consultado 11/03/2011. Disponible en:

<http://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>

Samson R. A.; Hoekstra E.S.; Frisvad J. C. & Filtenborg O.1995. Introduction to Food Borne. Cuarta Edición; Central bureauvoor Schimmel cultures, Instituto de la Real Academia de las Artes y la Ciencia de los Países Bajos, Baarn; 322 pp.

Serrano, N. Y; 2011. Crecimiento microbiano. Recinto de Bayamón, Departamento Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Interamericana de Puerto Rico, Consultado el 08/12/11. Disponible:

<http://facultad.bayamon.inter.edu/yserrano/Crecimiento%20Microbiano.htm>

Silva G, S. & Pequeño R, G.; 2007. Los Peces Clupeiformes del Litoral Valdiviano (Chile): Clave de Reconocimiento y Comentarios (Pisces: Osteichithyes). *Rev. biol.mar. oceanogr.*, vol.42, n.3, pp. 357-363.

Shirai, K; 2010, Microbiología de pescados y mariscos. Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Mexico.

Sola Izcue E., 1998; Normativa Sanitaria y Técnica a Cumplir en la Elaboración de Conserva de Pescado, Laboratorio de Sanidad Animal, Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca del Gobierno de Cantabria.

Solanes; R.E; 2010. Procesos térmicos de conservación de alimentos. Departamento de tecnología de alimentos, Universidad politécnica. España.

Soto, L; 2010. Factores Intrínsecos, Extrínsecos y tratamientos tecnológicos que influyen en el crecimiento de organismo, México. Consultado el 01/12/11. Disponible en:

<http://www.mitecnologico.com/iaa/Main/FactoresIntrinsecosExtrinsecosYTratamientosTecnologicosQueInfluyenEnElCrecimientoDeMicroorganismos>

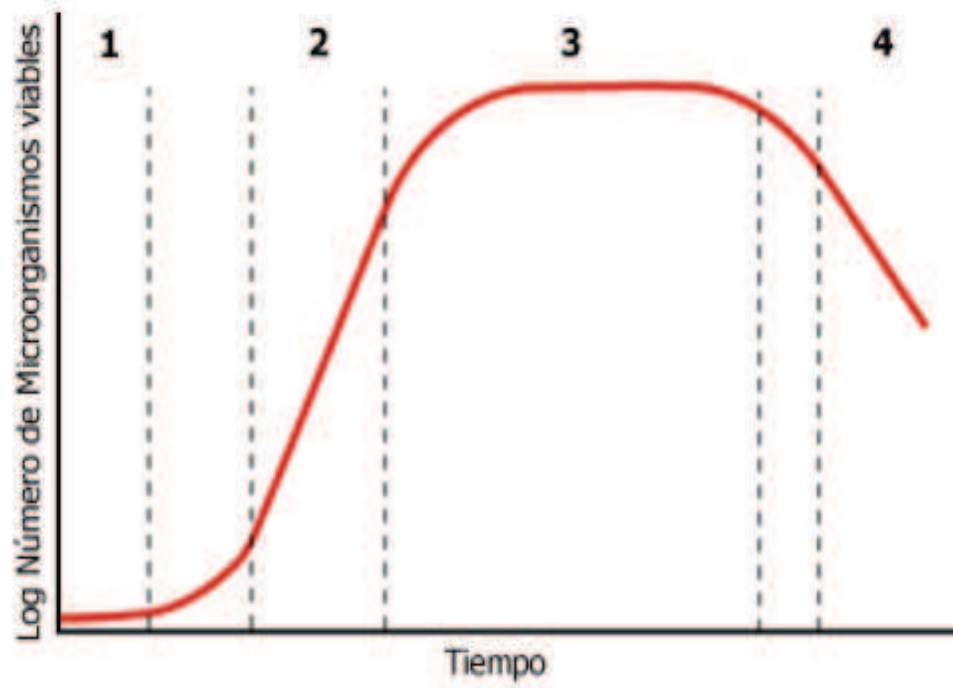
Tarragó S.N. & Acosta R.H., 1997. *Escherichia coli* O157: H7 Aspectos Generales, Reporte Técnico de Vigilancia, Vol. 2 N° 9, Unidad de Análisis y Tendencias en Salud. Ministerio de Salud Pública. Cuba. 5 pp.

Tay Leiva C.A. & Castellanos Ruíz J.L., 1998; Diagnóstico de la Pesca Artesanal en la Costa Monterrico, Taxisco, Santa Rosa, Universidad de San Carlos de Guatemala, Centro de Estudios del Mar y Acuicultura. 57 pp.

Villar Mogollón V.M.; 2006, Composición Nutricional, Características Microbiológicas y Aspectos Antropológicos del Consumo del “Patín de Pescadito” (*Poecilopsis gracilis*). Tesis para optar a título de Nutricionista, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala; Guatemala, 59 pp.

## XII. ANEXOS

Anexo 1. Curva típica de Crecimiento de una población bacteriana (Quijano 2004).





## **Anexo 2. Resolución de RTCA (2009)**

**ANEXO DE RESOLUCIÓN N° 243-2009**

### **REGLAMENTO TÉCNICO**

**RTCA 67.04.50:08**

### **CENTROAMERICANO**

### **ALIMENTOS. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA INOCUIDAD DE ALIMENTOS.**

**CORRESPONDENCIA:** Este Reglamento técnico es una adaptación parcial de la Norma Sanitaria sobre criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Ministerio de Salud Perú; Criterios Microbiológicos para alimentos en países de América Latina que utilizan plan de muestreo; Reglamento Sanitario de los Alimentos. Decreto supremo N 977/1996. Ministerio de Salud. Chile; Normas microbiológicas por alimentos de España. Grupos de Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología.

**ICS 67.050**

**RTCA 67.04.50:08**

### **Reglamento Técnico Centroamericano, editado por:**

- **Ministerio de Economía, MINECO**
- **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT**
- **Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC**

## **8. PLAN DE MUESTREO Y CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA VIGILANCIA DE ALIMENTOS**

8.1 Todo alimento que se comercialice en el territorio centroamericano deberá cumplir con los criterios microbiológicos establecidos en el presente reglamento.

8.2 Si en un alimento se detecta la presencia de un microorganismo patógeno no contemplado en la lista indicada a continuación, la autoridad sanitaria podrá considerarlo alimento contaminado, conforme a la evaluación de los riesgos que de su presencia se deriven

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA VIGILANCIA

**9.0 Grupo de Alimento: Pescado, derivados y productos marinos.** Esta amplia categoría se subdivide en categorías para el pescado fresco y para diversos productos marinos elaborados. Se incluyen en ella los vertebrados acuáticos y mamíferos acuáticos (p. ej., ballenas), los invertebrados acuáticos (p. ej., medusas), los moluscos (p. ej., almejas y caracoles), los crustáceos (p. ej., camarones cangrejos, langostas). Los productos marinos se pueden recubrir, p. ej. con glaseados o especias, antes de su comercialización para el consumo (p. ej., filetes de pescado congelados y glaseados). En el SCA esto se indica con una anotación relativa al "uso como glaseado o recubrimiento (tratamiento de superficie)"

**9.1 Subgrupo del alimento: Pescado y productos marinos frescos, congelados, incluidos moluscos no bivalvos, crustáceos y equinodermos, desconchados, frescos, empacados**

Parámetro	Plan de muestreo			Límite	
	Tipo de riesgo	clase	n c	M	M
<i>Escherichia coli</i>	A	3	3	10 <sup>1</sup> UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i> (Solo para		3	1	10 UFC/g	10 <sup>3</sup> UFC/g

pescados)					
<i>Salmonella ssp/25 g</i>	A	2	0	Ausencia	---
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i> (solo para producto crudo listo para consumo, ejemplo sushi y ceviche)		2	0	Ausencia	---
<i>Vibrio cholerae O1</i>		2	0	Ausencia	-----
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (solo para bivalvos)		3	2	10 UFC/g	10 <sup>3</sup> UFC/g

**9.2 Subgrupo del alimento: Pescado y crustáceos, precocidos, cocidos, salados y ahumados.**

Parámetro	Plan de muestreo			Límite		
	Tipo de riesgo	clase	n c	M	M	
<i>Escherichia coli</i>	A	2	0	< 3 NMP/g	----	
<i>Staphylococcus aureus</i>		3	2	10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	
<i>Salmonella ssp/25 g</i>		2	5	0	Ausencia	---
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i> (productos cocidos)		2	0	0	Ausencia	---

**9.3 Subgrupo del alimento: Moluscos bivalvos y crustáceos pasteurizados o cocidos**

Parámetro	Plan de muestreo			Límite		
	Tipo de riesgo	clase	n c	M	M	
<i>Escherichia coli</i>	A	2	0	< 3 NMP/g	-----	
<i>Salmonella ssp/25 g</i>		2	0	Ausencia	---	
<i>Staphylococcus aureus</i>		3	5	1	10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i>		2	0	0	Ausencia	---

**9.5 Subgrupo del alimento: Pescados, moluscos, equinodermos y crustáceos enlatados.**

Parámetro	Plan de muestreo			Límite	
	Tipo de riesgo	clase	n c	M	M
Recuento de aerobios mesófilo. Previo incubación a 35 °C/10 días.	A	2	0	< 10 UFC/g	-----
Recuento de anaerobio mesófilo. Previo incubación a 35 °C/10 días.		2	0	< 10 UFC/g	-----

