

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS PUPUSAS  
QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS ALREDEDORES DE LA UNIVERSIDAD  
DE EL SALVADOR

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

BRENDA LISSETTE ALFARO MELGAR

IRMA YANETH AZAHAR LAM

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

OCTUBRE 2018

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

**SECRETARIO GENERAL**

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANO**

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

**SECRETARIO**

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

**DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION**

**DIRECTORA GENERAL**

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

**TRIBUNAL CALIFICADOR**

**ASESORAS DE AREA EN: MICROBIOLOGIA**

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

**DOCENTE ASESORA**

MSc. Coralia de los Angeles González de Díaz

## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer, primeramente, a Dios, por habernos puesto ángeles en el camino; porque, a pesar de las dificultades que se nos presentaron en momentos inoportunos, y en los cuales creímos que no íbamos a poder lograr, lo hicimos.

Damos gracias, a nuestra docente asesora, MSc. Coralia González de Díaz, por su eficiencia, paciencia, ayuda y orientación para poder concluir el trabajo de graduación; así como también a la MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez, la técnica de laboratorio de microbiología Zoily por su ayuda, comprensión y paciencia mientras estuvimos trabajando en el laboratorio; también al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) por el uso de sus instalaciones y equipos para la realización de nuestro trabajo experimental; así como a MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, por sus observaciones y comentarios para entregar un buen trabajo.

Brenda Lissette Alfaro e Irma Yaneth Azahar

## DEDICATORIA

*“Así que no depende del que quiere, ni del que corre, sino de Dios que tiene misericordia”*

Romanos 9:16

Dios agradezco principalmente tu infinita misericordia, por permitirme llegar la culminación de la carrera, por darme sabiduría y fortaleza en los momentos más difíciles.

A mi mami y papi que con oraciones y trabajo duro me dieron la oportunidad de tener un mejor futuro, quienes han sido mi mejor inspiración y enseñanza de vida, por quienes me esforcé de gran manera para llegar hasta el final y enorgullecerlos con la finalización de mi carrera.

A mi tía Margoth por haberme brindado el apoyo en todas las forma posibles, por esas oraciones para que este trabajo fuera un éxito, esos momentos que siempre estuvo a mi lado para darme sus palabras de apoyo y consejos sabios.

A mis hermanas Yancy y Jenny que siempre estuvieron a mi lado durante todo este trayecto, eliminando la tristeza y estrés en momentos difíciles con sus locuras.

A mi prima Yolanda y tía Edith por siempre estar pendiente de mí y brindarme su apoyo incondicional.

A mi esposo Daniel que tu amor y comprensión, han sido un pilar para que llegado a la finalización de mi carrera, ya que siempre comprendiste cuando tuvimos que dejar a un lado los momentos juntos por seguir el camino y llegar a la meta.

A mi hija Daniella, un día tú leerás estas líneas y sabrás que este triunfo es para ti, con lo que no deseo ser tu ejemplo sino una inspiración en tu vida para que un día seas tú quien escribas unas líneas como estas que reflejen la culminación de uno de tus triunfos. Gracias porque eres la mejor bendición de mi vida y a pesar

de tu corta edad tú siempre me llenabas de energía para seguir adelante desde que llegaste a mi vida.

A mi compañera de tesis Mimi, con quien he luchado esta última batalla, gracias por haberme tenido paciencia y comprensión en momentos de flaqueza e incertidumbre.

A nuestra asesora y maestros que dirigieron este proyecto, por sus aportaciones de conocimiento que hicieron posible que se realizara de la mejor manera.

Y en fin a todas aquellas personas que de alguna manera me ayudaron Durante este camino, solo me queda decir "*Ebenezer*".

Brenda Lissette Alfaro Melgar

## DECICATORIA

A Dios Padre Todopoderoso, por siempre ponerme ángeles en el camino; por darme la valentía, la fuerza y el valor de poder salir adelante; así como también por darme sabiduría para hacer siempre lo correcto y ayudarme a lograr salir con lo que yo miraba difícil.

A mis padres, María Eva Yanet Lam de Azahar y Danilo Augusto Azahar Dubón, por todos sus sabios consejos y palabras de aliento; porque siempre estuvieron apoyándome desde inicio hasta fin; y darles las gracias por todo su esfuerzo y sacrificios que uno como hijo se da cuenta después y entiende el sacrificio que realizan por nosotros, para poder sacarnos adelante y poder devolverles un poco de lo mucho que hacen y siguen haciendo por nosotras. Los amo.

A Sandra Michelle Azahar, por tu tiempo y tu colaboración con todos los procesos administrativos; que sin tu ayuda, no sé cómo hubiera salido. GRACIAS, Te quiero mucho.

A Lennin David Hernández Nieto, por todo tú cariño, apoyo y paciencia en esos momentos difíciles; gracias por animarme y ayudarme a armarme de valor para no desistir y siempre seguir. Te amo.

A mis amigos, Diana Marisol Martínez Pérez y Wilfredo Eduardo Granados López, por todo el cariño, comprensión y ánimos que me brindaron desde siempre. Gracias, por su sincera y valiosa amistad. Los amo mucho.

Quiero darle las gracias a Milagro de la Paz Zepeda Lobo por su amistad palabras de aliento, por su comprensión y tú ayuda cuando más la necesitaba; gracias por escucharme y ser una persona de confianza. También, agradecer a Mario José González Ramos, por ser una persona muy altruista con tus compañeros y amigos, porque me ayudaste mucho en Química Física y estoy muy agradecida contigo por eso.

Y por supuesto, a mi compañera de tesis, Brenda Alfaro; por tu esfuerzo, sacrificios y dedicación para poder llegar a concluir satisfactoriamente nuestro objetivo de ser profesionales. Te quiero mucho.

Irma Yaneth Azahar Lam

## INDICE GENERAL

	Pág. Nº
RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCIÓN	xix
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	24
3.1 Generalidades de los alimentos	24
3.1.1 Qué es un alimento	24
3.1.2 Los nutrientes	24
3.2 Conservación en vinagre de los encurtidos	27
3.2.1 Encurtido de pupusas	29
3.3 Salsa de tomate para pupusas	29
3.4 Pupusas	30
3.5 Contaminacion alimentaria	31
3.5.1 Definición	31
3.5.2 Tipos de contaminación	31
3.5.2.1 Contaminación física	31
3.5.2.2 Contaminación química	32
3.5.2.3 Contaminación biológica	32
3.5.3 Fuentes de contaminación	33
3.5.3.1 El aire	33
3.5.3.2 El suelo	33

3.5.3.3 El agua	34
3.5.3.4 Manipuladores	34
3.5.4 Mecanismos de contaminación	35
3.5.4.1 Contaminación de origen	35
3.5.4.2 Contaminación cruzada	36
3.6 Buenas practicas higiénicas	36
3.7 Microorganismos indicadores de la calidad microbiologica de los alimentos	37
3.7.1 Coliformes totales	38
3.7.2 Coliformes fecales	39
3.7.3 <i>Escherichia coli</i>	40
3.7.3.1 Clasificación	40
3.7.5 <i>Salmonella</i>	42
3.7.6 Parásitos	44
CAPITULO IV	
4.0 DISEÑO METODOLOGICO	46
4.1 Tipo de estudio	46
4.2. Investigación bibliográfica.	46
4.3 Investigación de campo	46
4.3.1 Universo	46
4.3.2 Muestra	46
4.3.3 Muestreo	47
4.4 Parte experimental	47

4.4.1 Toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico	47
4.4.2 Determinaciones a realizar.	48
4.4.3 Preparación de diluciones de las muestras	49
4.4.4 Determinación de pruebas microbiológicas	49
4.4.4.1 Determinación de bacterias coliformes	49
4.4.4.1.1 Coliformes totales	49
4.4.4.1.2 <i>Escherichia coli</i>	50
4.4.4.2 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	50
4.4.4.2.1 Método para la determinación de <i>Salmonella</i>	50
4.4.4.2.1.1 Aislamiento	50
4.4.4.2.1.2 Prueba de identificación bioquímica	51
4.4.4.3 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	53
4.4.4.3.1 Prueba para <i>Staphylococcus aureus</i>	53
4.4.4.3.2 Conteo y registro de las colonias sospechosas.	53
4.4.4.3.3 Prueba de la coagulasa	54
4.4.4.3.4 Prueba de la catalasa (prueba complementaria)	54
4.4.4.4 Método de identificación de parásitos	54
4.5 Recopilación de datos	55
CAPITULO V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	57
5.1 Lista de chequeo para el cumplimiento de las buenas prácticas higiénicas por parte de los manipuladores de alimentos	57
5.2 Identificación de presencia o ausencia <i>Salmonella spp</i>	60

5.3 Recuento de microorganismos patógenos, <i>Staphylococcus aureus</i> , en muestras seleccionadas	62
5.4 Verificación de la presencia o ausencia de parásitos, en las muestras de encurtidos	67
CAPITULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	69
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	72
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

## INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág. N°
1. Lista de chequeo para diagnóstico de las condiciones higiénicas bajo las cuales operan los establecimientos que comercializa pupusas en los alrededores de la Universidad de El Salvador	57

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°</b>		<b>Pág. N°</b>
1.	Gráfico de los resultados obtenidos de la lista de chequeo	58

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°</b>	<b>Pág. N°</b>
1. Tiempo de escaldado de algunas hortalizas antes de conservarlas en vinagre.	29
2. Determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de pupusa salsa y encurtido	49
3. Resultado de la identificación de presencia o ausencia de Salmonella spp en muestras de pupusas	60
4. Resultado del recuento para Staphylococcus aureus únicamente para encurtido.	62
5. Resultado del recuento para Escherichia coli para muestras de Pupusas. (Número Más Probable)	63
6. Resultado del recuento para Escherichia coli para muestras de Encurtidos. (Número Más Probable)	64
7. Resultado del recuento para Escherichia coli para muestras de Salsa. (Número Más Probable)	66

## INDICE DE ANEXOS

### Anexo N°

1. Receta de encurtido de repollo para pupusas y salsa de tomate para pupusas.
2. Mapa de la zona N° 1, ubicación de los locales de venta de pupusas alrededor de la Universidad de El Salvador.
3. Modelo de etiqueta para identificación de muestras.
4. Parámetros microbiológicos según RTCA 67.04.50:08 para salsa de tomate, encurtido y pupusas.
5. Lista de chequeo.
6. Procedimiento para toma, manejo y transporte de muestra de alimentos.
7. Lugares de muestreo y código de muestra asignados.
8. Fotografías de los establecimientos donde se tomó la muestra.
9. Diagrama para de diluciones de la preparación de la muestra.
10. Determinación para Coliformes Totales.
11. Determinación de *Escherichia coli*
12. Diagrama para el aislamiento y determinación de *Salmonella spp.*
13. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella spp.*
14. Cuadro de caracterización bioquímica de *Salmonella spp.*
15. Determinación y prueba confirmativa de *Staphylococcus aureus*.
16. Determinación de parásitos por método directo, tinción con Lugol.
17. Presencia de fluorescencia con luz UV en la determinación de *Escherichia coli* y presencia de anillo rojo-violeta.
18. Resultados de aislamiento para *Salmonella* y resultado para prueba de *Staphylococcus aureus*.
19. Resultados de pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*
20. Imágenes de la morfología de parásitos

## RESUMEN

Las pupusas son un alimento muy consumido por la población por lo tanto es necesario que se prepare y comercialice cumpliendo las Buenas Prácticas Higiénicas. El objetivo de este trabajo fue la determinación de la calidad microbiológica de las pupusas que se comercializan en 13 establecimientos ubicados en los alrededores de la Universidad de El Salvador ubicado en el municipio de San Salvador, departamento de San Salvador, desde junio hasta septiembre del año 2017, debido a que, en cada acceso a las entradas de la universidad, hay más de dos establecimientos que comercializan pupusas exponiendo este alimento a la contaminación de la vía pública provocando que no sean alimentos seguros. Por lo anterior mencionado, previo a la recolección y procesamiento de las muestras se realizó un diagnóstico en un período de tiempo de 4 meses, por observación a través de una lista de chequeo, las condiciones de higiene bajo las cuales se comercializan estos alimentos. Posteriormente se realizó el muestreo en dos etapas haciendo un total de 39 muestras (13 muestras de cada alimento) obteniéndose la siguiente conclusión: no se encontró *Salmonella spp* en las muestras de pupusas revueltas, encurtido y salsa; tampoco se encontró *Staphylococcus aureus* en las muestras de encurtido, y si se encontró *Escherichia coli* en el 30.8% de las muestras de pupusas revueltas, en el 100% de las muestras de encurtido y en el 69.2% de las muestras de salsas; Y con respecto a los parásitos, no se observó presencia en las muestras de encurtido analizadas.

Por lo tanto, se recomienda a los consumidores de estos alimentos, buscar lugares con las condiciones mínimas de salubridad la cuales son, acceso a agua potable, limpieza del local, personal con tareas distribuidas según su puesto (cajero, chef, aseo, etc.) para evitar la contaminación de los alimentos servidos.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCIÓN

La calidad sanitaria de los alimentos está determinada por una diversidad de atributos que deben ser controlados y verificados desde que se producen, preparan, procesan y se sirven al consumidor. En muchos procesos el alimento pierde la calidad a la hora de servirlo al consumidor debido a que el ambiente, condiciones de manipulación o almacenamiento, no son las adecuadas.

Los microorganismos tienen acceso a los alimentos a través de una diversidad de fuentes y mecanismos. En ellos pueden simplemente sobrevivir sin dar lugar a modificaciones aparentes en sus características sensoriales.

Las pupusas son una tortilla de maíz o arroz gruesa hecha a mano, normalmente se sirve con una salsa y el encurtido.

Debido a que estos alimentos son muy comercializados en los alrededores de la Universidad de El Salvador se realizó la determinación de la calidad microbiológica de las pupusas que se comercializan en 13 establecimientos ubicados en los alrededores de la Universidad de El Salvador, debido a que, en cada acceso a la Universidad, hay más de dos establecimientos que comercializan pupusas exponiendo este alimento a la contaminación de la vía pública provocando así que no sean alimentos seguros. Por lo anterior mencionado, previo a la recolección y procesamiento de las muestras se realizó un diagnóstico por observación a través de una lista de chequeo para determinar las condiciones de higiene bajo las cuales se comercializan estos alimentos. Posteriormente se realizó un muestreo en dos etapas, haciendo un total de 39 muestras (13 muestras de cada alimento).

Se tomaron muestras representativas de estos alimentos que son comercializados en los alrededores de la sede central de la Universidad de El Salvador, a primeras horas de la mañana y realizando los respectivos análisis en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

El período de estudio de dicha investigación se efectuó en cuatro meses durante junio-septiembre del 2017, recolectando las muestras (pupusas revueltas, curtido y salsa) de los establecimientos que se encuentran alrededor del Campus Universitario obteniéndose los siguientes resultados: no hubo presencia de *Salmonella spp* en todas las muestras analizadas de pupusas revueltas, encurtido y salsa; con respecto a *Staphylococcus aureus*, se determinó que no se encuentra presente en las muestras analizadas de encurtido; y para *Escherichia coli*, si hubo presencia de esta bacteria en el 30.8% de las muestras de pupusas revueltas, en el 100% de las muestras de encurtido y en el 69.2% de las muestras de salsas; Y con respecto a los parásitos, no se observó presencia en las muestras de encurtido analizadas.

Los resultados obtenidos durante el análisis se compararon con las especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos demostrando que estos alimentos no son aptos para el consumo humano.

**CAPITULO II**  
**OBJETIVOS**

## 2.0 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad microbiológica de las pupusas que se comercializan en los alrededores de la Universidad de El Salvador.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Investigar en los establecimientos seleccionados, si los manipuladores de alimentos aplican las Buenas Prácticas Higiénicas, a través de una lista de chequeo.
- 2.2.2 Identificar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos, *Salmonella spp* en las muestras seleccionadas.
- 2.2.3 Realizar recuento de microorganismos patógenos, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, en las muestras seleccionadas.
- 2.2.4 Verificar la presencia o ausencia de parásitos, en las muestras de encurtidos.
- 2.2.5 Comparar los resultados obtenidos durante el análisis, con los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

## 3.0 MARCO TEORICO

### 3.1 Generalidades de los alimentos

#### 3.1.1 Qué es un alimento

Se define como alimento a cualquier sustancia sólida o líquida normalmente ingerida por los seres vivos con fines nutricionales y psicológicos. Entre los primeros encontramos: la regulación del metabolismo y el mantenimiento de las funciones fisiológicas como la temperatura corporal, la frecuencia cardiaca y la tensión arterial; entre los segundos podemos mencionar: la satisfacción y la obtención de sensaciones gratificantes.

Los alimentos se clasifican en tres grandes grupos básicos, según la función que cumplen los nutrientes que contienen:

**Alimentos plásticos o reparadores** - Contienen en mayor cantidad proteínas la leche, carnes (de res, aves, cacería), huevos, pescado, embutidos, queso, yogurt.

Alimentos reguladores - Contienen en mayor cantidad vitaminas y minerales. Las frutas (melón, patilla, naranja, manzana) y las hortalizas (lechuga, zanahoria, repollo, tomate).

Alimentos energéticos - Contienen en mayor cantidad carbohidratos y grasas. Los cereales (maíz, arroz, trigo, sorgo), granos (caraotas, frijoles, lentejas), tubérculos (también llamadas verduras como ocumo, papa, yuca), plátano, aceites, margarina, mantequilla, mayonesa.<sup>(5)</sup>

#### 3.1.2 Los Nutrientes

**Proteínas:** Son los ladrillos necesarios para crecer y reparar daños en el cuerpo. Se encuentran en las carnes (de res, aves, de cacería), pescado, mariscos,

crustáceos, huevos, leche, quesos, embutidos (mortadela, salchichas, salchichón), granos como las caraotas, frijoles, arvejas, lentejas.

