

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE LONJA DE
PESCADO COMERCIALIZADA EN SUPERMERCADOS DEL DISTRITO DOS
DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**

**TRABAJO DE GRADUACION PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA**

**PRESENTADO POR:
CRISTIAN ALBERTO GARCIA GRANADINO
DANIEL WILFREDO VELASQUEZ HERRERA**

JULIO 2018

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

LIC. CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DEL PROCESO DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

ASESORA DE AREA: MICROBIOLOGIA

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

ASESORA DE AREA: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y COSMETICOS

Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

DOCENTE ASESOR

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

AGRADECIMIENTOS

A **Dios Todopoderoso** por brindarnos sabiduría, entendimiento y discernimiento para lograr nuestros objetivos y darnos la capacidad, valentía y fuerza de poder enfrentar cada obstáculo y dificultad que se presentó a lo largo de nuestra carrera.

A **nuestros padres y hermanos**, por estar ahí en los momentos más difíciles dándonos ánimos, consejos y apoyo a lo largo de toda nuestra formación académica y enseñarnos que todo lo que se desea con esfuerzo se puede lograr.

Al Tribunal Calificador de Trabajo de Graduación: Directora General de Procesos de Graduación, MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, Asesoras de área: MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez, Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, por orientarnos a lo largo de la realización de este trabajo de Graduación.

A nuestra docente directora MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz, por brindarnos su tiempo y conocimientos, por ser una guía y ejemplo de profesionalismo.

Al **Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y su personal**, por su colaboración y amabilidad durante el desarrollo de la parte experimental de este trabajo de graduación.

A nuestros amigos y compañeros por brindarnos su valiosa ayuda, apoyo y comprensión para poder desarrollar este trabajo de graduación.

Agradecemos a la **Universidad de El Salvador**, por habernos abierto las puertas de este prestigioso centro del saber, cuna de excelentes profesionales.

Cristian y Daniel

DEDICATORIAS

Principalmente a mi **Señor Jesucristo Dios Todo Poderoso** por estar siempre conmigo brindándome mucha sabiduría, discernimiento, fortaleza, confianza, salud y amor para poder culminar mi carrera y poder enfrentar cada obstáculo en mi vida.

A mis padres **Maximino Velásquez Galeas** y **Enma Elsy Herrera de Velásquez** por estar siempre a mi lado apoyándome y guiarme por el mejor camino, por sus consejos y comprensión, por su amor, trabajo y sacrificios; y por alentarme a continuar cuando parecía que me iba a rendir.

A mis hermanos(as) **Isaí Maximino, Ana Meysi, Orfa Yaneth y Josué Eliseo** por brindarme su apoyo y consejos en los momentos en que más los he necesitado.

A mi novia **Ester Escobar** por ser un gran apoyo, por brindarme su confianza, por regalarme su valiosa amistad, cariño y amor y por estar presente en cada uno de mis obstáculos y logros.

A mi compañero de tesis y amigo **Cristian García** por haber vivido tantas experiencias en el trayecto de nuestra carrera, por su paciencia y ayuda en el desarrollo de nuestra tesis y por su valiosa amistad.

Daniel Wilfredo Velásquez Herrera.

DEDICATORIAS

A mi **Señor Jesucristo Dios todo poderoso** por estar a mi lado siempre en cada etapa de mi vida, por crearme en el vientre de mi madre y saber que es mejor para mí, por darme de su sabiduría, fortaleza y paciencia para poder culminar y superar todos los obstáculos a lo largo de mi carrera.

A mis padres **Alfredo García Claros, Ana Vilma Granadino de García**, por sus oraciones que han tocado las puertas de los cielos por su amor incondicional, por creer en mí desde que tengo memoria, por sus consejos que a lo largo de mi vida atesorare siempre.

A mis hermanos **Heimos A, Irving A. García** por sus oraciones, por ser un ejemplo a seguir, por creer y confiar en mí, por brindarme su apoyo incondicional y motivarme a seguir adelante durante el desarrollo de mi carrera

A mi compañero de tesis y amigo **Daniel Wilfredo** por haber compartido conmigo todas las experiencias vividas a lo largo de nuestra carrera, por su comprensión y ayuda en el desarrollo de nuestra tesis y por su valiosa amistad.

Cristian Alberto García Granadino

INDICE

	Pág.
Capítulo I	
1.0 Introducción	xxiii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	26
2.1 Objetivo General	26
2.2 Objetivos Específicos	26
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	28
3.1 Definiciones	28
3.1.1 Peces	28
3.1.1 Pescados	28
3.1.3 Productos de la pesca	28
3.1.4 Fileteado	28
3.2 Clasificación	28
3.3 Anatomía del músculo y su función	29
3.4 Principales constituyentes del músculo de pescado	31
3.4.1 Agua	33
3.4.2 Proteínas	33
3.4.3 Grasa	34
3.4.5 Carbohidratos	34
3.4.5 Sales minerales	35
3.4.6 Vitaminas	35
3.5 Tipos de contaminación en los alimentos	36
3.6 Cambios post- mortem en el pescado	36
3.7 Cambios en la calidad	37
3.8 Manipulación higiénica	37

3.9 Tipos de corte en pescados	44
3.9.1 Cortes en rodajas	44
3.9.2. Fileteado	45
3.10 Factores asociados a la actividad microbiana	47
3.11 Aseguramiento de la calidad del pescado fresco	48
3.12 Enfermedades transmitidas por alimentos	48
3.13 Microorganismos indicadores	49
3.14 Microorganismos patógenos	50
3.14.1 <i>Salmonella spp</i>	51
3.14.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	53
3.14.3 <i>Escherichia coli</i>	54
3.14.4 <i>Vibrio cholerae</i>	57
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	62
4.1 Tipo de Estudio	62
4.1.1 De campo	62
4.1.2 Experimental	62
4.1.3 Transversal	62
4.2 Investigación Bibliográfica	62
4.3 Investigación de Campo	63
4.3.1 Universo	63
4.3.2 Muestra	64
4.4 Determinación del número de muestras	64
4.4.1 Muestreo	64
4.4.2 Determinación y selección del número de supermercados.	64
4.5 Metodología para la guía de observación	69
4.6 Metodología para la toma y análisis de muestras	69
4.6.1 Procedimiento para la recolección de muestras	69

4.6.2	Identificación de la muestra	69
4.6.3	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	70
4.6.4	Aislamiento y prueba confirmativa para <i>Escherichia coli</i>	71
4.6.5	Pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i>	71
4.7	Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	74
4.7.1	Prueba de coagulasa para <i>Staphylococcus aureus</i> .	74
4.7.2	Prueba de catalasa para <i>Staphylococcus aureus</i>	75
4.8	Determinación de <i>Salmonella spp</i>	75
4.8.1	Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp</i>	76
4.9	Determinación de <i>Vibrio cholerae</i>	76
4.9.1	Prueba de oxidasa	77
4.9.2	Pruebas bioquímicas para <i>Vibrio cholerae</i>	77
Capítulo V		
5.0	Resultados y Discusión de Resultados	80
5.1	Resultados de la Guía de observación	80
5.2	Codificación de muestras	84
5.3	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	85
5.4	Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	88
5.5	Determinación de <i>Salmonella spp</i>	92
5.6	Determinación de <i>Vibrio cholerae</i>	96
5.7	Resumen global de las muestras analizadas	99
Capítulo VI		
6.0	Conclusiones	106
Capítulo VII		
7.0	Recomendaciones	109

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Ubicación de los supermercados en el Distrito dos, departamento de San Salvador.
- 2 Tabla de Distribución Normal Estándar.
- 3 Encuesta para conocer las preferencias del consumidor de pescado dentro de los supermercados del Distrito dos de San Salvador.
- 4 Guía de observación para la verificación de las condiciones higiénicas del establecimiento de comercialización de lonja de pescado y preferencias del consumidor dentro de los supermercados del Distrito dos de San Salvador.
- 5 Etiqueta para recolección de datos de las muestras en los supermercados.
- 6 Codificación de muestras por supermercados.
- 7 Criterios Microbiológicos de Vigilancia aplicados a Pescado, derivados y productos marinos según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.
- 8 Esquema para el aislamiento y conteo de *Escherichia coli*.
- 9 Datos para conteo en placa de *Escherichia coli*.
- 10 Esquema para la determinación y confirmación de *Escherichia coli*.
- 11 Esquema para el aislamiento de *Staphylococcus aureus*.
- 12 Esquema para la determinación y conteo de *Staphylococcus aureus*.
- 13 Datos para conteo en placa de *Staphylococcus aureus*.
- 14 Esquema para la identificación de *Staphylococcus aureus* por prueba de Coagulasa.
- 15 Esquema para la identificación de *Staphylococcus aureus* por prueba de Catalasa.
- 16 Esquema para tratamiento de la muestra en la determinación de

Salmonella spp.

- 17 Esquema para el aislamiento e identificación de *Salmonella spp.*
- 18 Esquema para el aislamiento de *Vibrio cholerae*.
- 19 Esquema, prueba de oxidasa para *Vibrio cholerae*.
- 20 Esquema de pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae*.
- 21 Fundamento de Pruebas Bioquímicas.
- 22 Tabla de pruebas bioquímicas para: *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae*.
- 23 Resultados de pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*.
- 24 Resultados de pruebas bioquímicas para *Salmonella spp*.
- 25 Resultados de pruebas bioquímicas para *Vibrio cholerae*.
- 26 Resultados de encuesta de preferencias.
- 27 Características macroscópicas de colonias típicas de *Escherichia coli* en los diferentes agares.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°		N° de Pág.
1	Morfología macroscópica de <i>Escherchia coli</i> .	71
2	Morfología macroscópica de <i>Staphylococcus aureus</i> .	74
3	Morfología macroscópica de <i>Salmonella spp.</i>	76
4	Morfología macroscópica de las colonias de <i>Vibrio cholerae</i>	77
5	Resultados de la guía de observación para la verificación de las condiciones higiénicas de los establecimientos de comercialización de lonja de pescado para primer y segundo muestreo.	80
6	Resultado general de análisis microbiológicos de lonjas de pescado en el primer y segundo muestreo.	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		N° de Pág.
1	Músculo de pescado fresco con visualización de las estructuras.	30
2	Musculatura esquelética del pez.	31
3	a) Pescado en franco proceso de deterioro. b) Pescado fresco.	37
4	Superficie de trabajo construido con material de fácil limpieza.	39
5	Equipos y material de fácil limpieza y desinfección destinado al procesamiento del fileteado.	40
6	Personal de planta de procesamiento, equipado apropiadamente para el trabajo higiénico de las lonjas.	41
7	Instalación de procesamiento de lonjas de pescado acorde con las exigencias higiénicas para la obtención de productos de calidad.	44
8	Presentación en rodajas de pescado para la venta.	45
9	a) Descamado del pescado. b) Extracción de la piel del pescado durante el proceso de fileteado.	46
10	a) Corte en paralelo a las espinas. b) Proceso de separación de la carne del hueso en el fileteado.	46
11	Filetes de tilapia listos para ser envasados en sus respectivas cajas de transporte.	47
12	Morfología microscópica de <i>Salmonella spp</i> , vista en MEB.	51
13	Morfología microscópica de <i>Staphylococcus aureus</i> , en MEB.	53

14	Morfología microscópica de <i>Escherichia coli</i> , vista en MEB.	54
15	Morfología microscópica de <i>Vibrio cholerae</i> vista en MEB.	57
16	Morfología macroscópica de <i>Vibrio cholerae</i> en agar TCBS.	59
17	Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para <i>Escherichia coli</i> según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1	88
18	Catalasa positiva para <i>Staphylococcus aureus</i> .	90
19	Coagulasa positiva para <i>Staphylococcus aureus</i> .	90
20	Gráfico de muestras que cumplen y no cumplen para <i>Staphylococcus aureus</i> según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1	91
21	Colonias sospechosas de <i>Salmonella spp</i> de color anaranjado claro con centro negro en Agar <i>Salmonella – Shigella</i> .	94
22	Colonias sospechosas de <i>Salmonella spp</i> de color rojo con centro negro en Agar XLD.	94
23	Gráfico de muestras que cumplen y no cumplen para <i>Salmonella spp</i> según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1, según la variedad.	95
24	Prueba de oxidasa, resultado positivo para <i>Vibrio spp</i> .	97
25	Colonias sospechosas de <i>Vibrio cholerae</i> de color amarillo en Agar TCBS.	98
26	Colonias sospechosas de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>Vibrio vulnificus</i> de color verde en Agar TCBS.	98
27	Gráfico de muestras que cumplen y no cumplen para <i>Vibrio cholerae</i> según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0,	99

	sub grupo 9.1.	
28	Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp</i> y <i>Vibrio cholerae</i> según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.	101
29	Gráfico porcentual de muestras que no cumplen con especificaciones para lonja de pescado según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1; de primer y segundo muestreo.	102
30	Gráfico porcentual de las variedades que cumplen y no cumplen con especificaciones para lonja de pescado según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nº		Nº de Pág.
1	Características de peces osteíctios y condriictios.	29
2	Principales constituyentes químicos (porcentaje en base húmeda) del músculo del pescado.	32
3	Aminoácidos esenciales (porcentaje) de varias proteínas.	34
4	Constituyentes minerales del músculo de pescado.	35
5	Distribución general de una planta de procesamiento de pescado.	43
6	Supermercados del distrito dos de San Salvador.	63
7	Número de supermercados por estrato.	64
8	Porcentaje por estrato de cada cadena comercial de supermercados.	66
9	Número de supermercados que se muestrearon por estrato.	67
10	Supermercados que se muestrearon.	67
11	Número de muestras de cada variedad por supermercado.	68
12	Interpretación de resultados para pruebas en Agar TSI	72
13	Resultados obtenidos en la determinación de <i>Escherichia coli</i> en lonjas de pescado, comparado con especificación del RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1.	85
14	Resultados obtenidos en la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en lonjas de pescado comparado con especificación de RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1.	88

15	Resultados obtenidos en la determinación de <i>Salmonella spp</i> en lonjas de pescado comparado con especificación RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1.	92
16	Resultados obtenidos en la determinación de <i>Vibrio cholerae</i> en lonjas de pescado comparado con especificación de RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1.	96

ABREVIATURAS

APB	Agua Peptonada Buferada.
Agar XLD	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato
Agar ABRV	Agar Rojo Violeta Bilis
BAM	Manual de Análisis Bacteriológico.
BHI	Caldo Infusión Cerebro Corazón.
Agar BP	Agar Baird Parker
CENSALUD	Centro de Investigación y Desarrollo en Salud
DNPC	Demasiado Numerosas Para Contar
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> .
EMB	Eosina-azul de metileno.
ETAs	Enfermedades transmitidas por alimentos.
FAO	Organización de las Naciones Unidas para agricultura y alimentación.
g	Gramo
H₂S	Sulfuro de hidrógeno.
MEB	Microscopio Electrónico de Barrido
MINSAL	Ministerio de Salud.
MR-VP	Caldo Rojo de Metilo - Voges Prokauer
NaCl	Cloruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
OMS	Organización Mundial de la Salud
RTCA	Reglamento Técnico Centroamericano
RV	Rappaport- Vassiliadis
rpm	revoluciones por minuto
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>spp</i>	Especies
S-S	Agar Salmonella- Shigella

TCBS	Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa
TSA	Agar Tripticasa Soya
TSI	Agar-hierro-triple azúcar
TT	Caldo Tetrionato
<i>V. cholerae</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colonia

RESUMEN

Los supermercados son uno de los establecimientos preferidos por la mayoría de la población para la adquisición de lonjas de pescado, debido a su limpieza e higiene. La lonja de pescado por tener un alto valor nutricional es un blanco perfecto para la proliferación de microorganismos, por lo que es importante conocer su calidad microbiológica.

El objetivo principal de este trabajo fue determinar la calidad microbiológica de la lonja de pescado comercializada en los supermercados del distrito dos del Área Metropolitana de San Salvador. Para este estudio se realizó previamente una encuesta para determinar la preferencia de los consumidores, determinando que las variedades más consumidas son: tilapia, curvina y tiburoncillo.

Se determinó por muestreo aleatorio estratificado el número de muestras y de establecimientos. En cada muestra se evaluó la presencia o ausencia de *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae*, recuento en placa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados se compararon con el RTCA 67.04.50:08, Gupo 9.0, Sub grupo 9.1. Los supermercados muestreados se evaluaron mediante una guía de observación que ayudó a determinar parámetros de contaminación y contaminación cruzada. Después se realizó un segundo muestreo de igual forma.

Se determinó que el 45.83% de las muestras cumplen con todas las especificaciones del RTCA. Además se encontraron otros microorganismos como *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella spp*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*, que no son exigidos por el RTCA para este alimento, pero pueden causar daños a la salud del consumidor debido a que algunos son patógenos (excepto *Staphylococcus*

epidermidis). Por ello se recomienda que la Defensoría del Consumidor y el MINSAL verifiquen el cumplimiento de las buenas prácticas de manipulación de los productos pesqueros.

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en el período de agosto a septiembre de 2017.

**CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN**

1.0 INTRODUCCIÓN

En la actualidad los contaminantes biológicos son la principal causa de enfermedades ⁽²⁹⁾, por ello es importante estar alertas en todo momento y especialmente entre los alimentos originarios de la pesca, puesto que son muy susceptibles al deterioro y a la contaminación por microorganismos patógenos propios del medio donde viven; también debido a la manipulación y almacenamiento inadecuado. Estos factores afectan directamente la salud del consumidor manifestándose generalmente con problemas gastrointestinales como: diarrea, vómito y en algunos casos, pueden llegar a complicarse provocando secuelas permanentes en el paciente, incluso la muerte.

Es importante recalcar que existen estudios acerca de la calidad del pescado crudo-entero, pero este estudio se enfocó en el análisis de la lonja de pescado, porque la mayoría de la población la prefiere. Por tal razón el objetivo principal de esta investigación fue determinar la calidad microbiológica de la lonja de pescado, que se comercializa en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

El método estadístico que se utilizó fue el muestreo aleatorio estratificado en el cual se seleccionaron 3 de los 8 supermercados que se encuentran en el distrito dos. De cada supermercado seleccionado se tomaron muestras al azar de las diferentes variedades de lonja (tilapia, curvina y tiburoncillo). A cada muestra se le determinó la presencia o ausencia de *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae* y recuento en placa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los supermercados seleccionados se evaluaron aplicando una guía de observación en dos semanas consecutivas donde se determinó que la manipulación inadecuada por parte de los manipuladores originó fuentes de contaminación.

Los análisis se realizaron en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) durante el período de agosto a septiembre de 2017. Los resultados obtenidos se compararon con los criterios microbiológicos para vigilancia, según Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 de Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Grupo 9.0 Pescados, derivados y productos marinos; Sub grupo: 9.1. De las muestras analizadas sólo el 45.83% cumplió con todas las especificaciones.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar la calidad microbiológica de lonja de pescado comercializada en supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Describir mediante una guía de observación las condiciones sanitarias de almacenamiento de lonja de pescado (tilapia, curvina, tiburoncillo) que se comercializa en los supermercados seleccionados, y verificar si estas inciden en los análisis.
- 2.2.2 Identificar la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae*.
- 2.2.3 Realizar recuento en placa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en muestras seleccionadas.
- 2.2.4 Comparar la calidad microbiológica de la lonja de pescado con las especificaciones que establece el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Alimentos, Grupo 9.0 Pescados, derivados y productos marinos, Sub grupo 9.1.

CAPÍTULO III
MARCO TEÓRICO

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Definiciones

3.1.1. Peces ⁽⁶⁾

Animales vertebrados de sangre fría: peces elasmobranquios y ciclóstomos.

3.1.2 Pescados ⁽¹⁰⁾

Según el Código alimentario para productos pesqueros el Pescado fresco es: un producto pesquero que no ha recibido ningún tratamiento de conservación fuera del enfriamiento.

3.1.3 Productos de la pesca ⁽²³⁾

Se entiende por productos de la pesca todas y cada una de las especies comestibles de pescado, mariscos y cefalópodos, marinos o de agua dulce, enteros, fraccionarios o cualquier parte de los mismos.

3.1.4 Fileteado ⁽¹²⁾

Se denomina fileteado al proceso por el cual se extraen láminas longitudinales de diferente grosor (filetes) de músculo sin espinas.

3.2 Clasificación

Los peces generalmente se definen como vertebrados acuáticos, que utilizan branquias para obtener oxígeno del agua y poseen aletas con un número variable

de elementos esqueléticos llamados radios ⁽²³⁾

Los peces se agrupan en dos grandes grupos: los agnatos, peces sin mandíbulas, y los que sí tienen, los gnatostomados, y que por esto pueden abrir y cerrar la boca. Estos últimos, engloban dos grandes clases de peces, los condriictios y los osteíctios. Hablamos de peces condriictios cuando nos referimos a los peces con esqueleto cartilaginoso (tiburones, rayas y quimeras); y de peces osteíctios cuando nos referimos a los peces con esqueleto óseo ⁽¹¹⁾.

Tabla Nº 1: Características de peces osteíctios y condriictios ⁽¹¹⁾.

Peces Osteíctios	Peces Condriictios
Esqueleto óseo o mayoritariamente osificado	Esqueleto cartilaginoso
Branquias cubiertas por el opérculo	Branquias cubiertas por las hendiduras branquiales
Cuerpo generalmente revestido de escamas	Cuerpo revestido de escamas placoideas o dentículos dérmicos
Generalmente presentan vejiga natatoria	No tienen vejiga natatoria
Dientes soldados a la mandíbula	Dientes no soldados a la mandíbula
Radios de las aletas segmentados de origen dérmico	Radios que sostienen las aletas cartilaginosas

3.3 Anatomía del músculo y su función

Los peces son animales acuáticos que disponen de un mecanismo capaz de utilizar el oxígeno disponible en el agua para su respiración (branquias). Estos seres vivos poseen una estructura ósea conformada por una columna vertebral

que va de la cabeza a la cola y está formada por vertebras, dichas formaciones se prolongan lateralmente, formando las costillas (conocida como espinas) ^{(10) (19)}.

La anatomía del músculo del pez difiere de la anatomía de los animales terrestres, porque carece del sistema tendinoso (tejido conectivo) que conecta los paquetes musculares al esqueleto del animal. En cambio, los peces tienen células musculares que corren en paralelo, separadas perpendicularmente por tabiques de tejido conectivo (miocomata), ancladas al esqueleto y a la piel. Los segmentos musculares situados entre estos tabiques de tejido conectivo se denominan miotomas ⁽¹²⁾, ver Figura N° 1.

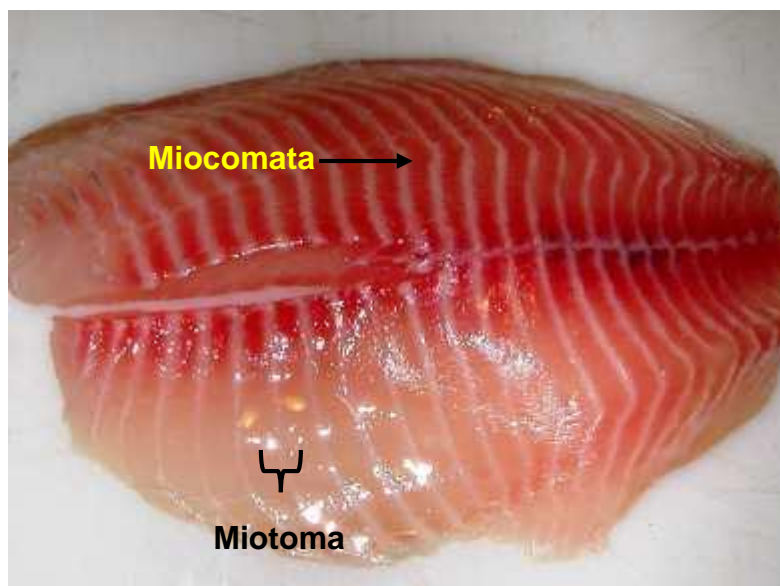


Figura N° 1. Músculo de pescado fresco con visualización de las estructuras ⁽¹²⁾.

Generalmente el tejido muscular del pez es blanco, pero dependiendo de la especie, muchos presentan cierta cantidad de tejido oscuro de color marrón o rojizo. El músculo oscuro se localiza exactamente debajo de la piel a lo largo del cuerpo del animal ⁽²³⁾.