### Anexo 3. Enfermedades causadas por microorganismos detectados en alimentos (Calderón 2009).

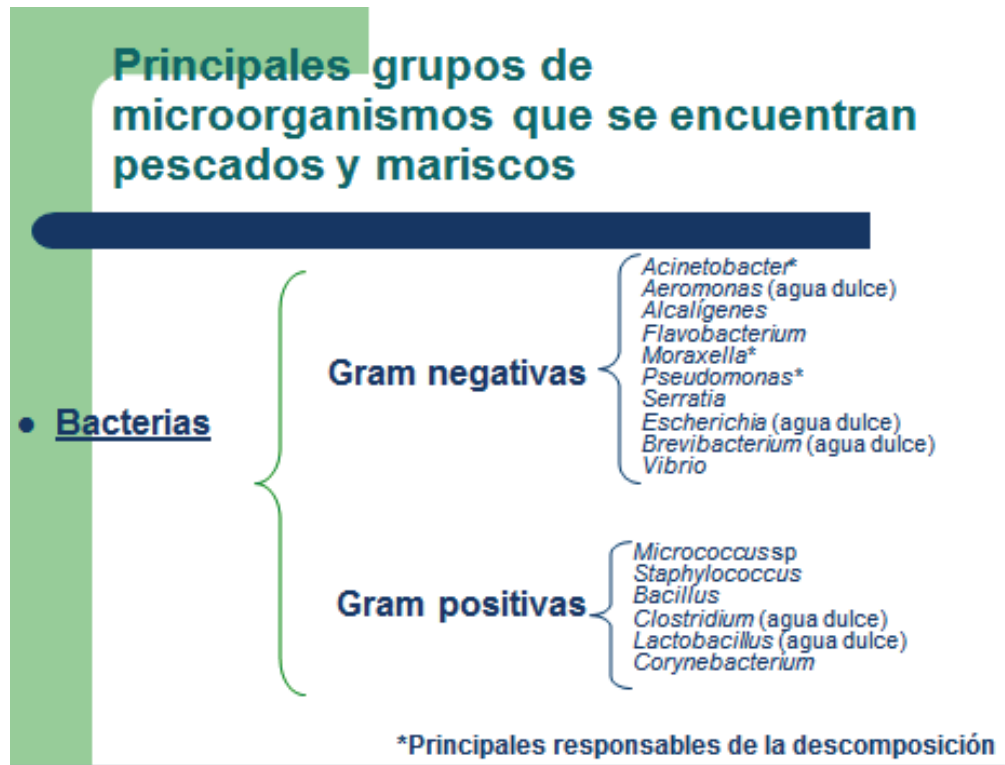
Enfermedades causadas por microorganismos detectados en alimentos				
Enfermedad (agente causante)	Periodo de incubación	Síntomas principales	Tipo de alimento	Otras formas de transmisión
Cólera, infección por <i>Vibrio cholerae</i>	14-20 horas	Dolor abdominal, diarrea acuosa, vómitos, deshidratación.	Agua, salchichas, jamón, mariscos crudos, pescado, verduras encurtidas.	Materia fecal en fuentes de agua y entorno marino, contacto con personas contaminadas.
Rotavirus	Incubación: 48 horas Síntomas: 4-8 días	Fiebre, inflamación en ganglios, anorexia, vómitos, diarrea.	Agua contaminada, ensalada de hortalizas crudas.	Transmisión persona a persona, mala disposición de excretas, agua contaminada.
Intoxicación bacteriana ( <i>Clostridium perfringens</i> )	8-22 horas	Diarrea, cólicos, rara vez náuseas y vómitos.	Carne de ave y res insuficientemente cocida, hervida al vapor, embutidos.	Del ambiente (suelo), contacto con personas contaminadas.
Infección enterohemorrágica ( <i>Escherichia coli</i> )	12-60 horas (2-9 días)	Diarrea líquida sanguinolenta.	Carne de res cruda o mal cocida, leche o productos lácteos.	Ganado infectado, falta de pasteurización.
Infección enteroinvasora ( <i>Escherichia coli</i> )	Mínimo 18 horas	Cólicos, diarrea, fiebre.	Alimentos crudos.	Materias fecales, directamente o a través del agua.
Infección enterotoxigénica ( <i>Escherichia coli</i> )	10-72 horas (3-5 días)	Diarrea líquida profusa, a veces cólicos, vómitos.	Alimentos crudos.	Materias fecales a través del agua.
Infección alimentaria ( <i>Listeria monocytogenes</i> )	3-70 días	Meningoencefalitis, septicemia o meningitis en neonatos.	Leche, queso, hortalizas crudas, pollo crudo, embutidos, carnes rojas, productos marinos.	Del ambiente (suelo), animales infectados directamente, estiércol.
Infección alimentaria, salmonelosis ( <i>Salmonella</i> spp.)	7-21 días o 3-38 días	Diarrea, dolores abdominales, escalofríos, fiebre, vómitos, deshidratación.	Huevos crudos o mal cocidos, leche en polvo, carne y pollo crudos o mal cocidos, hortalizas crudas, mariscos, moluscos, pescado ahumado.	Alimentos infectados de origen animal, agua contaminada, roedores e insectos en contacto con un portador.
<i>Salmonella typhi</i> (fiebre tifoidea) <i>S. paratyphi</i> <i>A</i> (paratifoidea A)	1-10 días			
Infección alimentaria (enterotoxina de <i>Staphylococcus aureus</i> ) estable al calor	2-6 horas o 1-11 horas	Náuseas, vómitos, diarrea y cólicos.	Embutidos, carnes, pastelería rellena de crema, mantequilla, flan, productos lácteos, budines, mayonesa, ensalada de papas.	Operarios con resfrios, dolor de garganta, cortaduras infectadas, rebanadoras de carne.
Infección alimentaria ( <i>Shigella</i> spp.), disentería bacilar	2-3 días o 12 horas – 7 días	Diarrea, heces sanguinolentas, fiebre, náuseas, a veces vómitos y cólicos.	Alimentos húmedos preparados, leche y productos lácteos contaminados con excretas.	Agua contaminada con excretas, contacto con portadores.
Infección alimentaria ( <i>Campylobacter jejuni</i> )	1-11 días	Dolor abdominal, enteritis, diarrea, vértigo, cistitis, artritis.	Carne picada, carne cruda de aves (en canales), leche sin pasteurizar.	Tracto digestivo de animales, agua contaminada, materia fecal.

Anexo 4. Composición química de algunos pescados (Shirai 2010).

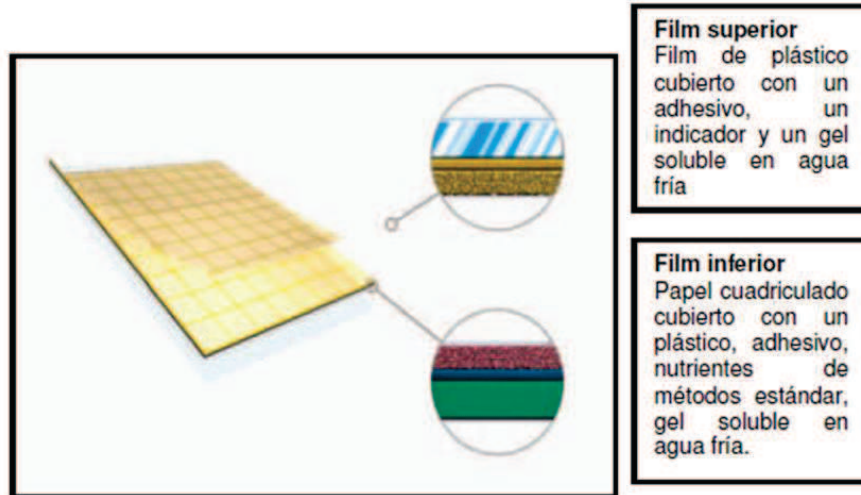
COMPOSICIÓN QUÍMICA PORCENTUAL APROXIMADA DE ALGUNOS PESCADOS					
	Agua	Carbohidratos	Proteínas	Grasa	Cenizas
<b>Peces óseos</b>					
P. azul	74.6	0	20.5	4.0	1.2
Bacalao	82.6	0	16.5	0.4	1.2
Arenque	67.2	0	18.3	12.5	2.7
Salmón	63.4	0	17.4	16.5	1.0
P. espada	75.8	0	19.2	4.0	1.3

**Aw alta > 0.99, son considerados alimentos básicos >pH 7.0**

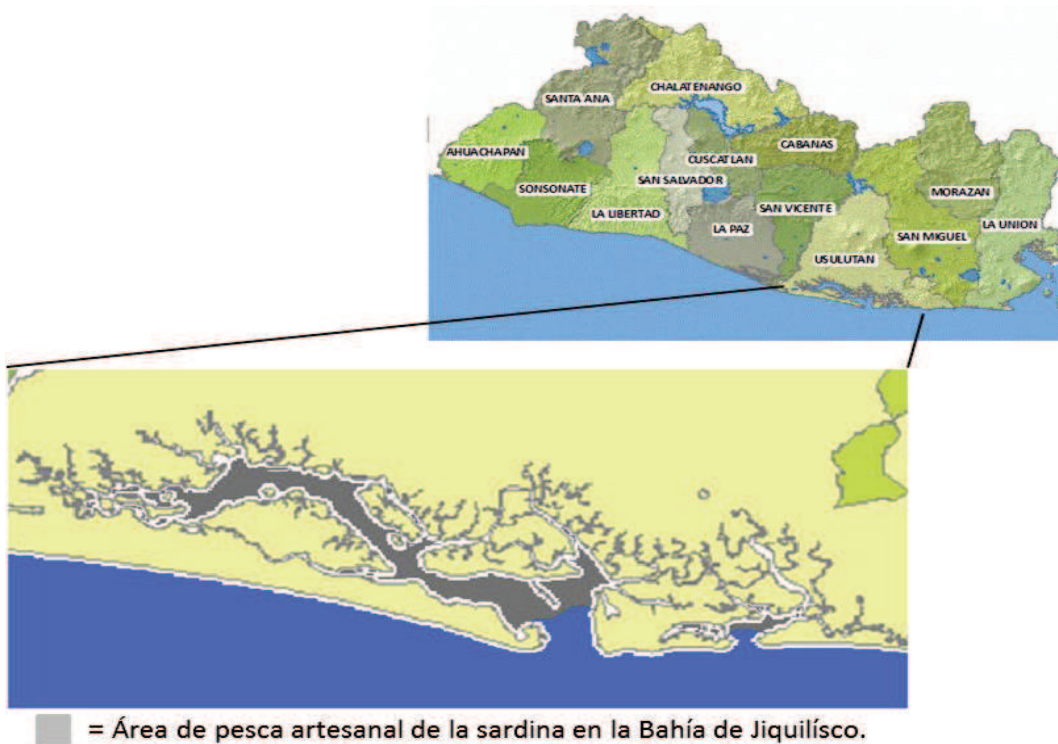
Anexo 5. Algunos microorganismos que se encuentran en los pescados (Shirai 2010).



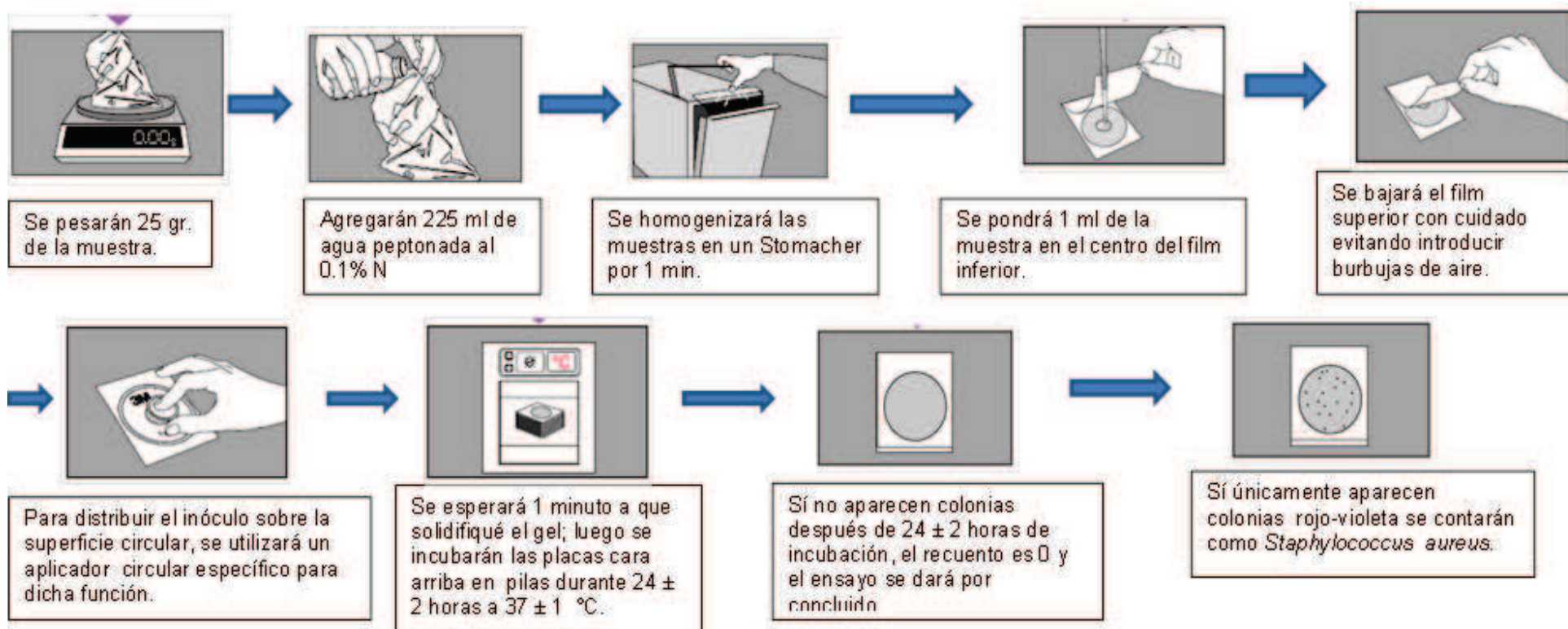
**Anexo 6. Imagen del diseño de las Placas Petriform (Alonso & Poveda 2008).**