**Carbohidratos:** Nos dan energía y calor para movernos y desarrollar todas las actividades diarias. Son de origen vegetal. Se encuentran en los cereales: maíz, trigo, arroz, sorgo y sus productos (harinas, pastas) tubérculos o verduras: papa, ñame, apio, yuca, ocumo, ocumo chino, mapuey, batata; plátano; azúcar (blanca o morena), miel y papelón, granos como las caraotas de todos los colores, arvejas, lentejas, garbanzos, frijoles, quinchonchos.

**Grasas:** Son la fuente más concentrada de energía para nuestro cuerpo y cerebro. Participan en diferentes funciones específicas y forman parte de los tejidos del cuerpo y de algunas vitaminas y hormonas. Son fuente de calorías para los niños, pero los adultos deben consumirla con moderación. Se encuentran en las carnes rojas, piel del pollo, leche, mantequilla y queso, aceites vegetales (de girasol, maíz, ajonjolí, algodón), margarina, aguacate, aceitunas, algunas semillas como el maní, merey, pistacho, almendras, nuez.

**Vitaminas:** Ellas son las vitaminas A, D, E, K, C, complejo B y el ácido Fólico. Cumplen funciones esenciales para el organismo. Ayudan en el proceso de transformación de energía y favorecen el sistema de defensa del cuerpo contra las enfermedades. Se encuentran en casi todos los alimentos en especial en las frutas, hortalizas y alimentos de origen animal.

**Minerales:** Entre los principales minerales se encuentran: calcio, hierro, yodo y el zinc. Ellos participan en diversas funciones específicas y forman parte de los tejidos del cuerpo (Ej.: el calcio forma y mantiene los huesos y dientes; el hierro forma parte de la sangre). Los minerales intervienen en el crecimiento, reproducción del ser humano, la función muscular, entre otros. Se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal.

**Fibra:** La fibra ayuda a expulsar las heces con facilidad, previene el cáncer de colon y reduce el colesterol en la sangre. Se encuentra en los alimentos de origen vegetal como hortalizas (zanahoria, tomates, lechugas, pepino), frutas (melón, naranja, manzana), granos (caraotas, arvejas, lentejas, frijoles), verduras (yuca, apio, batata) y cereales integrales.<sup>(5)</sup>

Existen sustancia contenida en los alimentos y que bioquímicamente son esenciales para el mantenimiento de los organismos vivos, al proporcionarles la energía y la materia prima necesarias para la síntesis de innumerables sustancias fundamentales para el crecimiento y la supervivencia de estos.

En El Salvador, se suelen frecuentar diversidad de alimentos para los tres tiempos de comida e inclusive, para pequeños entremeses en las mañanas y en las tardes. Una de las comidas más atractivas de los salvadoreños, y como alimento nacional, son las pupusas las cuales llevan su respectivo acompañamiento del curtido y salsa. Cada pupusa tiene un valor nutricional aproximado de 350 calorías, por lo cual un par de ellas, constituyen un tiempo de comida para una persona promedio. En tal sentido, la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) considera que es una parte esencial en la dieta básica salvadoreña, siendo un medio adecuado de alimentación por su reducido costo. Este alimento tan popular en la población salvadoreña presenta nutrientes como (para una cantidad por 100 gramos): Calorías 256, Grasas Totales 13g, Ácidos grasos saturados 6g, Ácidos grasos poliinsaturados 1.6 g, Ácidos grasos mono insaturados 3.4 g, Ácidos grasos trans 0.4g, Colesterol 32 mg, Sodio 400 mg, Potasio 120 mg, Hidratos de carbono 22 g, Fibra alimentaria 2.9 g, Azúcares 1.2 g, Proteínas 12 g, Vitamina A 291 IU, Calcio 325 mg, Hierro 0.6 mg, Vitamina B6 0.1 mg, Vitamina B12 0.5 µg, Magnesio 36 mg. <sup>(34)</sup>

Sin embargo, este alimento es tan accesible a la población salvadoreña que se puede encontrar puestos de pupusas en locales comerciales como también en las aceras de la calle; estos últimos puestos tienen la desventaja que están exponiendo todo el alimento a contaminación ambiental, microbiana, etc. No se descarta que los establecimientos de locales comerciales no estén expuestos a estos contaminantes, pero es mucho más reducida la contaminación ambiental y se tiene un mayor control de plagas (moscas), etc.

La preparación de este alimento es de manera manual, es decir que, se prepara con las manos; por lo que, de igual manera, la persona que será la encargada de hacer la preparación de tan succulento alimento debe de tener una muy buena higiene. Esto implica, de igual manera, que para la preparación del encurtido como la salsa se debe tener el mismo cuidado higiénico.

La cocción puede darse sobre un comal de barro calentado con leña, planchas de lámina, teflón o aluminio calentadas con llama de gas propano o cocinas eléctricas. La superficie debe estar a unos 80 °C, puede ser lubricada con aceite de cocina y eventualmente debe limpiarse para evitar que la masa se pegue. <sup>(34)</sup>

### **3.2 Conservación en vinagre de los encurtidos**

Las hortalizas y otros alimentos de baja acidez como los pepinos, cebollas, zanahorias, ajíes, coles, remolacha, huevos y otros, se pueden conservar con la adición de vinagre. El vinagre comercial que se obtiene de vinos, o el preparado artesanalmente a partir de frutas o sus cáscaras, contiene entre 4 y 6% de acidez (gramos de ácido acético por 100 gramos de vinagre), lo cual es suficiente para preparar conservas envasadas o encurtidos. Para facilitar el proceso de conservación de los alimentos de baja acidez y mejorar el sabor, se añade alrededor de 5% de sal a la solución de vinagre que se utiliza de relleno para cubrir los alimentos. También se puede incluir azúcar al gusto. La efectividad del vinagre en la conservación de los vegetales, se logra cuando se alcanza una

concentración final del ácido entre 2-3% en la conserva. Los condimentos y aromatizantes a emplear, dependen también del gusto de los consumidores. Es posible usar plantas aromáticas de condimento frescas o especias secas como: orégano, culantro, albahaca, semillas de mostaza, eneldo, jengibre, ají picante, ajo, romero y otras. Siempre es preferible utilizar plantas frescas enteras para aromatizar y condimentar el vinagre de relleno de los vegetales. Esto permite lograr un sabor más fuerte y agradable y oscurece menos los productos. Si se desea, los condimentos pueden permanecer en el vinagre de relleno cuando se procede a envasar los frascos aunque se oscurezcan ligeramente las conservas. Por lo general, el envase se llena hasta cubrir aproximadamente las 2/3 partes de los frascos de vidrio, dejando un espacio de cabeza de 1-2 cm. Así, si el vinagre contiene 5% de acidez, la acidez final de la conserva será 2% aproximadamente. En este caso, la acidez final será baja y se procede sometiendo la conserva a esterilización en baño de agua hirviendo o baño de María durante 10-15 min., en dependencia del tamaño del envase. No se aconsejan envases grandes para la conservación de vegetales en vinagre.<sup>(1)</sup>

La mayoría de los vegetales que se conservan en vinagre se escaldan antes de envasarlos, es decir, se introducen durante breves minutos en agua hirviendo. El tiempo varía de acuerdo con las características y textura de los vegetales. Se procura no cocinarlos o ablandarlos demasiado y enfriarlos rápidamente en agua corriente después que ha pasado el tiempo de escaldado para evitar el crecimiento de los microorganismos residuales. En la tabla se puede encontrar el tiempo de escaldado de algunas de las hortalizas más populares.<sup>(1)</sup>

Tabla N°1: Tiempo de escaldado de algunas hortalizas antes de conservarlas en vinagre.

Hortaliza	Tiempo de escaldado (minutos)
Pepino	1
Col	1-2
Zanahoria	3-5
Cebolla	No
Pimentón	1

### 3.2.1 Encurtido de Pupusas

El encurtido de pupusas es un alimento que acompaña y da sabor a las pupusas, para su preparación se requieren de los siguientes ingredientes tales como vinagre, sal y hojas secas de orégano, repollo verde, repollo morado, pimiento rojo, cebolla, zanahorias. (Ver anexo N° 1)

Para elaborar el curtido se necesita repollo, el cual se pica con un cuchillo o se raya con un rayador; se le agrega opcionalmente zanahoria, cebolla, coliflor, chile jalapeño. Todos estos ingredientes se unen, se pasan sobre agua caliente y se les añade vinagre.<sup>(3)</sup>

### 3.3 Salsa de tomate para pupusas

La salsa de tomate o salsa roja es una salsa o pasta elaborada principalmente a partir de pulpa de tomates, a la que se le añade, cilantro, cebolla, vinagre, limón y sal, ajo y varias especias. La salsa de tomate hoy en día puede adquirirse envasada en múltiples formas. También existe una versión llamada *salsa a base de tomate*, la cual se expende al igual que el ketchup y a menor precio que este último; sin embargo, su calidad es muy inferior.

Para elaborar la salsa para pupusas se necesitan tomates, cebolla, relajo, ajo y un poco de especias. Estos ingredientes se muelen o se licuan para elaborar una salsa a la cual se le añade un poco de agua y se cose hasta hervirla. (Ver anexo N° 1) <sup>(3)</sup>

### **3.4 Pupusas**

Las pupusas son el platillo típico más conocido y consumido de El Salvador y también son conocidas a nivel internacional. Para elaborar las pupusas primeramente se necesita una masa, que en El Salvador es elaborada por lo general de maíz molido; aunque también se puede usar arroz molido. Si lo desea también puede usar harina de maíz o harina de arroz. Son básicamente una tortilla, pero la diferencia es que en su interior se les agregan otros ingredientes que le dan un sabor único. Estos ingredientes suelen ser los siguientes y varían según el tipo de pupusa a elaborar:

**Pupusas revueltas:** Queso achiclado, frijoles molidos fritos, chicharrón molido.

**Pupusas de queso:** Queso achiclado.

**Pupusas de frijol con queso:** Queso achiclado y frijoles molidos fritos.

**Pupusas de ayote:** Ayote rayado (conocido en otros lugares como calabacín) y queso achiclado.

**Pupusa de pollo:** Carne de pollo molida y queso achiclado.

**Pupusa de chicharrón con queso:** Chicharrón molido y queso achiclado.

**Pupusa de frijol con chicharrón:** Frijoles molidos fritos y chicharrón molido.

**Pupusa loca:** Incluye todos o la mayoría de los ingredientes mencionados anteriormente.

Procedimiento:

1. Limpiar la plancha con un poco de aceite o manteca, para evitar que las pupusas se peguen.
2. Preparar la harina, la cual se revuelve con agua caliente para formar la masa.
3. Se toma un poco de masa y se golpea con la palma de la mano hasta darle la forma de una tortilla.
4. Coloqué en la palma de la mano y en el centro agréguele los ingredientes mencionados anteriormente.
5. Este es el paso más difícil en el cual debe cerrarse la masa y los ingredientes deben quedar en el interior.
6. Con la práctica se logra perfeccionar la técnica.
7. Después se tira en la plancha para darle su cocimiento por un tiempo máximo de 5 minutos (7).

### **3.5 CONTAMINACION ALIMENTARIA**

#### **3.5.1 DEFINICIÓN**

La contaminación alimentaria se define como la presencia de cualquier materia anormal en el alimento que comprometa su calidad para el consumo humano.(13)

#### **3.5.2 TIPOS DE CONTAMINACIÓN**

##### **3.5.2.1 CONTAMINACION FISICA**

Cuando se habla de contaminante físico se refiere a todo aquello que es ajeno al alimento en sí, como trozos de metal, vidrio, papel, arena, polvo, insectos, cabello humano, etc. Y que, accidentalmente durante la elaboración se ha mezclado con el alimento.(17)

### **3.5.2.2 CONTAMINACION QUIMICA**

La contaminación química se da por la presencia de determinados productos químicos en los alimentos, que pueden resultar nocivos o tóxicos a corto, medio o largo plazo. Dentro de la contaminación química, existen diferentes tipos de contaminantes tóxicos:

- Contaminantes tóxicos naturales.
- Contaminantes tóxicos ambientales.
- Contaminantes tóxicos agrícolas.
- Migración de los compuestos de los envases.<sup>(13)</sup>

### **3.5.2.3 CONTAMINACION BIOLOGICA**

Es un fenómeno que se presenta por la invasión de microbios patógenos durante la elaboración, la manipulación, el transporte y la distribución al público de los alimentos, u originada por el mismo consumidor.

Los microorganismos son capaces de producir alteración o contaminación en un alimento. La contaminación biológica se produce por la presencia de microorganismos presentes en el ambiente, componentes de la flora natural de las materias primas, y microorganismos patógenos, que causan enfermedades infecciosas; o de las toxinas que producen la descomposición de los alimentos causando intoxicaciones o envenenamientos.

Las alteraciones producidas en los alimentos algunas veces son beneficiosas, como la acidificación de la leche para la producción de quesos y yogurt. En otras ocasiones las bacterias ocasionan la descomposición alimenticia, rompiendo en moléculas más pequeñas, aquellas que componen estructuralmente los alimentos, haciéndose ellas mismas de nutrientes que ayudan a su proliferación, siendo este fenómeno el que produce la infección alimentaria.<sup>(17)</sup>

### **3.5.3 FUENTES DE CONTAMINACION**

#### **3.5.3.1 EL AIRE**

Los microorganismos pueden ser transportados rápidamente, en forma de bioaerosoles, a través de grandes distancias con el movimiento del aire que representa el mejor camino de dispersión. Algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y su dispersión en la atmósfera. El transporte se realiza sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de la ropa, en gotas de agua o en gotas de saliva eliminadas al toser, estornudar o hablar.<sup>(17)</sup>

El aire no constituye un hábitat microbiano; las células bacterianas existen en el aire, como contaminantes accidentales o como esporas de hongos dispersadas en él. Muchas bacterias patógenas son transportadas por el aire sobre partículas de polvo, o sobre residuos secos de gotitas de saliva.<sup>(11)</sup>

Algunos microorganismos se encuentran en forma de células vegetativas, pero lo más frecuente son las formas esporuladas, ya que las esporas son metabólicamente menos activas y sobreviven mejor en la atmósfera porque soportan la desecación. Las producen hongos, algas, líquenes, algunos protozoos y algunas bacterias.<sup>(17)</sup>

#### **3.5.3.2 EL SUELO**

El suelo se comporta como un agente contaminante importante. Desde el punto de vista microbiológico, bacterias, mohos y levaduras asientan fácilmente en suelos húmicos.<sup>(23)</sup>

En el suelo habita la mayor variedad de microorganismos, principalmente en forma de esporas. Un gramo de suelo fértil típico contiene varios millones de bacterias, un millón de esporas de hongos, 50000 algas y 25000 protozoarios. Los 15cm de dicho suelo, en su capa superior pueden contener más de 50g de Microorganismos por metro cuadrado.<sup>(17)</sup>

### 3.5.3.3 EL AGUA

El agua es fuente de contaminación de las cadenas alimentaria en diferentes puntos: en vegetales el agua de riego contaminada aporta no solo bacterias saprofitas sino también algunos patógenos como *Salmonella*, *Escherichia coli* o *Clostridium. perfringens*; también el agua es fuente de contaminación de los animales productores de alimentos a partir del agua que beben, de los procesos tecnológicos, en los que es utilizada en las plantas de procesado.<sup>(17)</sup>

El uso de aguas contaminadas para la limpieza y los procesos de elaboración y conservación de alimentos provocaría una contaminación irremediable en todos los productos elaborados. El agua empleada siempre debe ser potable y de características químicas y biológicas adecuadas al tratamiento o proceso para el que será usada.<sup>(13)</sup>

### 3.5.3.4 MANIPULADORES

Los alimentos pueden contaminarse con bacterias personales procedentes de la nariz, la boca, la piel, las heces y las manos de manipuladores, cuando estos no siguen unas adecuadas normas y condiciones higiénicas durante su manufacturado, preparación y servicio.<sup>(2)</sup>

Entre los manipuladores podemos distinguir un grupo de particular interés sanitario, el cual está formado por los manipuladores de mayor riesgo, que son aquellos cuyas prácticas de manipulación pueden ser determinantes en relación con la seguridad y salubridad de los alimentos.<sup>(17)</sup>

Se considerarán manipuladores de mayor riesgo los dedicados a las siguientes actividades:

- Elaboración y manipulación de comidas preparadas para venta, suministro y servicio directo al consumidor o a colectividades.
- Aquellas otras que puedan calificarse como de mayor riesgo por la autoridad sanitaria competente, según datos epidemiológicos, científicos o técnicos.

El manipulador debe cumplir las normas de higiene en cuanto a actitudes, hábitos y comportamiento. Así, las manos son el vehículo principal de transmisión, por lo que se han de lavar tan a menudo como sea necesario y en un lugar especialmente preparado para este fin. Se deben lavar entre la manipulación de diferentes tipos de alimentos o alimentos crudos y cocinados, después de manipular desperdicios o basuras, después de tocar utensilios sucios o ajenos a la actividad desarrollada, después de un periodo de descanso y muy especialmente después de comer o fumar, y por supuesto tras usar el servicio sanitario o sonarse la nariz y siempre antes de incorporarse al puesto de trabajo.

Estas normas de higiene incluyen no fumar, comer ni masticar chicle mientras se manipulan alimentos, y tampoco estornudar o toser sobre ellos: la saliva es un excelente vehículo de transmisión de microorganismos. Tampoco deben llevarse anillos o pulseras durante el desarrollo de la actividad, ya que se evitará que puedan entrar en contacto directo con los alimentos y contaminarlos.