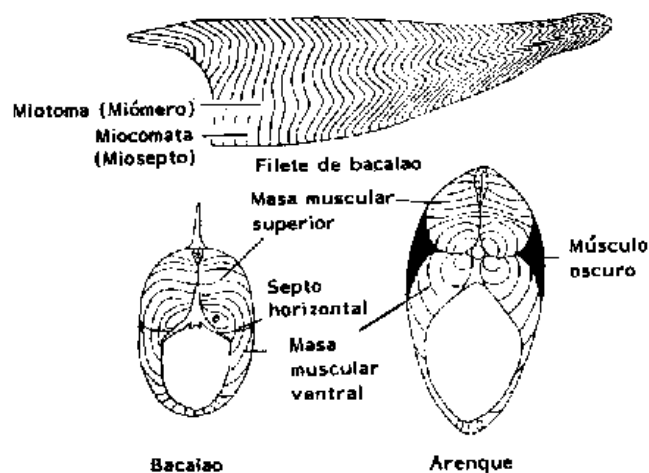


Figura N° 2. Musculatura esquelética del pez ⁽¹²⁾.

La proporción entre músculo oscuro y músculo blanco varía con la actividad del pez. En los pelágicos, es decir, especies como el arenque y la caballa, que nadan más o menos en forma continua, hasta el 48% de su peso puede estar constituido por músculo oscuro. En los peces que se alimentan en el fondo del mar y se mueven sólo periódicamente, la cantidad de músculo oscuro es muy pequeña.

Hay muchas diferencias en la composición química de los dos tipos de músculo, siendo algunas de las más notables el alto contenido de lípidos y hemoglobina presentes en el músculo oscuro. Desde el punto de vista tecnológico, el alto contenido de lípidos del músculo oscuro resulta importante debido a los problemas asociados con la rancidez ⁽¹²⁾.

3.4 Principales constituyentes del músculo de pescado

El pescado y los productos pesqueros contienen agua, proteínas, otros compuestos nitrogenados, lípidos, hidratos de carbono, minerales y vitaminas. La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes

especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y temporada. Durante los períodos de intensa alimentación, el contenido de proteínas del músculo aumenta hasta una extensión que depende de la cantidad de proteína agotada ⁽²³⁾.

Para el procesamiento del pescado el piscicultor debe de considerar estos factores para obtener un buen rendimiento de la carne, en especial si el destino es el fileteado, en dicho aspecto, el pescado seleccionado para la faena debe estar bien alimentado, robusto para que el contenido de proteína del musculo sea bueno y con impregnación de lípido que le dará el sabor y terneza necesaria para que sea sabrosa y exquisita en el momento del consumo. El pescado es uno de los productos con mayor tenor de fuente de sustancias nutritivas para el alimento humano, es por dicho motivo de vital importancia conocer sus distintos constituyentes.

En el siguiente cuadro se presentan los principales componentes químicos del músculo del pescado en cantidad porcentual mínima como máxima.

Tabla N° 2: Principales constituyentes químicos (porcentaje en base húmeda) del músculo del pescado ⁽¹²⁾.

Constituyentes	Proporción en % (intervalo)
Agua	70 a 80
Proteína	15 a 22
Grasa	1 a 22
Carbohidratos	0.5
Sales minerales, fósforo, sodio, calcio y yodo	0.1 a 1
Vitaminas	A, B, D y E

3.4.1 Agua

La carne de pescado está compuesta principalmente en un 70 a 80% de agua, dicho porcentaje en el musculo fresco depende principalmente de su contenido en grasa, existiendo por lo general una relación inversa entre estos componentes, cuando más graso es el pescado, menor es el contenido en agua ⁽¹²⁾.

3.4.2 Proteínas

Las proteínas del músculo del pez se pueden dividir en tres grupos:

1. Proteínas estructurales (actina, miosina, tropomiosina y actomiosina), que constituyen el 70-80 por ciento del contenido total de proteínas (comparado con el 40 por ciento en mamíferos). Estas proteínas son solubles en soluciones salinas neutras de alta fuerza iónica (³ 0,5 M).
2. Proteínas sarcoplasmáticas (mioalbúmina, globulina y enzimas), que son solubles en soluciones salinas neutras de baja fuerza iónica (0,15 M). Esta fracción constituye el 25-30 por ciento del total de proteínas.
3. Proteínas del tejido conectivo (colágeno), que constituyen aproximadamente el 3 por ciento del total de las proteínas en teleósteos y cerca del 10 por ciento en elasmobranquios (comparado con el 17 por ciento en mamíferos) ⁽¹⁴⁾.

En la proteína de pescado encontramos varias sustancias importantes para el desarrollo de ciertas funciones en el cuerpo aminoácidos esenciales (estos no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano) en abundancia. En la tabla N° 3 se presentan los porcentajes de los 8 aminoácidos esenciales presentes en el pescado, en la que figura la lisina (fundamental en niños para el crecimiento), el triptófano (se utiliza para formación de la sangre).

Tabla N° 3: Aminoácidos esenciales (porcentaje) de varias proteínas ⁽¹²⁾.

Porcentaje de aminoácidos presentes en el pescado.	
Aminoácido	Pescado (%)
Lisina	8.8
Triptófano	1
Histidina	2
Fenilalanina	3.9
Leucina	8.4
Isoleucina	6
Treonina	4.6
Metionina-cistina	4
Valina	6

3.4.3 Grasa

Los triglicéridos son a menudo denominados depósitos de grasa. Algunos peces contienen ceras esterificadas como parte de sus depósitos de grasa ⁽¹²⁾.

Este componente experimenta variaciones en las especies, donde se distinguen los peces magros y grasos, presentan un predominio de los ácidos grasos polinsaturados, destacando los omega 3 por sus propiedades antiagregantes, vasodilatadoras y reductoras de los niveles sanguíneos de triglicéridos que son muy beneficiosas para la salud del consumidor ⁽¹⁴⁾.

3.4.5 Carbohidratos

En la carne de pescado el contenido de energía es poco significativo, en donde el porcentaje de concentración no supera el 1% ⁽¹²⁾.

3.4.5 Sales minerales

La que se encuentra en mayor abundancia en el pescado es el fosforo, sodio, calcio y yodo. Los minerales de la carne de pescado representan unos 0,1 a 1 % de la misma. Cabe señalar que el contenido de sodio de carne de pescado es relativamente bajo, lo que lo hace adecuado para dietas bajas en sodio.

Tabla N° 4: Constituyentes minerales del músculo de pescado ⁽¹²⁾.

Elemento	Valor promedio (mg/100g)	Rango (mg/100g)
Sodio	72	30 – 134
Potasio	278	19 – 502
Calcio	79	19 – 881
Magnesio	38	4,5 – 452
Fósforo	190	68 – 550

3.4.6 Vitaminas

La cantidad de vitaminas y minerales es específica de la especie. La carne de pescado es una buena fuente de vitamina B y en el caso de las especies grasas Respecto a los minerales, la carne de pescado se considera una fuente particularmente valiosa de calcio y fósforo, así como también de hierro y cobre. Los peces contienen una cantidad considerable de vitaminas, entre las cuales podemos mencionar a las vitaminas A, D, E, F, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, la niacina, la biotina, el ácido fólico, entre otros ⁽³¹⁾. Estas vitaminas desempeñan funciones muy importantes en el organismo como, por ejemplo:

- La Vitamina A y E, poseen acción antioxidante, es decir, constituyen un factor protector frente a ciertas enfermedades degenerativas, cardiovasculares y al cáncer.

- La vitamina C, ayuda a prevenir la formación de NITROSAMINA, un poderoso agente causante del cáncer ⁽¹²⁾.

3.5 Tipos de contaminación en los alimentos

La rapidez de la descomposición está relacionada a:

- **Contaminación primaria:** (presencia inicial de microorganismos) a los que está expuesta la carne (filete).
- **Contaminación directa:** este proceso de deterioro está relacionado con los contaminantes llegan al alimento por medio de la persona que los manipula. Este tipo de contaminación posiblemente es la forma más simple y común de contaminación de los alimentos.
- **Contaminación cruzada:** Esta contaminación se entiende como el paso de un peligro presente en un alimento a otro que se encontraba inocuo, utilizando como vehículo superficies o utensilios que han estado en contacto con ambos alimentos sin la debida limpieza y desinfección requerida ⁽¹⁵⁾.

3.6 Cambios post- mortem en el pescado

Los peces, como en todos los seres vivos, inmediatamente a la muerte acontece, una cadena de eventos que conllevan inevitablemente al deterioro y putrefacción de la carne del animal. Dicha condición obliga a mantener vivos los animales hasta minutos antes del procesamiento y que dicha operación sea lo más rápida posible para presentar al consumidor un producto de buena calidad y fresco para la venta directa o para aplicar alguna técnica de conservación al producto ⁽¹²⁾.

La carne del pez sufre dos tipos de proceso de destrucción posterior a la muerte, la denominada autodestrucción (autólisis) y la destrucción por microorganismos.

Autólisis significa "auto-digestión". Se sabe desde hace muchos años que existen por lo menos dos tipos de deterioro en el pescado: bacteriano y enzimático. Al momento de la muerte, el suministro de oxígeno al tejido muscular se interrumpe porque la sangre deja de ser bombeada por el corazón y no circula a través de las branquias donde, en los peces vivos, es enriquecida con oxígeno. Dado que el oxígeno no está disponible para la respiración normal, se restringe la producción de energía a partir de los nutrientes ingeridos ⁽¹⁴⁾.

3.7 Cambios en la calidad

Al morir el pez, la musculatura es atacada por microorganismos del ambiente, generándose la descomposición del material hasta llegar a la putrefacción ⁽²³⁾. Además, se produce otros fenómenos que son la degradación autolítica que acrecienta las condiciones propicias para que los microorganismos invadan y actúen ⁽¹⁰⁾.



Figura N° 3. a) Pescado en franco proceso de deterioro. b) Pescado fresco ⁽¹²⁾.

3.8 Manipulación higiénica

El manipulador debe mantener la limpieza en el local de procesamiento de

pescado, buscando la manera de evitar que el producto entre en contacto con superficies contaminantes, manteniendo en el lugar de trabajo la higiene. Esta condición es debido a que el principal factor que determina la descomposición de la carne, son los microorganismos. En el local el manipulador debe cuidar los siguientes aspectos ⁽¹²⁾.

- **Agua**

La potabilidad del agua que se utiliza para el procesamiento es esencial para la seguridad del pescado que va a ser utilizado como alimento. El agua no solo es la que se utiliza para el lavado del producto o la higiene del personal y los equipos, sino también se incluyen el hielo que se usa para el sacrificio y el mantenimiento de la cadena de frío dentro del lugar de procesamiento.

El cloro es un producto que se utiliza para mejorar la calidad del agua que será utilizada en el local de procesamiento, pero es importante tener en cuenta que su uso en forma indiscriminada puede resultar tóxico para el ser humano.

La acción del cloro en el agua radica en su alto poder oxidante en la estructura celular de las bacterias, destruyendo las reacciones bioquímicas normales que se generan en su organismo. Además reacciona con otros elementos presentes en la misma que generan olores y sabores desagradables mejorando su calidad.

El efecto de la aplicación del cloro está relacionado con las condiciones del medio en donde se realiza el tratamiento, en dicho aspecto los factores que lo determinan son: pH, temperatura, tiempo de contacto y la concentración del producto ⁽¹²⁾.

- Superficie de trabajo

Las superficies de trabajo del local de procesamiento de pescado deben ser construidas de materiales de fácil limpieza y desinfección (mesada de acero inoxidable). La limpieza debe realizarse posterior a cada faena, utilizando agua potable y utensilios adecuados como cepillos, escobas, detergentes y una limpieza a conciencia para lograr la eliminación de la mayor cantidad posible de microorganismos.

La limpieza y desinfección constituye un procedimiento vital en el procesamiento del pescado, ya que buscan la reducción de los niveles de la flora microbiana existentes a rangos seguros. Las mesas de madera no se recomiendan, por la absorción de la humedad y por la dificultad para su limpieza, generando una multiplicación de microorganismos que pueden contaminar el producto y deteriorar con más rapidez.



Figura N° 4: Superficie de trabajo construido de material de fácil limpieza ⁽¹²⁾.

- Equipos y herramientas

Los equipos y herramientas utilizadas en el proceso de faena de los peces deben ser de fácil limpieza y desinfección. Estos elementos deben ser

limpiados y esterilizados por cada faena realizada para mantener la asepsia de las mismas ⁽¹²⁾.



Figura N° 5: Equipos y material de fácil limpieza y desinfección destinado al procesamiento del fileteado ⁽¹²⁾.

- **Limpieza personal**

En el local de procesamiento de pescado se debe evitar la introducción de microorganismos que provoquen enfermedades a las personas que consumen el producto. Los microbios para que llegue a la planta de procesamiento de pescado, necesitan de un transportador debido a que no dispone de un sistema de locomoción, en dicho aspecto, el operario del local es el principal elemento que utilizan estos microorganismos para llegar a la planta, es por dicho motivo que el personal que trabaja en el procesamiento, debe ser una persona responsable que practique reglas básicas sobre su higiene personal, su vestimenta y sus hábitos durante la manipulación del pescado.

Los trabajadores del local deben mantener el aseo y cumplir unos requisitos antes de acceder al local de faena. Al respecto, se recomienda disponer en las instalaciones de un vestuario en donde el personal pueda asearse y

colocar sus atuendos de trabajo, para evitar introducir en el local microorganismos, así también, en el acceso se debe disponer de un pediluvio.

Se presenta a continuación algunos hábitos y comportamientos que el personal debe cumplir para el procesamiento higiénico de los peces en el local y son:

- Mantener las manos limpias
- No deben usar ningún tipo de objeto como anillos, relojes, pulseras, etc.
- Cubrir la boca con tapabocas
- Utilizar gorros (cofia) para cubrir el pelo
- Utilizar guantes de fácil higienización
- Utilizar delantales plásticos lavables y de fácil desinfección
- Botas de hule antiderrapantes
- Mantener uñas cortas, limpias y sin barniz
- Ropa de trabajo limpio
- Cabello cubierto
- No toser o estornudar frente al alimento
- No tocarse la nariz, el pelo y la cabeza ⁽¹²⁾.



Figura Nº 6: Personal de planta de procesamiento, equipado apropiadamente para el trabajo higiénico de las lonjas ⁽¹²⁾.

- **Almacenamiento**

El lugar de almacenamiento del producto debe ser construido de materiales de fácil limpieza y ubicarse en un lugar cerrado, seco y bien ventilado alejado de lugares que puedan contaminarlo como basureros o agua estancada. En los depósitos de almacenamiento los alimentos deben ser ubicados según el criterio de PEPS (los primeros en entrar deben ser los primeros en salir para su comercialización o consumo) de tal forma a que el producto se mantenga el menor tiempo posible en el lugar ⁽¹²⁾.

- **Instalaciones**

El local de trabajo se recomienda que sean construidos de material que no absorban el agua para evitar el crecimiento de las bacterias, las paredes de la zona de procesamiento deben estar cubiertas de material de fácil limpieza liso para no tener resquicios en donde puedan quedar microorganismos, con una disponibilidad de abundante agua de buena calidad para la limpieza posterior al uso.

La planta de procesamiento de pescado debe estar planificada en dos áreas bien definidas de trabajo, una zona denominada sucia y la otra limpia. Estos sitios deben estar bien separados unos con otros de tal forma a que el producto en el procesamiento final (área limpia) no se contamine (ver Tabla N° 5). El sitio de recepción de materia prima debe estar preparado para ubicar los peces trasladados para su procesamiento y conseguir una buena depuración antes del sacrificio. La zona debe contar con abundante agua para permitir la circulación permanente de la misma en los reservorios para la limpieza de los peces.

Tabla Nº 5: Distribución general de una planta de procesamiento de pescado ⁽¹²⁾.

Áreas	Sub áreas	Sitios
Sucia (gris)	Servicio	Vestidores
		Sanitarios
	Proceso del producto	Recepción de materia prima
		Pileta de sacrificio
		Mesa de trabajo
		Sala de materiales de trabajo
		Oficina administrativa
Limpia (blanca)	Proceso del producto	Mesa de trabajo de proceso final
		Zona de empaque
		Cámara frigorífica de almacenamiento
		Expendio de producto terminado

El lugar debe estar ubicada cercana a la pileta de sacrificio (si se utiliza el choque térmico) y la mesada de trabajo, de tal forma a facilitar al personal la manipulación de los peces para su procesamiento. Así también, los materiales de trabajo deben estar cerca de dicho sitio para disminuir las pérdidas de tiempo y conseguir mayor eficiencia del trabajador.

El proceso final consiste en la recepción del producto a través de una ventana separadora de las dos áreas, ya con la limpieza correspondiente de tal forma a realizar los últimos retoques para el empaque final del producto y trasladarlo en la zona de almacenamiento de acuerdo al procesamiento de terminación que se desee realizar. En particular si se mantendrá congelado se debe ubicar en una cámara a -16°C para su acumulación para la venta.

En las instalaciones deben evitarse presencia de insectos, roedores, perros, gatos debido a que pueden portar enfermedades y microorganismos que generen contaminación del producto. En la planta de procesamiento y zonas aledañas se

recomienda evitar la acumulación de residuos que atraigan a las plagas, como así también, mantener la higiene en el área de procesamiento.

La prevención y el control de estas plagas se pueden realizar mediante un plan estratégico, buscando las acciones oportunas de acuerdo al problema que se presente. La prevención es lo más aconsejable de tal forma a evitar los problemas potenciales que generen pérdidas a la empresa ⁽¹²⁾.



Figura N° 7: Instalación de procesamiento de lonjas de pescado acorde con las exigencias higiénicas para la obtención de productos de calidad ⁽¹²⁾.

3.9 Tipos de corte en pescados

3.9.1 Cortes en rodajas

Para esta presentación se efectúan cortes en forma transversal en pequeños trozos que pueden ser con o sin hueso en diferentes tamaños. Esta forma de presentación es muy común en peces nativos de gran tamaño. Los cortes facilitan la venta parcial de ejemplares que normalmente pesan varios kilos.



Figura N° 8. Presentación en rodajas de pescado para la venta ⁽²²⁾.

3.9.2. Fileteado

Se denomina fileteado al proceso por el cual se extraen láminas longitudinales de diferente grosor (filetes) de músculo sin espinas. Dicha técnica es muy utilizada en nuestro medio especialmente en tilapias, donde los consumidores aprecian este tipo de presentación. El fileteado se practica en muchas especies que se comercializan en nuestro medio. Los rendimientos de filetes son relativamente bajos (alrededor de 30 a 40% con relación al peso del pescado entero), dependiendo del tamaño del ejemplar. La ventaja del fileteado para el consumidor es la de disponer de un producto sin espinas, de excelente presentación a la vista, por lo que es altamente demandado.

Por su parte, los filetes ocupan un espacio relativamente pequeño que facilita la exposición en el mercado y abarata los costos de transporte y se ofrece con un valor elevado. Para lograr esta presentación, sin embargo, el productor requiere instalaciones y equipamiento adecuados, como así también, de personal entrenado para realizar el proceso ⁽²²⁾.

Existen dos técnicas de fileteado: Una es la **evisceración previa** y la otra **sin extracción de las vísceras**. El proceso consiste en lo siguiente: el primer paso es la extracción de las escamas utilizando un descamador y las aletas del

pescado, posteriormente se realiza un corte superficial de la piel delimitando el filete en ambos lados del animal, procediendo a la extracción de la misma.

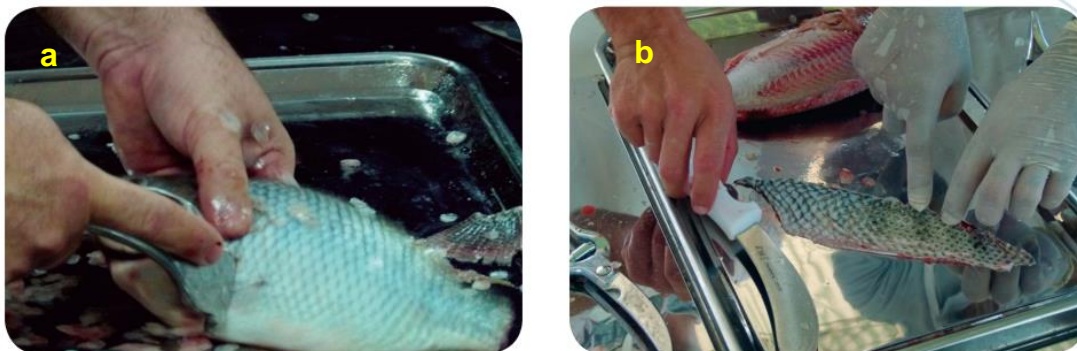


Figura N° 9. a) Descamado del pescado. b) Extracción de la piel del pescado durante el proceso de fileteado ⁽¹²⁾.

Seguidamente se coloca el pescado sobre la mesa de filetear de costado con la cabeza hacia la derecha y el lomo del lado del que procesa, luego se realiza un corte paralelo a las espinas dorsales que va desde la cabeza a la cola, dicho corte se recomienda que sea de una vez y que alcance la inserción de las costillas a las vértebras y finalmente se procede a levantar con la mano opuesta el corte anterior y se completa la separación del filete de las costillas en el mismo sentido del primer corte obteniendo el filete del lado izquierdo.

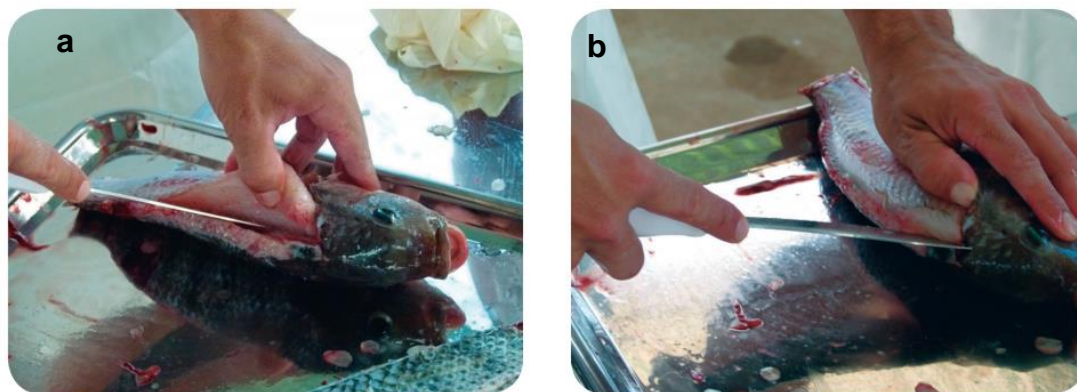


Figura N° 10. a) Corte en paralelo a las espinas. b) Proceso de separación de la carne del hueso en el fileteado ⁽¹²⁾.

Del mismo modo se procede a la separación del filete del lado derecho, la diferencia radica en que los cortes se realizan de la cola hacia la cabeza. El último proceso es la extracción de las espinas que salen de las vértebras en dirección a la línea lateral, próximas a la cabeza y se remueven con un corte en “v”. Los filetes extraídos deben ser inmediatamente separados de la zona de procesamiento para su lavado, escurrido, envasado al vacío (de acuerdo al proveedor) y almacenado.



Figura N° 11: Filetes de tilapia listos para ser envasados en sus respectivas cajas de transporte ⁽¹²⁾.

3.10 Factores asociados a la actividad microbiana

El tipo y velocidad de deterioro microbiano en productos pesqueros se asocia a los siguientes factores:

- Tipo de organismo: pescado, equinodermo, crustáceos, moluscos; bentónico, pelágico; magro, semigraso, graso.
- Tipo de grado de contaminación bacteriana en tejido muscular o porción comestible: atribuible a factores como zona de captura arte y método de pesca.
- Tipo de manipulación a bordo de las embarcaciones pesqueras, carga y descarga del producto.

- Temperatura de conservación: en hielo, refrigeración, congelación, manejo a temperatura ambiente.
- Uso de conservadores: empleo de agentes químicos o antibióticos en forma de baño o adicionados al hielo.
- Condiciones fisiológicas del organismo: relajado, fatigado, vacuidad o plenitud de su aparato digestivo ⁽⁸⁾.

3.11 Aseguramiento de la calidad del pescado fresco

Los pescadores artesanales, pescan por algunas horas y regresan a vender sus capturas en la playa mientras los peces continúan aún vivos o muy frescos, no requieren un sistema complicado de aseguramiento de la calidad.

Sus compradores conocen muy bien la calidad del pescado y generalmente el pescado es capturado, vendido y consumido en el mismo día. Sin embargo, ninguna compañía productora de alimentos, procesadora o distribuidora, puede mantenerse en el medio o a largo plazo, a menos que los temas sobre la calidad sean reconocidos apropiadamente y tratados, y sea puesto en operación un sistema de calidad apropiado en el establecimiento procesador.

Es importante verificar la calidad del producto en todas sus etapas de distribución o procesamiento, de no ser así pueden haber costos económicos y en el peor de los casos atentados a la salud de los consumidores ⁽²³⁾.

3.12 Enfermedades transmitidas por alimentos

Definición

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001), las enfermedades

transmitidas por alimentos se definen como «El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas» ⁽²⁶⁾.

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) son aquellas enfermedades de carácter infeccioso o tóxico, causadas por agentes (biológicos, químicos o físicos) que penetran al organismo usando como vehículo un alimento ⁽¹⁵⁾.