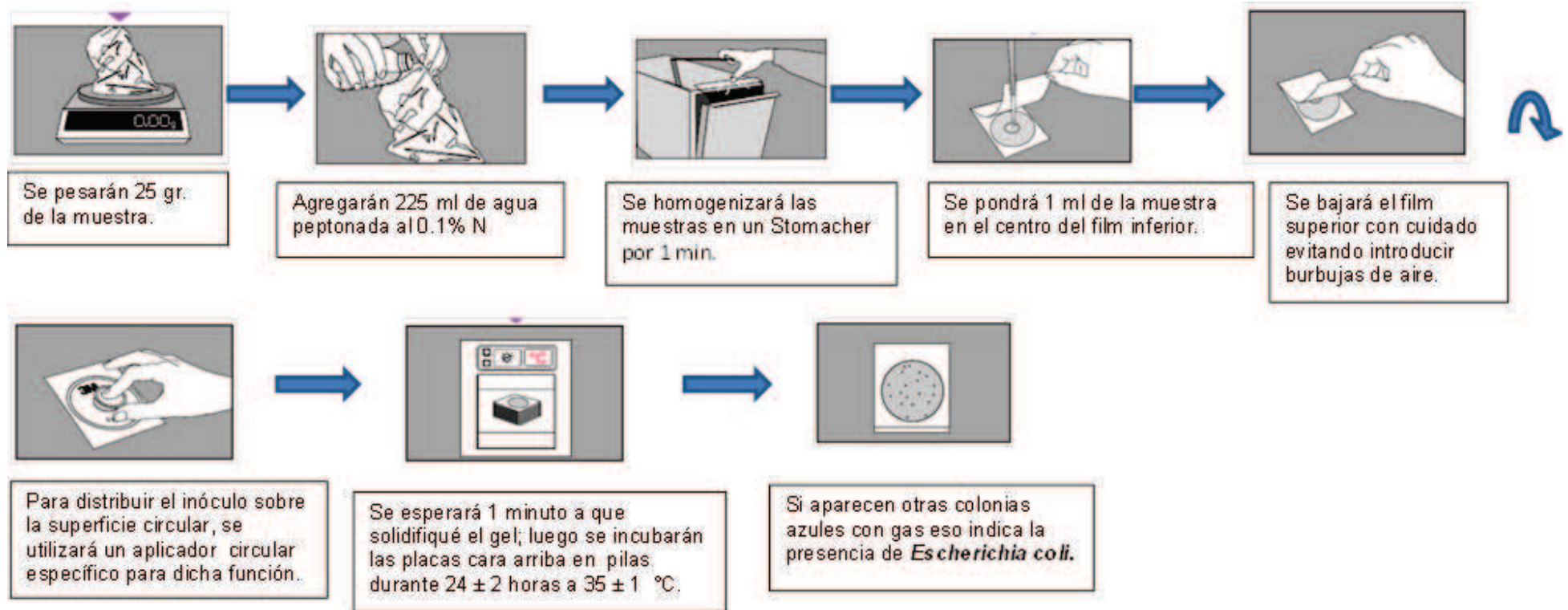
**Anexo 7. Señalamiento del área de pesca de la “sardina” en la Bahía de Jiquilisco.**



Anexo 8. Marcha Analítica para Detección de *Staphylococcus aureus* en muestra de “sardinas” frescas y saladas-secas.



Anexo 9. Marcha Analítica para Detección de *Escherichia coli* en muestra de “sardinias” frescas y saladas-secas.



Anexo 10. Tabla de conversión UFC a NMP

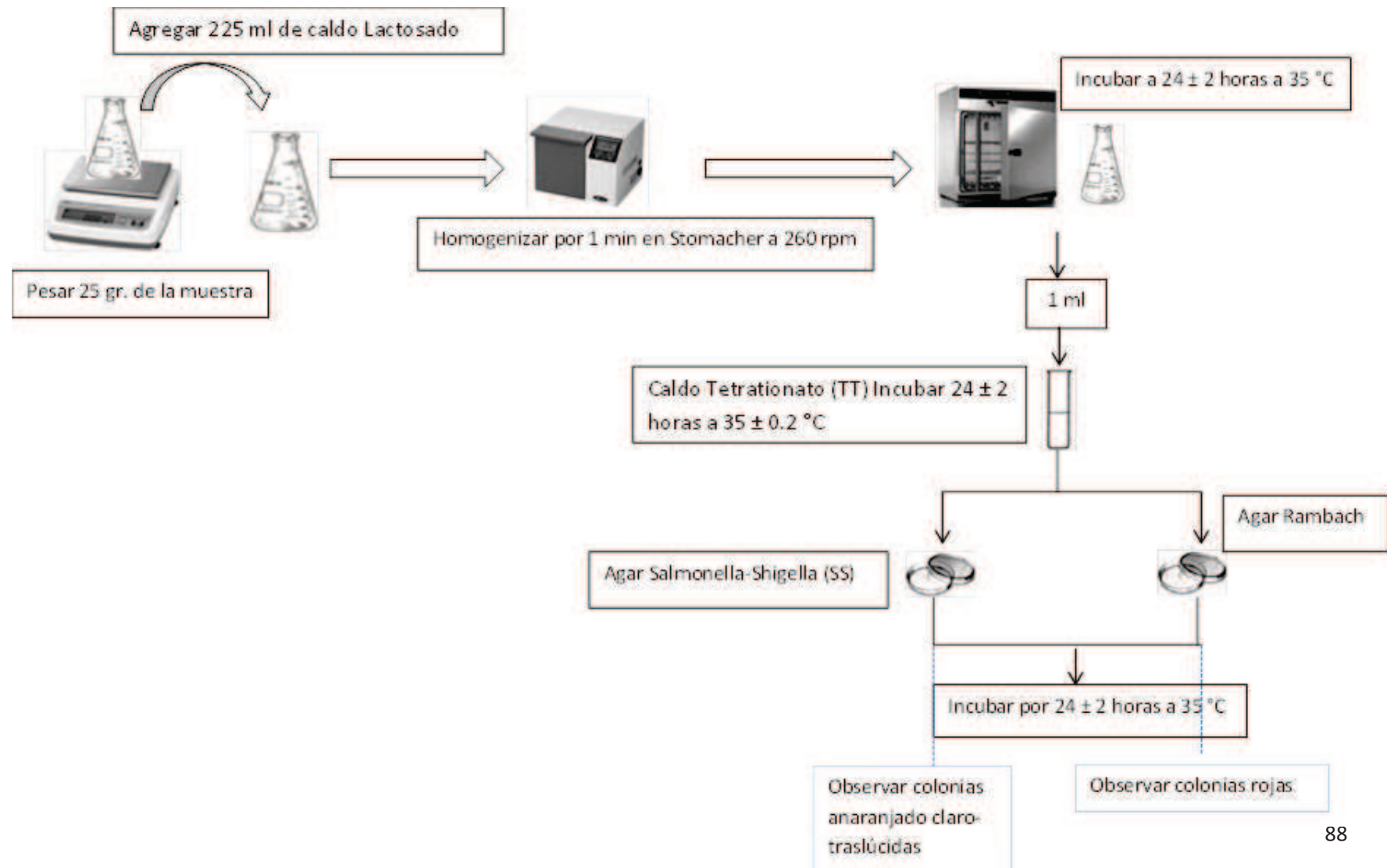
**Table 1. MPN to Petrifilm EC Plate Results Conversion Table**

MPN Sequence			MPN index (starting at 1:10 dilution)	Petrifilm EC Count Plate result
0	0	0	<3.0	<6.0
0	0	1	3.01	6
0	1	0	3.05	6
0	1	1	6.11	12
0	2	0	6.19	12
0	3	0	9.44	18
1	0	0	3.57	7
1	0	1	7.23	14
1	0	2	11	20
1	1	0	7.36	14
1	1	1	11.2	21
1	2	0	11.4	21
1	2	1	15.4	27
1	3	0	15.7	28
2	0	0	9.18	17
2	0	1	14.3	26
2	1	2	19.9	35
2	1	0	14.7	26
2	1	1	20.5	36
2	1	2	26.8	45
2	2	0	21.1	36
2	2	1	27.6	46
2	2	2	34.8	57
2	3	0	28.6	48
2	3	1	36	59
3	0	0	23.1	40
3	0	1	38.5	63
3	0	2	63.6	98
3	1	0	42.7	69
3	1	1	74.9	114
3	1	2	115	168
3	1	3	159	225
3	2	0	93.3	139
3	2	1	149	212
3	2	2	215	295
3	2	3	292	388
3	3	0	240	325
3	3	1	462	586
3	3	2	1100	1280
3	3	3	>1100	>1280

Note: MPN results based on a 3 tube MPN starting at a 1:10 dilution (i.e., 3 tubes at 1:10, 3 tubes at 1:100 and 3 tubes at 1:1000).

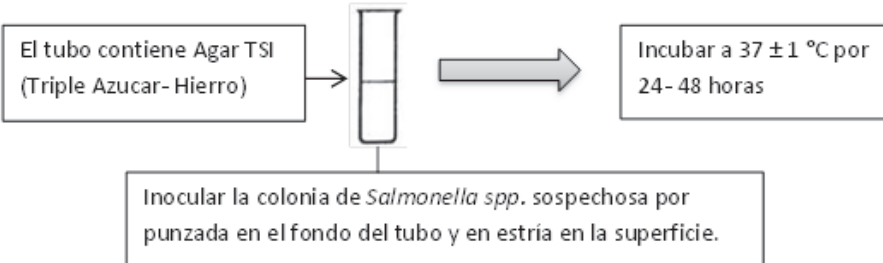


Anexo 11. Marcha Analítica para Detección de *Salmonella spp.* en muestra de “sardinas” frescas y saladas-secas.