Por último, debe evitarse la presencia no justificada de personas ajenas a la actividad de la empresa en los locales donde ésta se desarrolle y en cualquier caso estas personas deberán en todo momento respetar las normas relativas a la higiene.

Si se sufre cualquier enfermedad susceptible de contaminar o ser transmitida a través de los alimentos (heridas infectadas, infecciones de la piel, diarrea o trastornos gastrointestinales, entre otros), debe informarse a los responsables para valorar el riesgo y establecer las pautas que se seguirán. <sup>(3)</sup>

### **3.5.4 MECANISMOS DE CONTAMINACION.**

#### **3.5.4.1 CONTAMINACION DE ORIGEN**

Es aquella contaminación que ya está implícita en el alimento, adquirida durante el proceso de cosecha o producción de las materias primas, o como componente de la flora natural.<sup>(17)</sup>

### **3.5.4.2 CONTAMINACION CRUZADA**

Se entiende por contaminación cruzada al proceso por el cual las bacterias de un área, son trasladadas, generalmente por un manipulador alimentario a otra área antes limpia, de manera que infecta alimentos o superficies.<sup>(17)</sup>

### **3.6 BUENAS PRACTICAS HIGIENICAS**

Las Buenas Prácticas Higiénicas o BPH, son comunes a todos los procesos, con diferencias de acuerdo con el tipo de labor que se desempeña; en este caso la elaboración y manipulación de los alimentos.

Establecen los fundamentos para sistemas de limpieza y desinfección de todos aquellos elementos que tienen alguna relación con el producto comestible, sean estas personas, utensilios o estructuras. Algunas de las situaciones que deben tomarse en consideración son de orden estructural. Cuando se va a diseñar una instalación de acondicionamiento, empaque y almacenamiento, deben tenerse en cuenta aspectos como el flujo de personal, la ubicación de servicios sanitarios, reservorios para agua potable, ubicación o acceso y diseño de las bodegas, almacenes y otros. El personal debe ser frecuentemente capacitado para cumplir con los aspectos de limpieza y desinfección de manos y ropa, el uso y mantenimiento de sanitarios, comportamiento durante el empaque de productos, evitar el uso de artículos potencialmente peligrosos como aretes, anillos y otros.

La implementación de las BPH lleva consigo la necesidad de establecer un sistema para limpieza y desinfección del sitio de trabajo y su equipo. Se incluyen pisos, paredes, mesas, tarimas, ventanas, cuchillos, tijeras, cajas plásticas y demás, en momentos y de formas particulares. <sup>(3)</sup>

Toda persona que tenga contacto con los alimentos crudos o procesados debe tener ciertos cuidados en su higiene personal, como los que se enumeran a continuación:

- Bañarse y asearse correctamente todos los días.

- Mantener las uñas cortas y limpias, sin esmalte.
- Cambiarse la ropa de calle por indumentaria limpia y adecuada.
- Volverse a cambiar la ropa al ir al baño y al terminar las labores.
- Evitar conversaciones mientras se preparan refrescos.
- No toser ni estornudar en dirección a los refrescos.
- Taparse la boca con un pañuelo al toser o estornudar.
- No tocarse ni rascarse otras partes del cuerpo como la nariz, la cabeza, el pelo o las orejas mientras se preparan refrescos.
- No usar maquillaje, uñas o pestañas postizas.
- No usar objetos personales que puedan acumular residuos de alimentos, sudor suciedad; como relojes, pulseras o anillos.
- No usar bigote, barba y usar el pelo bien recogido o recortado y limpio.
- Abstenerse de fumar, comer, probar los alimentos con el dedo y/o masticar chicle durante la preparación de los alimentos. (20)

### **3.7 MICROORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS ALIMENTOS**

El concepto de microorganismos indicadores se basa en la afirmación hecha por Shardingner en el año 1892, según la cual las bacterias de las especies que hoy denominamos *Escherichia coli* podían ser utilizadas como índice o indicadores de contaminación fecal, ya que podían ser aislados con mayor facilidad que las especies de *Salmonella*.<sup>(17)</sup>

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación y vida de anaquel y, sobre todo, porque los microorganismos presentes en ellos, pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos.<sup>(18)</sup>

### 3.7.1 COLIFORMES TOTALES

Para saber la calidad sanitaria de los alimentos se tiene el análisis microbiológico de los mismos, para esto se utilizan los llamados grupos indicadores, estos grupos nos dicen el tipo de bacteria que está contaminado el alimentos y cuánta cantidad de dicha bacteria existe en esos momentos.<sup>(19)</sup>

**Coliformes** (se reproducen en el intestino).

Las bacterias que se denominan Coliformes, forman un grupo que crecen con oxígeno y se alimentan de lactosa produciendo gas. De este grupo se tienen dos divisiones:

- a) Los Coliformes totales. Estos se desarrollan a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Incluye este grupo a bacterias como *Klebsiella*, *Enterobacter*, entre otros. Estas bacterias no tienen necesariamente origen intestinal, pero la presencia de ellas en los alimentos indica deficientes prácticas de sanitización de superficies inertes y un mal proceso de desinfección de frutas, verduras y legumbres. Estos organismos se deben reportar como UFC g o mL para todos los alimentos excepto el agua; en este caso se debe reportar como NMP ml. (NMP = Número más probable)
- b) Coliformes fecales. Estos se desarrollan a  $44.5 \pm 2^\circ\text{C}$ . En este grupo se encuentran como principal especie la *Escherichia coli* siendo un organismo de origen intestinal. La presencia de este grupo en los alimentos indica:
  - Deficiente higiene personal
  - Principalmente mala o nula práctica de lavado de manos

Las bacterias del grupo coliforme se definen como: bacilos cortos, Gramnegativos, anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa a 35 °C, en menos de 48 h, con producción de ácido y gas. Incluye los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Durante mucho tiempo se consideraron evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes. Actualmente se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de calidad sanitaria en agua, vegetales y diversos productos procesados.<sup>(27)</sup>

### 3.7.2 COLIFORMES FECALES

El término coliformes fecales ha surgido como un intento de encontrar métodos rápidos y fiables para establecer la presencia de *Escherichia coli* y variantes estrechamente relacionados sin necesidad de purificar los cultivos obtenidos en las pruebas para coliformes o de aplicar las relativamente costosas pruebas confirmatorias. Los “coliformes fecales” comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales (44-45.5°C), dependiendo del método. Tales cultivos de enriquecimiento contienen por lo general un alto porcentaje de *Escherichia coli* tipos I y II y son, por ello, muy indicativos de una probable contaminación de origen fecal del alimento.<sup>(28)</sup>

En los alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, la presencia de niveles considerables de Enterobacteriaceae o de coliformes indica:

- Tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento; más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico.
- Multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos. Con todo lo

valiosa que esta información pueda ser, nunca deberá interpretarse como indicación cierta de que ha tenido lugar una contaminación de origen fecal de tales alimentos.

La determinación se hace a partir de la segunda etapa (confirmativa) del método de NMP, cultivando en caldo lactosado con incubación a 44.5 °C. Generalmente se combinan las determinaciones, según se requiere.<sup>(14)</sup>

### **3.7.3 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* es una bacteria cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales. Por ello, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. *E. coli* es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos.

La presencia de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente. En otras palabras, la presencia de *E. coli* en los alimentos no guarda siempre una estrecha correlación con la presencia de salmonelas o de otros microorganismos patógenos.

#### **3.7.3.1 Clasificación**

Se distinguen seis cepas según su poder patógeno, también se les puede llamar virotipos:

- *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP): es el agente causal predominante de diarrea en niños que viven en países en vía de desarrollo (Nataro y Kaper, 1998) <sup>(27)</sup>
- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET): se parece mucho a *Vibrio cholerae*, se adhiere a la mucosa del intestino delgado, no la invade, y elabora toxinas que

producen diarrea. No hay cambios histológicos en las células de la mucosa y muy poca inflamación. Produce diarrea no sanguinolenta en niños y adultos, sobre todo en países en vías de desarrollo, aunque los desarrollados también se ven afectados.

- *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI): es inmóvil, no fermenta la lactosa.

Invade el epitelio intestinal causando diarrea sanguinolenta en niños y adultos. Libera el calcio en grandes cantidades impidiendo la solidificación ósea, produciendo artritis y en algunos casos arterioesclerosis.

- *Escherichia coli* enterohemorrágica o verotoxigénica (ECEH): produce verotoxinas que actúan en el colon. Sus síntomas son: primero colitis hemorrágica, luego síndrome hemolítico ureico (lo anterior más infección del riñón, posible entrada en coma y muerte), y por último, púrpura trombocitopénica trombótica (lo de antes más infección del sistema nervioso central). Esta cepa no fermenta sorbitol y posee un fago, donde se encuentran codificadas las verotoxinas, también llamadas "Toxinas Shiga", no posee fimbria formadora de mechones, en vez de esto posee una fimbria polar larga que usa para adherencia.

- *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEAgg) para sobrevivir largo tiempo en el intestino humano y la producción de una o más de las toxinas descritas, pudiera explicar la persistencia de las diarreas por ellas producidas. Estudios recientes muestran la existencia de una toxina que es capaz de producir lesiones hemorrágicas severas cuando se inoculan ratas con la toxina purificada. Esto pudiera apoyar la capacidad de cepas de ECEAgg para causar diarrea con sangre en humanos. Estudios realizados en México identifican el 51 % de pacientes con diarrea persistente como portadores de ECEAgg y sólo el 5 % en niños asintomáticos CHPG.

-*Escherichia coli* Adherencia difusa (ECAD): Se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales y habitualmente causa enfermedad en niños inmunológicamente no desarrollados o mal nutridos.

No se ha demostrado que pueda causar diarrea en niños mayores de un año de edad ni en adultos.<sup>(27)</sup>

### 3.7.5 *Salmonella*

Las enfermedades bacterianas de origen alimentario, son aquellas que resultan de la presencia de bacterias infectivas o sus toxinas en un alimento y que actúan cuando son ingeridas. Las enfermedades bacterianas que son consecuencia de la ingestión de alimentos contaminados se dividen en dos categorías:

- Enfermedades ocasionadas por la ingestión de ciertas bacterias vivas en una dosis adecuada que, previamente, han logrado crecer y multiplicarse en el alimento ingerido.
- Enfermedades ocasionadas por la absorción intestinal de toxinas sintetizadas por ciertas bacterias al crecer y multiplicarse sobre un alimento.

Algunas enfermedades de origen alimentario, conocidas desde hace muchos años, han resurgido recientemente y se han hecho más comunes: Esto ha ocurrido, por ejemplo, con la salmonelosis, enfermedad cuyos brotes han prevalecido durante décadas pero que, en los últimos 25 años, se ha incrementado en muchos países debido a la presencia del serotipo *Salmonella enteritidis*, que ha llegado a ser la cepa predominante.

Los signos de la enfermedad incluyen: dolor abdominal, diarrea, fiebre moderada y escalofríos; a veces hay vómitos, dolor de cabeza y malestar general. Pueden producirse también complicaciones. El síndrome dura normalmente de 2 a 5 días, aunque, en ocasiones, persiste varias semanas.

La mayoría de los casos de salmonelosis resultan del consumo de:

- Alimentos de origen animal (carne de abasto, pollo, mariscos, pescado, leche y huevos).
- Subproductos de origen animal (ovoproductos no pasteurizados, productos lácteos no pasteurizados).
- Alimentos sanos que se contaminan con productos en malas condiciones de salubridad o son mal manipulados.

Muchos alimentos, sobre todo los de origen animal o contaminados con aguas residuales, han servido como vehículos en brotes de salmonelosis.

*Salmonella* es un género de bacteria que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa.

Es un agente zoonótico de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar, también por vía sexual.

La *Salmonella spp* crece con facilidad en agar sangre formando colonias de 2 a 3 milímetros. En laboratorios de microbiología clínica se aísla con medios selectivos, Selenito, Hektoen, SS o XLD para inhibir el crecimiento de otras bacterias patógenas y de la flora intestinal saprófita.

Tienen los siguientes antígenos:

- Somático "O", del lipopolisacárido en la pared celular, termoestable y es la base de la clasificación en subgrupos.
- Flagelar "H", de la proteína flagelina, termolábil, es la base de la clasificación de especies.
- Envoltura "Vi", termolábil, responsable de la virulencia de varias especies patogénicas.<sup>(27)</sup>

### 3.7.6 PARASITOS

Los parásitos son microorganismos que pueden encontrarse en el medio ambiente, los alimentos y los animales. A pesar de que los mecanismos de contagio de los parásitos dependen de la naturaleza de cada uno de ellos, la mayoría se produce por la ingesta de agua o alimentos contaminados con sus quistes o huevos (Ver Anexo 20) <sup>(9)</sup>.

Numerosos Helmintos y sus formas larvarias depositados o fijados en hortalizas y en algunas frutas en contacto con los suelos, pueden actuar como soportes, portadores y vehículos de parásitos y larvas y constituir riesgos para la salud pública, cuando los productos hortofrutícolas son regados con aguas fecales o residuales, o abonados con estiércoles contaminados <sup>(27)</sup>.

Los parásitos siguen un curso biológico, del huevo al quiste, en cuyas etapas se produce una importante resistencia a las altas temperaturas, la radiación natural, los productos químicos y los desinfectantes. Estos contaminantes se pueden introducir en los alimentos debido a prácticas inadecuadas de manipulación, ya sea en el primer paso de la producción, en la granja, o durante el proceso de elaboración al que se someten los alimentos <sup>(25)</sup>.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLÓGICO**

## **4.0 DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1 TIPO DE ESTUDIO.**

El estudio realizado es de tipo experimental y transversal.

- **Experimental** se realizó una investigación teórica y análisis microbiológico de las muestras de pupusas, salsas y encurtidos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) ubicado en la Universidad de El Salvador.
- **Transversal** debido a que la investigación se realizó en un periodo de tiempo de mayo a agosto de 2017.

### **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.
- Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador (UES).
- Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Universidad Centroamericana José Simeón Cañas (UCA).
- Internet.

### **4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO.**

#### **4.3.1 UNIVERSO**

El universo lo conforman todas las pupusas revueltas de arroz y su complemento salsa y encurtido de los 13 establecimientos ubicados en los alrededores de la Universidad de El Salvador sede central (Ver anexo N° 2).

#### **4.3.2 MUESTRA**

Las muestras de pupusas revueltas de harina de arroz, salsa y encurtido que se tomaron de los establecimientos seleccionados.

### **4.3.3 MUESTREO**

Se realizó un muestreo aleatorio en cada uno de los 13 establecimientos, tomando 1 muestra de pupusa revuelta, salsa y encurtido por establecimiento, haciendo un total de 39 muestras.

Las muestras se recolectaron de la misma manera que son comercializadas. Se adquirieron las pupusas revuelta de arroz (que llevan como relleno chicharrón, queso y frijoles) envueltas en plástico y colocada en bolsa, con encurtido y salsa. Las cuales para su traslado al laboratorio se colocaron en bolsas herméticas con su respectiva viñeta (Ver anexo N° 3); las muestras se trasladaron en hielera, previamente lavada y desinfectada.

## **4.4 Parte Experimental**

Se aplicó una lista de chequeo donde se visualiza 13 criterios para evaluar los establecimientos y las buenas prácticas de higiene de los manipuladores, entre los cuales tenemos: ubicación, Instalaciones físicas, Instalaciones sanitarias, limpieza, desinfección, salud de los manipuladores, control de insectos y roedores, conservación de los alimentos y almacenamiento que influyen en la calidad sanitaria del alimento preparado.

Previo a la toma de la muestra, el analista recolectó la información requerida por las listas, por medio de observación a los establecimientos y manipuladores.

### **4.4.1 TOMA, MANEJO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

- Las muestras de los alimentos fueron tomadas tal cual como se comercializan, colocándolas en bolsas estériles de poliestireno, separando cada una de las muestras a analizar.

- Se identificó la bolsa, que contenía la muestra (pupusa, salsa o encurtido) mediante etiquetas indelebles, con los siguientes datos: Fecha, código de identificación de muestra (para el caso de la toma de muestra en el establecimiento este código será el mismo código de identificación del establecimiento), lugar, nombre de la persona que tomó la muestra, código de identificación de establecimiento hora de muestreo, temperatura de muestreo (con ayuda de un termómetro de mercurio), y análisis a realizar.
- Se procedió a ubicar las bolsas identificadas en una hielera portátil.
- Las muestras identificadas se colocaron y transportaron en una hielera al laboratorio de microbiología situado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).
- En el laboratorio se clasificaron por grupo de alimento y separaron las muestras (pupusas, salsa y encurtido).
- Se tomaron 25 g de muestra correspondiente a cada alimento (pupusas, salsa y encurtido) en una bolsa estéril de polietileno.

#### **4.4.2 Determinaciones a realizar.**

En la tabla N° 2 se detallan las determinaciones microbiológicas que se realizaron en las pupusas, salsa y encurtido de los puestos de venta ubicados en los alrededores de la Sede Central de la Universidad de El Salvador, de acuerdo con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos correspondiente al grupo 12 sub grupo 12.2 salsa, subgrupo 17.1 encurtido y 17.3 pupusas. (Ver anexo N°4)

Tabla N° 2: Determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de pupusa salsa y encurtido

<i>Alimento</i>	Pupusa	Salsa	Encurtido
<i>Análisis a realizar</i>			
<i>E. coli</i>	✓	✓	✓
<i>Salmonella spp</i>	✓	✓	✓
<i>Staphylococcus aureus</i>	N/A	N/A	✓
<i>Parásitos</i>	N/A	N/A	✓

#### 4.4.3 Preparación de diluciones de las muestras (Ver anexo N° 9)

-Dilución 10-1: se pesaron 25 gramos de la muestra en bolsa plásticas estériles. Luego se adicionaron 225 mL del diluyente (agua peptonada). Después se homogenizará por medio de un Stomacher, por 2 minutos.