Factores de riesgo

Son los factores que contribuyen a los riesgos que surgen del consumo de alimentos y se relacionan con los tipos de poblaciones y estilos de vida de los consumidores.

En países como El Salvador esto ha cambiado durante las últimas dos décadas en razón de conflictos de índole económica, social o política que trajeron como consecuencia un deterioro de los recursos naturales creando un medio de baja calidad con repercusiones sobre la disponibilidad de una buena producción alimentaria ⁽²⁾.

3.13 Microorganismos indicadores

Estos microorganismos son útiles para dar información sobre condiciones inadecuadas de higiene, almacenamiento y posibilidad de descomposición del producto. Los microorganismos que se utilizan para la determinación de posible contaminación son especies de enumeración más fácil y cuya presencia en cierto número se considera como un indicador de que los alimentos estuvieron

expuestos a condiciones que pudieran determinar la llegada a los mismos microorganismos peligrosos y/o permiten la proliferación de especies patógenas o toxigénicas.

Los grupos de microorganismos o especies se denominan organismos indicadores y son de gran utilidad para determinar la calidad bacteriológica de los alimentos como garantía al consumidor ⁽⁶⁾.

3.14 Microorganismos patógenos

Los microorganismos patógenos dan información sobre la posibilidad de que el alimento sea responsable de producir una infección o intoxicación en el consumidor. Por lo tanto, la presencia de estos microorganismos en el alimento (alimento marino) constituye un gran riesgo para la salud. Estos tienen distintos mecanismos de acción que pueden dar origen a enfermedades de tipo alimentarias, puede ocurrir a través de una infección donde el microorganismo se multiplica en el ser humano antes de que inicien los síntomas, transcurriendo por lo general más de 24 horas, entre la ingestión del alimento y los síntomas.

En el caso de una intoxicación el microorganismo elabora la toxina en el alimento y los síntomas de la enfermedad aparecen después de pocas horas de ser ingerido. La gravedad de la enfermedad depende de varios factores como son: el número inicial de células, la cantidad de toxinas preformada en el alimento, la virulencia de la cepa patógena, y la sensibilidad de la persona que consume el alimento. Existen grupos de personas de alto riesgo como son los niños pequeños, personas ancianas, y enfermos, los cuales son más propensos a las enfermedades de tipo alimentarias ⁽⁶⁾.

Entre los microorganismos que abarca este estudio se encuentran: *Salmonella*

spp, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae*.

3.14.1 *Salmonella spp.*



Figura N° 12. Morfología microscópica de *Salmonella spp*, vista en MEB ⁽³¹⁾.

Salmonella spp es un género de bacterias que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, formado por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con flagelos periticos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S) ⁽³⁾. Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa ⁽²⁴⁾.

Es un agente productor de zoonosis de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar ⁽¹⁹⁾.

Taxonomía

El género *Salmonella spp* es de taxonomía difícil, modificada en estos últimos años por el aporte de estudios moleculares de homología de ADN que han clarificado el panorama taxonómico de las enterobacterias.

Es un bacilo patógeno primario (como *Shigella*, *Yersinia* y ciertas cepas de *Escherichia coli*). Además de esta se encuentra la *Salmonella typhi*, es la única serovariedad que no produce gas en la fermentación de los azúcares ⁽¹⁹⁾.

Taxonómicamente, todas las cepas de *Salmonella* pertenecen a una especie, *S. entérica*, pero esta nomenclatura no se ha capturado y el género sigue siendo reconocido por los nombres de especies populares, muchos de los cuales se nombran en base a serotipos y brotes: ⁽²⁴⁾

- *Salmonella enteritidis* (enteritis)
- *Salmonella typhimurium* (enteritis)
- *Salmonella choleraesuis* (septicemia)
- *Salmonella typhi* (fiebre entérica, transporte asintomático)
- *Salmonella paratyphi* (fiebre entérica, transporte asintomático)

Epidemiología

La salmonelosis entérica está habitualmente causada por *Salmonella entérica*, es de importancia en países en desarrollo, donde su incidencia está en aumento, y en algunos países, la enfermedad es endémica ⁽³⁾.

La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria, en especial por alimentos de origen animal. El período de incubación es por lo general entre 12 a 36 horas, a veces hasta 6 y 48 horas. La *Salmonella spp* habita normalmente en la superficie de los huevos, la piel de tomates y de aquellos frutos y verduras que tienen contacto con la tierra. La fiebre tifoidea es otra de las enfermedades que pueden ser ocasionadas por bacterias del género *Salmonella spp* ⁽²⁴⁾.

Habitualmente esta enfermedad está provocada por cepas de *Salmonella entérica* subespecie entérica serotipo 56 *typhi* (*Salmonella typhi*). El único

reservorio de la *Salmonella typhi* es el hombre, de modo que se transmite de una persona a otra. Existen métodos destinados a evitar la proliferación de este género en los alimentos, por ejemplo, destruir la bacteria en los alimentos mediante la cocción, evitar la contaminación cruzada durante la manipulación de los mismos y almacenar los alimentos a bajas o altas temperaturas para evitar su crecimiento ⁽¹⁹⁾.

3.14.2 *Staphylococcus aureus*

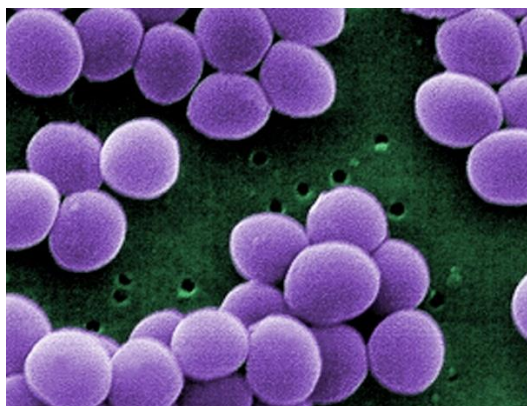


Figura N° 13: Morfología microscópica de *Staphylococcus aureus*, en MEB ⁽³¹⁾.

Staphylococcus aureus es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas, que se dividen en más de un plano, por lo que se agrupan regularmente en racimos. Son inmóviles y carecen de esporas. Son gram positivas. Su metabolismo es de tipo fermentativo, son aerobios y anaerobios facultativos, catalasa y oxidasa positivo. Son capaces de fermentar la glucosa sin producción de gases y producen acetil metilcarbinol. Fermentan el manitol con formación de ácidos y puede hacerlo en anaerobiosis ⁽¹⁶⁾. No hidrolizan el almidón y son capaces de crecer en presencia de un 40% de bilis. Soportan tasas elevadas de cloruro sódico, hasta un 15%. La temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos ⁽⁴⁾.

Poseen una enzima, la coagulasa, que la diferencia del resto de las especies del género; esta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina. Poseen igualmente una desoxirribonucleasa que es una nucleasa exocelular que depolimeriza el ADN, a esta enzima se la denomina termonucleasa, por ser termoresistente en las cepas de aureus ⁽¹⁷⁾.

Epidemiología

El *Staphylococcus aureus* es un agente patogénico que se encuentra en la piel del individuo sano, pero en ocasiones en que las defensas de la piel caen puede causar enfermedad. El principal grupo de riesgo son pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos ⁽⁴⁾.

Infección

Infección de piel y partes blandas. Neumonía. Enfermedades por toxinas (síndrome de la piel escaldada, síndrome del shock tóxico y gastroenteritis) ⁽⁴⁾.

3.14.3 *Escherichia coli*



Figura N° 14. Morfología microscópica de *Escherichia coli*, vista en MEB ⁽³¹⁾.

Escherichia coli (mejor conocida por la abreviación de su nombre, *E. coli*) es

quizás el organismo más estudiado por el ser humano se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras. Fué descrita por primera vez en 1885 por Theodore Von Escherich, bacteriólogo alemán, quién la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. Ésta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de producir las vitaminas B y K. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de gram (gram negativo), es anaeróbico facultativo, móvil por flagelos periticos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa.

Es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biotecnología molecular ⁽⁶⁾.

Función normal

Escherichia coli, en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de mamíferos sanos. Es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. En individuos sanos, actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes ⁽⁵⁾. En humanos, *Escherichia coli* coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida ⁽⁶⁾.

Escherichia coli O157: H7

Escherichia coli O157: H7 es una de cientos de cepas de la *Escherichia coli*. Aunque la mayoría de las cepas son inocuas y viven en los intestinos de los seres

humanos y animales saludables, esta cepa produce una potente toxina y puede ocasionar enfermedades graves como el síndrome urémico hemolítico ⁽⁵⁾,

Se diferencia de las otras *Escherichia coli* en que no fermenta el sorbitol, no crece a 44 °C y no produce β -glucoronidasa. La combinación de letras y números en el nombre de la bacteria se refiere a los marcadores antigénicos específicos que se encuentran en su superficie y la distingue de otros tipos de *Escherichia coli*:

- El antígeno somático O, proveniente del lipopolisacárido de la pared celular.
- El antígeno flagelar H, compuesto por 75 polisacáridos ⁽⁶⁾.

El grupo de riesgo comprende prácticamente a todas las personas inmunocomprometidas o no. Sin embargo, los niños menores de 5 años y los ancianos; son los más susceptibles de contraer complicaciones graves ⁽²⁰⁾.

Patogenia

Escherichia coli puede causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis y septicemia ⁽⁵⁾.

Virulencia

La *Escherichia coli* tóxica está dividida por sus propiedades virulentas, pudiendo causar diarrea en humanos y otros animales. Otras cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad. Generalmente afecta a niños entre 1 año y 8 años, causado generalmente por la contaminación de alimentos, y posterior mala cocción de los mismos, es decir, a temperaturas menores de 70 °C ⁽⁵⁾.

Infecciones urinarias

Son más comunes en mujeres por lo corto de la uretra (25–50 mm / 1-2 pulgadas) en comparación con los hombres (unos 20 cm / 8 pulgadas). Entre los ancianos, las infecciones urinarias tienden a ser de la misma proporción entre hombres y mujeres. Los malos hábitos sanitarios pueden predisponer a una infección y en muchos casos el evento iniciante de la infección es desconocida ⁽⁵⁾.

Clasificación

- *Escherichia coli enteropatogénica* (ECEP) se conoce, principalmente, como la causa de brotes de diarrea neonatal aguda, se producen con frecuencia en instituciones infantiles con poca higiene, especialmente en épocas calurosas.
- *Escherichia coli enterotoxigénica* (ECET) produce la denominada diarrea del viajero y es la causa principal de diarrea en países subdesarrollados, especialmente entre niños.
- *Escherichia coli enteroinvasiva* (ECEI) es el agente causal de la colibacilosis, la enfermedad afecta a niños y adultos.
- *Escherichia coli enterohemorrágica* (ECEH) conocido también como *Escherichia coli* O157:H7 es de origen bovino y se difunde a través de la leche y alimentos como carne picada de bovino, cordero y cerdo ⁽⁵⁾ ⁽²⁰⁾.

3.14.4 *Vibrio cholerae*



Figura Nº 15: Morfología microscópica de *Vibrio cholerae* vista en MEB ⁽³¹⁾.

Los Vibriones se encuentran entre las bacterias más comunes en aguas poco profundas en todo el mundo. Son bacilos aerobios curvos, dotados de motilidad, poseen un flagelo polar. El serogrupo O1 del *V. cholerae* y los vibriones relacionados causan el cólera en humanos ⁽¹⁸⁾.

Por lo regular, el *V. cholerae* fermenta la sacarosa y la manosa pero no la arabinosa. Una prueba oxidasa positiva es una etapa clave en la identificación preliminar del *V. cholerae* y otros vibriones. Las especies de *Vibrio* son susceptibles al compuesto O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropil-pteridina), que las diferencia de las *Aeromonas* resistentes a esta sustancia. La mayor parte de *Vibrio* son halotolerantes, y con frecuencia el NaCl estimula su crecimiento.

Algunos vibriones son halofílicos y requieren del NaCl para crecer ⁽²⁰⁾.

Morfología microscópica

El *V. cholerae* es un bacilo curvo en forma de coma, de 2-4 μm de longitud. Presenta motilidad activa por medio de un flagelo polar. En cultivo prolongado, los vibriones pueden convertirse en bacilos rectos parecidos a bacterias entéricas Gram negativas. El *V. cholerae* posee lipopolisacáridos O que le confieren especificidad serológica. Existen al menos 139 grupos de antígenos O. Las cepas del *V. cholerae* de los grupos O1 y O139 causan el cólera típico; en ocasiones, el *V. cholerae* que no es O1 ni O139, causan enfermedad similar al cólera ⁽¹⁸⁾.

El antígeno al serogrupo O1 del *V. cholerae* posee determinantes que permiten una tipificación adicional, los principales serotipos son Ogawa e Inaba. Se han definido dos biotipos del *V. cholerae* epidémico: el clásico y El Tor. Este último produce una hemolisina, es positivo en la prueba de Voges-Proskauer y resistente a la polimixina B ⁽⁶⁾.

El *V. cholerae* O139 es muy similar al *V. cholerae* O1-biotipo El Tor. El *V. cholerae* O1 no elabora cápsula alguna.

El *V. cholerae* y los vibriones relacionados producen una enterotoxina termolábil con peso molecular de casi 84000 que consta de subunidades A y B. La activación de la subunidad A1 incrementa la concentración de cAMP intracelular y produce hipersecreción prolongada de agua y electrolitos. Hay un incremento de la secreción de cloro dependiente de sodio, y se inhibe la absorción del sodio y del cloro. Aparece diarrea, hasta 20 a 30 L/d, con deshidratación resultante, choque, acidosis y muerte ⁽¹⁸⁾.

Morfología macroscópica



Figura N° 16. Morfología macroscópica de *Vibrio cholerae* en agar TCBS ⁽²⁰⁾.

El *V. cholerae* produce colonias convexas lisas, redondas, opacas y granulares con luz transmitida. El *V. cholerae* y la mayor parte de otros vibriones crecen bien a 37°C sobre muchos medios, incluso medios definidos que contienen sales minerales y asparagina como fuentes de carbono y nitrógeno. Crece bien sobre agar tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS), sobre el cual produce colonias de

color amarillo. Los vibriones son oxidasa positivos, lo cual la diferencia de bacterias entéricas Gram negativas crecidas sobre agar sangre. Típicamente, los vibriones crecen a pH muy alto (8.5 a 9.5) y los ácidos los destruyen con rapidez; por tanto, los cultivos que contienen carbohidratos fermentables se hacen estériles muy pronto ⁽²⁰⁾.

Enfermedades transmitidas

En condiciones naturales, el *V. cholerae* solo es patógeno para humanos. Una persona debe ingerir 10⁸ a 10¹⁰ microorganismos para infectarse y desarrollar la enfermedad ⁽¹⁸⁾.

El cólera no es una infección invasora. Los microorganismos no alcanzan el torrente sanguíneo, sino que permanecen en el intestino. Los microorganismos del *V. cholerae* virulentos se unen a las micro vellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales. Allí se multiplican y liberan toxinas coléricas. La enfermedad se propaga por contacto de una persona a otra e implica a las personas con enfermedad leve o inicial, por agua, alimentos y moscas. El estado de portador pocas veces excede 3 a 4 semanas, y los verdaderos portadores crónicos son raros. Los vibriones sobreviven en el agua unas tres semanas ⁽⁶⁾.

Después de un periodo de incubación de 1 a 4 días se inician de manera súbita náuseas, vómito y diarrea profusa con cólicos abdominales. Las evacuaciones parecidas a “agua de arroz”, contienen moco, células epiteliales y un gran número de vibriones. Hay pérdida rápida de líquidos y electrolitos que conduce a deshidratación profunda, colapso circulatorio y anuria. Sin tratamiento, la tasa de mortalidad es de 25 a 50%. El biotipo El Tor tiende a causar enfermedad más leve que el biotipo típico ⁽²⁰⁾.

CAPÍTULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de Estudio

4.1.1 **De campo:** se realizó una encuesta previa al estudio; para determinar las variedades que más consume la población, posteriormente se recolectaron muestras en supermercados seleccionados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador para ser analizadas (Ver anexo N° 1 y tabla N° 10).

4.1.2 **Experimental:** porque se determinó la presencia o ausencia de *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae* y recuento en placa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en muestras de lonja de pescado. El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

4.1.3 **Transversal:** la investigación se llevó a cabo en los meses de agosto a septiembre de 2017 para el análisis de dichas muestras.

4.2 Investigación Bibliográfica

La investigación se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador.
- Universidad Francisco Gavidia.
- Universidad Dr. Andrés Bello
- Universidad Modular Abierta

- Facultad de Ciencias Agronómicas "Felix Choussy"
- Universidad Dr. Andrés Bello.
- Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Internet.

4.3 Investigación de Campo

4.3.1 Universo: todas las lonjas de pescado que se comercializan en los supermercados del distrito dos del Área Metropolitana de San Salvador, identificados como M₁ y M₂. (Ver Anexo N° 1 y Tabla N° 6)

Tabla N° 6: Supermercados del distrito dos de San Salvador.

Cadena Comercial	Supermercado
M₁	Metrocentro 6ª etapa. San Salvador.
	Metrocentro 8ª etapa. Avenida Los Andes, Local N. 281, San Salvador.
	Metrosur. Condominio Metrosur #413 planta baja San Salvador.
	Gigante. 59 Avenida Sur entre Avenida Olímpica y Calle El Progreso.
	Miralvalle Motocross. Bulevar. Constitución y calle Motocross.
	San Luis. Calle San Antonio Abad y Avenida Izalco.
M₂	Bulevar los Héroes. San salvador.
	Escalón Norte.
Total	8

Donde:

M₁: Super Selectos

M₂: Despensa de Don Juan

4.3.2 Muestra: lonjas de tilapia, curvina, tiburoncillo o tiburón; de los supermercados seleccionados.

4.4 Determinación del número de muestras ⁽³³⁾

4.4.1 Muestreo

El muestreo se realizó en 3 supermercados de 2 diferentes cadenas comerciales del distrito dos del área metropolitana de San salvador.

- El muestreo aleatorio estratificado, determinó el número de supermercados a muestrear por cada cadena comercial (ver Tabla N° 9).
- El muestreo aleatorio simple, para determinar con especificidad el nombre de los supermercados a muestrear en cada cadena comercial (ver Tabla N° 10).

4.4.2 Determinación y selección del número de supermercados.

Para la aplicación del muestreo aleatorio estratificado se clasificaron los ocho supermercados del distrito dos de San Salvador por sus cadenas comerciales, es decir en los estratos siguientes:

Tabla N° 7. Número de supermercados por estrato.

Nº de estrato	Nombre de la cadena comercial	Número de Supermercado
1	M ₁	6
2	M ₂	2
Total		8

Para determinar el tamaño muestral por el método del muestreo estratificado se

Utilizó la siguiente ecuación:

$$n = \frac{Z^2 pqN}{d^2(N - 1) + Z^2 pq}$$

Dónde:

n = Muestra

Z = Intervalo de confianza al 97.5%.

p = Población que posee características de interés.

q = Población que no posee características de interés.

N = Universo

d = Error muestral máximo permisible en la investigación.

En esta investigación se asume varianza máxima por lo que los valores de *p* y *q* serán de 0.5

Así tenemos:

$$n = \frac{(8)(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2(8 - 1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

n = 3 Tamaño de la muestra.

Lo cual significa que en 3 supermercados se recolectaron las muestras.

Al conocer el tamaño muestral de supermercados, determinamos el porcentaje representativo de cada estrato:

$$\% = \left(\frac{N_i}{N} \right) X 100$$

Dónde:

N_i : Número de supermercados por estrato

N : Número de supermercados en el universo

Así tenemos para el estrato 1:

$$\% = \left(\frac{6}{8}\right) \times 100$$

$$\% = 75 \%$$

Por tanto, la cadena comercial en M1 representa un 75% del muestreo.

Tabla N° 8. Porcentaje por estrato de cada cadena comercial de supermercados.

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1	$(6/8) \times 100$	75
2	$(2/8) \times 100$	25
Total		100

Para conocer cuántos supermercados se muestrearon en cada estrato se utilizó la siguiente ecuación:

$$n_i = n \times \left(\frac{N_i}{N}\right)$$

Dónde:

n_i : Número de supermercados que se muestrearon por cada estrato

n : Tamaño de la muestra

N_i : Número de supermercados por estrato

N : Número de supermercados en el universo

Así tenemos para el estrato 1:

$$n_i = 3 \times \left(\frac{6}{8}\right)$$

$$n_i = 2$$

Es decir que se muestrearon 2 supermercados de la cadena comercial en M₁

Tabla N° 9. Número de supermercados que se muestrearon por estrato.

Estrato	Cálculo	Número de supermercados
1	3 x (6/8)	2
2	3 x (2/8)	1
Total		3

La selección se realizó aleatoriamente, obteniéndose la cantidad de sucursales que se muestrearon de los diferentes estratos, la cual se presenta en la siguiente tabla:

Tabla N° 10. Supermercados que se muestrearon.

Número	Cadena Comercial	Sucursal	Código
1	M ₁	Metrocentro 8ª etapa	SSM8E
2	M ₁	San Luis	SSSL
3	M ₂	Bulevar Los Héroes	DDJBLH

Determinación de la cantidad de muestras a tomar por supermercado ⁽³³⁾

Para conocer la cantidad de muestras de lonja de pescado que se tomaron en cada supermercado se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Dónde:

n = Muestra

Z = Intervalo de confianza del 97.5%

P = Población que posee la característica de interés (asumiendo varianza máxima)

q = Población que no posee la característica de interés (asumiendo varianza máxima)

d = Error muestral máximo permisible

Así tenemos:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2}$$

n = 4 Muestras de Lonja de pescado por supermercado.

Para la toma de las muestras de cada variedad por supermercado se realizó de la siguiente manera:

Tabla N° 11: Número de muestras de cada variedad por supermercado.

CODIGO- SUPERMERCADO/ VARIEDAD	Tilapia	Curvina	Tiburoncillo	TOTAL
SSM8E	2	1	1	4
SSSL	1	2	1	4
DDJBLH	1	1	2	4
TOTAL	4 Muestras	4 Muestras	4 Muestras	12 Muestras

La toma de muestras se realizó de tal manera que se obtuvieran igual número de muestras, de las tres variedades de lonja en estudio.

Los análisis se hicieron dos etapas, es decir que se realizaron dos muestreos por cada supermercado, pero en diferentes semanas.

4.5 Metodología para la guía de observación.

Al momento de recolectar las muestras en los supermercados, se iban chequeando los parámetros de cumplimiento o incumplimiento, establecidos en la guía de observación (ver Anexo N° 4), con el objetivo de verificar las medidas higiénicas y buenas prácticas de manipulación en cada establecimiento y determinar si estos parámetros influyeron en los análisis.

4.6 Metodología para la toma y análisis de muestras.

4.6.1 Procedimiento para la recolección de muestras ⁽²¹⁾

De cada supermercado seleccionado se tomaron cuatro muestras de 1/2 libra = 227g aproximadamente, que se colocaron en bolsas plásticas estériles, estas se introdujeron en hielera previamente limpia y desinfectada con alcohol isopropílico; manteniendo una temperatura entre 2 °C y 7 °C de manera que no alteraran las características y la microbiota de las muestras. Posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Microbiología de Alimentos de CENSALUD para ser analizadas.

4.6.2 Identificación de la muestra ⁽²¹⁾

Cada muestra se identificó con una etiqueta, la cual contenía los siguientes datos:

lugar de muestreo, fecha, hora de muestreo, N° de muestra, código, variedad, nombre del analista y observaciones (ver Anexo N° 5).

4.6.3 Determinación de *Escherichia coli* ⁽²⁰⁾

1. En balanza semianalítica pesar asépticamente 25 gramos de muestra directamente en una bolsa Stomacher previamente tarada.
2. Añadir 225 mL de Agua Peptonada Buferada (APB) y homogenizar por 2 minutos en el Stomacher a 260 rpm.
3. Añadir el contenido a un Erlenmeyer de 250 mL. Dilución 1:10 (10^{-1}).
4. Pipetear 10 mL de la dilución (10^{-1}) y añadirlos a un frasco de dilución que contenga 90 mL de Agua Peptonada Buferada y homogenizar. Dilución 1:100 (10^{-2}).
5. Pipetear 10 mL de la dilución anterior (1:100) y adicionarlo en otro frasco que contenga 90 mL de Agua Peptonada Buferada y homogenizar. Dilución 1:1000 (10^{-3}).
6. Inocular por duplicado, 1.0 mL de cada dilución en placas de Petri vacías.
7. Posteriormente verter de 15 a 20 mL del Agar Rojo Violeta Bilis (ABRV) fundido, a una temperatura no mayor a $45 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ en baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.
8. Mezclar por técnica en ocho. Dejar solidificar el medio, posteriormente agregar a cada placa de Petri, una sobrecapa de 4 a 5 mL del mismo medio. La sobrecapa de agar se coloca para favorecer el crecimiento de los coliformes, que son facultativos.
9. Solidificado el medio invertir las placas y colocarlas en la incubadora a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 24 ± 2 h.
10. Después de este periodo, contar las colonias con el cuenta colonias (ver

anexo N° 9).