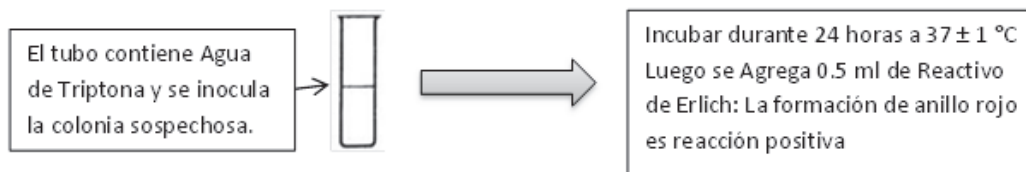


## Anexo 12. Pruebas Bioquímica de la *Salmonella spp.*

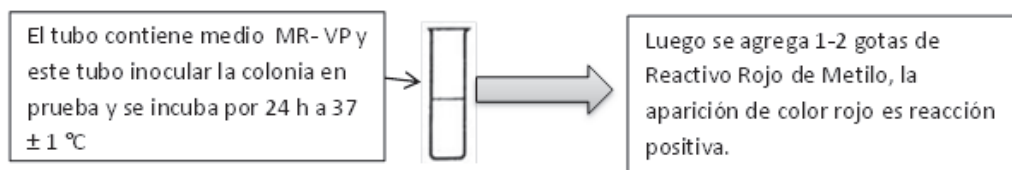
### 1 Agar TSI



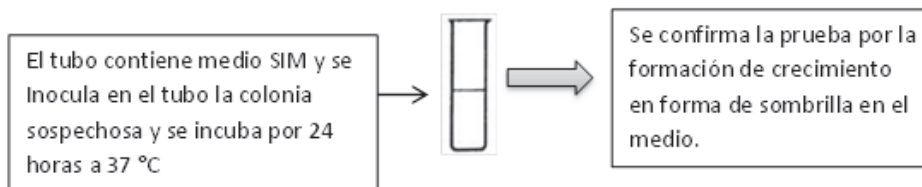
### 2 Reacción de Indol



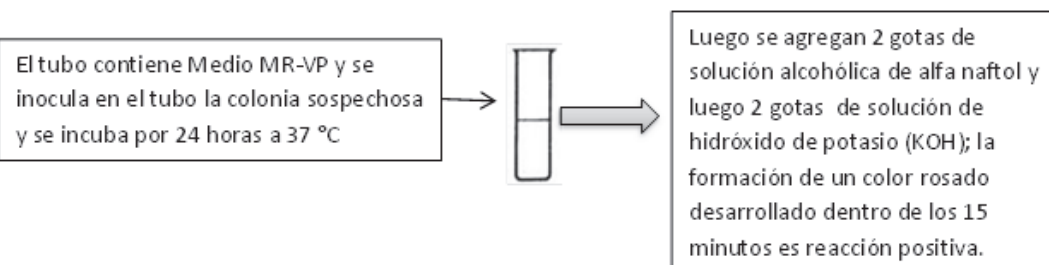
### 3 Rojo de metilo



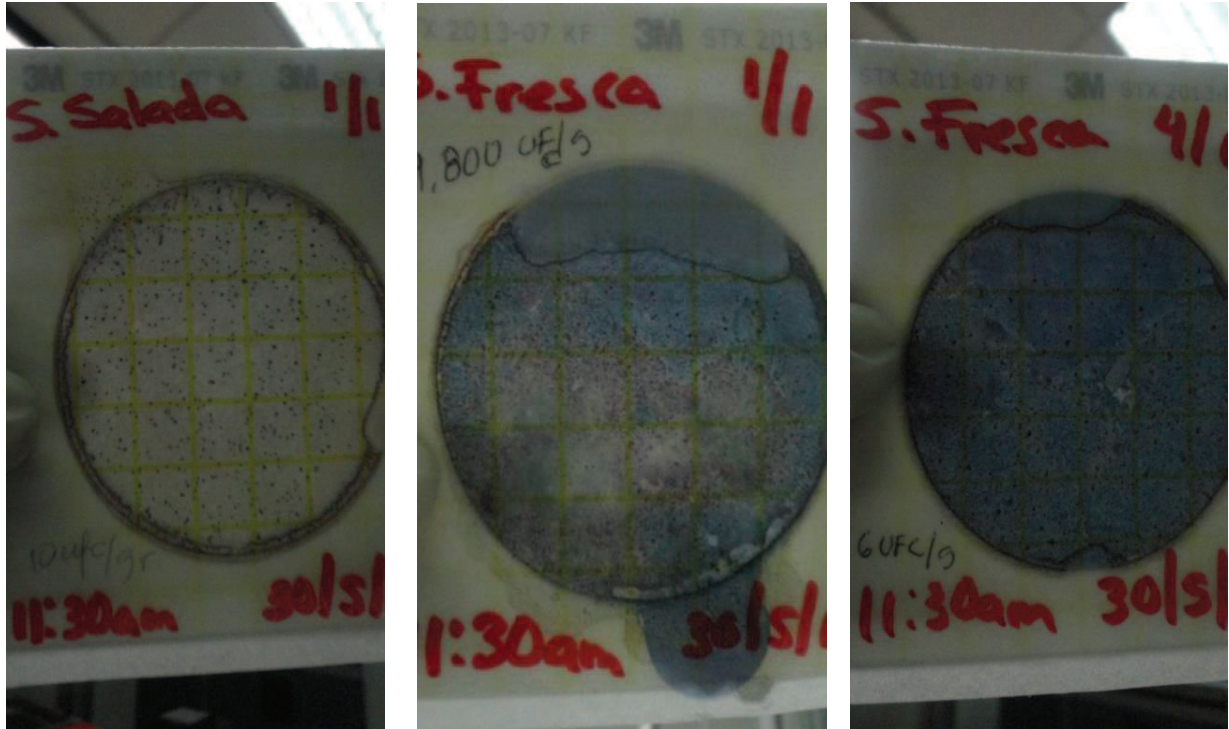
### 4 Prueba de Movilidad



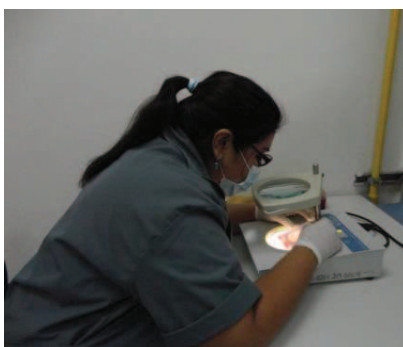
### 5 Prueba Voges-Proskauer



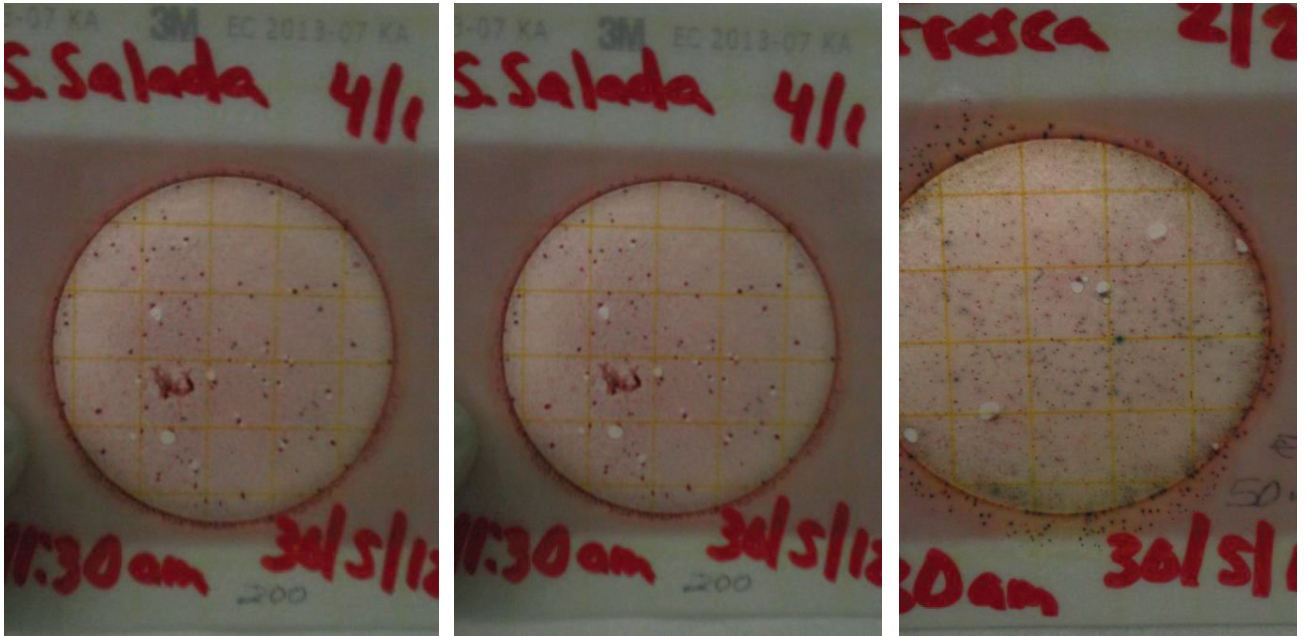
Anexo 13. Placas 3M Petrifilm para Recuento de *Staphylococcus aureus* con colonias color rojo-violeta y se confirma con el Disco Petrifilm Staph Express con zonas rosadas.



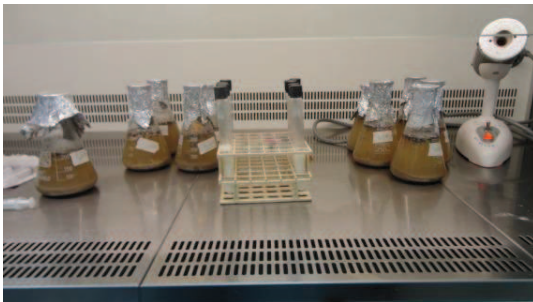
Anexo 14. Conteo de Colonias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.



Anexo 15. Placas 3M Petrifilm para Recuento de *Escherichia coli* con colonias color azul con presencia de gas.



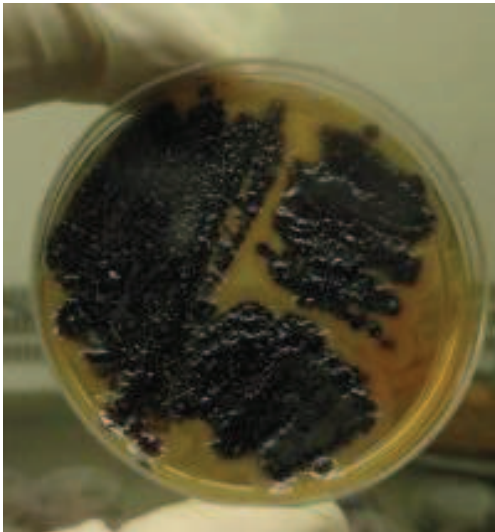
Anexo 16. Muestras inoculadas en Caldo Tetrionato (TT) e incubados por  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 0.2$  °C



**Anexo 17. Placas de Agar Salmonella-Shigella y Agar Rambach sembradas por duplicado y estriado en placas Petri luego de ser incubadas 24 horas.**



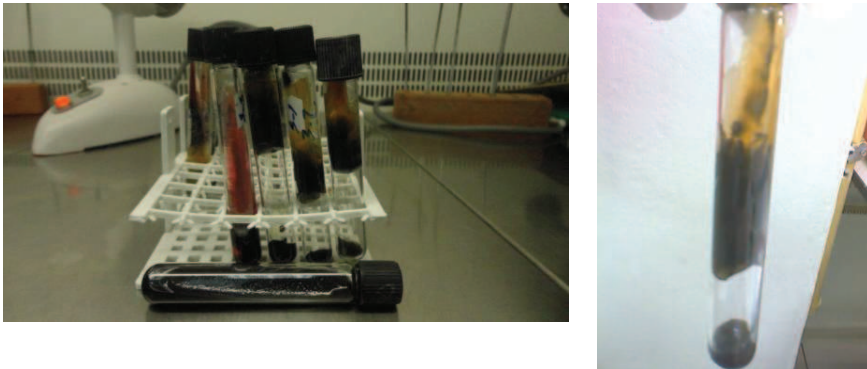
**Anexo 18. Presencia de *Salmonella spp* en Agar Salmonella – Shigella.**



**Anexo 19. Presencia de *Salmonella spp.* en Agar Rambach.**



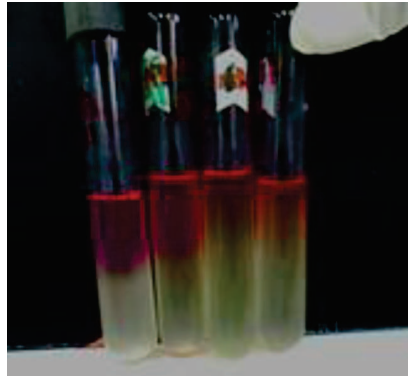
**Anexo 20. Pruebas positivas de presencia de *Salmonella spp.* en Agar TSI.**