-Dilución 10-2: se transfirió, con una pipeta estéril, una alícuota de 10 mL de la dilución 10-1 en un frasco con 90 mL del diluyente estéril

-Dilución 10-3: de la dilución 10-2 se tomó una alícuota de 10 mL y se transfirió a un frasco con 90 mL del diluyente.

#### 4.4.4 DETERMINACIÓN DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

##### 4.4.4.1 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES

##### Técnica del número más probable (NMP)

Muestra: Pupusa (revuelta), salsa de tomate y encurtido.

##### 4.4.4.1.1 Coliformes totales

- Se tomaron tres tubos conteniendo 9 mL de caldo Fluorocult LMX.

- Luego se pipeteó y transfirió a cada uno de estos tubos 1 mL de la dilución  $10^{-1}$ .
- De la misma forma se repitieron los pasos anteriores para cada una de las diluciones hasta completar 9 tubos.
- Se incubaron los tubos a  $35 \pm 0,5$  °C por  $24 \pm 2$  horas y se observa la formación de una coloración verde azulada, la cual indica presencia de coliformes totales. (Ver anexo N°10).

#### 4.4.4.1.2 *Escherichia coli*.<sup>(11)</sup>

- Para verificar la posible presencia de *Escherichia coli* se observó bajo una lámpara de luz UV, los tubos positivos de caldo Fluorocult LMX provenientes de la prueba de Coliformes totales. La emisión de fluorescencia indicó la presencia de *Escherichia coli*.
- A cada tubo con fluorescencia, se agregaron unas gotas del reactivo de Kovac y se observó la formación de un anillo color violeta, que confirma la presencia de *Escherichia coli*. (Ver anexo N° 11).

#### 4.4.4.2 Determinación de *Salmonella* spp.

Muestra: Pupusa (revuelta), salsa y encurtido.

##### 4.4.4.2.1 Método para la determinación de *Salmonella*.<sup>(9)</sup>

##### 4.4.4.2.1.1 Aislamiento

- Se pesó en forma directa y aséptica 25 gramos de muestra en un frasco estéril
- Luego se adicionaron 225 mL de caldo lactosado.
- Se incubaron por 24 h a 35°C.

Se utilizó la dilución  $10^{-1}$  preparada con caldo lactosado y se realizó lo siguiente:

- Se tomó 1 mL e inoculó en un tubo que contenga 10 mL de caldo Tetrionato (TT); luego se tomó 0.1 mL e inoculó en otro tubo que contenía 10 mL de caldo Rappaport Vassilidius (RV).
- Luego se incubaron los tubos anteriores por 24 horas a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , y  $42^{\circ}\text{C}$  para Rappaport. Son medios de enriquecimiento para *Salmonella spp.*
- Se utilizó el tubo con caldo Tetrionato, se sembró por método de estrías en una placa petri que contenga agar Sulfito-Bismuto y Salmonella-Shigella.
- De igual manera se procedió con el tubo que contiene caldo Rappaport Vassilidius en otra placa de petri.
- Se incubaron ambas placas de 18 a 48 h a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Luego se observaron el tipo de colonias formadas características de *Salmonella spp.*
- Las colonias típicas de *Salmonella spp.* en medio de cultivo Salmonella-Shigella son incoloras, generalmente con centro de color.
- En medio de cultivo Sulfito-Bismuto Colonias verdes o azul verdes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras. (Ver Anexo N° 12)

#### **4.4.4.2.1.2 Prueba de identificación bioquímica**

Se realizaron pruebas IMVIC ( Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato) a las muestras que presentaron colonias características de *Salmonella* o que se sospechaban que fuera esta bacteria.

#### **Prueba de TSI y $H_2S$**

- Las colonias se pasan a un medio nutritivo y se seleccionaron dos colonias típicas de cada medio selectivo, tocando levemente el centro de cada

colonia e inoculándolo en tubos con agar triple azúcar hierro (TSI), por estría en la superficie inclinada y por punción en el fondo. Se incubaron por 24 a 35°C.

- Se observó el crecimiento en el tubo, el vire del indicador y la formación de una coloración negra a lo largo de la punción. (Ver anexo N° 13).

### **Prueba de indol**

- Se sembró una colonia sospechosa en un tubo para la prueba de Indol e incubó por 24h a 37±1°C.
- Luego se agregaron 0.5mL de reactivo de Kovac y se observó la formación de un anillo rojo-violeta, el cual indica prueba positiva. (Ver anexo N° 13).

### **Prueba de rojo de metilo**

- Se inoculó la prueba con una colonia y posteriormente se incubaron durante 24h a 37±1°C.
- Después de dicho tiempo se agregaron 2 gotas de reactivo rojo de metilo y se observó el viraje de color naranja claro a rojo. (Ver anexo N° 13).

### **Prueba de movilidad**

- Se inoculó una colonia sospechosa con un asa en punta, sobre medio solidificado, picando hasta el fondo del tubo.
- Se incubó por 24h a 37±1°C para después observar la formación de crecimiento en forma de sombrilla alrededor de la picadura. (Ver anexo N° 13)

### **Prueba de Voges Proskauer**

- Se inoculó una colonia sospechosa, e incubó durante 24h a 37±1°C.
- Pasado el tiempo de incubación se agregaron 3 gotas de solución alcohólica de alfa naftol y 2 gotas de hidróxido de potasio.

- Se observó luego de 15 minutos, el posible viraje de color rosado, el cual indicó una reacción positiva (Ver anexo N° 13)

Los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas se compararon con el Cuadro de caracterización bioquímica de *Salmonella sp.* (Ver anexo N° 14)

#### **4.4.4.3 Determinación de *Staphylococcus aureus***

Muestra: encurtido.

##### **4.4.4.3.1 Prueba para *Staphylococcus aureus***

- De la dilución  $10^{-1}$  anteriormente preparada se transfirieron, con una pipeta estéril 0.3mL, 0.3mL y 0.4mL en 3 placas de Agar Bair Parker respectivamente (por duplicado).
- Con la ayuda de una varilla en L previamente limpia se esparció la muestra.
- Se incubó a 35 ° C. por 24 – 48 horas
- Se observaron las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* que deberían de ser de color negro con halo claro, en cada placa (Ver anexo N° 15).

##### **4.4.4.3.2 conteo y registro de las colonias sospechosas.**

- Se contaron las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* de cada placa por separado.
- Cuando las placas de la dilución más baja contenían <20 colonias, estos podían ser utilizadas, sin necesidad de realizar el recuento. Si las placas contienen > 200 colonias, las colonias con la apariencia típica de *Staphylococcus aureus* se les realizaba el recuento.

#### **4.4.4.3.3 Prueba de la coagulasa. (Ver Anexo N° 15).**

- Se seleccionaron las colonias sospechosas, y se sembró en BHI e incubó por 18 a 24 horas a 35°C.
- A las 24 horas se sembró en tubos con plasma e incubó a 35° C por 24 horas.
- Se observó la formación de un coagulo, que no se deshace al invertir el tubo, esto indicó prueba positiva para *Staphylococcus aureus*.

#### **4.4.4.3.4 Prueba de la catalasa (prueba complementaria).**

- Se usó el crecimiento de la inclinación, para prueba de catalasa
- En el portaobjetos de vidrio o en una placa se colocó una porción con el asa.
- Se iluminó adecuadamente para observar la producción de burbujas de gas, al agregar peróxido de hidrogeno.

#### **4.4.4.4 Método de identificación de parásitos**

##### **Procedimiento para método cualitativo (tinción con Lugol)**

- Se tomaron dos asadas directamente de la dilución  $10^{-1}$  de la muestra, colocarlas sobre un portaobjetos.
- Luego se agregó una gota de Lugol, se colocó la muestra y se cubrió con un cubre-objetos.
- Se colocó la muestra sobre el carro de un microscopio y se observó con el objetivo 40X.
- Para determinar la presencia de parásitos en la muestra, se compararon las imágenes observadas al microscopio con láminas ilustrativas de parásitos. (Ver anexo N° 16).

#### **4.5 Recopilación de datos**

Se realizaron los respectivos registros de los resultados para posteriormente procesarlos y compararlos con el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 (Ver anexo N° 4).

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.1 Lista de chequeo para el cumplimiento de las Buenas Prácticas Higiénicas por parte de los manipuladores de alimentos.

Previo a la recolección y procesamiento de muestras se realizó un diagnóstico por observación en los 13 establecimientos que comercializan pupusas, y sus complementos salsa y encurtido, ubicados en los alrededores de la Universidad de El Salvador.

El diagnóstico incluía diferentes parámetros, que permitieron recolectar información de las condiciones higiénicas bajo las cuales operan dichos establecimientos; ver cuadro N°1.

Cuadro N° 1: Lista de chequeo para diagnóstico de las condiciones higiénicas bajo las cuales operan los establecimientos que comercializa pupusas en los alrededores de la Universidad de El Salvador

PARÁMETROS	PORCENTAJE QUE CUMPLE	PORCENTAJE QUE NO CUMPLE
1. ¿Los puestos están ubicados en lugares libres de contaminación?	7.7	92.3
2. ¿Cuentan con el espacio adecuado para el desarrollo de las actividades?	7.7	92.3
3. ¿Proveen protección a los alimentos ya preparados contra agentes externos?	7.7	92.3
4. ¿El establecimiento está construido con materiales que no contaminen los alimentos?	7.7	92.3
5. ¿Cuentan con suministro de agua potable?	7.7	92.3
6. ¿El personal utiliza redecillas en el cabello?	7.7	92.3
7. ¿El personal utiliza indumentaria adecuada?	7.7	92.3
8. ¿El personal usa objetos personales o maquillaje?	100	0
9. ¿El personal se lava las manos después de recibir el dinero?	76.93	23.07

Cuadro N° 1 Cont.

PARÁMETROS	PORCENTAJE QUE CUMPLE	PORCENTAJE QUE NO CUMPLE
10. ¿Los utensilios son adecuados?	100	0
11. ¿Los utensilios se encontraban limpios?	100	0
12. ¿Se mantienen los alimentos a una temperatura adecuada para su conservación?	100	0
13. ¿Poseen recipientes con tapadera para los desechos sólidos?	7.7	92.3

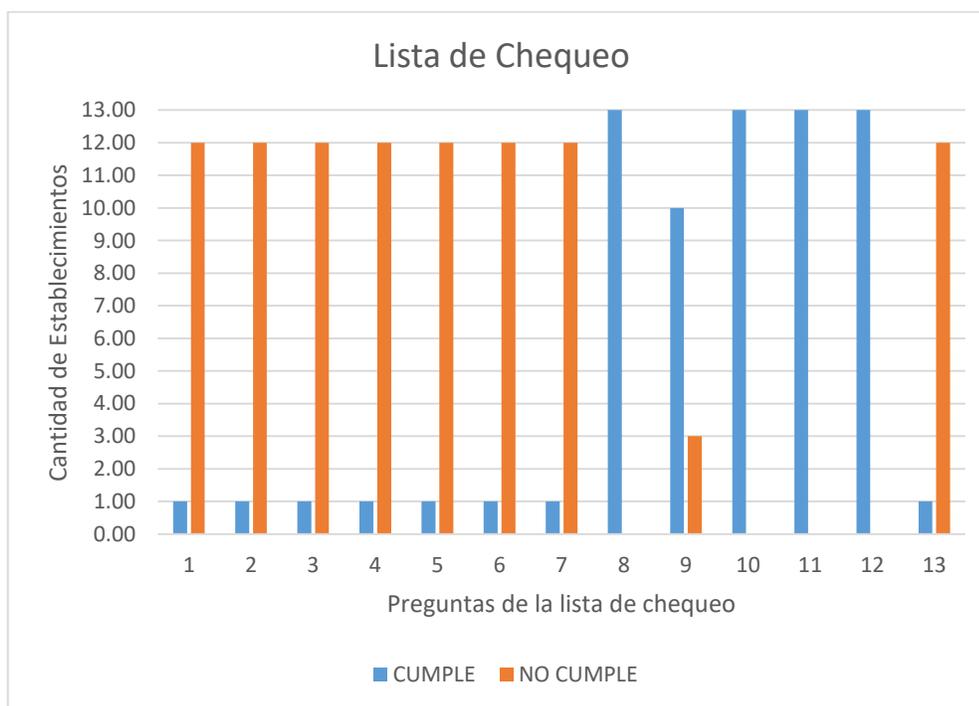


Figura N° 1: Gráfico de los resultados obtenidos de la lista de chequeo

De los resultados obtenidos de la lista de chequeo (cuadro N° 1) se observa que el 92.3% de los establecimientos ubicados en los alrededores de la Universidad de El Salvador no cumplen con las condiciones mínimas necesarias para la manufactura y comercialización de estos alimentos (Ver figura N° 1).

Esto se debe a la ubicación y estructura de los mismos (Ver anexo N° 8) el 92.3% están sobre los andenes exponiéndolos a humo de vehículos, polvo de las calles, hojas de árboles e insectos; y están contruidos con materiales que acumulan polvo y humedad, sin darles una limpieza adecuada de manera frecuente.

Respecto a la indumentaria utilizada por los manipuladores, no utilizan indumentaria adecuada como redecillas o gorros para recogerse el cabello, mascarillas en ambientes con riesgos de higiene sanitario, guantes en ocasiones puntuales; se limitan a utilizar solo un delantal de tela.

En el 100% de los establecimientos los manipuladores mantienen las uñas cortas, sin esmaltes y no usan maquillaje.

El 76.93 % de los establecimientos tienen personal suficiente para que una persona se encuentre únicamente manipulando los alimentos y otra persona se encarga de cobrar y recibir el dinero. Sin embargo, el 92.3 % no tiene suministro de agua potable lo que desfavorece en las practicas higiénicas mínimas de los manipuladores como el lavado de manos.

Se determina que en base a la observación realizada por medio de la lista de chequeo se puede determinar que el 92.3% de los establecimientos no son aptos para la elaboración y comercialización de pupusas por no cumplir con los mínimos requerimientos de sanidad necesarios, haciendo que sean ellos mismos fuente de origen de contaminación de dicho alimento por las condiciones precarias en las que se encuentran dichos establecimientos.

## 5.2 Identificación de presencia o ausencia *Salmonella spp.*

Para su fácil identificación, se codificaron las muestras (Ver anexo 7)

Tabla N° 3: Resultado de la identificación de presencia o ausencia de *Salmonella spp* en muestras de pupusas, encurtido y salsa

<b>Código de la muestra pupusas</b>	<b>Resultados para <i>Salmonella spp</i></b>	<b>Normativa: RTCA 67.04.50:08</b>
1A-MA1	ausencia	Ausente en 25g de muestra
1B-MA1	ausencia	
1C-MA1	ausencia	
2C-MA1	ausencia	
3C-MA1	ausencia	
1D-MA1	ausencia	
2D-MA1	ausencia	
3D-MA1	ausencia	
1E-MA1	ausencia	
2E-MA1	ausencia	
1F-MA1	ausencia	
2F-MA1	ausencia	
1O-MA1	ausencia	
<b>Código de la muestra Encurtido</b>	<b>Resultados para <i>Salmonella spp</i></b>	<b>Normativa: RTCA 67.04.50:08</b>
1A-MA2	ausencia	Ausente en 25g de muestra
1B-MA2	ausencia	
1C-MA2	ausencia	
2C-MA2	ausencia	
3C-MA2	ausencia	
1D-MA2	ausencia	
2D-MA2	ausencia	
3D-MA2	ausencia	
1E-MA2	ausencia	
2E-MA2	ausencia	
1F-MA2	ausencia	
2F-MA2	ausencia	
1O-MA2	ausencia	

Tabla N° 3: Cont.

<b>Código de la muestra Salsa</b>	<b>Resultados para <i>Salmonella spp</i></b>	<b>Normativa: RTCA 67.04.50:08</b>
1A-MA3	ausencia	Ausente en 25g de muestra
1B-MA3	ausencia	
1C-MA3	ausencia	
2C-MA3	ausencia	
3C-MA3	ausencia	
1D-MA3	ausencia	
2D-MA3	ausencia	
3D-MA3	ausencia	
1E-MA3	ausencia	
2E-MA3	ausencia	
1F-MA3	ausencia	
2F-MA3	ausencia	
1O-MA3	ausencia	

Para las muestras de pupusas, encurtido y salsa que presentaban crecimiento de colonias sospechosas en el medio *Salmonella-Shigella* y sulfito bismuto, se realizaron pruebas bioquímicas para confirmar la presencia de *Salmonella spp* obteniéndose como resultados la ausencia de dicho microorganismo en el 100% de las muestras analizadas tal como se observa en las Tablas N°1, 2, y 3 (Ver anexo N° 18).

Respecto a las muestras de pupusas se puede decir que este alimento no presenta contaminación porque en su proceso de elaboración se somete al calor suficiente para que el microorganismo que pueda existir por contaminación de origen sea destruido por el calor.

Respecto a las muestras de encurtido este no presenta salmonella pues entre los ingredientes principales y a quien debe sus características se encuentra el vinagre que le proporciona un porcentaje de acidificación suficiente para que la

mayoría de bacterias no resistentes a PH ácidos como la *Salmonella sp* no pueda crecer en este alimento.

Respecto a las muestras de salsa no presentan contaminación debido a que para la preparación de la salsa esta se lleva a punto de ebullición y luego la dejan enfriar un poco para ser almacenada en bolsas plásticas y tenerla lista para ser despachada cual disminuye significativamente la contaminación de la misma.