Características de las colonias ⁽⁵⁾ ⁽²⁰⁾

Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0.5 a 2.0 mm (ver Anexo N° 27).

4.6.4 Aislamiento y prueba confirmativa para *Escherichia coli* ⁽²⁰⁾

1. Romper el medio ABRV con un asa bacteriológica para extraer las colonias características. Estriar en placas de Petri con Agar Tripticasa Soya (TSA) e incubarlas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas.
2. De las placas que presentaron crecimiento seleccionar las colonias aisladas y con la ayuda de un asa bacteriológica estéril sembrar en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) por método de estrías en tres segmentos.
3. Incubar a 37°C por 24 a 48 horas.
4. Transcurrido el tiempo estipulado, observar la morfología macroscópica.

Cuadro N° 1: Morfología macroscópica de *Escherichia coli* ⁽⁵⁾.

Medio	Morfología Macroscópica
Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	Las colonias son planas con coloración verde metálico.

4.6.5 Pruebas bioquímicas para *Escherichia coli* ⁽²⁰⁾

- Agar-hierro-triple azúcar (TSI)

1. Con un asa en punta inocular por picadura el agar TSI hasta el fondo del

- tubo y por estría simple en la superficie.
2. Incubar los tubos a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 horas.
 3. Posteriormente leer los resultados.

Tabla Nº 12: Interpretación de resultados para pruebas en Agar TSI ⁽⁶⁾

RESULTADO	SIMBOLOGÍA	INTERPRETACIÓN
Pico alcalino/fondo alcalino (coloración roja)	K/K	Microorganismo no fermentador de azúcares
Pico ácido/fondo ácido (coloración amarilla)	A/A	Microorganismo fermentador de glucosa, sacarosa y lactosa.
Pico alcalino/fondo ácido (coloración roja/amarilla)	K/A	Microorganismo fermentador de glucosa
Precipitado de color negro	H ₂ S	Microorganismo que produce Sulfuro de Hidrogeno
Producción de burbujas	----	Microorganismo que libera gas

K: medio alcalino color rojo A: medio ácido color amarillo.

- Agar Citrato de Simmons

1. Con un asa en punta inocular por picadura el agar Citrato hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.
2. Incubar los tubos a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
3. Si el medio cambia de color verde a azul indica que la prueba es positiva.

- Agar Movilidad

1. Con un asa en punta inocular por picadura el agar Movilidad hasta el fondo del tubo.

2. Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
3. Si se forma una especie de sombrilla en el agar indica que si hay movilidad.

- **Caldo Indol**

1. Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene Caldo Indol y tapar.
2. Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
3. Después de la incubación agregar a los tubos 5 gotas de éter etílico y 5 gotas de reactivo de Erlich.

Si se forma un anillo de color fucsia en la interfase indica que la prueba es positiva.

- **Caldo Rojo de Metilo**

1. Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene Caldo Rojo de Metilo y tapar.
2. Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
3. Después de la incubación agregar a los tubos 5 gotas de reactivo Rojo de Metilo (0.1%).

Si el medio cambia de color amarillo a color rojo indica que la prueba es positiva.

- **Voges Proskauer**

1. Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene caldo Voges Proskauer y tapar.
2. Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.

- Después de la incubación agregar a los tubos 3 gotas de KOH más 2 gotas de Alfa-naftol (5%).

Si el medio cambia de color amarillo a color rojo indica que la prueba es positiva.

Ver fundamentos de pruebas bioquímicas en Anexo N° 21.

4.7 Determinación de *Staphylococcus aureus* ⁽²⁰⁾.

Partiendo de la dilución 10^{-1} que se preparó para *Escherichia coli* realizar lo siguiente:

- Pipetear 0.3 mL, 0.3 mL y 0.4 mL de la dilución y colocarlas en tres placas que contienen Agar Baird Parker, (esparcir con la espátula en "L").
- Incubar las placas a 35-37 °C por 24 a 48 horas (ver Anexo N° 11 y 12).
- Observar el desarrollo de colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*, ver Cuadro N° 2.
- Determinar el conteo de *Staphylococcus aureus* con ayuda de un cuenta colonias y con las técnicas de conteo en placas.

Cuadro N° 2: Morfología macroscópica de *Staphylococcus aureus* ⁽⁴⁾.

Medio	Morfología Macroscópica
Agar Baird Parker	Colonias circulares, lisas, convexas, de 2-3 mm de diámetro, de color gris a negro, con un halo claro a su alrededor.

4.7.1 Prueba de coagulasa para *Staphylococcus aureus* ⁽²⁰⁾.

- Seleccionar 3 a 5 colonias sospechosas y sembrar en tubo con BHI (10 mL) e incubar a 35 a 37 °C por 24 horas.

2. Después de incubar el BHI sembrar en viales con plasma (0.5 mL) e incubar.
3. Observar la formación de un coágulo, que no se deshace al invertir el tubo. Esto indica que la prueba es positiva (ver Anexo N° 14).

4.7.2 Prueba de catalasa para *Staphylococcus aureus* ⁽²⁰⁾.

1. Con asa de platino en aro transferir dos a tres colonias características y colocarlas en un portaobjetos.
2. Adicionar 2 o 3 gotas de Peróxido de Hidrógeno al 3% (H₂O₂), si hay producción de un burbujeo indica que es catalasa positiva (ver Anexo N° 15).

Para conocer la cifra de *Staphylococcus aureus* que hay en cada muestra se utilizó las técnicas de conteo en placa (ver Anexo N° 13)

4.8 Determinación de *Salmonella spp* ⁽²⁰⁾.

1. Pesar asépticamente 25 g de muestra en una bolsa Stomacher.
2. Adicionar 225 mL de caldo lactosado.
3. Homogenizar en Stomacher por 2 minutos a 260 rpm.
4. Transferir la muestra a un recipiente estéril de boca ancha u otro recipiente apropiado.
5. Incubar a 37 °C por 24 horas (ver Anexo N° 16).
6. Pipetear 1 mL y colocarlo en caldo Tetratonato e incubar a 35 ± 2 °C por 24 a 48 horas.
7. Pipetear 0.1 mL y colocarlo en caldo Rapapport Vassiliadis e incubar a 42 ± 0.2 °C (en baño de agua con controlador termostático).

8. Tomar una asada de cada tubo y estriar sobre Agar XLD y Agar *Salmonella-Shigella*.
9. El crecimiento de colonias características indica la posible presencia de *Salmonella spp.*

Cuadro N° 3: Morfología macroscópica de *Salmonella spp* ⁽³⁾.

Medio	Morfología Macroscópica
Agar <i>Salmonella – Shigella</i> (S-S)	Colonias translúcidas (de color anaranjado claro), con o sin centro negro. Algunas especies de <i>Salmonella</i> producen colonias incoloras, translúcidas.
Agar XLD	Colonias de color rojo con centro negro.

4.8.1 Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp* ⁽²⁰⁾.

1. Seleccionar las colonias características de Agar *Salmonella-Shigella* o Agar XLD y sembrar en Agar TSA.
2. Incubar las placas por a 37 °C por 24 horas.
3. Seleccionar una colonia sospechosa aislada del medio TSA y sembrar en las siguientes pruebas de identificación: TSI, Indol, Voges Proskauer, Rojo de metilo, Movilidad y Citrato (realizar el mismo procedimiento como en *Pruebas Bioquímicas para Escherichia coli.*).
4. Incubar pruebas bioquímicas por 24 horas a 37° C.
5. Leer los resultados (ver Anexos N° 20, 21,22 y 24).

4.9 Determinación de *Vibrio cholerae* ⁽²⁰⁾.

1. Incubar la dilución 10⁻¹ que se preparará para *Escherichia coli* a 37 °C ± 2° C por 24 a 48 horas.
2. Transcurrido el tiempo estipulado, sembrar por duplicado en Agar TCBS con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo.

3. Incubar las placas con Agar TCBS a una temperatura de $35^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C durante 18 a 24 horas (ver Anexo N° 18).
4. Después del período de incubación, observar la morfología macroscópica.

Cuadro N° 4: Morfología macroscópica de las colonias de *Vibrio cholerae* ⁽²⁰⁾.

Medio	Morfología Macroscópica
Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS)	Las colonias son grandes (de 2 a 3 mm), lisas, de color amarillo y ligeramente aplanado con los centros opacos y translúcidas en las periferias.

4.9.1 Prueba de oxidasa ⁽²⁰⁾.

1. De las colonias amarillas que crecieron en Agar TCBS, sembrar en Agar TSA + 2% NaCl e incubar las placas a 37 °C por 24 horas.
2. Humedecer un trozo de papel filtro con el reactivo de oxidasa.
3. Seleccionar con un asa bacteriológica estéril una colonia aislada del medio Agar TSA + 2% NaCl y transferir al papel filtro.
4. Observar una coloración azul oscuro después de 10 segundos, el cual indica prueba positiva para *Vibrio cholerae*; si no se produce cambio de color o sólo adquieren un color rosado pálido por el reactivo, indica prueba negativa (ver Anexo N° 19).

4.9.2 Pruebas bioquímicas para *Vibrio cholerae* ⁽²⁰⁾.

1. Seleccionar una colonia sospechosa de *V. cholerae* aislada del medio Agar TSA + 2% NaCl y sembrar en: TSI, Indol, Voges Proskauer, Rojo de metilo, Movilidad y Citrato (Realizar el mismo procedimiento como en *Escherichia coli*).
2. Incubar pruebas bioquímicas por 24 horas a 37° C.

3. Comparar resultados con tabla de Reacciones Bioquímicas para *Vibrio cholerae* (ver Anexos N° 20, 21,22 y 25).

CAPÍTULO V
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Resultados de la guía de observación.

A continuación se presentan los resultados obtenidos mediante la aplicación de la guía de observación, donde se evaluaron las condiciones de las cámaras de almacenamiento, estado sensorial de las lonjas, limpieza de los utensilios y la higiene del personal de despacho.

Cuadro N° 5: Resultados de la guía de observación para la verificación de las condiciones higiénicas de los establecimientos de comercialización de lonja de pescado para primer y segundo muestreo.

PARAMETRO/ SUPERMERCADO	M ₁ ; SSM8E		M ₁ ; SSSL		M ₂ ; DDJBEH	
	1º	2º	1º	2º	1º	2º
Condiciones de la cámara y lonjas						
¿Se encontraba la lonja con hielo?	SI	SI	SI	SI	SI	SI
¿Se encontraba hielo en contacto directo con el producto en estudio?	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Las lonjas presentan algún daño físico o mucosidad excesiva en su superficie. *	SI	SI	SI	SI	SI	SI
La superficie donde se manipulan los productos presentan las siguientes características: lisas, de plástico	SI	SI	NO	NO	SI	SI
¿Se encuentra otro producto almacenado junto a las variedades de lonja en estudio? Si la respuesta es Sí, ¿Cuál es ese producto?	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Se observan limpias las superficies de la cámara.	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Limpieza de utensilios del personal						
Utilizan diferentes utensilios para cada producto con el fin de evitar contaminación cruzada	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Utilizan, utensilios limpios para la manipulación y además estos son fáciles de limpiar y desinfectar	NO	NO	NO	NO	NO	NO

Cuadro N° 5: (Continuación)

Higiene del personal de despacho						
Tiene las manos limpias	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Presenta alguna herida a simple vista	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Utiliza guantes	SI	SI	SI	NO	SI	SI
Tiene las uñas cortas, limpias y sin barniz (en caso de mujeres).	SI	SI	SI	NO	SI	SI
Utiliza algún objeto como anillo, relojes, pulseras, etc.	SI Pulsera	NO	SI Reloj	NO	NO	NO
Utiliza gorro (cofia) para cubrir el cabello	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Tiene ropa de trabajo limpio	SI	SI	NO	NO	SI	NO
Presenta algún síntoma o tipo de enfermedad a simple vista	NO	NO	NO	NO	NO	NO

Nota: Casilla de color rojo, representa los parámetros incumplidos.

**Señala el incumplimiento de las características sensoriales de la variedad de Tiburoncillo debido que las muestras de Tilapia y Curvina si se encontraron en condiciones normales para los dos muestreos.*

- Condiciones de la cámara y las lonjas.

En todos los supermercados y las variedades de lonja se observó que el hielo no estaba en contacto directo con las lonjas. En principio, el hielo no es un producto de alto riesgo sanitario, aunque si no se maneja de manera apropiada puede convertirse en el origen de toxiinfecciones alimentarias, en este análisis el hielo juega un papel importante ya que se observó que al transportar las lonjas de los cuartos fríos a las cámaras, lo hacían en javas con hielo, al no conocer la procedencia del mismo no se sabe si pudo ser un factor de contaminación. Por otra parte se observó que sólo la variedad de tiburoncillo presentaba ciertas características sensorialmente indeseables como: mucosidad excesiva y mal olor; estas características promueven el crecimiento de microorganismos ocasionando que se multipliquen en poblaciones capaces de ocasionar una toxiinfección. A diferencia del tiburoncillo las variedades de tilapia y curvina

estaban congeladas, este factor es crucial, debido a que el pescado por ser un alimento de alto valor nutricional se convierte en un blanco perfecto para las bacterias. Al perder la cadena de frío los microorganismos pueden recuperar las condiciones favorables y multiplicarse, produciendo características indeseables en las lonjas.

Otro factor que se observó fue que las superficies de corte o fraccionamiento (tablas de picar) no reunían las características deseables debido a que eran de madera, estaban sucias, con residuos de sangre y con cisuras; ocasionando acumulación de microorganismos. Las de madera, al presentar una superficie más porosa y con más ralladuras, son más difíciles de higienizar que las tablas de plástico, y pueden por lo tanto albergar una mayor cantidad de bacterias. Las tablas de picar de madera representan un mayor riesgo a la hora de cuidar la higiene de los alimentos, por lo que se recomiendan reemplazarlas por aquellas elaboradas con plástico. Para el fraccionamiento utilizaban la misma tabla para picar diferentes tipos de carnes (res, pollo y pescado) causando contaminación cruzada.

Un aspecto positivo que se observó fue que el almacenamiento de las lonjas estaba en compartimientos separados por variedad, y las superficies de las cámaras se observaban limpias a simple vista.

- Limpieza de los utensilios del personal.

Los cuchillos utilizados para el fraccionamiento no se sanitizaban, solo se enjuagaban con agua o se limpiaban con toalla de tela, y en algunos casos con el delantal del despachador. Además no utilizaban cuchillos destinados a un solo tipo de producto, es decir, se cortaban varios tipos de carnes (pollo, res y

pescado) con un mismo cuchillo. El uso inadecuado de este utensilio produjo contaminación cruzada, debido a que tuvo contacto con otros tipos de carnes.

- **Higiene del personal de despacho.**

En cuanto a la higiene de los manipuladores todos presentaban las manos limpias a simple vista, tampoco se observó que presentasen alguna herida o lesión que pudiera aportar contaminación a las lonjas. Este último aspecto es muy importante debido a que muchas bacterias son oportunistas (como la *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Enterobacter spp*), siendo medio susceptible para alojar una diversidad de bacterias.

En el segundo muestreo para el caso del establecimiento M₁; SSSL, el manipulador tenía las uñas largas con residuos de esmalte, además utilizó una bolsa plástica como simulador de guante para tomar el producto. Según las buenas prácticas de manufactura están son faltas graves que repercuten en los consumidores finales. Las uñas largas son los principales reservorios de bacterias porque, aunque se ejecute un buen lavado de manos es muy difícil limpiar por completo esas zonas.

Se observó que algunos manipuladores tenían prendas como reloj y pulsera, objetos que son portadores de una considerable carga microbiana y posible fuente de contaminación a los alimentos. Asimismo, se verificó que la vestimenta de algunos manipuladores se encontraba sucia y con manchas de sangre. En cuanto a la salud de los manipuladores, estos no presentaban síntomas de enfermedades a simple vista.

Los resultados demuestran que ninguna de las dos cadenas comerciales de supermercados cumple con la totalidad de los parámetros evaluados en la guía

de observación, esto indica que los productos han sido contaminados por la manipulación inadecuada.

5.2 Codificación de muestras

Las muestras se codificaron de acuerdo a la cadena comercial, variedad, número de muestra y número de muestreo, con el objetivo de identificarlas fácilmente.

Donde:

S: Super Selectos

D: Despensa de Don Juan

T: Tilapia

C: Curvina

B: Tiburoncillo

1º muestreo: 01

2º muestreo: 02

Por ejemplo, para el caso de la muestra ST0101.

Pertenece a la cadena de Super Selectos (S), la variedad es tilapia (T), la muestra de recolección es la 01 (número correlativo), y corresponde al primer muestreo (01).

Por ende el código de la muestra queda de la siguiente manera.

S	-----	T	-----	01	-----	01	=	ST0101
↓		↓		↓		↓		
Cadena comercial		Variedad de lonja		Nº de muestra		Nº de muestreo		

PARTE EXPERIMENTAL

5.3 DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli*.

Tabla Nº 13: Resultados obtenidos en la determinación de *Escherichia coli* en lonjas de pescado, comparado con especificación del RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1

Código	Resultado	Otros microorganismos encontrados	Especificación RTCA 67.04.50:08 < 10 ² UFC/g
RESULTADOS DE PRIMER MUESTREO			
ST0101	500 UFC/g	-----	No conforme
ST0201	1,110 UFC/g	-----	No conforme
SC0301	80 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SB0401	78 UFC/g	<i>Enterobacter sp</i>	Conforme
ST0501	66 UFC/g	-----	Conforme
SC0601	92 UFC/g	<i>Enterobacter sp</i>	Conforme
SC0701	74 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SB0801	96 UFC/g	<i>Enterobacter sp</i>	Conforme
DT0901	90 UFC/g	-----	Conforme
DC1001	58 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DB1101	1,770 UFC/g	-----	No conforme
DB1201	78 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO			
ST1302	66 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
ST1402	47 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SC1502	690 UFC/g	-----	No conforme
SB1602	620 UFC/g	-----	No conforme
ST1702	64 UFC/g	<i>Enterobacter sp</i>	Conforme
SC1802	850 UFC/g	-----	No conforme
SC1902	1,020 UFC/g	-----	No conforme
SB2002	1,670 UFC/g	-----	No conforme
DT2102	74 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DC2202	88 UFC/g	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DB2302	1,740 UFC/g	-----	No conforme
DB2402	1,640 UFC/g	-----	No conforme

En la Tabla N° 13, se observan los resultados para *Escherichia coli*, el 41.67% de las muestras no cumplen con la especificación del RTCA 67.04.50:08, debido a que presentan contaminación de origen fecal, esto se le atribuye a una deficiencia de higiene por parte de los manipuladores y despachadores. El lavado de manos es una actividad que no se debe descuidar al momento de manipular los alimentos, de no realizarse correctamente pueden ser foco de contaminación como en este caso. Otro factor importante fue que se utilizó el mismo cuchillo para fraccionar diferentes carnes produciendo contaminación cruzada. Como ya se ha mencionado que el pescado como tal; es un alimento de alto valor nutricional, por ello se convierte en un medio susceptible para que microorganismos como *Escherichia coli* se desarrollen con facilidad. Otro factor de trascendencia es una posible falla en la cadena de frío, propiciando condiciones favorables para que los microorganismos se activen.

- Otros microorganismos encontrados

Al realizar las pruebas bioquímicas para *E. coli*, se encontraron otros microorganismos como: *Enterobacter spp* y *Klebsiella spp*. Estos tres tienen una relación estrecha debido a que pertenecen a la misma familia de bacterias (*Enterobacteriaceae*) ⁽²⁰⁾. *Enterobacter spp* y *Klebsiella spp* no son exigidos por el RTCA, pero pueden producir enfermedades o daños en la salud de los consumidores finales.

Enterobacter spp, de los cuales varias cepas como *Enterobacter cloacae* son patógenos oportunistas en personas enfermas o con defensas bajas. Este se encuentra sobre la piel humana, plantas, suelo y agua ⁽²²⁾. El extenso hábitat de este microorganismo indica que la contaminación no solo procede de los manipuladores, si no de la forma en que este tipo de productos se transporta y se almacena. Se ha observado en los supermercados que al transportar este

producto tiene contacto con otros tipos de alimentos, causando un aumento de la carga microbiana.

En el caso de *Klebsiella spp*, también pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Este género está formado por varias especies, la más frecuente es la *Klebsiella pneumoniae*, este microorganismo se transmite vía aérea, cuando se tienen contacto con personas infectadas (presentan síntomas de tos con secreción). En la guía de observación no se visualizó que los despachadores tuvieran algún tipo de heridas o molestias respiratorias ⁽²⁰⁾.

El origen de este patógeno induce a que los manipuladores de alimentos de cuartos fríos y otras áreas que tienen contacto con estos alimentos pudieran transmitir esta bacteria.

- **Análisis de *Escherichia coli* por variedad**

En la Figura N° 17 se muestran los porcentajes de las tres variedades evaluadas para *Escherichia coli*, donde el 75% de las muestras de tilapia cumplen con la especificación del RTCA, en la curvina el 62.50%, y en el tiburoncillo solo el 37.50%. Las muestras de tiburoncillo presentan el mayor porcentaje de muestras contaminadas.

Al contrastar los resultados de la guía con los análisis se determinó que las muestras de tiburoncillo presentaban mucosidad excesiva y mal olor, a diferencia de las muestras de tilapia y curvina. Las muestras de tiburoncillo no estaban semicongeladas, este factor acelera el proceso de descomposición, favoreciendo el crecimiento de microorganismos.

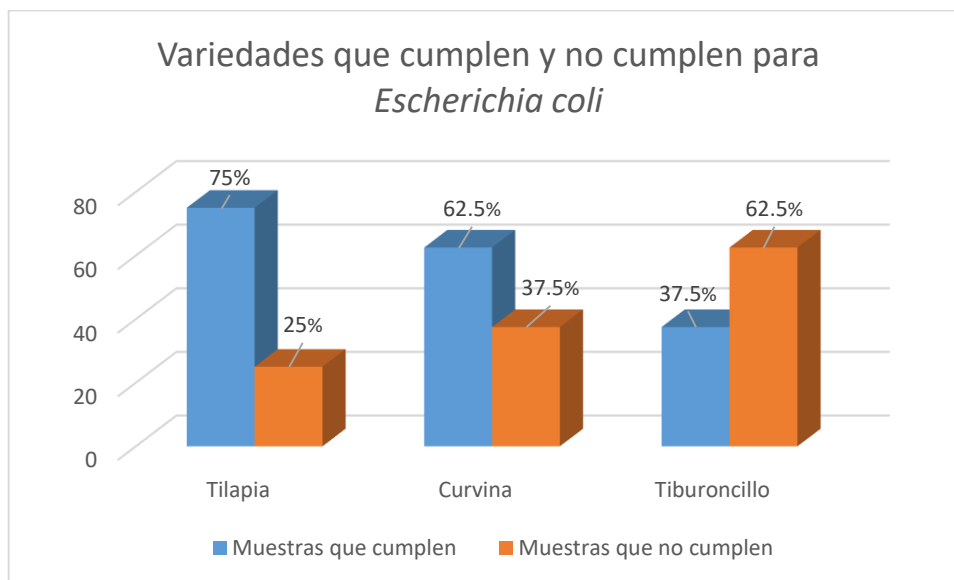


Figura N° 17: Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Escherichia coli* según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

5.4 DETERMINACIÓN DE *Staphylococcus aureus*.

Tabla N° 14: Resultados obtenidos en la determinación de *Staphylococcus aureus* en lonjas de pescado comparado con especificación de RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1

Código	Coagulasa	Catalasa	Otros posibles Microorganismos	Resultado	Especificación RTCA 67.04.50:08 <math><10^3</math> UFC/ g
RESULTADOS DE PRIMER MUESTREO					
ST0101	No se realizó	No se realizó	-----	Ausencia	Conforme
ST0201	No se realizó	No se realizó	-----	Ausencia	Conforme
SC0301	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	790 UFC/ g	Conforme
SB0401	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	725 UFC/ g	Conforme
ST0501	No se realizó	No se realizó	-----	Ausencia	Conforme
SC0601	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	870 UFC/ g	Conforme

Tabla N° 14: (Continuación)

SC0701	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	900 UFC/ g	Conforme
SB0801	(+)	(+)	-----	DNPC *	No conforme
DT0901	No se realizó	No se realizó	-----	Ausencia	Conforme
DC1001	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	860 UFC/ g	Conforme
DB1101	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	650 UFC/ g	Conforme
DB1201	(+)	(+)	-----	DNPC *	No conforme
RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO					
ST1302	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	450 UFC/ g	Conforme
ST1402	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	470 UFC/ g	Conforme
SC1502	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	770 UFC/ g	Conforme
SB1602	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	580 UFC/ g	Conforme
ST1702	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	390 UFC/ g	Conforme
SC1802	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	440 UFC/ g	Conforme
SC1902	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	630 UFC/ g	Conforme
SB2002	(+)	(+)	-----	DNPC *	No conforme
DT2102	(+)	(+)	-----	520 UFC/ g	Conforme
DC2202	(-)	(+)	<i>S. epidermidis</i> o <i>Micrococcus</i>	870 UFC/ g	Conforme
DB2302	(+)	(+)	-----	DNPC *	No conforme
DB2402	(+)	(+)	-----	DNPC *	No conforme

* **DNPC:** Demasiado numerosas para contar.