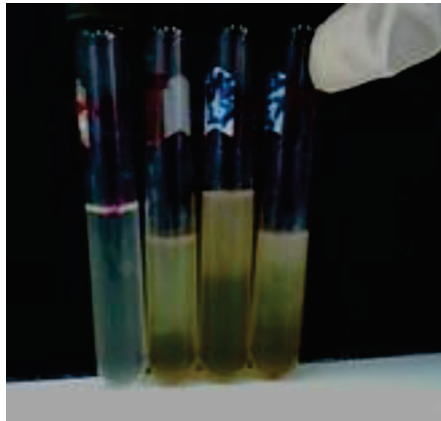
**Anexo 21. Prueba positiva con la formación del anillo rojo en reacción de indol.**



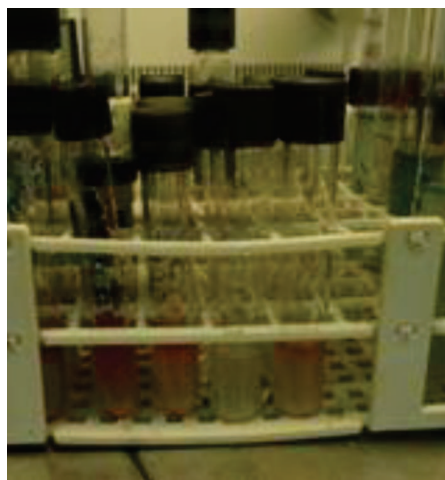
**Anexo 22. Prueba Rojo de Metilo positiva en el medio MR-VP con la aparición de color rojo.**



**Anexo 23. Prueba positiva en medio SIM con el crecimiento en forma de sombrilla.**



**Anexo 24. Reacción positiva en MR-VP con la aparición de color rosado dentro de los tubos.**



**Anexo 25. Charla impartida a los miembros de la Cooperativa ACOPPSEMPET (octubre 2012).**





### XIII. Siglas y Acrónimos

ALC: América Latina y El Caribe.  
AOAC: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales  
BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.  
BAM: Bacteriological Analytical Manual.  
COVENIN: Comisión Venezolana de Normas Industriales.  
CENDEPESCA: Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura.  
CENSALUD: Centro de Investigación y Desarrollo en Salud.  
COMIECO: Consejo de Ministros de Integración Económica Centroamericana.  
ETAs: Enfermedades Transmitidas por Alimentos.  
FDA: Food and Drug Administration.  
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.  
HACCP: Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control.  
MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería.  
NMP: Número Más Probable.  
OMS: Organización Mundial de la Salud.  
POES: Procedimientos Operacionales Estándares de Sanitización.  
RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano.  
RAM: Recuento de Aerobios- Mesófilos.  
UFC: Unidades Formadores de Colonias.  
EN: Sardinias Enteras  
EV: Sardinias Evisceradas-descabezadas  
CT: Coliformes Totales  
CF: Coliformes Fecales  
EC: *Escherichia coli*  
A<sub>w</sub>: Actividad del Agua  
HP: Horse Power  
RVS: Caldo Rappaport-Visiliadis  
TT: Caldo Tetrionato  
SS: Agar Salmonella-Shigella  
RBC: Agar Rambach  
CIT: Citrato Trisódico  
VP: Piruvato Sódico  
GEL: Gelatina  
ADH: L-arginina  
LDC: L-lisina  
ODC: L-ornitina  
H<sub>2</sub>S: Tiosulfato-Sódico  
URE: Urea  
TDA: Triptófano  
JAMES: Reactivo  
VP: Voges-Proskaver  
Fig. = figura  
gr. =gramos  
ml= mililitros  
mm= milímetros  
°C= grados Celcius  
Seg. = segundos  
min.= minutos rpm = Revoluciones por minuto.

#### XIV. GLOSARIO

**ALIMENTO:** toda sustancia procesada, semiprocada o no procesada, que se destina a la ingesta humana incluidas las bebidas, goma de mascar y cualquier otra sustancia que se utilicen en la elaboración, preparación y tratamiento del mismo, pero no incluye los cosméticos, el tabaco ni las sustancias que se utilizan como medicamentos.

**ALIMENTO PERECEDERO:** alimento que por su composición es susceptible de descomponerse en un corto período de tiempo.

**AHUMADO:** procedimiento que consiste en someter el alimento al efecto del humo originado en la combustión de madera u otros procedimientos autorizados.

**AMINAS BIÓGENAS:** Son derivadas de aminoácidos y su presencia en alimentos constituye un indicador de deterioro, sin embargo no siempre están vinculadas con variaciones de las características organolépticas del producto, por lo que pueden acumularse elevadas concentraciones en pescados, sin signos perceptibles de deterioro,

**ACTIVIDAD DEL AGUA:** se define como el cociente entre la presión parcial del agua existente en la atmósfera en equilibrio con el sustrato (alimento) y la presión parcial de la atmósfera en equilibrio con el agua pura a la misma temperatura.

**ANÁDROMAS:** peces que viven principalmente en agua salada y se aparean en agua dulce.

**ARPÓN:** utensilio de forma alargada y estrecha utilizado por el ser humano desde orígenes prehistóricos para la pesca.

**ASINTOMÁTICOS:** Que no presenta síntomas.

**AEROBIOS:** Son microorganismos que utilizan oxígeno molecular para crecer.

**ANAEROBIOS:** son microorganismos que no utilizan el oxígeno molecular para crecer.

**AGUA DESMINERALIZADA:** es aquella a la cual se le han quitado los cationes, como los de sodio, calcio, hierro, cobre y otros, y aniones como el carbonato, fluoruro, cloruro, etc. mediante un proceso de intercambio iónico. Esto significa que al agua se le han quitado todos los iones excepto el  $H^+$ , o más rigurosamente  $H_3O^+$  y el  $OH^-$ , pero puede contener pequeñas cantidades de impurezas no iónicas como compuestos orgánicos.

**BACTERIAS:** es un organismo unicelular sin núcleo, y que es procariota.

**BACTERIAS CORINEIFORMES:** Pueden ser aerobios y anaerobios

**CALIDAD:** Grado de excelencia que posee un producto, es decir, cuan bueno es para cumplir su finalidad.

**CLUPEIFORMES:** Peces teleósteos, del superorden Clupeomorpha.

**COLONIAS:** agrupamiento de células en forma de masas visibles, sobre el agar de cultivo

**CONSERVACIÓN ALIMENTICIA:** proceso de manipulación de los alimentos de tal forma que sea posible preservarlos en las mejores condiciones posibles durante un largo periodo de tiempo; el objetivo final de la conserva es mantener los alimentos preservados de la acción de microorganismos capaces de modificar las condiciones sanitarias y de sabor de los alimentos. El periodo de tiempo que se mantienen los alimentos en conserva es muy superior al que tendrían si la conserva no existiese.

**CALIDAD MICROBIOLÓGICA:** está referida a la ausencia tanto interna como externa de virus, bacterias y hongos.

**CONDICIONES CLIMATICAS:** Se denomina tiempo meteorológico al estado de la atmósfera caracterizado por una combinación de elementos con valores específicos (temperatura, humedad, presión atmosférica, precipitaciones, viento, etc.) en cierto lugar y en un momento determinado

**CEPAS BACTERIANAS:** Colonia microbiana procedente de un solo germen obtenido de una muestra, y multiplicado por pases sucesivos en diferentes medios de cultivo.

**CONSERVADORES ALIMENTICIOS:** Son sustancias capaces de inhibir retardar o detener los procesos de fermentación, enmohecimiento, putrefacción y otras alteraciones biológicas de los alimentos.

**CARGA BACTERIANA:** es la cantidad de bacterias que pueda contener una muestra a analizar.

**COSMOPOLITA:** De especies animales y vegetales aclimatadas a todos los tipos de clima y que tienen una distribución muy amplia.

**CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS:** son el conjunto de descripciones que pueden percibir nuestros sentidos, como por ejemplo su sabor, textura, olor, color.

**DIGESTIÓN:** es el proceso de transformación de los alimentos, previamente ingeridos, en sustancias más sencillas para ser absorbidos.

**DESCOMPOSICIÓN:** Acción y efecto de descomponer o descomponerse.

**DIGESTIBILIDAD:** Cualidad de digestible.

**DESARROLLO SOCIAL:** se refiere al desarrollo del capital humano y capital social en una sociedad. Implica una evolución o cambio positivo en las relaciones de individuos, grupos e instituciones en una sociedad. Implica principalmente Desarrollo Económico y Humano.

**DESARROLLO ECONÓMICO:** es la capacidad de países o regiones para crear riqueza a fin de promover y mantener la prosperidad o bienestar económico y social de sus habitantes. Se conoce el estudio del desarrollo económico como la economía del desarrollo.

**ESCABECHADO:** Consiste en la conservación del pescado por la acción conjunta de la sal y el vinagre. La creación de un medio ácido y la disminución del agua disponible consiguen aumentar la vida útil del pescado.

**ESTADO HIGIENICO-SANITARIO:** que no se distribuyan microorganismos patógenos para la salud.

**ENTEROTOXINAS:** Toxina que colonizan el tracto gastrointestinal.

**ENDOTOXINA:** es un componente de la pared celular de las bacterias gramnegativas constituida por lípidos y polisacáridos.

**FÓSFORO:** Elemento químico de núm. atómico 15. Muy abundante en la corteza terrestre, tanto en los seres vivos como en el mundo mineral, se presenta en varias formas alotrópicas, todas inflamables y fosforescentes. Además de su importancia biológica como constituyente de huesos, dientes y tejidos vivos, se usa en la industria fosforera, en la pirotecnia, en la síntesis de compuestos orgánicos y, en forma de fosfatos, entra en la composición de fertilizantes agrícolas y detergentes.

**FERMENTAR:** Dicho de los hidratos de carbono: Degradarse por acción enzimática, dando lugar a productos sencillos, como el alcohol etílico.

**FLORA BACTERIANA:** conjunto de bacterias.

**FUSIFORME:** ahusado o en forma de aguja en ambos extremo.

**HIDRÓLISIS:** Descomposición de sustancias orgánicas e inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción de agua.

**HALOBACTERIAS:** son una clase de Arqueobacterias que se encuentran en el agua saturada o casi saturada de sal. También son llamados halófilos, aunque este nombre también se refiere a otros organismos que viven en medios con alta concentración salina.

**HISTAMINA:** es un componente natural del cuerpo que está relacionada con el desarrollo de reacciones alérgicas, sin embargo, cuando se ingiere a través de alimentos puede llegar a ser peligrosa y provocar una intoxicación química.

**HIGIENE DE LOS ALIMENTOS:** todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria.

**HUMEDAD RELATIVA:** la relación de la cantidad de vapor de agua efectivamente presente en el aire con la cantidad máxima de vapor de agua que el aire puede contener a la misma temperatura.

**HOMEOTÉRMICOS:** Que tiene una temperatura corporal uniforme e independiente de la exterior.

**HOLOMÓRFICOS:** suelos que pueden ser naturales u antrópicos y se ubican tanto en regiones áridas como húmedas

**HALÓFILOS:** microorganismos que son capaces de crecer en presencia de elevadas concentraciones de sal.

**INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS:** es la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

**INHIBIR:** Suspender transitoriamente una función o actividad del organismo mediante la acción de un estímulo adecuado.

**LEGUMBRES:** es un tipo de fruto seco, también llamado comúnmente vaina o capi.

**LOTE:** cantidad de producto elaborado en un mismo lapso para garantizar su homogeneidad.

**MÉTODO:** Procedimiento que se sigue en las ciencias para hallar la verdad y enseñarla.

**MINERAL:** Sustancia inorgánica que se halla en la superficie o en las diversas capas de la corteza del globo terrestre.