Esto indica que las muestras analizadas cumplen con los límites permitidos según el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50.08, Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos.

### 5.3 Recuento de microorganismos patógenos, *Staphylococcus aureus*, en muestras seleccionadas

Tabla N° 4: Resultado del recuento para *Staphylococcus aureus* para encurtido.

Código de la muestra	Tipo de Muestra: Encurtido	Resultado	Normativa: RTCA 67.04.50:08
			Límite <b>10<sup>2</sup> UFC/g</b>
1A-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
1B-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
1C-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
2C-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
3C-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
1D-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
2D-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
3D-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
1E-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
2E-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
1F-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
2F-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
1O-MA2		<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g

En los resultados obtenidos para la determinación de *Staphylococcus aureus*, exclusivamente para las muestras de encurtidos según RTCA 67.04.50:08 Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos. Grupo 17, subgrupo 17.1: Alimentos preparados, listos para consumir que no requiere tratamiento térmico; se verificó el crecimiento de colonias negras sin halo claro, en todas las placas de Baird Parker; de las cuales, luego de realizar la prueba confirmatoria de la coagulasa, ninguna muestra presentó formación de coagulo por lo tanto el recuento de *Staphylococcus aureus* fue menor de  $10^2$  UFC/g, cumpliendo así con el parámetro de referencia. (Ver Anexo N° 4). Esto se debe a las a la acidez que presenta el encurtido normalmente 4.0-3.0 que se debe al vinagre que utilizan para su preparación, mientras que el pH óptimo de crecimiento para *Staphylococcus aureus* es de 7.0-7.5.

Tabla N° 5: Resultado del recuento para *Escherichia coli* para muestras de Pupusas. (Número Más Probable)

Código de la muestra	Tipo de Muestra	NMP	Resultado	Normativa: RTCA 67.04.50:08
1A-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/ g
1B-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP /g
1C-MA1	Pupusa	4	No Conforme	<3 NMP/ g
2C-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/ g
3C-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/ g
1D-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/ g
2D-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/ g
3D-MA1	Pupusa	9	No Conforme	<3 NMP/ g
1E-MA1	Pupusa	150	No Conforme	<3 NMP/g
2E-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/g
1F-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/g
2F-MA1	Pupusa	23	No Conforme	<3 NMP/g
1O-MA1	Pupusa	<3	Conforme	<3 NMP/g

Dado a los resultados obtenidos para la determinación de *Escherichia coli*, para las muestras de pupusas según RTCA 67.04.50:08 Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos. Grupo 17, subgrupo 17.3: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusas; Luego de observarse bajo luz Ultravioleta los tubos positivos para coliformes totales, aquellos que presentaron fluorescencia se les agrego el reactivo de KOVAC para confirmar la presencia de *E. coli* dando como resultado que de 13 muestras de diferentes establecimientos, 4 muestras con código **1C-MA1, 3D-MA1, 1E-MA1, 2F-MA1** dieron valores superiores a 3 NMP/g el cual es el límite establecido por el RTCA. (Ver anexo N° 4). En comparación con otro análisis realizado a este alimento comercializado dentro de un centro escolar ubicado en Soyapango<sup>(29)</sup> indicaron que el alimento no presentaba contaminación por *E. coli* lo que indica que dicha variación en los resultados es debida principalmente a las condiciones higiénicas en las que son elaboradas las pupusas en los establecimientos que se encuentran afuera de la universidad puesto que el 92.3% de los establecimientos no cumplen con los requerimientos mínimos necesarios para la elaboración de este alimento siendo este el origen de la contaminación del alimento puesto que los establecimientos no cuentan con servicio de agua potable por lo tanto es difícil cumplir con las condiciones higiénicas mínimas como el lavado constante de manos existiendo la posibilidad que la contaminación sea directa del manipulador.

Tabla N° 6: Resultado del recuento para *Escherichia coli* para muestras de Encurtidos. (Número Más Probable)

Código de la muestra	Tipo de Muestra	NMP	Resultado	Normativa: RTCA 67.04.50:08
1A-MA2	Encurtido	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
1B-MA2	Encurtido	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
1C-MA2	Encurtido	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
2C-MA2	Encurtido	>1100	No Conforme	<3 NMP/g

Tabla N° 7: Cont.

Código de la muestra	Tipo de Muestra	NMP	Resultado	Normativa: RTCA 67.04.50:08
3C-MA2	Encurtido	43	No Conforme	<3 NMP/g
1D-MA2	Encurtido	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
2D-MA2	Encurtido	43	No Conforme	<3 NMP/g
3D-MA2	Encurtido	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
1E-MA2	Encurtido	43	No Conforme	<3 NMP/g
2E-MA2	Encurtido	75	No Conforme	<3 NMP/g
1F-MA2	Encurtido	23	No Conforme	<3 NMP/g
2F-MA2	Encurtido	4	No Conforme	<3 NMP/g
1O-MA2	Encurtido	43	No Conforme	<3 NMP/g

Dado a los resultados obtenidos para la determinación de *Escherichia coli*, para las muestras de Encurtido según RTCA 67.04.50:08 Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos. Grupo 17, subgrupo 17.1: Alimentos preparados, listos para consumir que no requieren tratamiento térmico; Luego de observarse bajo luz Ultravioleta los tubos positivos para coliformes totales, aquellos que presentaron fluorescencia se les agrego el reactivo de KOVAC para confirmar la presencia de *E. coli* dando como resultado que las 13 muestras analizadas dieron valores superiores a 3 NMP/g el cual es el límite establecido por el RTCA (Ver anexo N° 4). En comparación con un estudio realizado a encurtidos que se consumen en las pupuserias del área metropolitana de San Salvador<sup>(30)</sup> se encontró presencia de *E. coli* nada más en el 50% de las muestras lo que en nuestro análisis se puede deber a que en la mayoría de los establecimientos las prácticas de higiene no son las ideales pues no poseen las condiciones mínimas necesarias para preparar y comercializar el alimento, se observó que el curtido lo embolsan directamente con la mano lo cual puede originar que aunque el alimento tenga un PH ácido ocurra una contaminación cruzada a la hora de manipular el alimento. También puede influir en los resultados la forma de preparación del encurtido debido a que se observó que solo mezclan los

vegetales con el vinagre sin pasarlos por calor y siendo la bacteria en estudio una de las más resistentes a diferentes condiciones.

Tabla N° 8: Resultado del recuento para *Escherichia coli* para muestras de Salsa. (Número Más Probable)

Código de la muestra	Tipo de Muestra	NMP	Resultado	Normativa: RTCA 67.04.50:08
1A-MA3	Salsa	<3	Conforme	<3 NMP/g
1B-MA3	Salsa	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
1C-MA3	Salsa	>1100	No Conforme	<3 NMP/g
2C-MA3	Salsa	<3	Conforme	<3 NMP/g
3C-MA3	Salsa	240	No Conforme	<3 NMP/g
1D-MA3	Salsa	43	No Conforme	<3 NMP/g
2D-MA3	Salsa	240	No Conforme	<3 NMP/g
3D-MA3	Salsa	23	No Conforme	<3 NMP/g
1E-MA3	Salsa	240	No Conforme	<3 NMP/g
2E-MA3	Salsa	43	No Conforme	<3 NMP/g
1F-MA3	Salsa	<3	Conforme	<3 NMP/g
2F-MA3	Salsa	<4	No Conforme	<3 NMP/g
1O-MA3	Salsa	<3	Conforme	<3 NMP/g

En los resultados obtenidos, de la determinación de *Escherichia coli*, para las muestras de salsas según RTCA, de 13 muestras de diferentes establecimientos, 9 muestras con código **1B-MA3**, **1C-MA3**, **3C-MA3**, **1D-MA3**, **2D-MA3**, **3D-MA3**, **1E-MA3**, **2E-MA3**, **2F-MA3** dieron valores superiores a 3 NMP/g el cual es el límite establecido por el RTCA. (Ver anexo N° 4). Lo cual indica que una posible fuente de contaminación primaria puede ser el agua con la que la preparan pues estos establecimientos no cuentan con abastecimiento de agua potable, así como también puede ser causa de contaminación cruzada de utensilios y superficies contaminado, dado que en un estudio que se realizó a muestras de salsa para pupusas ninguna presentó contaminación por *E. coli* lo cual puede deberse a que

estos están mejor ubicados y con un riesgo menor de contaminación por el ambiente puesto que no se encuentran sobre los andenes.

#### **5.4 Verificación de la presencia o ausencia de parásitos, en las muestras de encurtidos**

Para la verificación de la presencia o ausencia de parásitos, en las muestras de encurtidos, se tomaron dos asadas de la dilución  $10^{-1}$  las cuales colocábamos en el porta-objetos, adicionándole una gota de lugol y posteriormente observábamos en el microscopio con objetivo 40x. Sin embargo, de todas las muestras analizadas, no se encontraron ni quistes (fase primaria de los parásitos) ni una morfología adulta de parásitos en las muestras de encurtido. Cabe recalcar que esta prueba no está establecida dentro de los criterios de inocuidad para el análisis de encurtidos según el RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos, sin embargo, por el origen de las materias primas de dicho alimento y estudios anteriormente realizados a este alimento donde se mostraba presencia de parásitos en algunas muestras de este alimento, se decidió realizar este análisis.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6 CONCLUSIONES

1. En los resultados obtenidos en la lista de chequeo solo el 7.7% de los establecimientos cumple con los requerimientos mínimos sanitarios para la elaboración y comercialización de las pupusas, y el 92.3% no lo cumplen.
2. No hay presencia de *Salmonella spp* en todas las muestras analizadas de pupusas revueltas, encurtido y salsa cumpliendo así con el parámetro establecido por el RTCA 67.04.50:08 para estos alimentos.
3. Para *Staphylococcus aureus*, se determinó que no se encuentra presente el microorganismo en las muestras analizadas de encurtido, estos resultados nos permiten determinar que esto se debe a la acidez del alimento puesto que el pH óptimo de crecimiento de este microorganismo es de 7.0-7.5.
4. Respecto a *Escherichia coli*, hay presencia en el 30.8% incumpliendo así con los parámetros establecidos por el RTCA 67.04.50:08, el otro 69.2%(9 muestras) si cumplen con el criterio establecido por el RTCA 67.04.50:08. El 100% (13 muestras) de las muestras de encurtido y el 69.2% (9 muestras) de las muestras de salsas estaban contaminadas con *E. coli* lo cual hace que estos sean un riesgo para la salud al ser consumidos, dicha contaminación es originada por los manipuladores debido a que los establecimientos no cumplen con las condiciones mínimas sanitarias y por lo tanto no permite que las practicas mínimas higiénicas tales como el lavado de manos se cumpla.
5. No se observó ninguna morfología que pudiera indicar presencia de parásitos en ninguna de las muestras de encurtido analizadas; por lo se descarta la presencia de estos microorganismos en las muestras encurtido.

6. Dada la comparación que se realizó con el RTCA 67.04.50:08 con respecto a los resultados obtenidos de los análisis de las muestras de pupusas, determinamos que el alimento no es apto para consumo humano.
  
7. El establecimiento que se encuentra fuera de los alrededores de la Universidad, el cual se codificó como 1O-MA1, resultó conforme para muestras de pupusas y salsa, siendo alimentos aptos para el consumo humano. Sin embargo, el resultado obtenido para muestras de encurtido salió fuera de los parámetros establecidos por lo que no es un alimento apto para el consumo humano.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## **7 RECOMENDACIONES**

1. Que los responsables de los establecimientos en coordinación con la Alcaldía Municipal y las autoridades de la Universidad de El Salvador, deben solicitar permiso ante el Ministerio de Salud, para la construcción de locales adecuados con materiales que acumulen poca humedad y polvo (los cuales propician el crecimiento de diferentes microorganismos), con acceso a agua potable y energía eléctrica, a fin de que las personas que preparan estos alimentos (pupusa, salsa y/o encurtido) cuenten con las condiciones sanitarias mínimas, para la elaboración de los mismos.
2. Que las personas encargadas de preparar los alimentos utilicen indumentaria apropiada (guantes, red para cabello o gorros, delantal, etc) para la manipulación de todos los alimentos.
3. Impartir charlas sobre Buenas Prácticas Higiénicas a los manipuladores, impartidas por los organismos responsables tales como el Ministerio de Salud y la Alcaldía Municipal.
4. Realizar futuros estudios para los distritos cercanos de la zona metropolitana de San Salvador analizando las pupusas, el encurtido y la salsa.
5. Que las autoridades competentes establezcan planes de vigilancia para el control de los alimentos que se comercializan en los alrededores de la Universidad de El Salvador.
6. Que el Ministerio de Salud lleve un registro de los negocios que venden alimentos alrededor de la Universidad de El Salvador con el fin de implementar un plan de monitoreo de salud de los manipuladores de alimentos de dichos locales.

## BIBLIOGRAFIA

1. ACTAF. Conservación en vinagre. Los Encurtidos. Enero 2011. Dirección electrónica:[http://www.actaf.co.cu/revistas/revista\\_ao\\_9510/Rev%202011-1/23 %20Vinagre.pdf](http://www.actaf.co.cu/revistas/revista_ao_9510/Rev%202011-1/23%20Vinagre.pdf)
2. A. Gil. Tratado de Nutrición. Tomo II Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos. Segunda edición. Medica Panamericana. Madrid. 2010. Página: 681
3. Benítez Palomeque E. 1996 Good Manufacturing Practices. España, Madrid. Editorial Imprime Graficas Fanny.
4. Campuzano S., Mejía Flórez D., Madero Ibarra C., Pabón Sánchez P. Determinación de la Calidad Microbiológica y Sanitaria de Alimentos Preparados Vendidos en la vía pública de la Ciudad de Bogotá D.C. 08 de Junio de 2015. [Consultado: 04/04/2017]. Dirección electrónica: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>
5. Cantina Saludable de la Municipalidad de Rosario. Alimentación Saludable. 11 de octubre de 2010. [Consultado: 6/02/2017]. Dirección electrónica:<http://vision404.blogspot.com/2010/10/como-se-clasifican-los-alimentos.html>
6. Chavez Castillo R., Herrera Aguirre M., 2015. Evaluación microbiológica de manipuladores y alimentos preparados en los cafetines del colegio Don Bosco. Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador.

7. El Salvador, mi país. Comidas Típicas – Pupusas (Receta). 26 de agosto de 2014. Dirección electrónica: <http://www.elsalvadormipais.com/pupusas-receta>
8. Equipo Vértice. Dietética y Manipulación de Alimentos. España: Publicaciones Vértice S.L., 2012 (2ª ed.), página consultada: 33
9. FAO. Estudio de caso – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador. Gloria Calderón. 2009 [Consultado: 01/02/2017]. Dirección electrónica: <http://www.fao.org/3/content/61cc444e70854aea5fecafae39532aa/i0480s03.pdf>
10. Faust y Craig. 1974. Parasitología clínica. España, Barcelona. Editorial Salvat.
11. Fuentes Félix A., Campas Baypoli O.N., Meza Montenegro M. Calidad Sanitaria de Alimentos disponibles al Público de Ciudad Obregón, Sonora, México. Septiembre 2005. [Consultado: 04/04/2017]. Dirección electrónica: [http://www.respyn.uanl.mx/vi/3/articulos/calidad\\_sanitaria.htm](http://www.respyn.uanl.mx/vi/3/articulos/calidad_sanitaria.htm)
12. Gabin, MM. C2007. Normas para la Higiene y adecuada manipulación de los alimentos (en línea). AR. Consultado 17 jul. 2009. Disponible en: <http://www.nutri-salud.com.ar>
13. [http://www.elika.eus/datos/formacion\\_documentos/Archivo9/Tipos%20de%20contaminaci%C3%B3n%20alimentaria.pdf](http://www.elika.eus/datos/formacion_documentos/Archivo9/Tipos%20de%20contaminaci%C3%B3n%20alimentaria.pdf) [Consultado: 8/03/2017]. Tipos de Contaminación Alimentaria.

14. [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores\\_6422.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf), [Consultado: 8/03/2017]. Módulo 2: Microorganismos Indicadores. Páginas: 15-18
15. <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi168arf2005-1.pdf>, Analiza Calidad, Microorganismos indicadores. [Consultado: 10/03/2017]. Página: 1-11
16. <http://biblioteca.sp.san.gva.es> Plan de seguridad alimentaria.
17. Jawetz E., y otros. 2005. Microbiología Médica. Manual moderno 18ª edición. México. Vaclavik V. A. 1998.
18. Jay J. Microbiología Moderna de Los alimentos, cuarta edición. España, Zaragoza. Editorial Acribia S.A. Páginas 123, 169, 361, 535.
19. Mª del Rosario Pascual Anderson. Enfermedades de Origen Alimentario. Su prevención. Ediciones Díaz de Santos, S.A. 2005. Páginas: 22, 25 y 26.
20. Manual de Análisis Bacteriológico (BAM); última actualización 08/05/2015; fecha de acceso 19 de abril del 2017 Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063335.htm>
21. Manual de Análisis Bacteriológico (BAM); última actualización 23/02/2016; fecha de acceso 20 de abril del 2017 Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>

22. Martín A. Bayona R. Evaluación Microbiológica de Alimentos Adquiridos en la Vía Pública en un Sector del Norte de Bogotá. 5 de septiembre de 2009. [Consultado: 4/04/2017]. Dirección electrónica: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v12n2/v12n2a02.pdf>
23. M. Hernández Rodríguez; A. Sastre Gallego. Tratado de Nutrición. Ediciones Díaz de Santos, S. A., Juan Bravo, 3-A, Madrid. 1999. Página: 504.
24. Montalvo Abarca R., Rivera Leiva E., 2012. Evaluación microbiológica de alimentos en cafetines de dos centros escolares del área metropolitana de San Salvador. Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador.
25. Norma Técnica sanitaria para la Autorización y Control de Establecimientos Alimentarios del Ministerio de Salud. San Salvador, 28 de mayo de 2004 acuerdo N° 216. <http://usam.salud.gob.sv/archivos/pdf/normas/N006.pdf>
26. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Las pupusas son el pasaporte salvadoreño en todo el mundo. 10 de Abril de 2009. Dirección electrónica: <http://web.archive.org/web/20091213174908/>
27. Sherris J.C. 2004. Microbiología Médica, Una Introducción a las Enfermedades Infecciosas. Primera Edición en español. México, México D.F. Editorial McGraw-Hill Interamericana.