En la Tabla N° 14, se observan los resultados para *Staphylococcus aureus* obtenidos mediante el recuento en placa, donde solo 79.17% de las muestras cumplen con la especificación para este microorganismo. Se observó que los manipuladores y despachadores no usaban mascarilla, a simple vista no se observó que presentasen heridas, síntomas de gripe o malestar de la mucosa nasal; pero estos interactúan verbalmente con los consumidores, aumentando la probabilidad de que ciertas partículas de saliva caigan en los alimentos y sean contaminados.

Las muestras de código ST0101, ST0201, ST0501 y DT0901; presentaron ausencia de *Staphylococcus aureus*.

Para confirmar la presencia de *Staphylococcus aureus* se realizó la prueba de catalasa, obteniendo resultados positivos en todas las muestras que presentaron crecimiento (ver figura N° 18), a su vez se realizó la prueba de coagulasa obteniendo resultados positivos solo en las muestras: SB0801, DB1201, SB2002, DT2102, DB2302 Y DB2402 (ver figura N° 19), esto indica que solo las muestras que presentaron coagulo firme y burbujeo son *Staphylococcus aureus*.

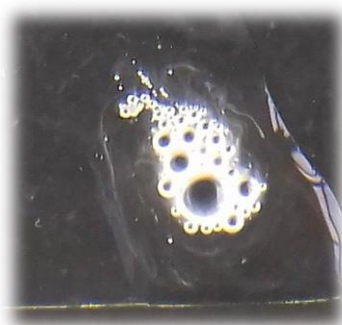


Figura N° 18: Catalasa positiva para *Staphylococcus aureus*



Figura N° 19: Coagulasa positiva para *Staphylococcus aureus*

Las colonias sospechosas que presentaron coagulasa negativa probablemente pertenecen a *Staphylococcus epidermidis* debido a que este microorganismo se

encuentra en la piel. Este no representa un riesgo para salud del consumidor porque pertenece a la flora normal del ser humano, pero al estar presente nos indica que los manipuladores no cumplen con las buenas prácticas higiénicas (4).

En cuanto a variedades las muestras de tilapia y curvina presentaron ausencia para este microorganismo, mientras que para el tiburoncillo solo el 37.50% cumple con la especificación, es decir, que solo las muestras de tiburoncillo resultaron contaminadas por *Staphylococcus aureus* (ver Figura N° 20).

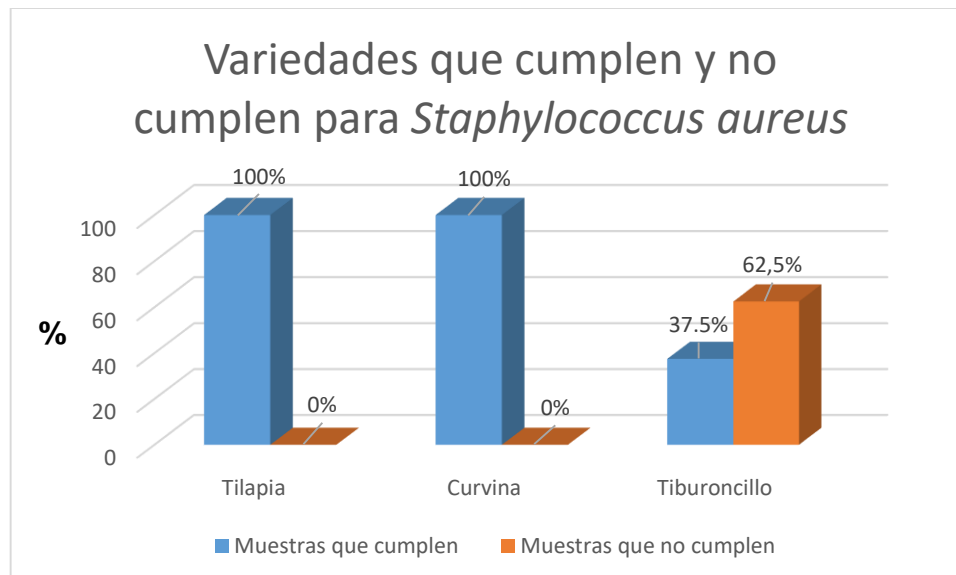


Figura N° 20: Gráfico de muestras que cumplen y no cumplen para *Staphylococcus aureus* según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

En el primer y segundo muestreo se observó que las lonjas de tilapia y curvina se encontraban recubiertas con una delgada capa de hielo (semicongeladas), caso contrario en las muestras de tiburoncillo, aquí la contaminación pudo tener varios factores, primero que las lonjas de tiburoncillo hayan tenido una falla en la cadena de frío; otro factor pudo ser, que la variedad de tiburoncillo sea más susceptible a la contaminación de este microorganismo, esto se debe a esta

variedad se deteriora más rápidamente en comparación con la tilapia y la curvina; por último, el aporte de bacterias por la manipulación indiscriminada del personal encargado. Aquí la temperatura y la variedad fueron factores claves para el crecimiento de este microorganismo debido a que solo la variedad de tiburoncillo presentó crecimiento.

5.5 DETERMINACIÓN DE *Salmonella spp.*

Tabla N° 15: Resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella spp* en lonjas de pescado comparado con especificación RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1

Código	Resultado	Otros microorganismos encontrados	Especificación RTCA 67.04.50:08 AUSENCIA
RESULTADOS DE PRIMER MUESTREO			
ST0101	Ausencia	<i>Shigella sp</i>	Conforme
ST0201	Presencia	-----	No conforme
SC0301	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SB0401	Ausencia	<i>Shigella sp</i>	Conforme
ST0501	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SC0601	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>	Conforme
SC0701	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SB0801	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DT0901	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DC1001	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>	Conforme
DB1101	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DB1201	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO			
ST1302	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
ST1402	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SC1502	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SB1602	Presencia	-----	No conforme
ST1702	Ausencia	<i>Enterobacter spp</i>	Conforme
SC1802	Ausencia	<i>Shigella sp</i>	Conforme

Tabla N° 15: (Continuación).

SC1902	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
SB2002	Presencia	-----	No conforme
DT2102	Ausencia	<i>Shigella sp</i>	Conforme
DC2202	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DB2302	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>	Conforme
DB2402	Ausencia	<i>Enterobacter spp</i>	Conforme

La *Salmonella spp* se encuentra con regularidad en los aparatos gastrointestinales de animales, por ello las fuentes primarias de la contaminación son animales y sus heces. Este microorganismo es capaz de sobrevivir en las carnes sin procesar, tal es el caso del pescado fresco. La higiene y el buen lavado de manos de los manipuladores son clave para evitar que este microorganismo llegue a los alimentos.

En la Tabla N° 15 se muestran los resultados para *Salmonella spp*, aquí se refleja que solo el 87.5 % de las muestras analizadas cumplen con la especificación, excepto las muestras con código: ST0201, SB1602 y SB2002. En escala porcentual representan el 12.5 % de incumplimiento, esto indica que hay contaminación cruzada y malas prácticas higiénicas por parte de los manipuladores, por lo tanto no son aptas para el consumo humano.

Todas las muestras presentaron crecimiento de colonias sospechosas en Agar *Salmonella-Shigella* (Agar S-S) y Agar XLD (ver figura N° 21 y 22); pero mediante pruebas bioquímicas se logró comprobar que sólo 3 muestras resultaron positivas. También se encontraron otros microorganismos como: *Klebsiella spp*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter spp* y *Shigella sp*; estos no son exigidos por el RTCA pero producen patologías en los consumidores finales. En cuanto a *Klebsiella spp* y *Enterobacter spp* ya se mencionaron los posibles focos de contaminación.

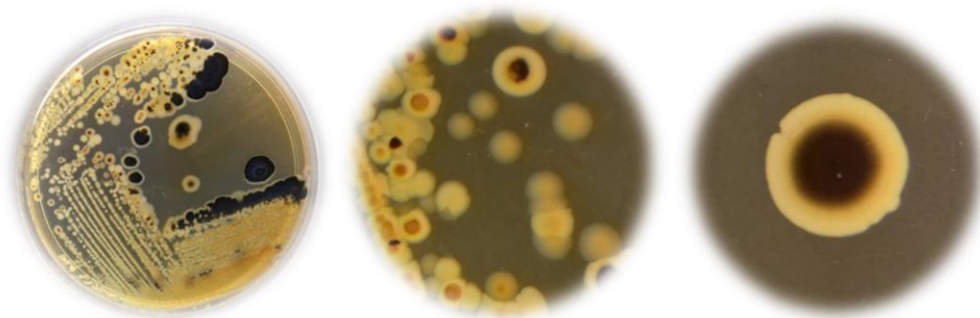


Figura N° 21: Colonias sospechosas de *Salmonella spp* de color anaranjado claro con centro negro en Agar *Salmonella – Shigella*.

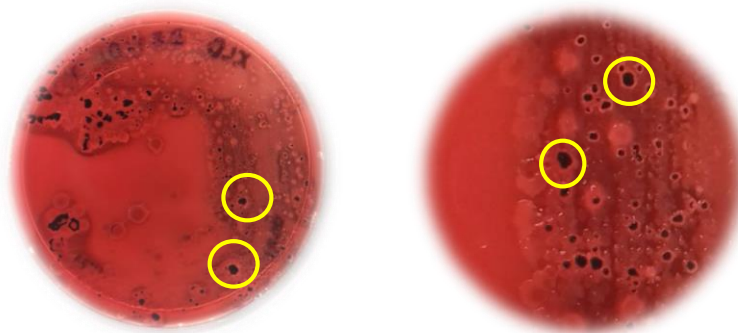


Figura N° 22: Colonias sospechosas de *Salmonella spp* de color rojo con centro negro en Agar XLD.

Shigella spp se transmite a los alimentos a través de las manos de los portadores o enfermos que han tenido contacto con heces, vegetales, frutas y agua contaminada. Para el caso de *Proteus vulgaris*, por naturaleza se puede encontrar en la tierra, el agua, materia orgánica, flora intestinal de humanos y animales. La presencia de estos microorganismos es obvia debido a que hay muchas muestras que han sido contaminados por *Escherichia coli*, siendo este al igual que *Proteus* y *Shigella* de origen fecal, esto nos indica que los manipuladores no se lavaban bien las manos después de ir al baño, tampoco cuando realizaban otra actividad relacionada con alimentos que tenían la bacteria como: frutas y verduras, algunos de estos alimentos tienen contacto con la tierra

por lo tanto pueden ser portadores de esta bacteria, generando de manera indirecta una contaminación a otros alimentos.

Todo esto se puede evitar siempre que se mantenga una buena higiene personal de los manipuladores; proporcionando educación sanitaria completa y razonada a estas personas; mantener un tratamiento correcto del agua (cloración); realizar un tratamiento sanitario adecuado para las aguas residuales y, sobre todo, evitar que las personas enfermas con manifestaciones entéricas, manipulen los alimentos.

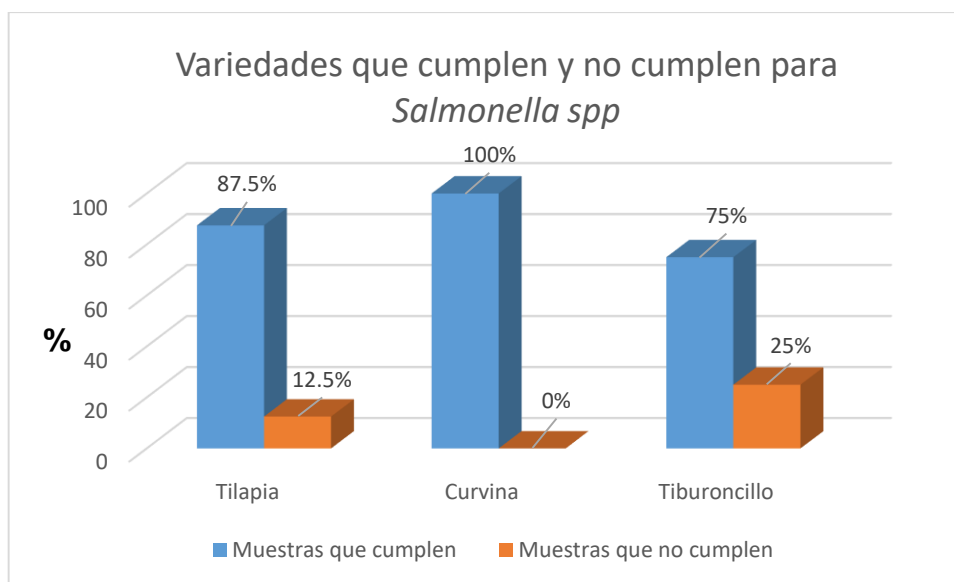


Figura N° 23: Gráfico de muestras que cumplen y no cumplen para *Salmonella spp* según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1, según la variedad.

En cuanto a variedades se puede mencionar que solo el 87.50% de las muestras de tilapia cumplen con la especificación, en la curvina el 100% y en el tiburoncillo solo el 75 %. La Figura N° 23 nos muestra que solo la curvina presentó ausencia de *Salmonella spp*.

5.6 DETERMINACIÓN DE *Vibrio cholerae*

Tabla N° 16: Resultados obtenidos en la determinación de *Vibrio cholerae* en lonjas de pescado comparado con especificación de RTCA 67.04.50:08; Grupo 9.0, Sub grupo: 9.1

Código	Prueba de Oxidasa	Resultado	Otros microorganismos encontrados	Especificación RTCA 67.04.50:08 AUSENCIA
RESULTADOS DE PRIMER MUESTREO				
ST0101	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
ST0201	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SC0301	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SB0401	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
ST0501	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SC0601	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SC0701	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SB0801	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DT0901	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DC1001	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DB1101	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DB1201	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO				
ST1302	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
ST1402	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SC1502	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SB1602	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
ST1702	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SC1802	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
SC1902	(+)	Presencia	-----	No conforme
SB2002	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DT2102	(+)	Presencia	-----	No conforme
DC2202	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DB2302	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme
DB2402	(+)	Ausencia	<i>Vibrio spp</i>	Conforme

En la Tabla N° 16 se puede verificar que el sólo el 91.67 % de las muestras cumplen con lo especificado en la norma. Todas las muestras presentaron crecimiento en las placas de medio TCBS, por ello se les realizó la prueba de oxidasa que es característica del género *Vibrios*, resultando positivo en todas (ver Figura N° 24).

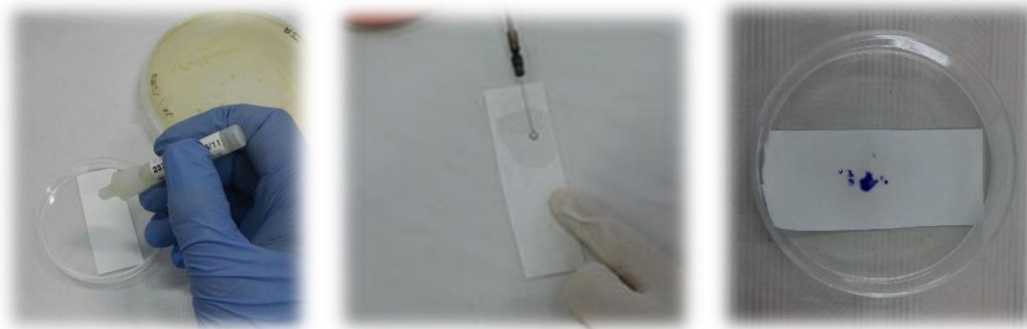


Figura N° 24: Prueba de oxidasa, resultado positivo para *Vibrio spp.*

Se observó que en el medio TCBS crecieron dos tipos de colonias: unas verdes y otras amarillas (ver Figura N° 25 y 26); según la morfología macroscópica que presentaban las colonias verdes, pertenecen a cepas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* ⁽¹⁶⁾, mientras que las amarillas a *Vibrio cholerae*.

La confirmación de *Vibrio cholerae* se realizó por pruebas bioquímicas (ver Anexo N° 25), donde se tomaron sólo las colonias amarillas, resultando positivas solo las muestras de código: SC1902 y DT210; que corresponden a muestras de

curvina y tilapia respectivamente, representando el 8.33%. De las placas donde crecieron colonias de dos tipos de color (ver Figura N° 26) sólo se tomaron las colonias amarillas, debido a que estas poseen las características de interés.

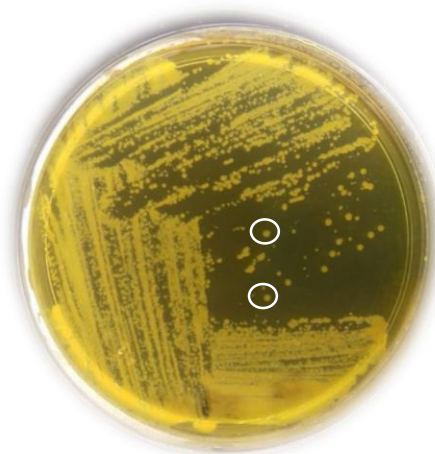


Figura N° 25: Colonias sospechosas de *Vibrio cholerae* de color amarillo en Agar TCBS.

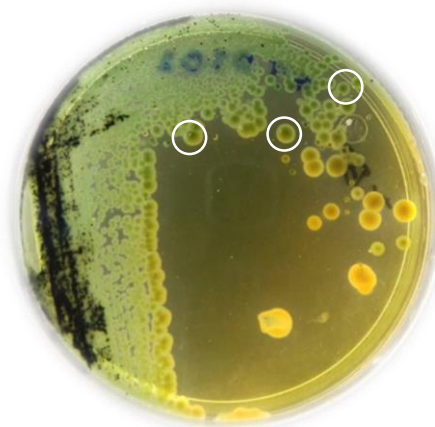


Figura N° 26: Colonias sospechosas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* de color verde en Agar TCBS.

El crecimiento de *Vibrio cholerae* se produjo por varios factores: primero por el hábitat, los peces viven en los océanos, ríos y lagos; aquí tienen contacto con otro tipo de fauna como: camarones, cangrejos, mejillones, ostras, conchas, entre otros, siendo estos portadores de bacterias como el *Vibrio cholerae*, facilitando así el alojamiento de microorganismos tanto en su organismo como en las escamas. Este foco de contaminación se puede reducir siempre y cuando se

ejecuten buenas prácticas higiénicas por parte de los manipuladores, acompañado de un buen lavado, eviscerado y descamado del mismo. Si en estas fases se elimina este microorganismo, no habría problema en la fase del fileteado.

Otro foco de contaminación fue el uso de cuchillos y tablas de picar para fraccionar varios tipos de carnes, produciendo así una contaminación cruzada.

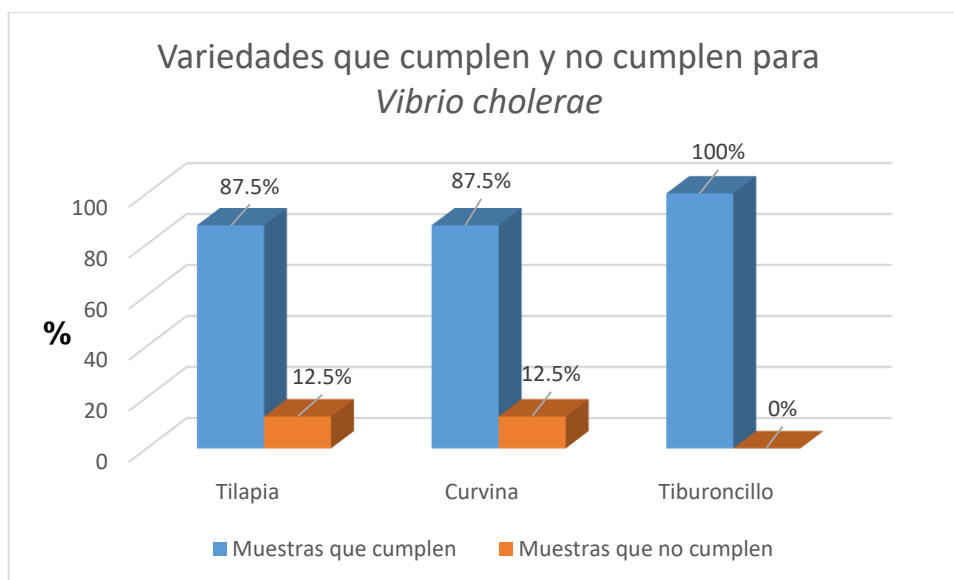


Figura N° 27: Gráfico de muestras que cumplen y no cumplen para *Vibrio cholerae* según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

En lo que corresponde a variedades, en las muestras de tilapia y curvina solo el 87.50% de las muestras cumplieron con la especificación para *Vibrio cholerae*, mientras que las de tiburoncillo presentaron ausencia en su totalidad (ver Figura N° 27).

5.7 Resumen global de las muestras analizadas

A continuación, se presenta un cuadro resumen de los análisis efectuados a las

muestras con sus respectivas especificaciones, de acuerdo al RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

Cuadro N° 6: Resultado general de análisis microbiológicos de Ionias de pescado en el primer y segundo muestreo.

Código de Muestras	<i>Escherchia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	Cumple con las especificaciones del RTCA
	Límite permitido por el RTCA				
	<10 ² UFC/g	<10 ³ UFC/g	Ausencia	Ausencia	
RESULTADOS DE PRIMER MUESTREO					
ST0101	500 UFC/g	Ausencia	Ausencia	Ausencia	No conforme
ST0201	1110 UFC/g	Ausencia	Presencia	Ausencia	No conforme
SC0301	80 UFC/g	790 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
SB0401	78 UFC/g	725 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
ST0501	66 UFC/g	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Conforme
SC0601	92 UFC/g	870 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
SC0701	74 UFC/g	900 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
SB0801	96 UFC/g	DNPC	Ausencia	Ausencia	No conforme
DT0901	90 UFC/g	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Conforme
DC1001	58 UFC/g	860 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
DB1101	1770 UFC/g	650 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	No conforme
DB1201	78 UFC/g	DNPC	Ausencia	Ausencia	No conforme
RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO					
ST1302	66 UFC/g	450 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
ST1402	47 UFC/g	470 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
SC1502	690 UFC/g	770 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	No conforme
SB1602	620 UFC/g	580 UFC/ g	Presencia	Ausencia	No conforme
ST1702	64 UFC/g	390 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
SC1802	850 UFC/g	440 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	No conforme
SC1902	1020 UFC/g	630 UFC/ g	Ausencia	Presencia	No conforme
SB2002	1670 UFC/g	DNPC	Presencia	Ausencia	No conforme
DT2102	74 UFC/g	520 UFC/ g	Ausencia	Presencia	No conforme
DC2202	88 UFC/g	870 UFC/ g	Ausencia	Ausencia	Conforme
DB2302	1740 UFC/g	DNPC	Ausencia	Ausencia	No conforme

Cuadro N° 6: (Continuación)

DB2402	1640 UFC/g	DNPC	Ausencia	Ausencia	No conforme
--------	------------	------	----------	----------	-------------

En el Cuadro N° 6, se pueden observar 2 colores distintos de casillas, en donde:

- **Casillas color Rojo:** representa los análisis que no se cumplen.
- **Casillas color Celeste:** muestras que cumplen con todas las especificaciones, por lo tanto, son aptas para el consumo humano.

Se observa que solo 11 muestras de las 24 cumplen con todas las especificaciones del RTCA, es decir las de código: SC0301, SB0401, ST0501, SC0601, SC0701, DT0901, DC1001, ST1302, ST1402, ST1702 y DC2202; estas representan el 45.83%, por lo tanto, son aptas para el consumo humano.