**MAGNESIO:** Elemento químico de núm. atómico 12. Metal muy abundante en la corteza terrestre, se encuentra en la magnesita, el talco, la serpentina y, en forma de cloruro, en el agua de mar, y entra en la composición de sustancias importantes en los vegetales, como las clorofilas. Maleable y poco tenaz, arde con luz clara y brillante y se usa en metalurgia, en pirotecnia, en medicina, en la fabricación de acumuladores eléctricos y, aleados con aluminio, en la industria aeronáutica y la automoción.

**MOHOS:** grupo de hongos microscópicos; que se caracterizan por tener un cuerpo formado por estructura filamentosa con ramificaciones, que se conocen con el nombre de hifas, el conjunto de hifas constituye el micelio, carecen de clorofila, se alimentan por absorción pudiendo propagarse por esporas flageladas o no, las paredes celulares pueden ser de queratina, celulosa o manana. Crecen formando colonias en un medio selectivo a 25 °C.

**MATERIA PRIMA:** pescado y mariscos y/o partes de pescado y mariscos frescos y congelados que pueden utilizarse para producir productos de pescado ó mariscos destinados al consumo humano.

**MANIPULACIÓN:** acción de Intervenir con medios hábiles en alguna situación.

**MARISCOS:** Podemos definir a los mariscos como cualquier animal marino comestible que no pertenece a la "clase" de los peces. En general, los mariscos son de bajo contenido en grasas con apenas 1,5% por cada 100 gramos del mismo. Entre los mariscos más consumidos tenemos a las almejas, mejillones, calamar, camarones y langostas.

**MICROBIOLOGÍA:** Es la ciencia que estudia los organismos demasiado pequeños para ser percibidos a simple vista, por lo que se denominan, microorganismos. En términos generales dentro del amplio dominio de la microbiología se ubican todos los organismos con diámetro de 1 mm o inferior.

**MUESTRA:** Porción de un producto o mercancía que sirve para conocer la calidad del género.

**MICROMANIPULADOR:** Aparato que permite manejar objetos microscópicos.

**PROTEÍNAS:** Moléculas más importantes de las células, ya que tienen funciones estructurales y de actividad catalítica, están formadas por aminoácidos. y sirven para reparar y renovar los tejidos musculares, la piel, el cabello, las uñas y la sangre, al igual que contribuyen a la formación de enzimas y hormonas.

**PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS:** las determinaciones específicas practicadas a cada alimento, tales como, microorganismos indicadores, microorganismos patógenos, u otros que causen infección y enfermedad.

**PESCADO SECO-SALADO:** Pescado salado que ha sido deshidratado natural o artificialmente.

**PSICRÓFILOS:** Son aquellos microorganismos capaces de crecer a temperaturas entre 0° C y 7° con posibilidad de desarrollo hasta 25° C y producen colonias visibles a los siete días.

**PERMISIBLE:** Que se puede permitir.

**PROLIFERACIÓN:** es la acción de multiplicarse abundantemente.

**PELÁGICOS:** Que vive en alta mar, pero no a grandes profundidades.

**RECURSOS NATURALES:** conjunto de los elementos existentes en la naturaleza que se utilizan para satisfacer las necesidades humanas.

**RIESGO BACTERIOLÓGICO:** agente biológico presente en el alimento, o bien condición en que éste se halla, que puede causar un efecto adverso para la salud.

**SALMUERA:** Solución de sal en agua.

**SALMUERADO:** el procedimiento que consiste en colocar el pescado en una solución de sal (cloruro sódico) en agua durante tiempo suficiente para que el tejido del pescado absorba una cantidad considerable de sal.

**SELENIO:** Elemento químico de núm. atómico 34. Escaso en la corteza terrestre; se encuentra nativo junto al azufre, y en forma de seleniuro, en la pirita y otros minerales. Presenta varias formas alotrópicas de color rojo y una de color gris. Por sus propiedades semiconductoras tiene gran aplicación en la fabricación de equipos electrónicos, y se usa para dar color rojo en la industria del vidrio, de los esmaltes, y de la cerámica.

**SARDINA:** pez de cuerpo alargado, fusiforme, de unos 15 a 20 centímetros, con la parte

superior de color verde azulado, los costados y el abdomen plateados y los opérculos amarillentos. Presenta los ojos grandes con el párpado adiposo: la mandíbula ligeramente saliente, boca sin dientes.

**SECADO:** Se pueden emplear tres tipos de procesos en el secado del pescado: Secado por aire o por contacto, en el que el calor se transfiere al pescado desde el aire o superficie caliente, utiliza el movimiento del aire sobre el pescado para arrastrar la humedad; Secado al vacío, en el que se aprovecha la mayor velocidad de evaporación del agua del pescado a presión reducida, utiliza la conducción por contacto con superficies calientes o la radiación para evaporar el agua que se elimina mediante una bomba de vacío.

**SALADO:** Una alternativa a la reducción de la actividad del agua del pescado por, sencillamente, extracción, como ocurre en la simple deshidratación, es aumentar la concentración de solutos. La sal común es más efectiva, inocua, corriente y barata que otros solutos alimenticios como el azúcar, incluso aunque esté presente en relativamente pequeñas concentraciones. Sin embargo, la estabilidad por largo tiempo de los productos curados se alcanza únicamente cuando la concentración de sal en la carne alcanza la saturación.

**SEGURIDAD ALIMENTARIA:** Es cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana.

**SALUBRIDAD:** Cualidad de salubre.

**TALUD CONTINENTAL:** es una parte de la morfología submarina, ubicada entre los 200 a 4.000 metros bajo el nivel del mar. Esta zona tiene un fuerte relieve o declive, en la que se encuentran profundos valles, grandes montañas y gigantescos cañones submarinos.

**TOXIINFECCIÓN ALIMENTARIA** o enfermedades de transmisión alimentaria son enfermedades producidas por la ingesta de alimentos contaminados por agentes biológicos (bacterias, virus, parásitos) o sus toxinas. Estos agentes y toxinas llegan a los alimentos por una inadecuada manipulación o por una mala conservación.

**TERMOLÁBILES:** Que se altera fácilmente por la acción del calor.



**UBICUO:** que vive en continuo movimiento

**UBICUIDAD:** Cualidad de ubicuo.

**VALOR NUTRIONAL:** importancia de los alimentos por su composición de nutrientes beneficiosos para el cuerpo humano.

**VALOR MEDICINAL:** cualidad de mejorar la salud

**VITAMINAS:** Son sustancias vitales para el organismo humano, que ayudan a regularizar el metabolismo, convertir las grasas y los carbohidratos en energía y colaborar en la formación ósea.

**VALOR CALÓRICO:** es el recuento de kilocalorías

**VIRULENCIA:** Cualidad de virulento

**YODO:** es un elemento químico esencial. La glándula tiroides fabrica las hormonas tiroxina y triyodotironina, que contienen yodo.

**ZONAS COSTERAS:** son las aguas costeras, marinas, estuarinas y cercanas a las orillas de los grandes lagos y mares interiores, así como, una porción de tierra cercana a la costa, en donde actividades humanas y procesos naturales afectan y son afectados por lo que se da en las aguas.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA



ARTÍCULO:

“ANÁLISIS DE BACTERIAS PATÓGENAS EN “SARDINA” SALADA-SECA (ORDEN CLUPEIFORMES) PROCESADA ARTESANALMENTE EN LA BAHÍA DE JIQUILISCO”

PRESENTADO POR:

Br. KARLA EUGENIA ESCOBAR AMAYA.

Br. CAROLINA ESPERANZA HERNÁNDEZ HERRERA.

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

ASESORA INTERNA:

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

CIUDAD UNIVERSITARIA, NOVIEMBRE 2012.

# “ANÁLISIS DE BACTERIAS PATÓGENAS EN ”SARDINA”SALADA-SECA (ORDEN CLUPEIFORMES) PROCESADA ARTESANALMENTE EN LA BAHÍA DE JIQUILISCO”.

Karla Escobar<sup>1-2</sup>, Carolina Hernández<sup>1-2</sup>, Zoila Guerrero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática Universidad de El Salvador.

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Desarrollo y Salud (CENSALUD), Universidad de El Salvador,

Correspondencia: [carol\\_hh16@msn.com](mailto:carol_hh16@msn.com), [karlaescobar@yahoo.com](mailto:karlaescobar@yahoo.com)

## RESUMEN

En este estudio se determinaron los niveles de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en “sardinas” saladas-secas procesada artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco, El Salvador; como lo dicta el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de Alimentos. Dicho estudio fue realizado, con la finalidad de afirmar o negar la efectividad del salado como método de preservación, con respecto a la inhibición de bacterias patógenas en dicho producto (analizando “sardinas” frescas como saladas-secas). Los resultados obtenidos de un total de 15 muestras de “sardinas” frescas y 15 “sardinas” saladas-secas en los meses de abril – junio, reflejaron que con base a los niveles de *Salmonella spp.* (Presencia de esta bacteria), *Escherichia coli* (> 3NMP/gr.) detectados en el proceso artesanal de las “sardinas” la cantidad de muestras superan el límite máximo permisible requerido por el RTCA, afirmando que su calidad sanitaria no es apta para el consumo humano; aunque los niveles de *Staphylococcus aureus* hayan sido <10<sup>2</sup> UFC/gr. Esta contaminación fecal puede ocurrir por la falta de aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene, que durante todo el proceso de salado y secado de las “sardinas” no se emplearon en ningún momento durante el proceso, al igual que algunos posibles factores que influyeron en estos resultados, fueron la contaminación orgánica por los desagües residuales de afluentes de zonas aledañas, por la acción antropogénica, actividades ganaderas, etc.

Palabras Claves: Sardinas saladas-secas, Bacterias patógenas, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, pesca artesanal.

## ABSTRACT

In the present study we determined the levels of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in "sardines" salt-dried and handmade processed in Bahia de Jiquilisco, El Salvador; according to the Centroamerical Technical Regulations (CTR) 67.04.50:08 for food. The study was conducted in order to confirm or deny the effectiveness of salt as a method of preservation to inhibit the development of pathogenic bacteria in the product (analyzing both "fresh sardines" and "salt-dried sardines"). The results obtained from a total of 15 samples of "fresh sardines" and 15 "salt-dried sardines" from april to june, showed that, based on the levels of *Salmonella spp.* (presence of the bacteria), *Escherichia coli* (> 3NMP/gr.), the local handmade process exceeds the maximum permissible limit required by RTCA, demonstrating the quality of the product is not suitable for human consumption even when the levels of *Staphylococcus aureus* were <10<sup>2</sup> UFC/gr. This fecal contamination can occur at the lack of application of good hygiene practices throughout the process of salting and drying of the "sardines", this practices were never applied in the process, also other factors that may have influenced this study were: Organic contamination (contamination via wastewater effluent coming from surrounding areas), anthropogenic action, livestock, etc.