28. Universidad de Murcia. Microbiología Alimentaria. Microorganismos Marcadores: Índices e indicadores. [Consultado: 10/03/2017]. Páginas: 1-20. Dirección electrónica: [https://www.um.es/nutbro/docs/hica/Microorganismos\\_marcadores.pdf](https://www.um.es/nutbro/docs/hica/Microorganismos_marcadores.pdf)

## **ANEXOS**

## **ANEXO N° 1**

**Recetas de encurtido de repollo para pupusas y salsa para pupusas**

Cuadro N° 2: Receta de encurtido de repollo para pupusas

Cantidad	Ingrediente
¼ de taza	Vinagre blanco
1 cucharadita	Sal
½ cucharadita	Hojas secas de orégano
4 tazas	Repollo verde, troceado y escaldado
1 unidad	Chile verde mediano, cortado en tiras
1 taza	Cebolla en anillos
1 taza	Zanahorias en lascas

Cuadro N° 3: Receta de salsa de tomate para pupusas

Cantidad	Ingrediente
5 unidades	Tomates maduros
½ unidad	Chile verde
½ unidad	Cebolla
1 cucharada	Aceite de oliva
250 mL	Agua
3 unidades	Dientes de ajo
1 pizca	Sal
1 pizca	Orégano
1 pizca	Pimienta

## ANEXO Nº 2

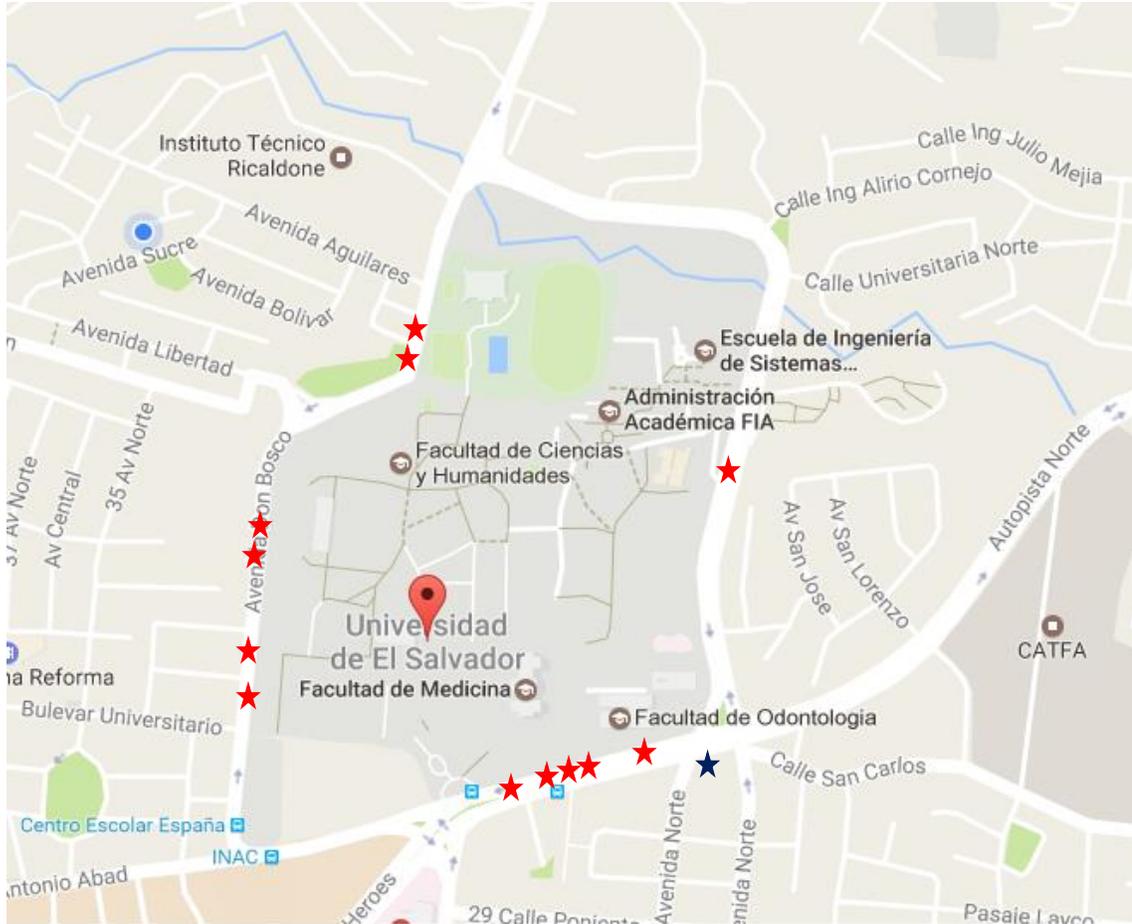


Figura Nº 2 Mapa de la zona Nº 1, del distrito número dos, del área metropolitana de San Salvador. Las marcas rojas señalan los 12 establecimientos (estrellas rojas) que se encuentran ubicados en los alrededores de la Universidad y 1 establecimiento (estrella azul) que se encuentra fuera de los alrededores de la Universidad.

### ANEXO N° 3

<b>Fecha:</b>	_____	<b>Código de muestra:</b>	_____
<b>Lugar:</b>	_____		
<b>Nombre de quien toma la muestra:</b>	_____		
<b>Código de Establecimiento:</b>	_____	<b>Hora de muestreo:</b>	_____
<b>Temperatura de muestreo:</b>	_____		
<b>Análisis a realizar:</b>	_____		

Figura N° 2: Modelo de etiqueta para identificación de muestras

#### **ANEXO N° 4**

**Parámetros microbiológicos según RTCA 67.04.50:08 para salsa de tomate, encurtido y pupusas.**

Cuadro N° 4: Parámetros microbiológicos según RTCA 67.04.50:08 Alimentos.  
Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos grupo 12,  
subgrupo 12.3 para salsa de tomate.

<b>12. Grupo de Alimentos: Salsas, aderezos, especias y condimentos:</b> Se trata de una categoría amplia que incluye sustancias que se añaden a un alimento para acentuar su aroma y gusto: mayonesa y aderezos; especias, hierbas desecadas, consomés y condimentos; salsa de tomate, mostaza y salsas para sazonar.						
<b>12.3 Subgrupo del alimento: Salsa de tomate, mostaza y salsa para sazonar</b>						
Parámetro	Plan de muestreo				Límite	
	Tipo de riesgo	Clase	n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i>	C	2	5	0	< 3 NMP/g	---
<i>Salmonella spp/25 g (salsa para sazonar)</i>		2		0	Ausencia	---

Cuadro N° 5: Parámetros microbiológicos según RTCA 67.04.50:08 Alimentos.  
Criterio Microbiológico para la Inocuidad de Alimentos grupo 17,  
subgrupo 17.1 y 17.3 para encurtido y pupusas respectivamente.

<b>17. Categoría de Alimento: Alimentos listos para consumir</b>						
<b>17.1 Subgrupo del alimento: Alimentos preparados. Listos para consumir que no requieren tratamiento térmico</b>						
Parámetro	Plan de muestreo				Límite	
	Tipo de riesgo	clase	n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i>	A	2	5	0	< 3 NMP/g	---
<i>Staphylococcus aureus</i>		3		1	10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>Salmonella spp/25 g</i>		2		0	Ausencia	---
<i>Clostridium perfringens (productos con carne)</i>		3		1	10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i>		2		0	Ausencia	----
<b>17.3 Subgrupo del alimento: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusas.</b>						
Parámetro	Plan de muestreo				Límite	
	Tipo de riesgo	clase	n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i>	B	2	5	0	<3 NMP/g	---
<i>Salmonella spp/25 g</i>		2		0	Ausencia	---

## ANEXO N° 5



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA  
DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS PUPUSAS  
QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS ALREDEDORES DE LA UNIVERDIDAD  
DE EL SALVADOR



Cuadro N° 4 Lista de chequeo

PARÁMETROS	CUMPLE	NO CUMPLE
1. ¿Los puestos están ubicados en lugares libres de contaminación?		
2. ¿Cuentan con el espacio adecuado para el desarrollo de las actividades?		
3. ¿Proveen protección a los alimentos ya preparados contra agentes externos?		
4. ¿El establecimiento está construido con materiales que no contaminen los alimentos?		
5. ¿Cuentan con suministro de agua potable?		
6. ¿El personal utiliza redecillas en el cabello?		
7. ¿El personal utiliza indumentaria adecuada?		
8. ¿El personal usa objetos personales o maquillaje?		
9. ¿El personal se lava las manos después de recibir el dinero?		
10. ¿Los utensilios son adecuados?		
11. ¿Los utensilios se encontraban limpios?		
12. ¿Se mantienen los alimentos a una temperatura adecuada para su conservación?		
13. ¿Poseen recipientes con tapadera para los desechos sólidos?		

## ANEXO Nº 6

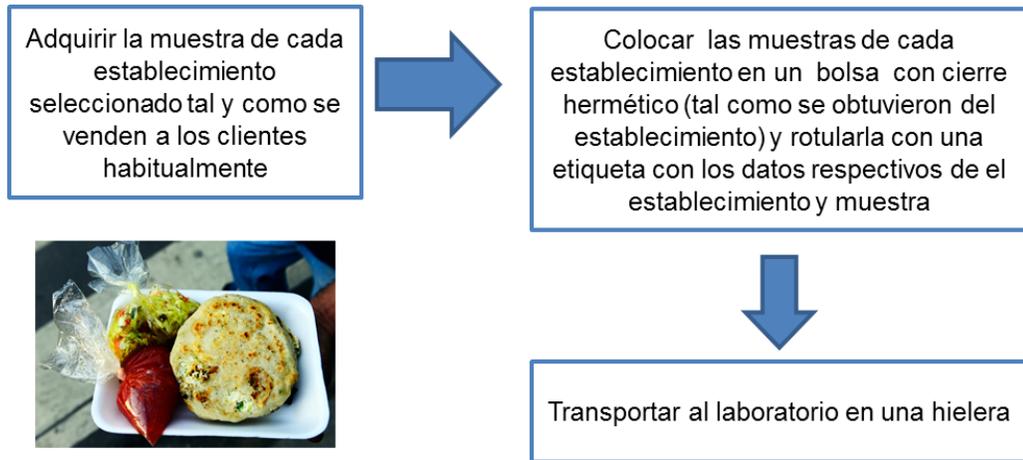


Figura Nº 4: Procedimiento para el muestreo de pupusas, salsa y encurtido

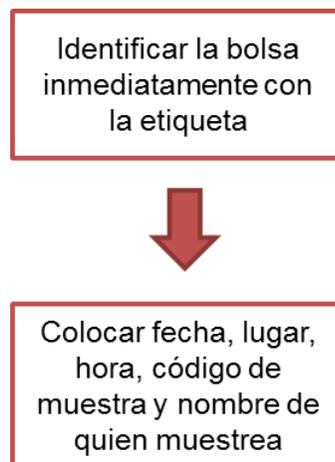


Figura Nº 5: Procedimiento para la identificación de la muestra

## **ANEXO N° 7**

**Lugares de muestreo y código de muestra asignados**

Cuadro N° 5: Lugares de muestreo y código de muestra asignados

No.	Lugar de muestreo	Código de Lugar de muestreo	Código de muestra	
1	Entrada de Agronomía	1A	1A- MA1	Pupusa
			1A- MA2	Encurtido
			1A- MA3	Salsa
2	Entrada de Medicina	1B	1B- MA1	Pupusa
			1B- MA2	Encurtido
			1B- MA3	Salsa
3	Entrada de la Minerva	1C	1C- MA1	Pupusa
			1C- MA2	Encurtido
			1C- MA3	Salsa
4	Entrada de la Minerva	2C	2C- MA1	Pupusa
			2C- MA2	Encurtido
			2C- MA3	Salsa
5	Entrada de la Minerva	3C	3C- MA1	Pupusa
			3C- MA2	Encurtido
			3C- MA3	Salsa
6	Entrada de facultad de Jurisprudencia y Ciencias Sociales	1D	1D- MA1	Pupusa
			1D- MA2	Encurtido
			1D- MA3	Salsa
7	Entrada de facultad de Jurisprudencia y Ciencias Sociales	2D	2D- MA1	Pupusa
			2D- MA2	Encurtido
			2D- MA3	Salsa
8	Entrada de facultad de Jurisprudencia y Ciencias Sociales	3D	3D- MA1	Pupusa
			3D- MA2	Encurtido
			3D- MA3	Salsa

Cuadro N° 6: Lugares de muestreo y código de muestra asignados

No.	Lugar de muestreo	Código de Lugar de muestreo	Código de muestra	
9	Entrada de facultad de Ciencias de la Educación	1E	1E- MA1	Pupusa
			1E- MA2	Encurtido
			1E- MA3	Salsa
10	Entrada de facultad de Ciencias de la Educación	2E	2E- MA1	Pupusa
			2E- MA2	Encurtido
			2E- MA3	Salsa
11	Entrada del Polideportivo	1F	1F- MA1	Pupusa
			1F- MA2	Encurtido
			1F- MA3	Salsa
12	Entrada del Polideportivo	2F	2F- MA1	Pupusa
			2F- MA2	Encurtido
			2F- MA3	Salsa
13	Establecimiento Fijo	1O	1O- MA1	Pupusa
			1O- MA2	Encurtido
			1O- MA3	Salsa

**ANEXO N° 8**

**Fotografías de los establecimientos donde se tomó la muestra**



Figura N° 6: Establecimiento entrada polideportivo



Figura N° 7: Establecimiento entrada de facultad de Jurisprudencia y Ciencias Sociales



Figura N° 8: Establecimiento entrada de facultad de Jurisprudencia y Ciencias Sociales.

**ANEXO N° 8**



Figura N° 9: Establecimiento entrada de la Minerva



Figura N° 10: Establecimiento entrada de la Minerva



Figura N° 11: Establecimiento entrada de Odontología



Figura N° 12: Establecimiento fuera de los alrededores de la Universidad

## ANEXO N° 9

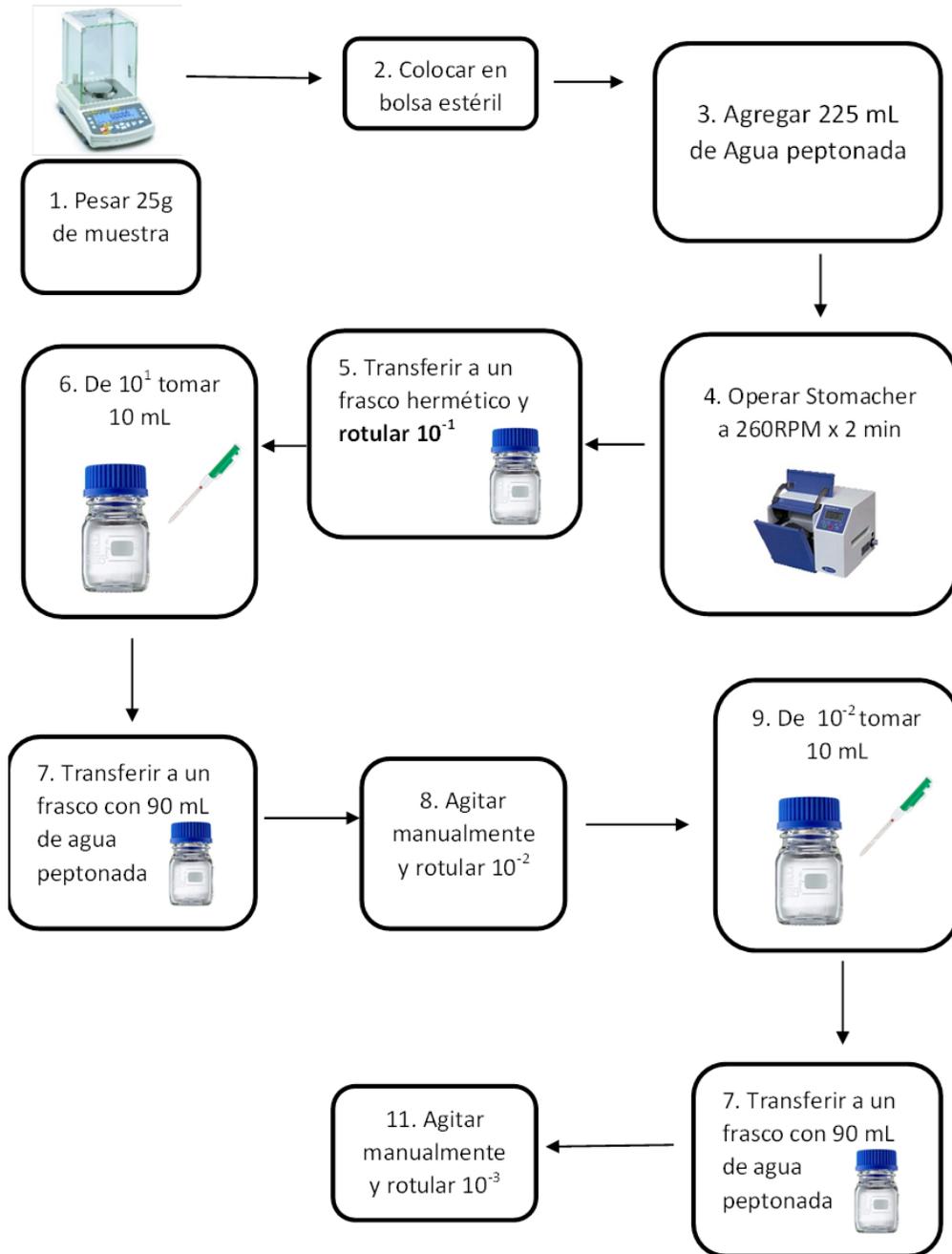


Figura N° 13: Diagrama para de diluciones de la preparación de la muestra.