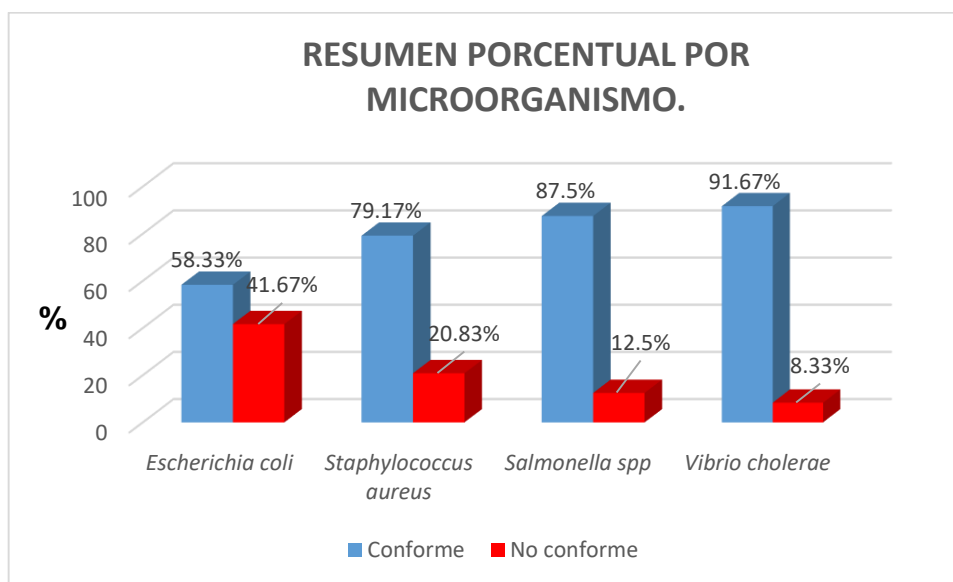


Figura N° 28: Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae* según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

En la Figura N° 28, se presentan los resultados por cada microorganismo, donde *Escherichia coli* presenta el mayor porcentaje de “No conformidad” con un 41.67%, es decir, que tiene el mayor número de muestras contaminadas en

comparación con los demás patógenos en estudio; seguido por *Staphylococcus aureus* con 20.83%, *Salmonella spp* con 12.5% y *Vibrio cholerae* con un 8.33%.

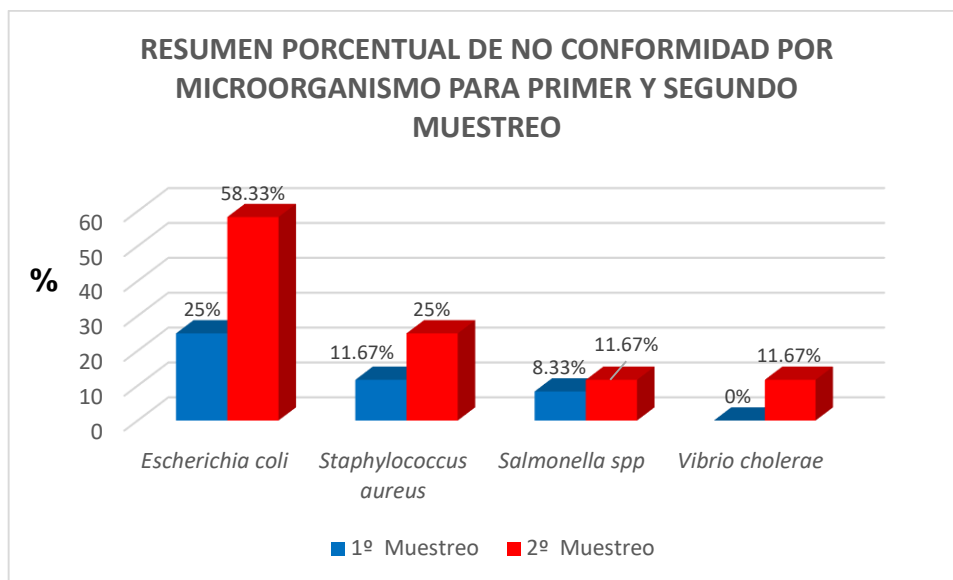


Figura N° 29: Gráfico porcentual de muestras que no cumplen con especificaciones para lonja de pescado según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1; de primer y segundo muestreo.

La Figura N° 29, presenta un gráfico resumen con el respectivo “porcentaje de no conformidad” de cada muestreo y para cada microorganismo en estudio, se observa que la *Escherichia coli* presenta el mayor porcentaje de muestras contaminadas tanto para el primer y segundo muestreo con 25% y 58.33% de “No conformidad” respectivamente. Aquí la higiene personal de los manipuladores fue crucial debido a que *Escherichia coli* por ser un microorganismo de origen fecal, induce a que los manipuladores no se lavan bien las manos después de ir al baño, a todo esto se le añaden las malas prácticas higiénicas de manipulación y almacenamiento del producto. La práctica de malos hábitos higiénicos contribuye al crecimiento de otras bacterias en los alimentos,

afectando directamente la salud de los consumidores, por ello no son aptas para consumo humano.

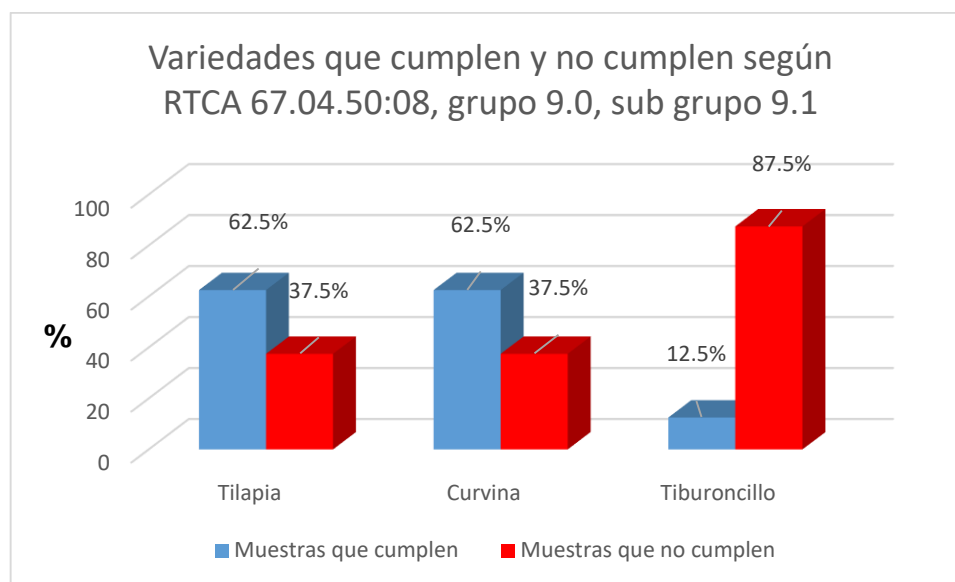


Figura N° 30: Gráfico porcentual de las variedades que cumplen y no cumplen con especificaciones para lonja de pescado según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

En la Figura N° 30, se puede ver que en cuanto a las tres variedades analizadas el 62.50% de las muestras de tilapia pueden ser consumidas, es decir, las muestras de código: ST0501, DT0901, ST1302, ST1402 y ST1702. En las muestras de curvina al igual que en las de tilapia también solo el 62.50% cumplen con todas las especificaciones, las muestras de código: SC0301, SC0601, SC0701 DC1001 y DC2202. Por último, en lo que corresponde a las muestras de tiburoncillo sólo el 12.50% cumplen con los parámetros que señala el RTCA siendo únicamente la muestra: SB0401; esto determina que las muestras de tiburoncillo fueron las más contaminadas por los patógenos estudiados.

Los aspectos estudiados en la “Guía de observación para la verificación de las

condiciones higiénicas de los establecimientos de comercialización de lonja de pescado” se ven reflejados en los análisis, esto es causa de las malas prácticas higiénicas tanto de los manipuladores, despachadores y condiciones de almacenamiento de la lonja, el resultado de todo esto fue el aumento de la carga microbiana en las muestras desde un inicio.

**CAPÍTULO VI
CONCLUSIONES**

6.0 CONCLUSIONES

1. Con la guía de observación de buenas prácticas de manufactura se determinó que ninguna de las dos cadenas de supermercados cumple con la totalidad de los parámetros evaluados, como consecuencia de ello se produce un aumento de la carga microbiana en las lonjas, por tal razón no son aptas para el consumo humano.
2. *Escherichia coli* presenta el 41.67% de no conformidad, esto se debe a que fueron contaminados por materia fecal ya sea de origen humano o animal, producto de malas prácticas de manufactura e higiene del personal manipulador.
3. *Staphylococcus aureus* presenta el 79.17 % de muestras que cumplen con la especificación (<1000 UFC/g), mientras que el 20.83 % de inconformidad es representado solo por las muestras de la variedad tiburoncillo; aquí el factor principal fue la temperatura, debido a que las muestras de esta variedad no estaba semicongeladas.
4. Para la determinación de *Salmonella spp*, solo el 12.5 % de las muestras analizadas presentan este microorganismo, lo que indica que hubo contaminación cruzada y mala higiene de los manipuladores.
5. *Vibrio cholerae* presenta el 91.67% de las muestras que cumplieron con la especificación, siendo el que menos incidencia presentó en los análisis.
6. *Escherichia coli* presenta el mayor porcentaje de muestras contaminadas en el primer y segundo muestreo con 25% y 58.33% de “No conformidad”

respectivamente, esta bacteria por ser de origen fecal indica que posiblemente los manipuladores no se lavan adecuadamente las manos después de ir al baño o después de ejecutar alguna actividad que incluya contacto con dicho microorganismo.

7. En el desarrollo de los análisis se encontraron otros microorganismos que no son exigidos por el RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1; pero que si pueden provocar ciertas patologías cuando son ingeridos, entre estos están: *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella spp*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*.
8. Según datos obtenidos en la guía de observación juntamente con los análisis microbiológicos demuestran que las malas condiciones de almacenamiento e inadecuadas prácticas higiénicas de los manipuladores en los supermercados, dan origen a fuentes de contaminación, influyendo en que este tipo de alimentos no sean inocuos y aptos para consumo humano.
9. En general 11 de las 24 muestras analizadas cumplen con todas las especificaciones del RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1 de alimentos listos para comer, esto representa el 45.83%.
10. En cuanto a las tres variedades analizadas la variedad que mostró mayor carga microbiana fue la variedad de tiburoncillo con el 87.5% y las variedades de tilapia y curvina con 62.50% respectivamente que pueden ser consumidas según los parámetros exigidos por el RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

**CAPÍTULO VII
RECOMENDACIONES**

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que las instituciones pertinentes realicen charlas de buenas prácticas de manufactura a los manipuladores de alimentos, y que verifiquen según especificaciones, las condiciones de limpieza de las cámaras de almacenamiento, los utensilios, y la higiene de los manipuladores, para conservar la calidad del producto que se comercializa.
2. Que las instituciones pertinentes como: Defensoría del Consumidor y el MINSAL promuevan a la población que consume esta clase de productos, que cocinen adecuadamente este tipo de alimento, de esta manera se eliminarán muchos microorganismos sensibles a temperaturas altas, por ende, habrá menos probabilidad de causar daños en la salud del consumidor.
3. Que el RTCA 67.04.50:08 de alimentos, grupo 9.0, sub grupo 9.1, incluya la determinación de microorganismos como *Klebsiella spp* y *Enterobacter spp*; ya que estos inciden en los análisis.
4. Que futuras investigaciones den seguimiento al presente trabajo realizado, abarcando mayor cantidad de muestras y lugares de muestreo en productos similares.
5. Determinar en posteriores estudios el serotipo de *Vibrio cholerae* O1, debido a que en este estudio se determinó el *Vibrio cholerae* de forma general.
6. Que los establecimientos promuevan el manual de Buenas Prácticas de Manufactura para que el manipulador pueda obtener una certificación.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. (Official methods of analysis of the association of official analytical chemists). (1998). (Consultado 15 de Marzo de 2017) Disponible [On line]: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>.
2. Alvarado, M., L., Castillo, L. & Camacho, Y. Corrales, (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). Recuperado: febrero, 16, 2015. Disponible [On line]: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTORIG4_PESCADO.pdf
3. Batt, C. & Patel, P., Robinson, R., (2004). Enciclopedia of Food Microbiology, *Salmonella*, Editorial: Elsevier. Vol. 1. (pp. 1928). Marzo, 22, 2015. Reino Unido; Disponible [On line]: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122270703013659>
4. Brooks, G, Butel, J. & Morse, S. (1999). Microbiología médica de Jawetz, *Staphylococcus aureus*, Generalidades, Editorial Manual Modern.; Melnick y Adelberg (pág. 241, 242, 244, 245, 269, 291, 292, 293.), México.
5. Burkhardt, W. & Grant, M., Feng, P., Weagant, S., (2002). BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria, FDA, [Consultado 10 de febrero de 2017], Disponible [On line]: <http://www.fda.gov/safety/recalls/industryguidance/ucm129287.htm>
6. Calderón A. V., P Pascual, M. R.P., *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. (Consultado: 3 de febrero de 2017).

7. Consejo de Ministros de Integración Económica Centroamericana (COMIECO). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. (2009). Disponible [On line]: <http://www.mspas.gob.gt/files/Descargas/Servicios/NuevoRenovacion%20RegistroSanitario/2014/RTCA%20Criterios%20Microbiol%C3%B3gicos.PDF>
8. Corrales, L., Alvarado, M., Castillo, L. & Camacho, 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). Recuperado: febrero, 16, 2015. Disponible en sitio web: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTORIG4_PESCADO.pdf
9. Cornejo, I. (2017). No decimos que no se coma el pescado seco.; Publicado en Diario EL MUNDO, Nacionales, Disponible [On line]. <http://elmundo.sv/no-decimos-que-no-se-coma-pescado-seco/>
10. COUSTEAU, J.Y. i VIÑALES SOLÉ (1993). Cousteau Enciclopèdia del Mar. Barcelona: Ediciones Folio, volum 10 y 11, 1993, Disponible [On line]: https://www.aquariumbcn.com/wpcontent/uploads/2014/07/AQUARIUMBCN_GUION_PECES_ESOBACH.pdf
11. COUSTEAU, J.Y. i VIÑALES SOLÉ (1993). Cousteau Enciclopèdia del Mar. Barcelona: Ediciones Folio, volum 10 y 11, 1993, Disponible [On line]: https://www.aquariumbcn.com/wpcontent/uploads/2014/07/AQUARIUMBCN_GUION_PECES_ESOBACH.pdf.

12. Dr. Balbuena R., E. D. "MANUAL BÁSICO SOBRE PROCESAMIENTO E INOCUIDAD DE PRODUCTOS DE LA ACUICULTURA", Dirección de Acuicultura del Viceministerio de Ganadería, Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura Sostenible; Paraguay. Disponible [On line]: <http://www.fao.org/3/a-i3835s.pdf>
13. Durazo, E. (2006). Aprovechamiento de productos pesqueros. México Baja California, México: Universidad Autónoma de Baja California.
14. FAO, (1999). El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad 348. Disponible [On line]: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/v7180s00.htm#Contents>
15. FAO/OPS/OMS, (2017). Manual para manipuladores de alimentos Washington, D.C., 2017, Disponible [On line]: <http://www.fao.org/3/ai7321s.pdf>
16. Reginald W. & Gayle A. (2002). BAM: *Staphylococcus aureus*. Chapter 12. Disponible[On line]:<https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm071429.htm>
17. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM R12: Catalase test. (Consultado 28 de febrero de 2017) Disponible [On line]: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm061210.htm>
18. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Vibrio. Disponible[Online]:<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratryMethods/ucm070830.htm>

19. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Salmonella. Disponible [On line]: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm#Prep>
20. Food and Drug Administration FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Chapter 5, 12, 4, 9, 2001. 8ed. E.E.U.U. [Consultado el 11 de febrero de 2017]. Disponible [On line]: https://www.eberbachlabtools.com/Assets/FDA_Bacteriological_Analysis.pdf
21. González, C., Zelaya, N., Microbiología de Alimentos, Manual de Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Laboratorios de Control de Calidad Microbiológico. 2015. Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, El Salvador.
22. Granados, R. & Villaverde, M. (2003). Bacteriología. Características y clasificación bacteriana, Virología. Características y técnicas bioquímicas. (Microbiología Tomo I); Disponible [On line]: https://books.google.com/sv/books?id=sUrlecdf_O8C&printsec=frontcover&dq=morfologia+microscopica+y+macroscopica+de+enterobacterias&hl=es&sa=X&ei=1HoXVeP9Hc38gwSB14OwBw&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q&f=true
23. Huss, H.H. (1999). El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad.; Laboratorio Tecnológico Ministerio de Pesca Dinamarca, [Consultado: Febrero, 3, 2017], Disponible [On line]: <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm>
24. Joseph S.W. and Rollins D.M.; University of Maryland, *Salmonella* Summary, Morphology & Physiology, PATHOGENIC MICROBIOLOGY, [Consultado: 10 de febrero de 2017], United States of America (USA).

25. Massa, A. (2006). Cambios bioquímicos post-mortem en músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío, (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
26. Morales V, Pedro. (2012). Tamaño necesario de la muestra: ¿Cuántos sujetos necesitamos, Disponible [On line]: <http://www.upcomillas.es/personal/peter/investigacion/Tama%F1oMuestra.pdf>.
27. Munita, H., García, D., (Abril 2012), SCIELO, Revista de infectología,; Santiago; Chile., Descripción clínica y epidemiológica de un grave brote de salmonelosis transmitida por alimentos, vol.29, Nº 2; Disponible [On line]: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-1018201200200002
28. Orellana, J., (2017). El MAG evalúa restringir el ingreso de tilapia al país, Publicado en Periódico LA PRENSA GRÁFICA. Disponible [On line]: <http://www.laprensagrafica.com/2017/05/30/el-mag-evalua-restringir-el-ingreso-de-tilapia-al-pais>
29. Organización Mundial de la Salud (OMS), (27 de mayo de 2011) Alerta y Respuesta Mundiales (GAR), Brote de síndrome hemolítico urémico en Alemania, Disponible [On line]: http://www.who.int/csr/don/2011_05_27/es/.
30. Pierson M. & Smoot L. (2001) Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. In: Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. 2nd ed. Doyle M. Beuchat L. & Montville T. (Eds.) ASM Press. USA. Pág: 71-87.

31. Robert R. Redfield, MD, (2017). The 18th Director of the Centers for Disease Control and Prevention and Administrator of the Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (CDC). 2017. Disponible [On line]: <https://www.cdc.gov/media/subtopic/library/diseases.htm>

32. United States of America, Gobierno Estadounidense, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades; Centro Nacional para la Prevención de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud, División de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos, el Agua y el Ambiente (DFWED), Datos y estadísticas, Última modificación: 27 de diciembre de 2011, Disponible [On line]: https://www.cdc.gov/spanish/Datos/BrotosEnfermedades/?s_cid=fb_sp278

33. Vivanco, M. (2005). *Muestreo Estadístico. Diseño y Aplicaciones* (1 ed). Universidad de Santiago, Chile.

ANEXOS

ANEXO N° 1

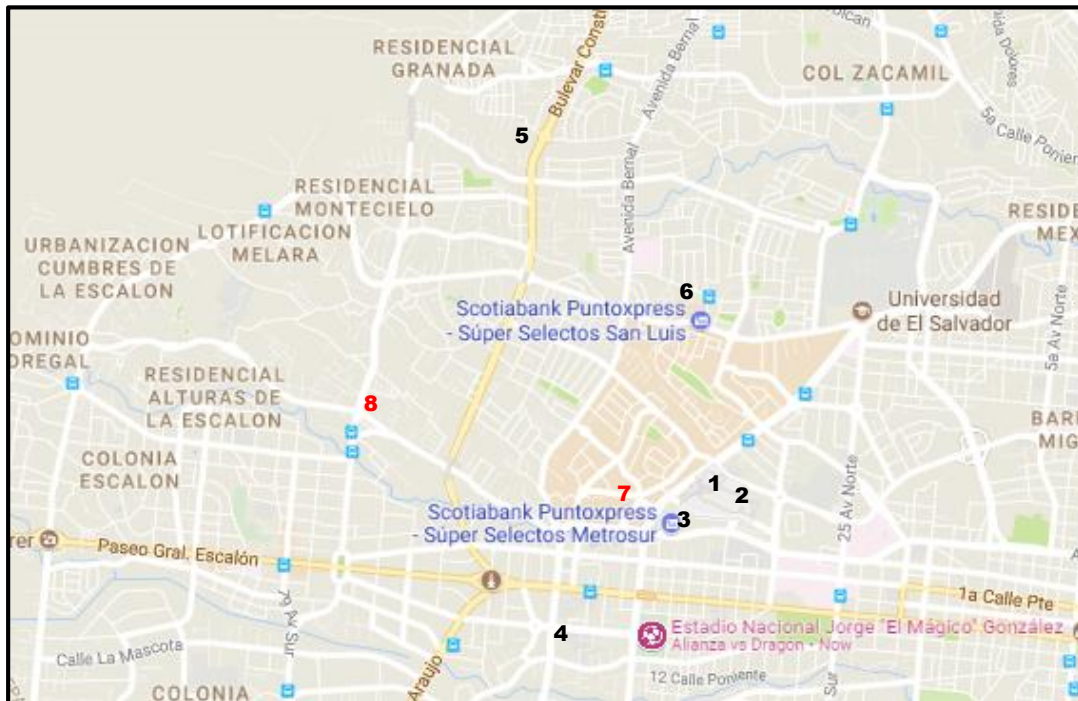


Figura N° 31: Ubicación de los supermercados en el Distrito dos, departamento de San Salvador.

Donde:

1. Super Selectos, Metrocentro 6ª etapa.
2. Super Selectos, Metrocentro 8ª etapa.
3. Super Selectos, MetroSur.
4. Super Selectos, Gigante.
5. Super Selectos, Miralvalle Motocross.
6. Super Selectos, San Luis.
7. Despensa de Don Juan, Bulevar los Héroe.
8. Despensa de Don Juan, Escalón Norte

ANEXO N° 2

Tabla N° 17. Tabla de Distribución Normal Estándar ⁽³³⁾.

Z	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.50000	0.50399	0.50798	0.51197	0.51595	0.51994	0.52392	0.52790	0.53188	0.53586
0.1	0.53983	0.54380	0.54776	0.55172	0.55567	0.55962	0.56356	0.56749	0.57142	0.57535
0.2	0.57926	0.58317	0.58706	0.59095	0.59483	0.59871	0.60257	0.60642	0.61026	0.61409
0.3	0.61791	0.62172	0.62552	0.62930	0.63307	0.63683	0.64058	0.64431	0.64803	0.65173
0.4	0.65542	0.65910	0.66276	0.66640	0.67003	0.67364	0.67724	0.68082	0.68439	0.68793
0.5	0.69146	0.69497	0.69847	0.70194	0.70540	0.70884	0.71226	0.71566	0.71904	0.72240
0.6	0.72575	0.72907	0.73237	0.73565	0.73891	0.74215	0.74537	0.74857	0.75175	0.75490
0.7	0.75804	0.76115	0.76424	0.76730	0.77035	0.77337	0.77637	0.77935	0.78230	0.78524
0.8	0.78814	0.79103	0.79389	0.79673	0.79955	0.80234	0.80511	0.80785	0.81057	0.81327
0.9	0.81594	0.81859	0.82121	0.82381	0.82639	0.82894	0.83147	0.83398	0.83646	0.83891
1.0	0.84134	0.84375	0.84614	0.84849	0.85083	0.85314	0.85543	0.85769	0.85993	0.86214
1.1	0.86433	0.86650	0.86864	0.87076	0.87286	0.87493	0.87698	0.87900	0.88100	0.88298
1.2	0.88493	0.88686	0.88877	0.89065	0.89251	0.89435	0.89617	0.89796	0.89973	0.90147
1.3	0.90320	0.90490	0.90658	0.90824	0.90988	0.91149	0.91308	0.91466	0.91621	0.91774
1.4	0.91924	0.92073	0.92220	0.92364	0.92507	0.92647	0.92785	0.92922	0.93056	0.93189
1.5	0.93319	0.93448	0.93574	0.93699	0.93822	0.93943	0.94062	0.94179	0.94295	0.94408
1.6	0.94520	0.94630	0.94738	0.94845	0.94950	0.95053	0.95154	0.95254	0.95352	0.95449
1.7	0.95543	0.95637	0.95728	0.95818	0.95907	0.95994	0.96080	0.96164	0.96246	0.96327
1.8	0.96407	0.96485	0.96562	0.96638	0.96712	0.96784	0.96856	0.96926	0.96995	0.97062
1.9	0.97128	0.97193	0.97257	0.97320	0.97381	0.97441	0.97500	0.97558	0.97615	0.97670
2.0	0.97725	0.97778	0.97831	0.97882	0.97932	0.97982	0.98030	0.98077	0.98124	0.98169
2.1	0.98214	0.98257	0.98300	0.98341	0.98382	0.98422	0.98461	0.98500	0.98537	0.98574
2.2	0.98610	0.98645	0.98679	0.98713	0.98745	0.98778	0.98809	0.98840	0.98870	0.98899
2.3	0.98928	0.98956	0.98983	0.99010	0.99036	0.99061	0.99086	0.99111	0.99134	0.99158
2.4	0.99180	0.99202	0.99224	0.99245	0.99266	0.99286	0.99305	0.99324	0.99343	0.99361
2.5	0.99379	0.99396	0.99413	0.99430	0.99446	0.99461	0.99477	0.99492	0.99506	0.99520
2.6	0.99534	0.99547	0.99560	0.99573	0.99585	0.99598	0.99609	0.99621	0.99632	0.99643
2.7	0.99653	0.99664	0.99674	0.99683	0.99693	0.99702	0.99711	0.99720	0.99728	0.99736
2.8	0.99744	0.99752	0.99760	0.99767	0.99774	0.99781	0.99788	0.99795	0.99801	0.99807
2.9	0.99813	0.99819	0.99825	0.99831	0.99836	0.99841	0.99846	0.99851	0.99856	0.99861
3.0	0.99865	0.99869	0.99874	0.99878	0.99882	0.99886	0.99889	0.99893	0.99896	0.99900
3.1	0.99903	0.99906	0.99910	0.99913	0.99916	0.99918	0.99921	0.99924	0.99926	0.99929
3.2	0.99931	0.99934	0.99936	0.99938	0.99940	0.99942	0.99944	0.99946	0.99948	0.99950
3.3	0.99952	0.99953	0.99955	0.99957	0.99958	0.99960	0.99961	0.99962	0.99964	0.99965
3.4	0.99966	0.99968	0.99969	0.99970	0.99971	0.99972	0.99973	0.99974	0.99975	0.99976
3.5	0.99977	0.99978	0.99978	0.99979	0.99980	0.99981	0.99981	0.99982	0.99983	0.99983
3.6	0.99984	0.99985	0.99985	0.99986	0.99986	0.99987	0.99987	0.99988	0.99988	0.99989
3.7	0.99989	0.99990	0.99990	0.99990	0.99991	0.99991	0.99992	0.99992	0.99992	0.99992
3.8	0.99993	0.99993	0.99993	0.99994	0.99994	0.99994	0.99994	0.99995	0.99995	0.99995
3.9	0.99995	0.99995	0.99996	0.99996	0.99996	0.99996	0.99996	0.99996	0.99997	0.99997
4.0	0.99997	0.99997	0.99997	0.99997	0.99997	0.99997	0.99998	0.99998	0.99998	0.99998

Nota: $Z = 1.96$; para un intervalo de confianza de 97.5% se buscó en la tabla de distribución normal el valor de 0.9750 (Ver Anexo N° 2), en la columna el valor es de 1.9 y en la fila es de 0.06 por lo que la suma de estos dos valores equivale a $Z = 1.96$.