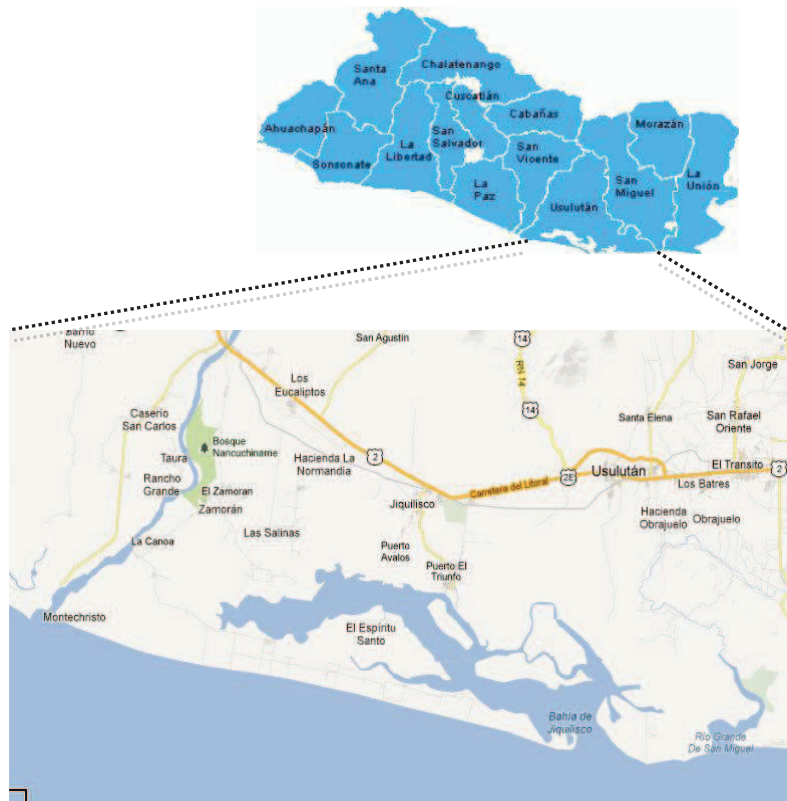
## INTRODUCCION

La extracción de productos marinos ha permitido a muchas personas la subsistencia diaria ya sea con el consumo directo ó la comercialización de ellos, y para lo cual tienen que aplicar ciertas normas de higiene como las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM o por sus siglas en inglés GMPs Good Manufacturing Practices) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o por sus siglas en inglés HACCP Hazard Analysis Critical Control Point) para ofrecer un alimento inocuo y de calidad. Los peces del orden Clupeiformes, que incluyen a las sardinas, anchoas o anchovetas, etc., constituyen uno de los grupos de peces de mayor importancia en la pesca mundial. Desde la antigüedad, dichos peces han sido capturados, principalmente con fines de alimentación y obtención de una serie de subproductos de interés comercial (Silva & Pequeño 2007). En El Salvador se realiza la pesca de estos peces, con el fin de comercializarlos para ser consumidos como alimento humano y para conservarlos deben aplicarse métodos para que estos puedan permanecer comestibles, un método tradicional que aplican los pescadores artesanales de “sardinas” es el salado y secado al sol. La presente investigación es pionera para el país y tiene como finalidad el análisis de bacterias patógenas en las “sardinas” saladas-secas procesada artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco; para afirmar o negar la efectividad de este método de preservación.

## MATERIALES Y METODOS

La Bahía de Jiquilisco se encuentra ubicada en la zona oriental de El Salvador en el Departamento de Usulután (Ilustración 1) entre los 13° 15' y 13° 18' Latitud Norte y 88° 48' y 88° 15' Longitud Oeste. Presenta altitudes de 0- 40 msnm. y los suelos cercanos a los esteros son halomórficos (MARN/MOP, 2003).

Ilustración 1. Mapa de la Ubicación Geográfica de la Bahía de Jiquilisco, Usulután.



## TOMA DE MUESTRAS

### Fase de Campo

Se partió al muelle artesanal de Puerto El Triunfo para embarcarse y se observó el proceso artesanal de salado-secado. Se hicieron recorridos con los pescadores de la Asociación Cooperativa de Producción Pesquera de Servicios Múltiples de Puerto El Triunfo de R.L. (ACOPPSEMPET); por toda la Bahía para la búsqueda de las sardinas por un período de 3 meses (Abril-Junio) haciendo un viaje por mes, para tener una mayor representatividad de los datos, fueron un total de 30 muestras y se colectaron 10 muestras en cada viaje (5 muestras de “sardinas” frescas y 5 muestras de “sardinas” saladas-secadas al sol (cada muestra de 1 lb).

Las muestras de “sardinas” fresca se obtuvieron según se desarrolló la pesca artesanal de las “sardinas” en los lugares y períodos de tiempo que realizaron los pescadores y a la vez se observó paso a paso el desarrollo del proceso artesanal de salado y secado de “sardinas” para su posterior comercialización. Durante el recorrido por toda la Bahía con los pescadores,

se tomaron muestras de todos los lances de esa jornada de pesca en bolsas estériles tipo Ziploc con capacidad para una libra (en total 5 libras) y se colocaron en una hielera con hielo manteniendo la temperatura a 4 °C para su transporte al laboratorio de CENSALUD en un período menor de 24 horas.

Al llegar al muelle los pescadores colocan en el suelo solo las redes de pesca (el cedazo) y ahí extienden las “sardinas” que tenían en salmuera (preparación de las “sardinas” con sal y agua), por un lapso de 3 o 4 horas al sol para el secado (este período de tiempo depende de lo soleado o nublado del día) (Ver ilustración 2); luego de esa exposición al sol se tomaron las muestras y se transportaron al laboratorio en bolsas estériles con capacidad para una libra. Estas muestras se tomaron del mismo lote de pesca de las que se obtuvieron las “sardinas” frescas.

### Fase de Laboratorio

A las muestras obtenidas de “sardinas” se les hicieron los análisis microbiológicos para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* por duplicado para cada análisis, según lo propone el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) basado en los métodos de análisis establecidos por la FDA (Administración de Medicamentos y Alimentos). Para los procedimientos realizados para *Salmonella spp.* se realizó con el método tradicional utilizando el Manual Analítico Bacteriológico de la FDA. Para los análisis de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se hizo uso de las placas indicadoras para recuento microbiológico de muestras, 3M Petrifilm™ que son métodos oficiales para placas Petrifilm aprobadas por la AOAC (Asociación Oficial de Químicos Analíticos).

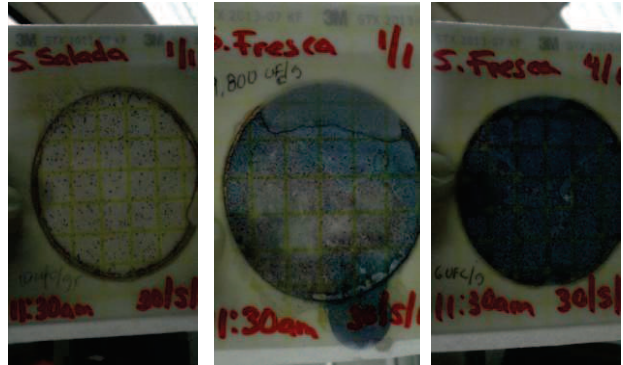
### RESULTADOS

Para la pesca de “sardinas” los pescadores hacen recorridos por toda la Bahía de Jiquilisco para la búsqueda de los cardúmenes de estos peces y el período de tiempo de este tipo de pesca depende de las mareas bajas siendo estas aptas para la pesca de “sardinas”, ya que la pesca se desarrolla en lugares de poca profundidad para el mejor manejo de la red; el

tiempo máximo de pesca es de un solo día. (Ver Ilustración 3)

### Placas 3M Petrifilm para Recuento de *Staphylococcus aureus*

Las 30 muestras de “sardinas” resultaron positivas por la presentación de colonias color rojo-violeta y confirmando los resultados con el



Disco Petrifilm Staph Express con la aparición de zonas rosadas, tomando en cuenta estas coloraciones se realizó el conteo de colonias.

*Staphylococcus aureus*

### Placas 3M Petrifilm para Recuento de *Escherichia coli*

Se obtuvo un total de 30 muestras positivas en su totalidad confirmando la presencia de *Escherichia coli*, ya que presentaron puntos de color azul con presencia de gas, manifestado por una burbuja formada a la par de la colonia, utilizando estos indicadores se hicieron los conteos de las colonias.

*Escherichia coli*

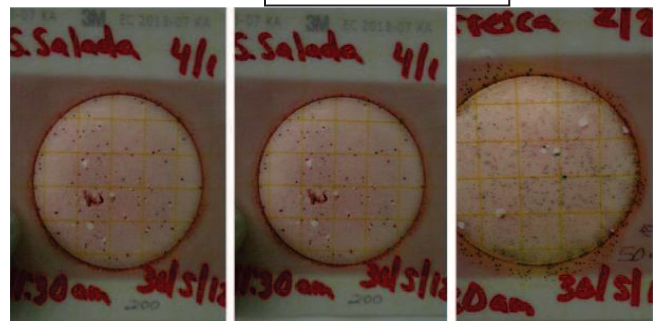




Ilustración 2. Secado de las “sardinas” saladas en el muelle artesanal de Puerto El Triunfo.

### Descripción de la pesca artesanal de sardina en la Bahía de Jiquilisco.



1- Los pescadores han realizado un cerco para retener la captura adentro de él



2- Cada extremo es halado para reducir el tamaño del cerco.



3- El cerco ha sido reducido, listo para ser lavado



4- Se toma una canasta de lo que se ha capturado para lavarlo



5- Lavado de la sardina



6- Separación de la Fauna acompañante



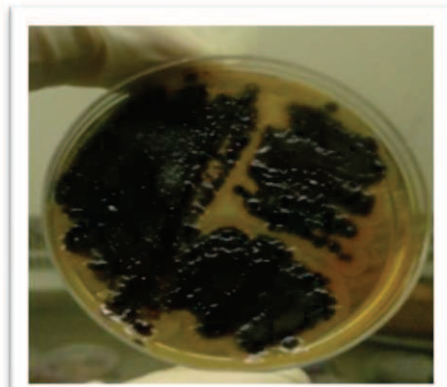
7- Salado de la sardina

Ilustración 3. Descripción de la pesca artesanal de sardina en la Bahía de Jiquilisco

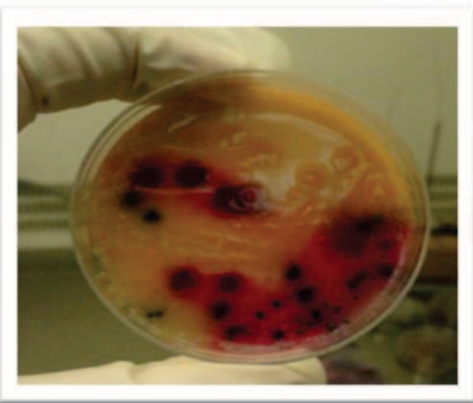
## Resultados de aislados de *Salmonella spp.* en Agar Salmonella –Shigella y Agar Rambach.

Las 30 muestras positivas inoculadas en Caldo Tetrionato (TT) y luego inoculadas en medio Rambach y Salmonella-Shigella, se sembraron por duplicado y estriado en placas Petri, cada muestra positiva con coloraciones anaranjado con centro negro eran presuntivos de presencia de *Salmonella spp.*, en Agar Salmonella-shigella y coloraciones de color rojo en medio Rambach y se obtuvo un total de presencia de *Salmonella spp.* en las 120 replicas en los medios.

Terminando de confirmar las bacterias con todas pruebas bioquímicas y las distintas coloraciones y reacciones resultando positivas en su totalidad.



Aislado de *Salmonella spp.* en Agar Salmonella-Shigella.

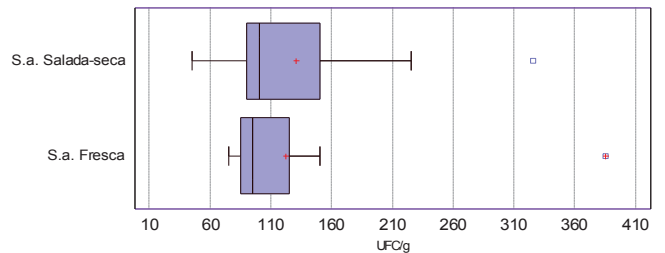


Aislado de *Salmonella spp.* en Agar Rambach.