## ANEXO Nº 10

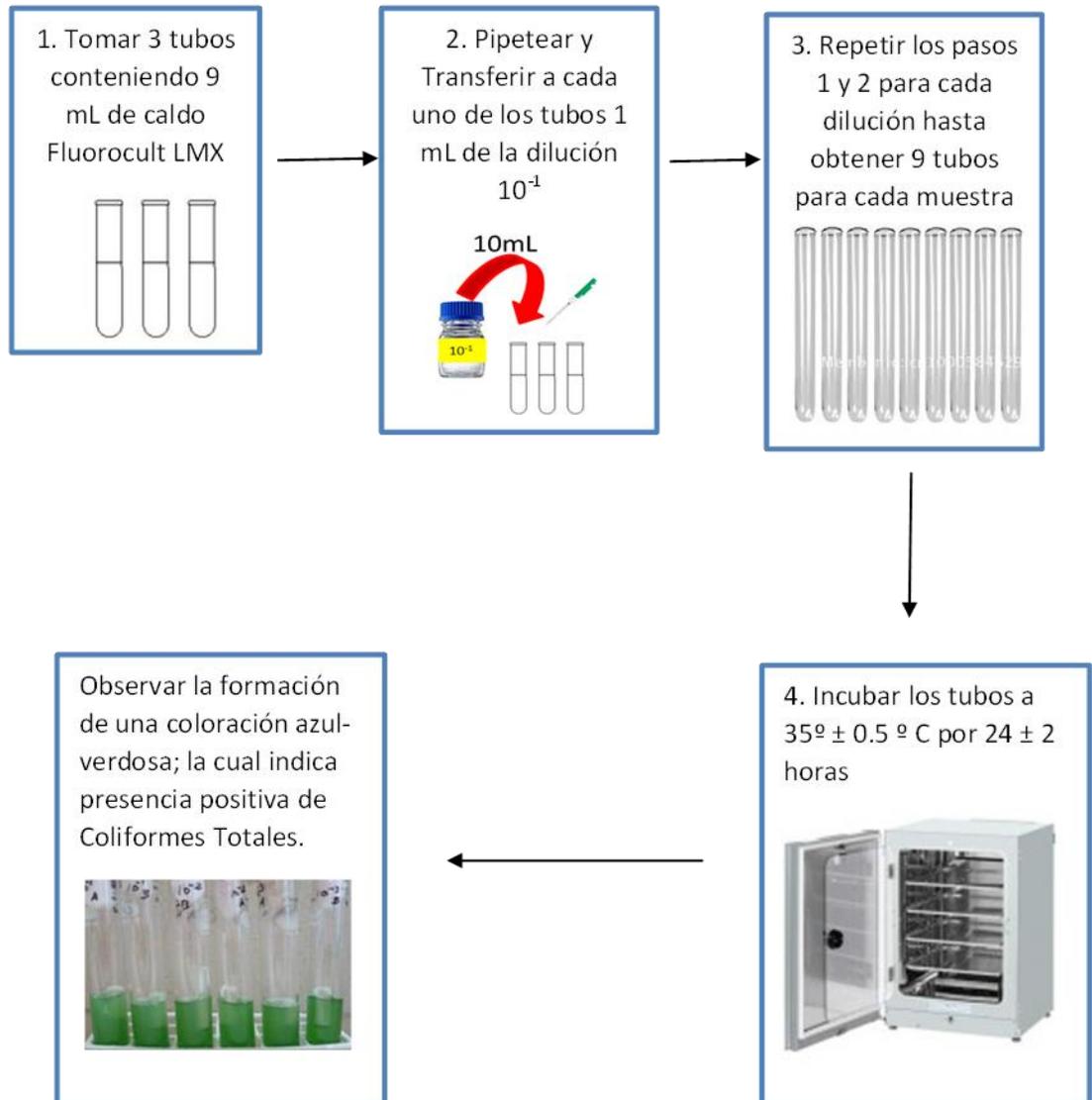


Figura Nº 14: Determinación para Coliformes Totales.

## ANEXO N° 11

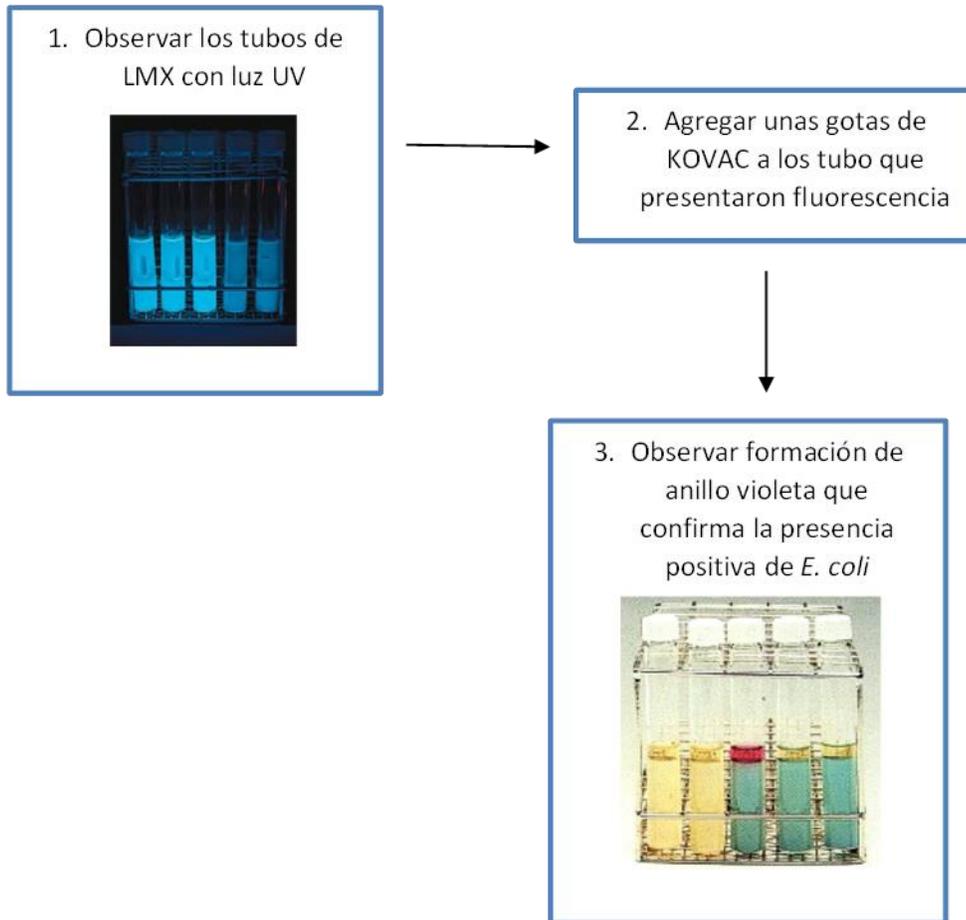


Figura N° 15: Determinación de *Escherichia coli*

**ANEXO Nº 12**

**Diagrama para el aislamiento y determinación de *Salmonella spp***

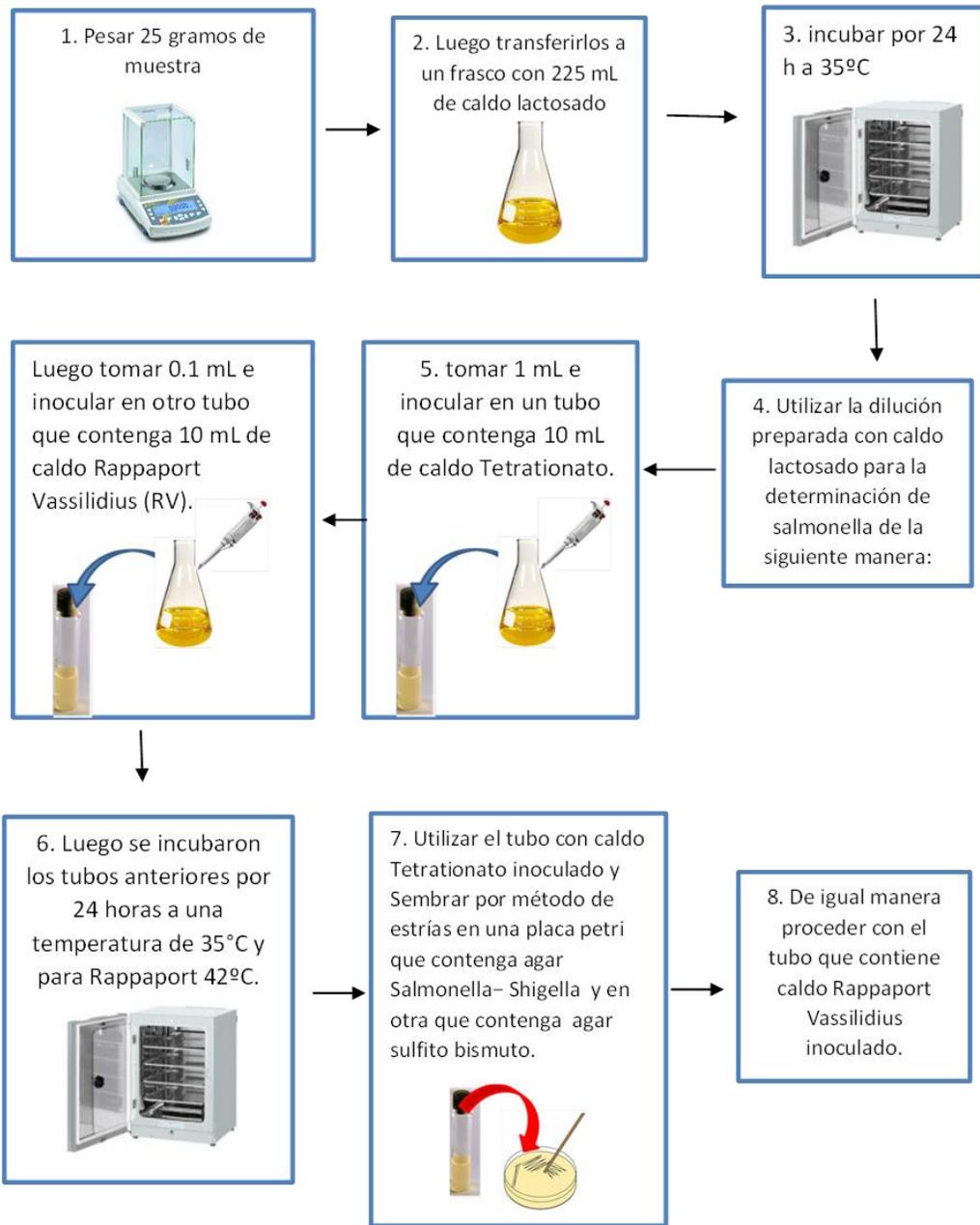


Figura Nº 16: Diagrama para el aislamiento y determinación de *Salmonella spp.*

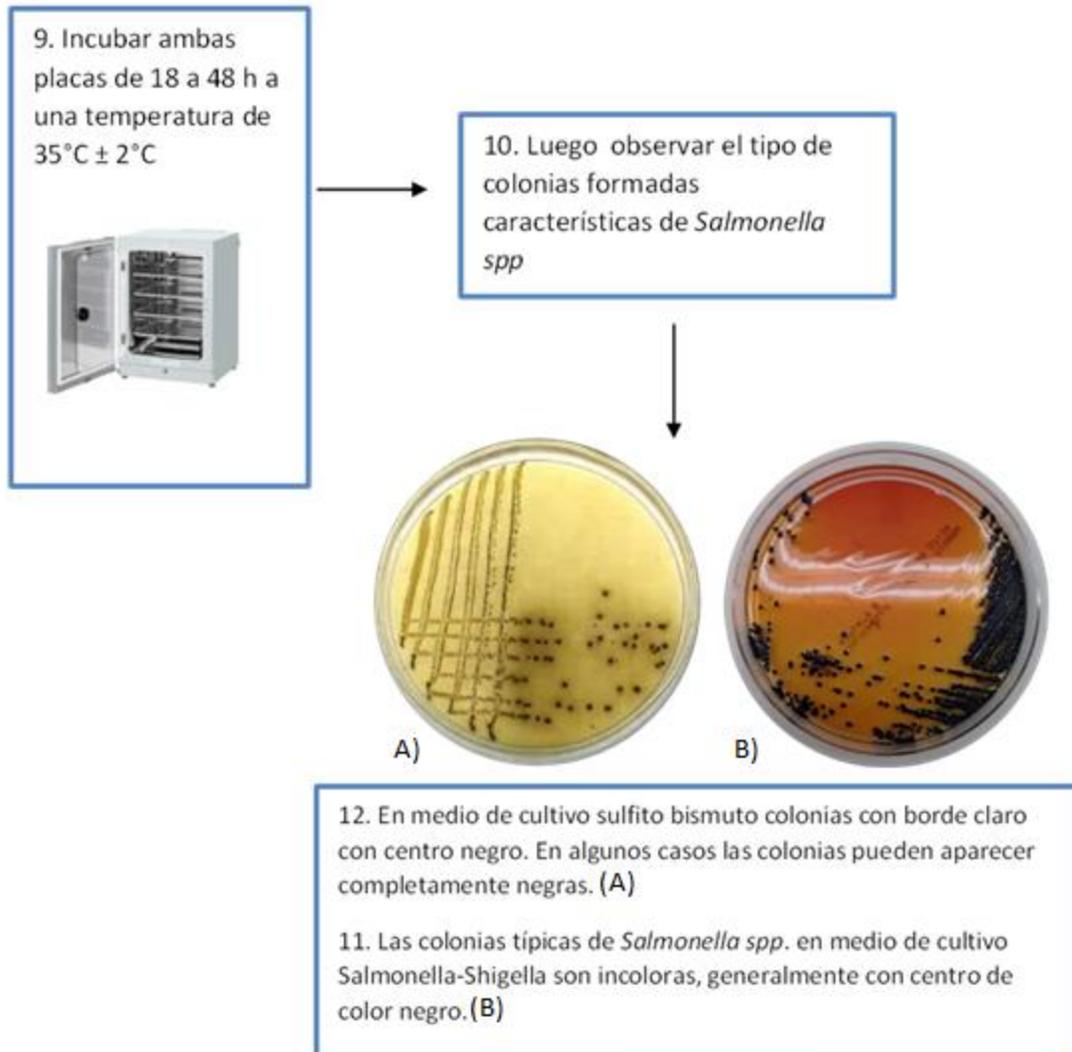
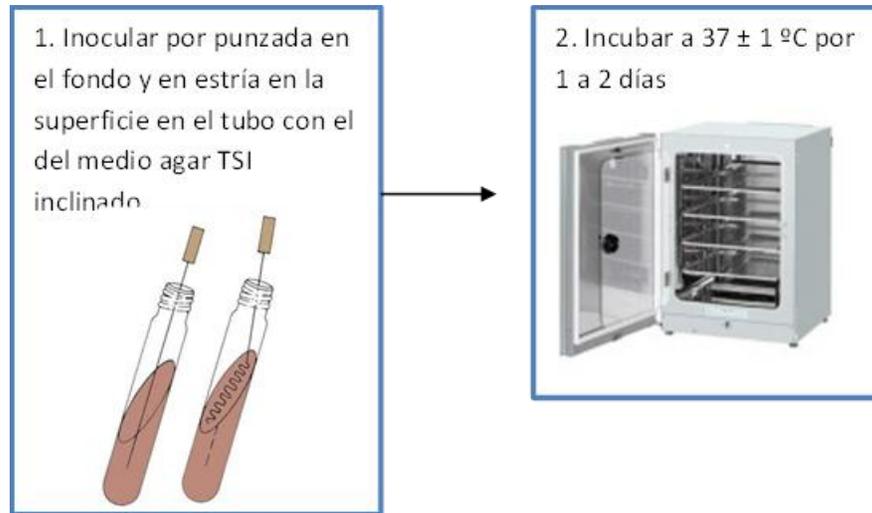


Figura N° 17: Continuación diagrama para el aislamiento y determinación de *Salmonella spp.*