ANEXO N° 3

FORMATO DE ENCUESTA



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



Encuesta para conocer las preferencias del consumidor de pescado dentro de los supermercados del Distrito dos de San Salvador.

Fecha: _____

Preferencia del consumidor de pescado fresco	
¿Prefiere consumir el pescado entero o en filetes/lonja? Explique.	
¿Qué variedad de pescado prefiere?	
¿Por qué prefiere comprar este tipo de producto en estos establecimientos?	

ANEXO N° 4



GUÍA DE OBSERVACIÓN

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



Guía de observación para la verificación de las condiciones higiénicas del establecimiento de comercialización de lonja de pescado y preferencias del consumidor dentro de los supermercados del Distrito dos de San Salvador.

Cadena comercial: _____ Sucursal: _____
 Fecha: _____ N° de muestreo: _____

PARAMETRO	Cumple parámetro	
	SI	NO
Condiciones de la cámara y lonjas		
¿Se encontraba la lonja con hielo?		
¿Se encontraba hielo en contacto directo con el producto en estudio?		
Los pescados presentan algún daño físico o mucosidad excesiva en su superficie.		
La superficie donde se manipulan los productos presentan las siguientes características: Lisas, de plástico		
¿Se encuentra otro producto almacenado junto a las variedades de Lonja en estudio? Si la respuesta es Sí, ¿Cuál es ese producto?		
Se observan limpias las superficies de la cámara.		
Parámetros a verificar en despachador		
Utilizan diferentes utensilios para cada producto con el fin de evitar contaminación cruzada		
Utilizan, utensilios limpios para la manipulación y además estos son fácil de limpiar y desinfectar		
Higiene del personal de despacho		
Tiene las manos limpias		
Presenta alguna herida a simple vista		
Utiliza guantes		
Tiene las uñas cortas, limpias y sin barniz (en caso de mujeres).		
Utiliza algún objeto como anillo, relojes, pulseras, etc.		
Utiliza gorro (cofia) para cubrir el cabello		
Tiene ropa de trabajo limpio		
Presenta algún síntoma o tipo de enfermedad a simple vista.		

ANEXO N° 5

FORMATO DE ETIQUETA

Etiqueta para recolección de datos de las muestras en los supermercados.

Cuadro N° 7: Formato de etiqueta para identificación de muestras.

Datos de la muestra de Lonja de pescado recolectada	
Lugar de muestreo	
Fecha	
Hora de muestreo	
N° de muestra	
Código	
Variedad	
Nombre del analista	
Observaciones:	

ANEXO N° 6

Cuadro N° 8: Codificación de muestras por supermercados.

Sucursal	Código	Descripción
PRIMER MUESTREO		
Super Selectos Metrocentro 8ª etapa	ST0101	Tilapia
	ST0201	Tilapia
	SC0301	Curvina
	SB0401	Tiburoncillo
Super Selectos San Luis	ST0501	Tilapia
	SC0601	Curvina
	SC0701	Curvina
	SB0801	Tiburoncillo
Despensa de Don Juan Bulevar Los Héroes	DT0901	Tilapia
	DC1001	Curvina
	DB1101	Tiburoncillo
	DB1201	Tiburoncillo
SEGUNDO MUESTREO		
Super Selectos Metrocentro 8ª etapa	ST1302	Tilapia
	ST1402	Tilapia
	SC1502	Curvina
	SB1602	Tiburoncillo
Super Selectos San Luis	ST1702	Tilapia
	SC1802	Curvina
	SC1902	Curvina
	SB2002	Tiburoncillo
Despensa de Don Juan Bulevar Los Héroes	DT2102	Tilapia
	DC2202	Curvina
	DB2302	Tiburoncillo
	DB2402	Tiburoncillo

Donde:

S: Super Selectos

D: Despensa de Don Juan

T: Tilapia

C: Curvina

B: Tiburoncillo

1º muestreo: 01

2º muestreo: 02

ANEXO N° 7

Tabla N° 18: Criterios Microbiológicos de Vigilancia aplicados a Pescado, derivados y productos marinos según RTCA 67.04.50:08, grupo 9.0, sub grupo 9.1.

Muestra: Lonja de tilapia, curvina y tiburoncillo.

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	5	3	10 UFC/ g	10 ² UFC/ g
<i>Staphylococcus aureus</i> (Solo para pescados)		3		1	10 UFC/ g	10 ³ UFC/ g
<i>Salmonella spp/25 g</i>		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 ³ UFC/ g

Nota: La parte sombreada indica los análisis que se le realizaron a las muestras.

ANEXO Nº 8

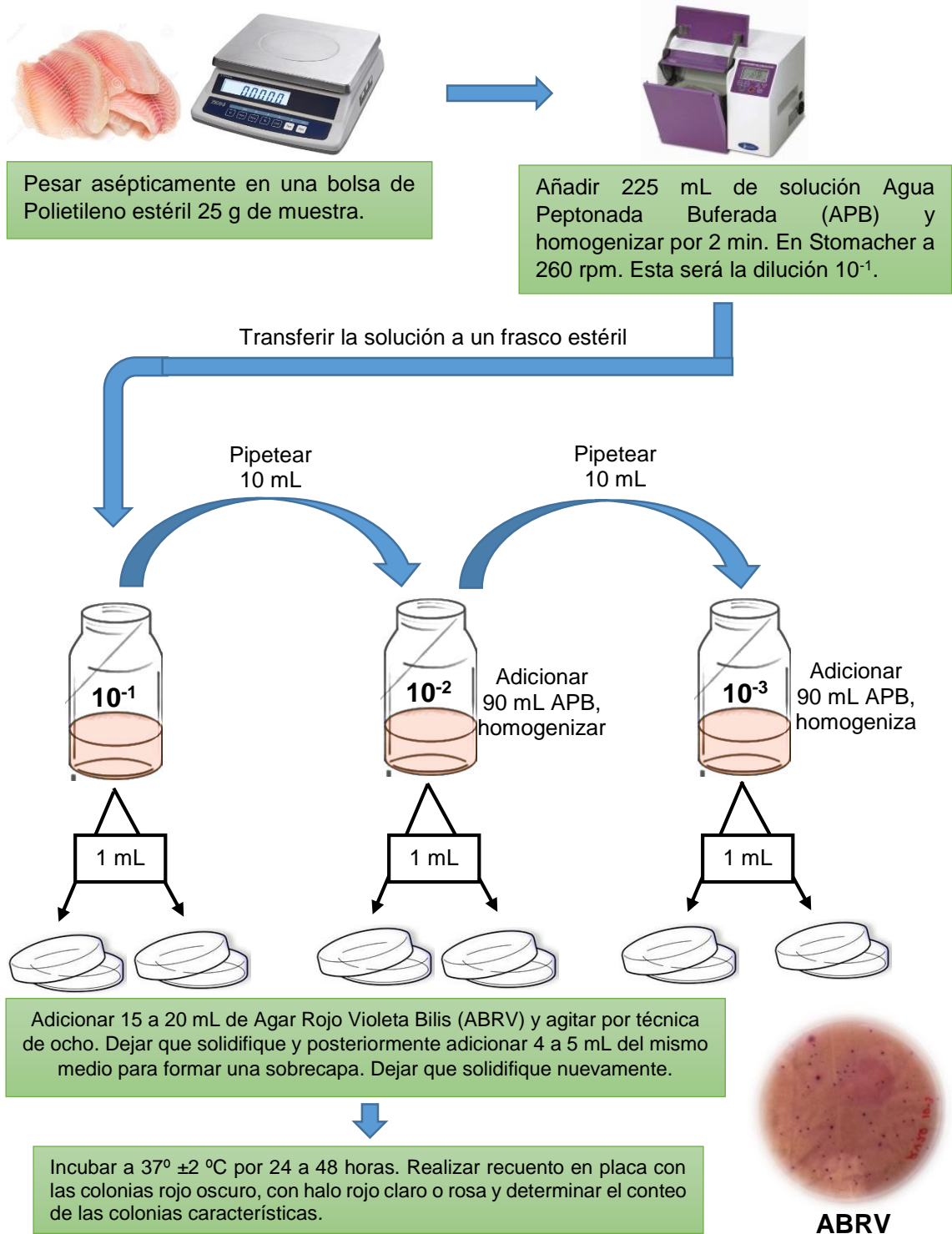


Figura Nº 32: Esquema para el aislamiento y conteo de *Escherichia coli* (20).

ANEXO N° 9

Tabla N° 19: Conteo en placa de *Escherichia coli*.

Dilución	N° de placa	N° de colonias típicas por placa	Recuento presuntivo (UFC/g)
10⁻¹	Placa 1	51	510
	Placa 2	59	590
10⁻²	Placa 3	10	1000
	Placa 4	9	900
10⁻³	Placa 5	0	0
	Placa 6	0	0
Muestra: ST0101	Total		3000
	Promedio (\bar{X}) = Recuento Total		500

Pasos para el conteo de *Escherichia coli*.

1. Contar el número de colonias típicas o características por cada placa.
2. Realizar un recuento presuntivo utilizando la siguiente fórmula:

Recuento presuntivo (UFC/g) = N° de colonias típicas por placa * (inverso de la dilución)

Donde:

10 = Inverso de la dilución 10⁻¹
100 = Inverso de la dilución 10⁻²
1000 = Inverso de la dilución 10⁻³

3. Cuando ya se tienen los cálculos de todas las placas, se realiza un promedio, se utiliza la siguiente ecuación:

$$\bar{X} = \frac{\sum n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5 + n_6}{6}$$

Donde:

n_i = Recuento presuntivo (UFC/g)
 \bar{X} = Recuento de *Escherichia coli* (UFC/g)

4. Realizar redondeo de acuerdo a las normas de aproximación.

ANEXO Nº 10

De las colonias que crecieron en ABRV, seleccionar 2 a 3 colonias color rojo oscuro que generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa. Y con ayuda de un asa bacteriológica inocular en Agar Tripticasa Soya (TSA)



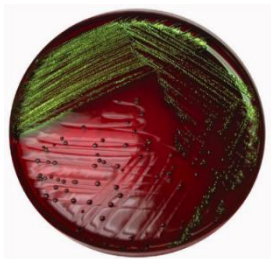
Incubar a $37^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ por 24 a 48 horas



Con ayuda de un asa bacteriológica tomar 2 o 3 colonias que crecieron en Agar Tripticasa Soya (TSA) e inocularlas en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)



Incubar a $37^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ por 24 a 48 horas



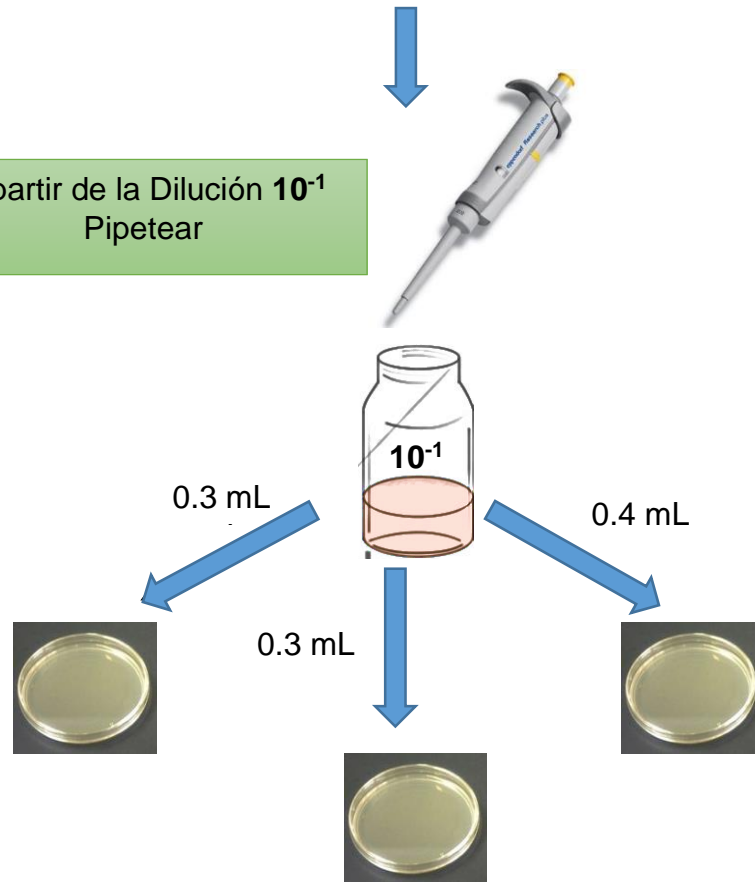
Observar la morfología macroscópica, para *E. coli* lo cual deben ser colonias planas con centro oscuro con brillo metálico. Tomar las colonias características y sembrar en Agar TSA para Pruebas Bioquímicas

Figura Nº 33: Esquema para la determinación y confirmación de *Escherichia coli* (20).

ANEXO Nº 11

Partiendo de las diluciones que se prepararon para la determinación de *Escherichia coli*, proceder de la siguiente manera para *Staphylococcus aureus*.

A partir de la Dilución 10^{-1}
Pipetear

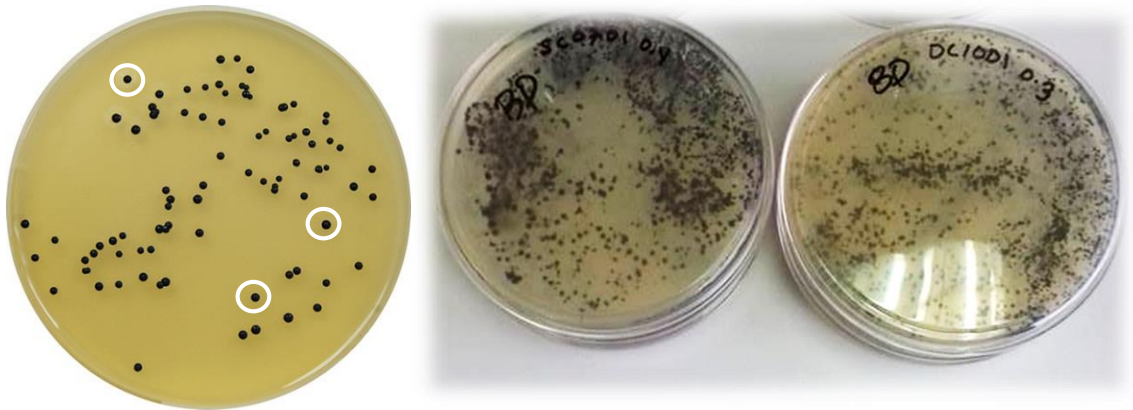


Esparcir la muestra con espátula de Drigalsky, reposar por 10 minutos e incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.

Figura Nº 34: Esquema para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* (20).

ANEXO Nº 12

Observar el desarrollo de colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*, de aspecto negro, brillante, o gris oscuro, con formación de halo alrededor de la colonia.



Placas de Agar Baird Parker con colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* (señaladas en círculo blanco).



Proceder a realizar el conteo de las colonias con ayuda de un Cuentacolonia



Figura Nº 35: Esquema para la determinación y conteo de *Staphylococcus aureus* (20).

ANEXO Nº 13

Tabla Nº 20: Conteo en placa de *Staphylococcus aureus*.

Dilución	Nº de placa	Cantidad inoculada (mL)	Nº de colonias típicas por placa	Recuento presuntivo (UFC/g)
10 ⁻¹ (Inverso = 10)	Placa 1	0.3	234	702
	Placa 2	0.3	233	699
	Placa 3	0.4	240	960
Muestra:			Total	2361
			Promedio (\bar{X}) = Recuento total	787 \cong 790

Pasos para el conteo de *Staphylococcus aureus*.

5. Contar el número de colonias típicas o características por cada placa.
6. Realizar un recuento presuntivo utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Recuento presuntivo (UFC/g)} = \text{Nº de colonias típicas por placa} * C_i \text{ (mL)} * 10$$

Donde:

C_i = Cantidad inoculada en mL

10 = Inverso de la dilución 10⁻¹

7. Cuando ya se tienen los cálculos de todas las placas, se realiza un promedio, se utiliza la siguiente ecuación:

$$\bar{X} = \frac{\sum n_1 + n_2 + n_3}{3}$$

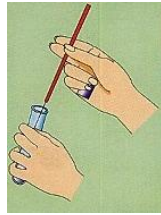
Donde:

n_i = Recuento presuntivo (UFC/g)

\bar{X} = Recuento de *Staphylococcus aureus* (UFC/g)

8. Realizar redondeo de acuerdo a las normas de aproximación.

ANEXO Nº 14



Con ayuda de un asa bacteriológica, tomar una colonia típica de cada placa e inocular en tubo con Caldo infusión cerebro corazón (BHI)



Incubar tubo a 35 ± 2 °C por 18 a 24 horas.



Inocular del caldo BHI en tubo, al que contiene el plasma.



Incubar tubo a 35 ± 2 °C por 18 a 24 horas.



Prueba positiva: Formación de coágulo al fondo del tubo que se mantiene en su lugar cuando el tubo se inclina o se invierte 180°

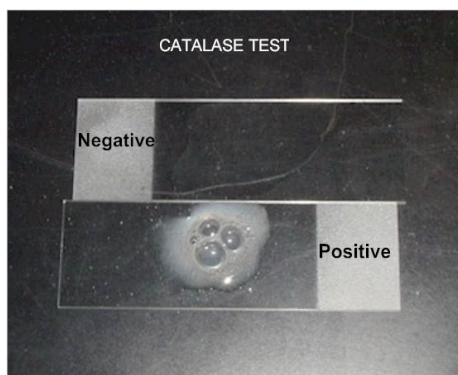
Figura Nº 36: Esquema para la identificación de *Staphylococcus aureus* por prueba de Coagulasa (20).

ANEXO Nº 15

Con ayuda de un asa bacteriológica tomar una colonia típica de cada placa y colocarlas en un portaobjetos.



Adicionar sobre la colonia 2 o 3 gotas de Peróxido de Hidrógeno al 3% (H_2O_2)



Prueba positiva: Formación de burbujeo

Figura Nº 37: Esquema para la identificación de *Staphylococcus aureus* por prueba de Catalasa ⁽²⁰⁾.

ANEXO N° 16

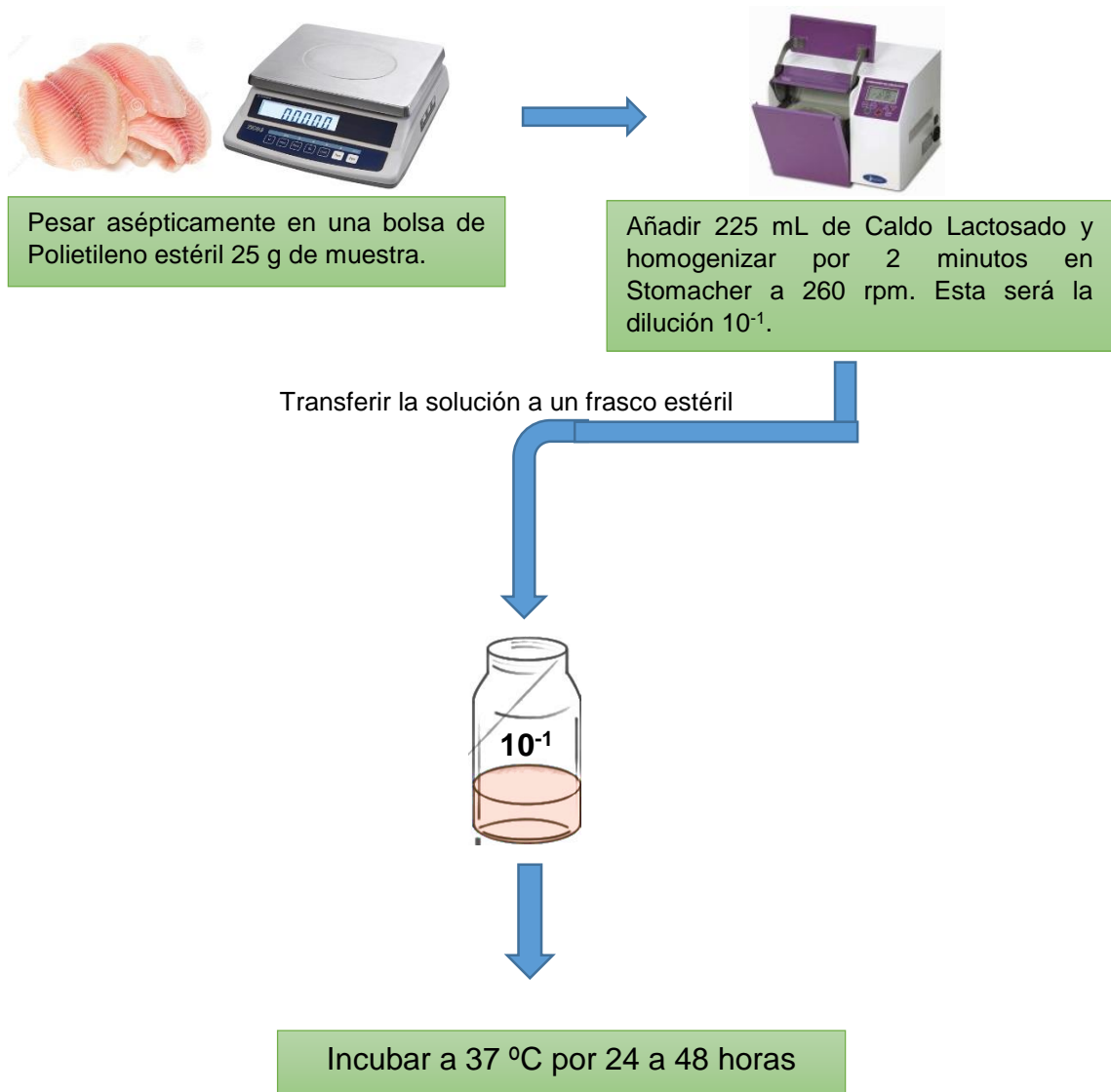


Figura N° 38: Esquema para tratamiento de la muestra en la determinación de *Salmonella* spp (20).

ANEXO Nº 17

Después del período de incubación proceder así.