## Tratamiento estadístico de los datos

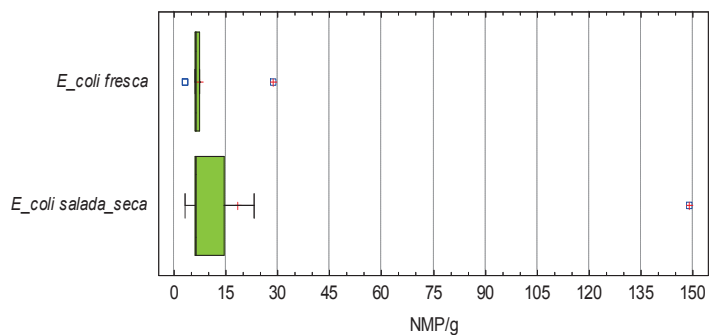
Para la aceptación o negación de hipótesis, se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 15 y Statgraphics Centurion 16.1.15 para la comparación de resultados en las dos condiciones.

Gráfica de comparación de medias aritméticas de “sardinas” saladas-secas con “sardinas” frescas de *Staphylococcus aureus*.



Al comparar las medias de los datos de *Staphylococcus aureus* (*S.a.*) determinados para cada una de las dos condiciones durante los tres muestreos (abril-julio 2012), se reconfirma la tendencia general en la que los valores mínimos de contaminación ocurrieron en “sardinas” frescas.

Gráfica de comparación de medias de “sardinas” frescas y salada-secas de *Escherichia coli*.



Al comparar las medias de los datos de *Escherichia coli* (*E.coli*) determinados para cada una de las dos condiciones durante los tres muestreos (abril-julio 2012), se reconfirma la tendencia general en la que los valores mínimos ocurrieron en “sardinas” frescas. Comparando las “sardinas” frescas con las saladas-secas de los resultados de las 3 bacterias patógenas analizadas



(*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*) revelan que este producto está contaminado desde que las “sardinias” son pescadas hasta el salado-secado de las mismas, aumentando la carga bacteriana a un 100% debido a la total presencia de *Salmonella spp.* y que los valores de *Escherichia coli* sobrepasaron los límites permisibles dados por el RTCA y esto indica que el producto tiene una alta contaminación fecal.

## DISCUSION

Según Caballero (2008) y De la Fuente & Barboza (2010) los alimentos son perecederos, y pueden estar expuestos a diversos peligros y consecuentemente perder inocuidad por múltiples agentes físicos, químicos o microbiológicos, los cuales potencialmente pueden provocar un daño en la salud del consumidor.

Medina (2008) menciona que la contaminación de los alimentos se debe a la incorrecta manipulación y para ello Caballero (2008), expone que se necesitan determinadas condiciones de tratamiento, conservación y buena manipulación de los alimentos.

Kopper *et al.* (2009) señalan que cada vez es más importante conocer la historia de un alimento desde su origen y producción hasta el consumo, cuales son las posibles causas de contaminación durante las fases de manipulación, procesamiento, almacenamiento, transporte, distribución y la exposición de cada alimento hasta que llega finalmente al consumidor.

Elotmani *et al.* (2003) analizaron la microflora de sardina fresca en la costa Marroquí y reportaron que en la microflora se encontró la presencia de *Staphylococcus spp.* pero los resultados fueron significativamente inferiores al límite recomendado por el ICMSF (Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos), al igual que esta investigación reportando para sardinias frescas que los niveles de *Staphylococcus aureus* están dentro de los límites permisibles que establece el RTCA.

Barboza *et al.* (1999) analizaron seis especies diferentes de pescado salado que se consumen mayormente en la ciudad de Maracaibo en Venezuela, compararon los resultados con la Norma COVENIN<sup>3</sup>, el

recuento de *Staphylococcus aureus* se mantuvo dentro de los valores máximos permitidos por la Norma antes mencionada, al igual que en esta investigación en las “sardinias” saladas-secas los niveles de esta bacteria se mantuvieron dentro de los parámetros permitidos por el RTCA.

Gutiérrez *et al.* (2003) reportan que los productos de origen pesquero elaborados en forma artesanal en las comunidades Warao del delta del Orinoco, Venezuela; están contaminados con *Staphylococcus aureus* sobrepasando las Normas del COVENIN a diferencia de las “sardinias” saladas-secas dando como resultado niveles bajos comparados con los indicados por el RTCA para esta bacteria.

Los datos obtenidos en esta investigación en los análisis microbiológicos para *Escherichia coli* en “sardina” fresca difieren con los reportados por Corrales *et al.* (2011) en el estudio bacteriológico de la calidad del pescado fresco, comercializado en Cundinamarca (Colombia) comparando los resultados de *Escherichia coli* para las 2 especies de pescados analizados (Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*)) con la Resolución Colombiana<sup>4</sup> 2006 confirmando que los datos obtenidos estaban dentro de los límites permitidos por la Resolución antes mencionada.

En el análisis de *Salmonella spp.* en “sardina” fresca los datos para esta investigación dieron un 100% de la presencia de esta bacteria, esto es igual a lo encontrado por Herrera & Santos (2005) que estudiaron la prevalencia de *Salmonella spp.* en pescado fresco comercializado en mercados Pamplona, Colombia encontrando una alta prevalencia de esta bacteria; estas investigaciones coinciden con los resultados obtenidos por Armas (1998) en pescados del Lago de Amatitlán, Guatemala y se producen estos datos por la contaminación fecal que existe en el lago; se menciona esta investigación para destacar que los productos pesqueros dependiendo de su procedencia de origen pueden estar contaminados

Al contrario los estudios realizados por Corrales *et al.* (2011) y Morales (2007) revelan con sus investigaciones la ausencia de esta bacteria en pescados frescos.

Barboza *et al.* (1999) y Gutiérrez *et al.* (2003) manifiestan en sus resultados que los

productos pesqueros analizados son permisibles para el consumo humano a diferencia de los resultados obtenidos de “sardinas” saladas-secas procesadas artesanalmente en la Bahía de Jiquilisco que sobrepasan los límites permitidos por el RTCA.

## CONCLUSIONES

Esta investigación es la primera que se realiza en el país analizando las bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*). presentes en el proceso artesanal de secado y salado de “sardinas”, por lo tanto se considera importante para nuevas investigaciones.

Los estadísticos de tendencia central reflejaron que las “sardinas” saladas-secas en los análisis para *E. coli* presentaron mayor contaminación fecal, posiblemente por los factores que influyeron principalmente en estos resultados, fueron la contaminación orgánica por el desagüe residuales de afluentes de zonas aledañas, por la acción antropogénica, actividades ganaderas, etc.

La manipulación y el tratamiento artesanal que se aplicó durante la realización de este estudio en las “sardinas” salada-secas no se ven reflejada una disminución en la carga bacteriana.

Con base a los niveles de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* detectados en el proceso artesanal de la “sardinas” la cantidad de muestras superan el límite máximo permisible, afirmando que su calidad sanitaria no es apta para el consumo humano.

La contaminación de las “sardinas” pudo ser por los depósitos sin lavar para colocar la salmuera, la exposición de estas al polvo, moscas, animales domésticos y los mismos pescadores que caminan sobre las redes de pesca donde son secadas al sol, entre otras

Esta contaminación fecal puede ocurrir a la falta de aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene que durante todo el proceso de salado y secado de las “sardinas” no se emplearon en ningún período del proceso.

## RECOMENDACIONES

Desarrollar más estudios sobre niveles de contaminación de estas bacterias en “sardinas” saladas-secas en diferentes mercados y en otros puntos de las zonas

costeras del país, ya que este tipo de alimentos son consumidos por muchas personas dentro del territorio salvadoreño.

Para promover el estudio de otros productos artesanales de consumo humano se debería de solicitar el respaldo de diferentes instituciones como el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales (MARN), Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA), Ministerio de Salud, para fomentar en los manipuladores de productos alimenticios las Buenas Prácticas de Manufactura y de Higiene.

Se propone que al secar las “sardinas” en los cedazos extendidos en el suelo este se levante unos centímetros para que no tenga contacto directo con esta superficie, zapatos de pescadores, ni animales domésticos que pasen por encima de las sardinas que se están secando.

Para consumir las “sardinas” requiere de una buena cocción para bajar la carga de bacterias patógenas (OMS, 2007).

Se recomienda que para próximas investigaciones se realicen estudios tanto por el método tradicional y por el uso de placas 3M Petrifilm™ para este tipo de alimentos.

## BIBLIOGRAFIA

ADW Animal Diversity Web, 2008, Junta de Regentes de la Universidad de Michigan y de Licencia (en línea) Estados Unidos. Consultado 18/08/2010. Disponible en: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/classification/Clupeiformes.html#Clupeiformes>

Barboza de Martínez Y., Izquierdo P., González E., Torres G., Márquez E.; 1999, Evaluación Microbiológica y Características Químicas del Pescado Salado Consumido en la Ciudad de Maracaibo, Venezuela; Unidad de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia; Revista Científica, FCV- LUZ/ Vol. IX, N° 2, 134-137.

Caballero T.A., 2008. Temas de Higiene de los Alimentos. Cap. 3, Principales Bacterias Patógenas en Alimentos. Editorial Ciencias Médicas, Cuba. 382 pp.

- Calderón, G. 2009. Estudio de caso. Enfermedades transmitidas por alimentos con El Salvador, FAO. El Salvador
- Corrales R. L., Alvarado O.A., Castillo F.L. & Camacho B. Y., 2011, Estudio Bacteriológico de la calidad del pescado fresco, Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*) comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia), NOVA, Publicación científica en Ciencias Biomédicas, vol.9 N° 15.
- De la Fuente S. N. & Barboza C. J., 2010, Inocuidad y Bioconservación de Alimentos, Ciencias de la Salud, Acta Universitaria, Universidad de Guanajuato, México, Vol.20 N° 1 43-52 pp.
- Elotmani F., Assobhei O., RevolJurelles A.M., & Milliére J.B.; 2003; Microflora de la Sardina (*Sardina pilchardus*) Fresca y Refrigerada de la Costa Atlántica Marroquí. Ciencias Marinas, Diciembre, año/vol. 30, número 004, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México, 627-635 pp.
- FAO FOCUS, 1999. La Pesca y la Seguridad Alimentaria (en línea). Consultado el 03/12/2010. Disponible en <http://www.fao.org/FOCUS/S/fisheries/nutr.htm>
- FAO, 2003. Tecnología de la Captura de Peces. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO (en línea). Roma. Consultado el 15/11/2010. Disponible en <http://www.fao.org/fishery/topic/3384/es>
- Kopper G., Calderón G., Schneider S., Dominguez W. & Gutiérrez G., 2009, Enfermedades Transmitidas por Alimentos y su Impacto Socioeconómica, FAO, Informe Técnico sobre Ingeniería Agrícola y Alimentaria, Roma, Italia.
- Kopper, G. 2009, Estudio de caso, Enfermedades transmitidas para alimentos en Costa Rica, FAO. Costa Rica.
- Láinez V. Ileana, 30 de Octubre de 2009. Pesca Artesanal Deprimida. El Diario de Hoy, El Salvador. (En línea). Noticias OSPESCA. Consultado 07/09/2010. Disponible en <http://www.sica.int/busqueda/Noticias.aspx?IDItem=42697&IDCat=3&IdEnt=47&Idm=1&IdmStyle=1>
- Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN), 2004: Plan de Manejo del Área Natural y Humedal Bahía de Jiquilisco. San Salvador, El Salvador.