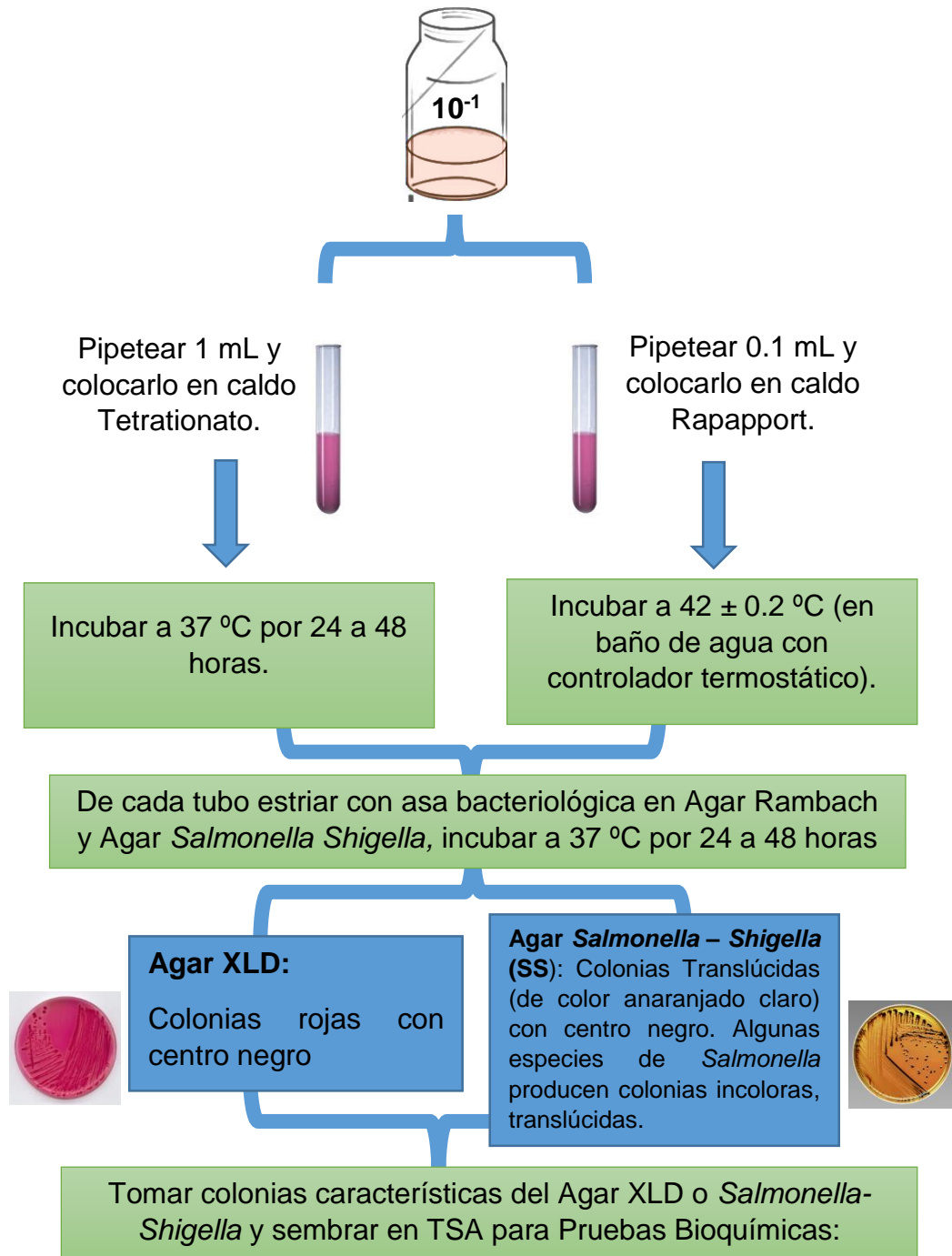


Figura Nº 39: Esquema para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp (20).

ANEXO Nº 18

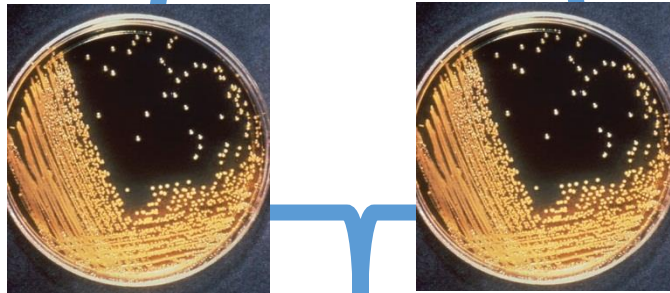
Partiendo de la dilución 10^{-1} que se preparó para la determinación de *Escherichia coli*, proceder de la siguiente manera para *Vibrio cholerae*.



Incubar a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.



Sembrar por duplicado con ayuda de un asa bacteriológica en anillo



Incubar a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.



Observar las colonias grandes (de 2 a 3 mm), lisas, de color amarillo y ligeramente aplanado con los centros opacos y translúcidas en las periferias. Tomar las colonias características del Agar TCBS y sembrar en Agar TSA + 2% NaCl para Pruebas Bioquímicas.

Figura Nº 40: Esquema para el aislamiento de *Vibrio cholerae* ⁽²⁰⁾.

ANEXO N° 19

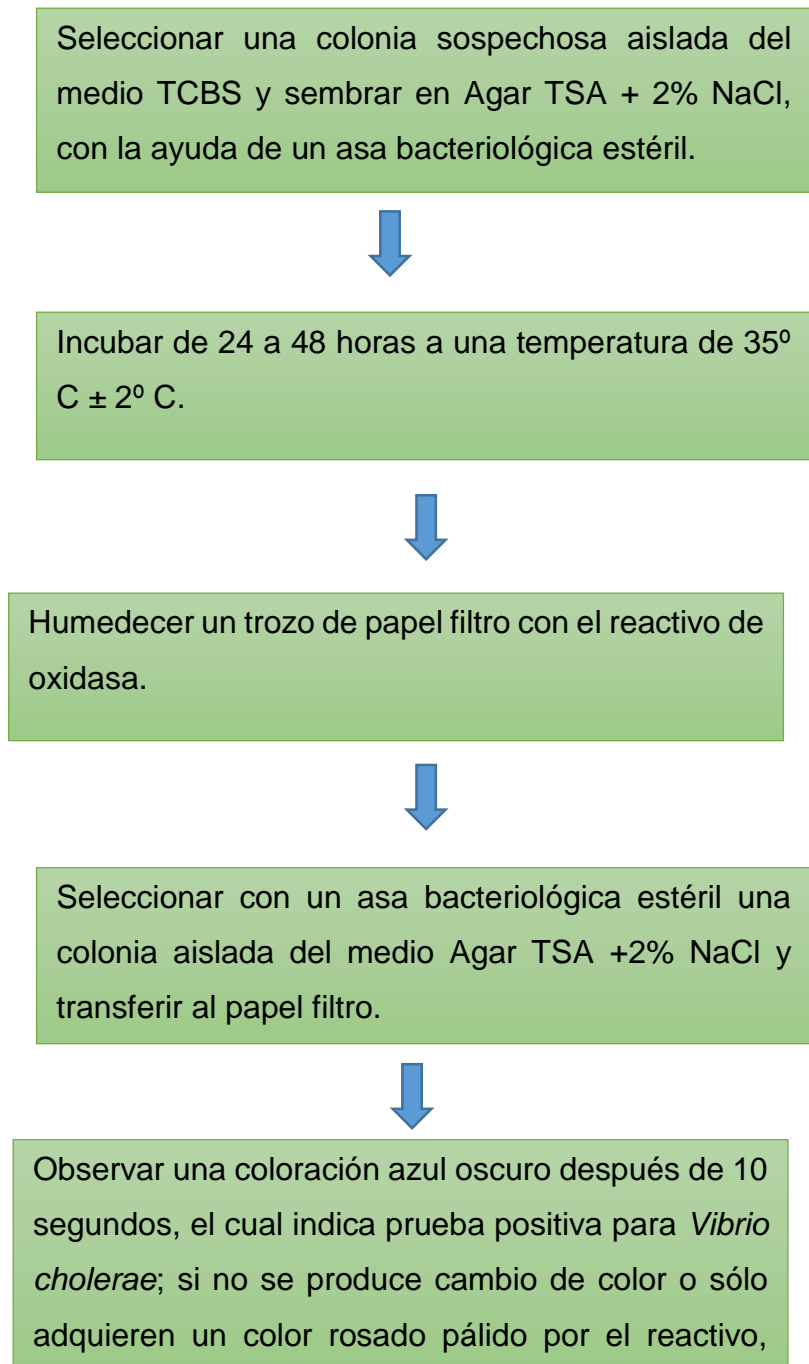


Figura N° 41: Esquema, prueba de oxidasa para *Vibrio cholerae* (20).

ANEXO Nº 20

Seleccionar las colonias características que crecieron en Agar TSA de acuerdo al microorganismo en evaluación y proceder de la siguiente manera:

De las colonias que crecieron, tomar con un asa bacteriológica en punta y proceder así:

De las colonias que crecieron, tomar con un asa bacteriológica en aro y proceder así:



TSI



Citrato



Movilidad



Indol



Rojo de Metilo



Voges Proskauer

Inocular por picadura hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie

Inocular por picadura hasta el fondo.

Inocular y formar una suspensión en cada tubo.

Incubar todos los tubos a 37 ± 2 °C por 24 horas.

Figura Nº 42: Esquema de pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae* (20).

ANEXO Nº 21

Tabla Nº 21: Pruebas Bioquímicas ⁽³⁾ ⁽⁶⁾.

PRUEBA BIOQUÍMICA		FUNDAMENTO		RESULTADO POSITIVO	RESULTADO NEGATIVO
Agar Hierro Triple Azúcar	Bisel/ Fondo	Resultado Bisel alcalino/fondo alcalino (bisel rojo/fondo rojo), K/K	Interpretación Microorganismo no fermentador de azúcares	Según sea el caso para cada microorganismo	Según sea el caso para cada microorganismo
		Bisel ácido/fondo ácido (bisel amarillo/fondo amarillo), A/A	Microorganismo fermentador de glucosa, sacarosa y lactosa.		
		Bisel alcalino/fondo ácido (bisel rojo/fondo amarillo), K/A	Microorganismo fermentador de glucosa		
	Gas	Producción de Gas		Ruptura del medio y presencia de burbujas	El medio no presenta burbujas
	H ₂ S	El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y el amonio, es la fuente de iones Fe ³⁺ , los cuales se combinan con ácido sulfhídrico y producen el sulfuro de hierro de color negro.		Se produce ennegrecimiento	No se produce ennegrecimiento
Indol		Evalúa la presencia en las bacterias de la enzima triptofanasa, mediante la cual, ocurre la hidrólisis y desaminación oxidativa del triptófano, con formación de indol.		Formación de un anillo de color rojo o fucsia en la interfase.	No presenta ningún anillo en la interfase.
Rojo de Metilo		Esta prueba se realiza para determinar la capacidad de un microorganismo de fermentar la glucosa con producción de ácido por la vía ácido mixta. Se acumulan ácidos (acético, fórmico, etc.), relativamente fuertes y bajan el pH del medio hasta 4-5. Dicho cambio de pH se detecta añadiendo un indicador (rojo de metilo) al cultivo.		Coloración roja	Medio amarillo

Tabla N 21: (Continuación).

Voges Proskahuer	Bacterias que producen acetoína o acetil metil carbinol por descarboxilación de dos moléculas de ácido pirúvico (producto final de la glucólisis).	Coloración roja	Medio amarillo
Citrato de Simmons	Determina si un microorganismo puede crecer utilizando citrato como única fuente de carbono debido a la síntesis de la enzima citrato permeasa.	Medio de color azul	Medio de color verde
Movilidad	Determinar si un microorganismo es móvil o inmóvil.	Formación de sombrilla	No presenta ningún cambio
Oxidasa	Determina la presencia del citocromo C. El citocromo C oxida al NNN'N', tetrametil 1-4 fenilendiamina (solución acuosa al 1% (p/v)). La oxidación se detecta como color azul.	Coloración azul	No presenta coloración
Catalasa	La catalasa es una enzima que poseen la mayoría de las bacterias aerobias. Descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.	Formación de burbujeo	No se observa ningún cambio

ANEXO Nº 22

Tabla Nº 22: Tabla de pruebas bioquímicas para: *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae* (20).

PRUEBAS BIOQUÍMICAS/ BACTERIAS		<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
TSI	Bisel	A ó K	K	K
	Fondo	A	A	A
	Gas	+ ó -	+ ó -	-
	H₂S	-	+	-
Indol		+	-	+
Rojo de Metilo		+	+	+
Voges Proskauer		-	-	+ ó -
Citrato		-	+ ó -	-
Movilidad		+ ó -	+	+
Oxidasa		-----	-----	+

Dónde:

K: color rosa

A: color amarillo

En Pruebas positivas se observa lo siguiente:

Gas: producción de burbujas

H₂S: ennegrecimiento

Indol: formación de un anillo en la superficie del medio

Rojo de metilo: Formación de color rojo

Voges-Proskauer: Formación de color rojo

Citrato: Coloración azul

Movilidad: Crecimiento alrededor del inóculo.

Oxidasa: Coloración azul oscuro.

ANEXO Nº 23
RESULTADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Escherichia coli*.

Tabla N° 23: Resultados de pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*.

PRUEBA BIOQUÍMICA/ N° de Muestra	TSI				Indol	Rojo de Metilo	Voges Proskauer	Citrato	Movilidad	Microorganismo
	Bisel	Fondo	Gas	H ₂ S						
ST0101	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
ST0201	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
SC0301	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SB0401	A	A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
ST0501	A	A	-	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
SC0601	A	A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
SC0701	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SB0801	A	A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
DT0901	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
DC1001	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DB1101	A	A	-	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
DB1201	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
ST1302	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
ST1402	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SC1502	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
SB1602	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
ST1702	A	A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
SC1802	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
SC1902	A	A	-	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
SB2002	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>

Tabla Nº 23: (Continuación).

DT2102	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DC2202	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DB2302	A	A	-	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
DB2402	A	A	+	-	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>

ANEXO Nº 24
RESULTADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Salmonella spp.*

Tabla N° 24: Resultados de pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*

PRUEBA BIOQUÍMICA/ N° de Muestra	TSI				Indol	Rojo de Metilo	Voges Proskauer	Citrato	Movilidad	Microorganismo
	Bisel	Fondo	Gas	H ₂ S						
ST0101	K	A	-	-	+	+	-	-	-	<i>Shigella spp</i>
ST0201	K	A	+	+	-	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
SC0301	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SB0401	K	A	-	-	+	+	-	-	-	<i>Shigella spp</i>
ST0501	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SC0601	K	A	+	+	+	+	+	+	+	<i>Proteus vulgaris</i>
SC0701	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SB0801	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DT0901	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DC1001	K	A	+	+	+	+	+	+	+	<i>Proteus vulgaris</i>
DB1101	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DB1201	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
ST1302	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
ST1402	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SC1502	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SB1602	K	A	+	+	-	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
ST1702	A	A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
SC1802	K	A	-	-	+	+	-	-	-	<i>Shigella spp</i>
SC1902	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
SB2002	K	A	+	+	-	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>

Tabla Nº 24: (Continuación).

DT2102	K	A	-	-	+	+	-	-	-	<i>Shigella spp</i>
DC2202	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DB2302	A	A	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
DB2402	A	A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>

ANEXO Nº 25
RESULTADO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Vibrio cholerae*.

Tabla Nº 25: Resultados de pruebas bioquímicas para *Vibrio cholerae*.

PRUEBA BIOQUÍMICA/ Nº de Muestra	TSI				Indol	Rojo de Metilo	Voges Proskauer	Citrato	Movilidad	Oxidasa	Microorganismo
	Bisel	Fondo	Gas	H ₂ S							
ST0101	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
ST0201	K	A	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SC0301	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SB0401	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
ST0501	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SC0601	K	A	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SC0701	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SB0801	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
DT0901	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
DC1001	K	A	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Vibrio spp</i>
DB1101	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
DB1201	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
ST1302	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
ST1402	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SC1502	K	A	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SB1602	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
ST1702	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SC1802	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
SC1902	K	A	-	-	+	+	+	-	+	+	<i>Vibrio cholerae</i>
SB2002	K	A	-	-	+	+	-	+	+	K	<i>Vibrio spp</i>

Tabla Nº 24: (Continuación).

DT2102	K	A	-	-	+	+	+	-	+	+	<i>Vibrio cholerae</i>
DC2202	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
DB2302	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>
DB2402	K	A	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>Vibrio spp</i>

ANEXO Nº 26
RESULTADO DE ENCUESTA DE PREFERENCIAS

Resultados de encuesta de preferencias.

Encuesta para conocer las preferencias del consumidor de pescado dentro de los supermercados del Distrito dos de San Salvador.

Pregunta N° 1: ¿Prefiere consumir el pescado entero o en filetes/lonja?

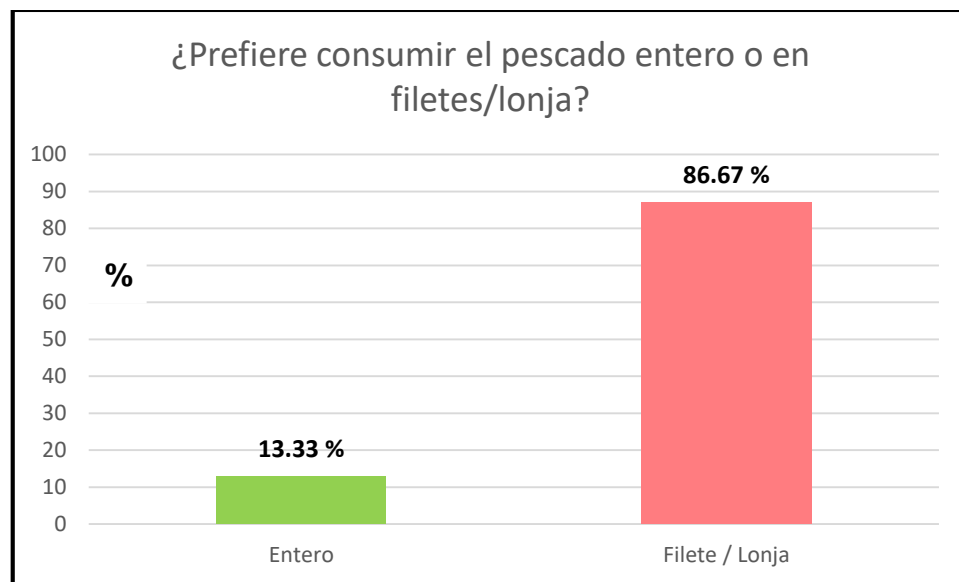


Figura N° 43: Gráfico de resultados de preferencia de consumo de pescado entero o en filetes / lonja.

Como puede reflejarse en la Figura N° 17, la mayoría de la población prefiere consumir el pescado en filetes / lonja debido a que viene fraccionado les resulta más fácil de preparar y se cocina mejor, porque cuando el pescado está entero muchas veces no se logra cocinar totalmente.

Pregunta N° 2: ¿Qué variedad de pescado prefiere?

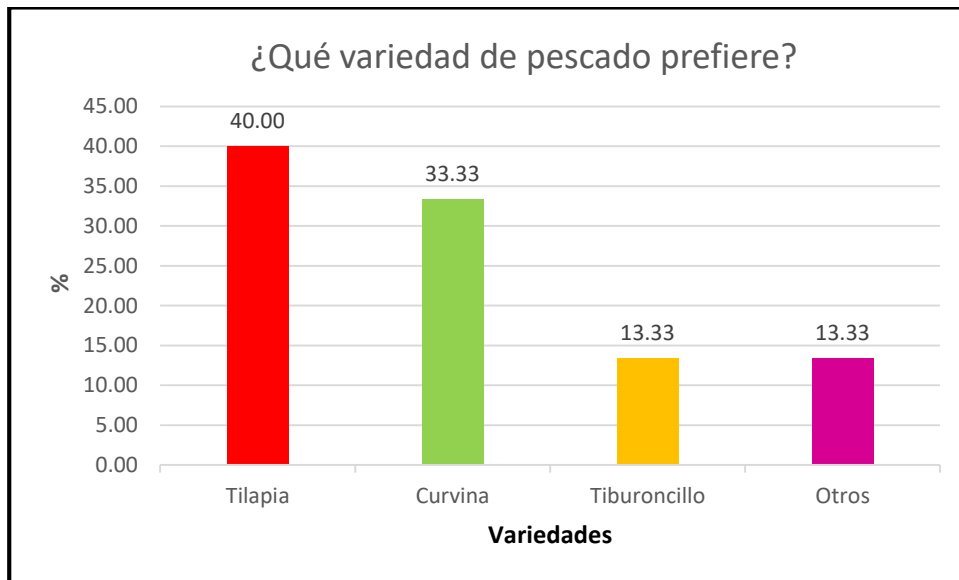


Figura N° 44: Gráfico de preferencia de variedades de pescado.

El gráfico de la Figura N° 18, muestra que las variedades de pescado de mayor consumo son: tilapia, curvina y tiburoncillo o tiburón; debido al sabor, fresca, textura y calidad. Otro aspecto que la mayoría de los encuestados mencionó fue que influían los precios debido a que algunas especies tenían precios más elevados que otras.

Pregunta N° 3: ¿Por qué prefiere comprar este tipo de producto en estos establecimientos?

La mayoría de los consumidores expresó que la preferencia por estos establecimientos era por encontrar productos de mayor calidad, fresca y confiabilidad; además por la limpieza, higiene, amabilidad y atención de los despachadores.

ANEXO Nº 27

Características macroscópicas de colonias típicas de *Escherichia coli* en los diferentes agares.

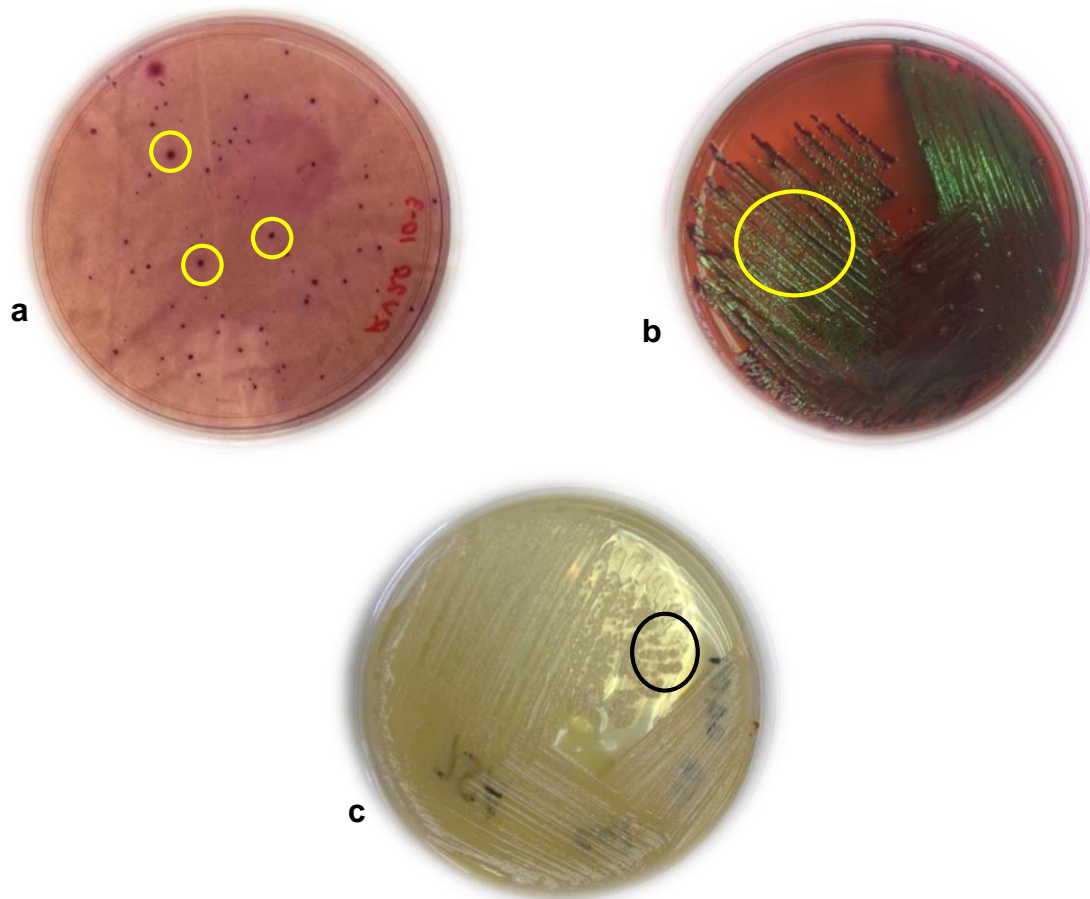


Figura Nº 45: a) Colonias sospechosas de *E. coli* en ABRV.
b) Verde metálico de *E. coli* característico en Agar EMB.
c) Colonias de *E. coli* aisladas en TSA.