**ANEXO Nº 13**

**Pruebas biológicas para identificación de *Salmonella* spp.**

## Agar TSI



## Reacción Indol

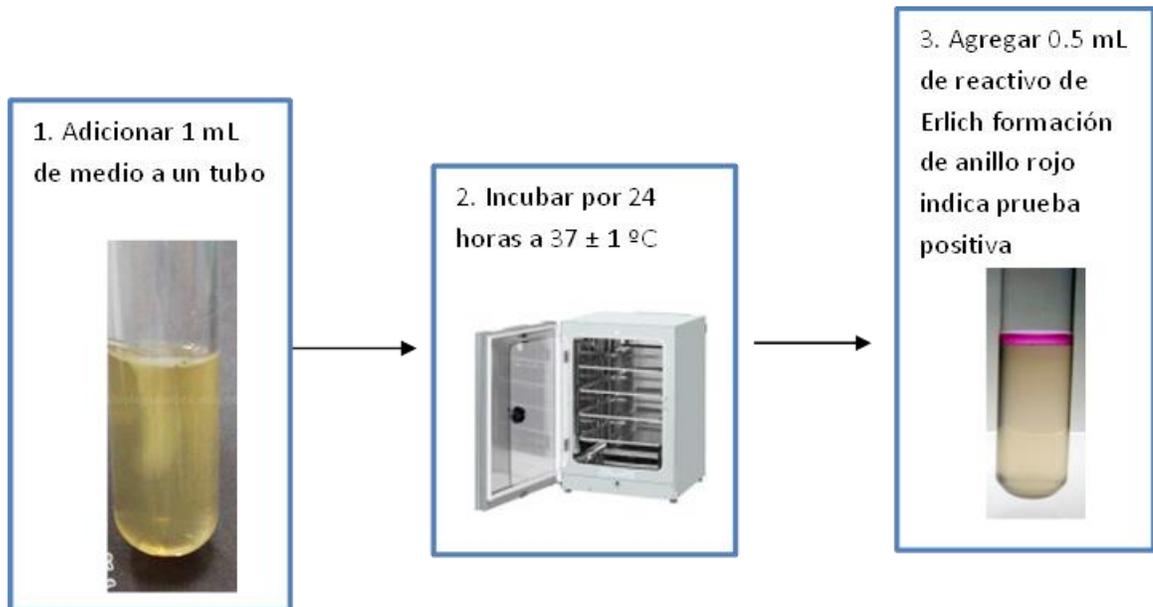


Figura N° 18: Pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella spp*

## Rojo de Metilo



## Prueba de Movilidad

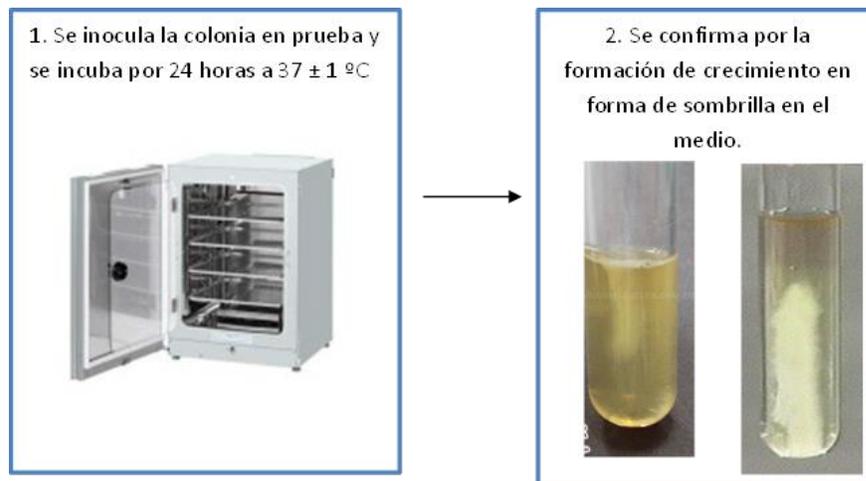


Figura N° 19: Continuación pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella spp*

## VOGES PROSKAUER

1. Se inocua la colonia en prueba y se incuba por 24 horas a  $37 \pm 1$  °C



2. Luego se agrega 3 gotas de solución alcohólica de alfa naftol y 2 gramos de solución de hidróxido de sodio

3. Color rosado luego de 15 minutos indica reacción positiva



Figura N° 20: Continuación pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella spp*

ANEXO N° 14

Cuadro N° 8: Cuadro de caracterización bioquímica de *Salmonella* spp.

Prueba o Sustrato	Resultados		Reacción de especies de <i>Salmonella</i> spp
	positivo	negativo	
Glucosa (TSI)	Fondo amarillo	negativo	+
Lisina descarboxilasa (LIA)	Fondo púrpura	Fondo amarillo	+
H <sub>2</sub> S (TSI y LIA)	Ennegrecimiento	No ennegrecimiento	+
Ureasa	Rosa maravilla	No cambia color	-
Prueba de Indol	Violeta en superficie	Amarillo en superficie	-
Voges Proskauer	Rosado – rojo	No cambia color	-
Rojo de Metilo	Rojo difuso	Amarillo difuso	+
Citrato de Simmons	Crecimiento, azul	No crecimiento, no cambia color	V

**ANEXO Nº 15**

**DETERMINACIÓN Y PRUEBA CONFIRMATIVA DE *Staphylococcus aureus*.**

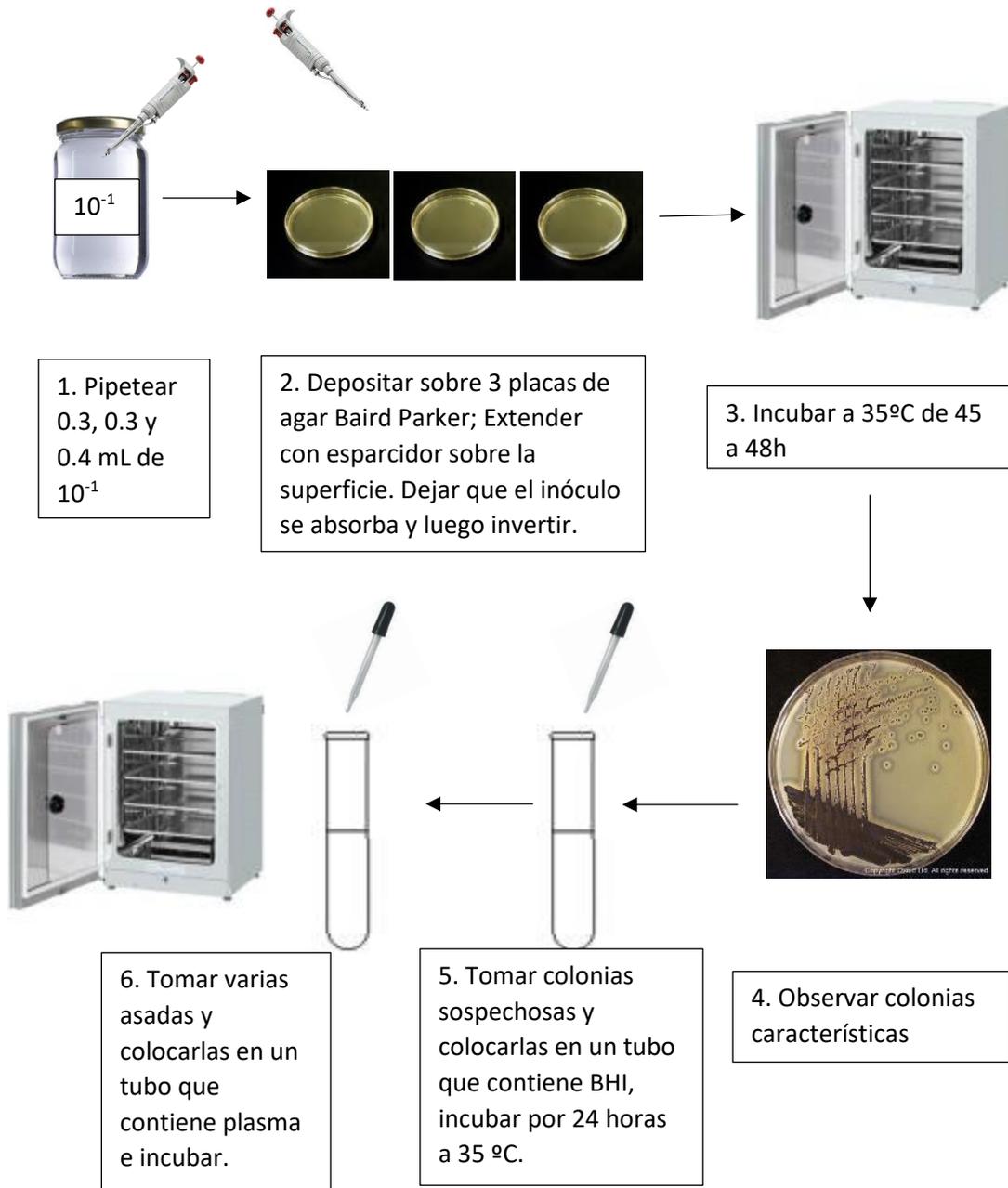


Figura N° 21: Determinación y prueba confirmativa de *Staphylococcus aureus*.

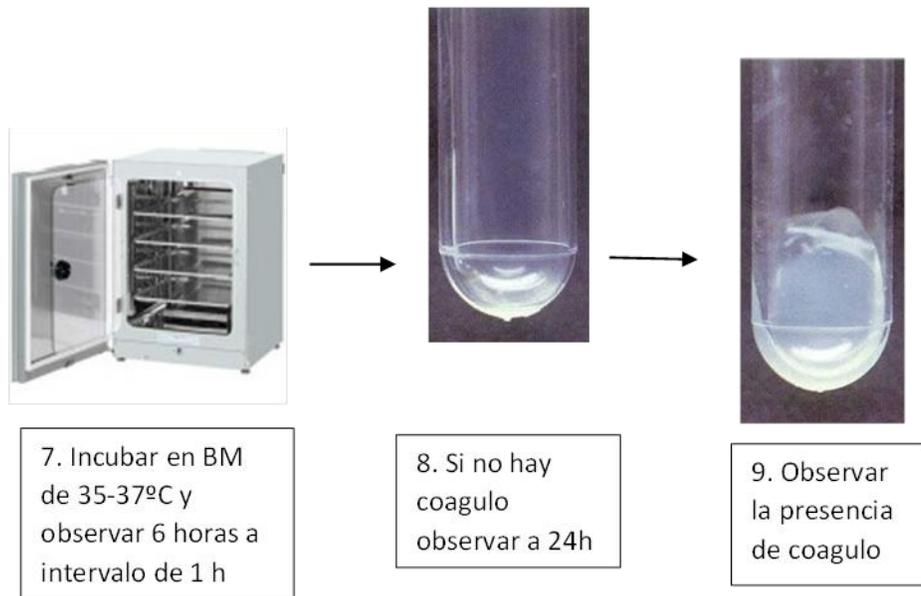


Figura N° 22: Continuación determinación y prueba confirmativa de *Staphylococcus aureus*

## ANEXO Nº 16

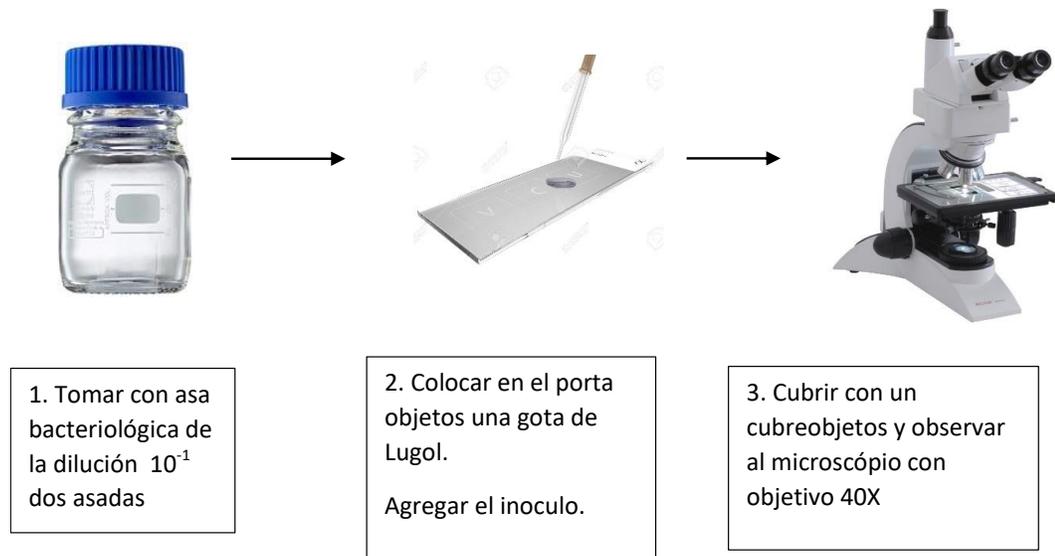


Figura Nº 23: Determinación de parásitos por método directo, tinción con Lugol.

## ANEXO Nº 17



Figura Nº 24: Presencia de fluorescencia con luz UV en la determinación de *Escherichia coli*.



Figura Nº 25: Presencia de anillo rojo-violeta.

## Anexo N° 18



Figura N° 26: Resultados positivos para determinación de *Salmonella* en agar Salmonella-Shigella y Tetracionato.

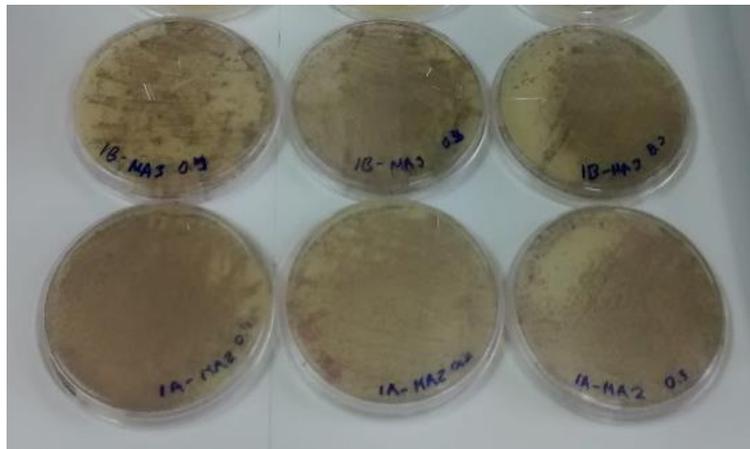


Figura N° 27: Crecimiento de colonias negras en Baird Parker

## ANEXO N° 19

Cuadro N° 7 Resultados de pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*

Código de Muestra	Tipo de Muestra	Pruebas Realizadas						Resultado
		TSI	Indol	V-P	RM	Citrato	Mv	
1A-MA2	Encurtido	+	-	+	+	+	-	Negativo
1B-MA3	Salsa	+	+	-	-	+	-	Negativo
1C-MA3	Salsa	+	+	-	+	+	-	Negativo
1D-MA1	Pupusa	+	-	-	-	+	-	Negativo
1D-MA2	Encurtido	+	-	+	+	-	-	Negativo
1D-MA3	Salsa	+	-	-	-	+	-	Negativo
3D-MA1	Pupusa	+	-	-	-	+	-	Negativo
3D-MA3	Salsa	+	-	-	-	+	-	Negativo
2E-MA1	Pupusa	+	+	+	+	+	-	Negativo
2E-MA3	Salsa	+	+	+	+	+	+	Negativo
2F-MA2	Encurtido	+	+	-	+	-	-	Negativo
2F-MA3	Salsa	+	+	+	+	+	-	Negativo

(+): Positivo, (-): Negativo, V-P: Voges Proskauer, RM: Rojo de Metilo, Mv: Movilidad

## ANEXO Nº 20

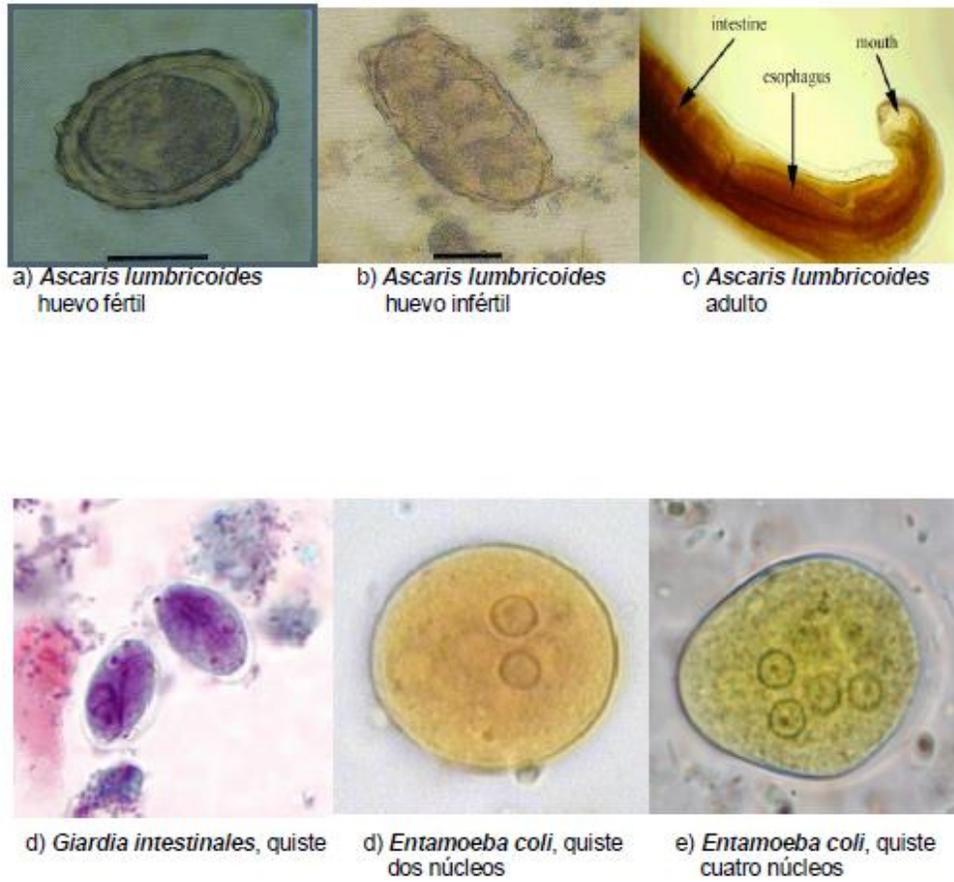


Figura Nº 28: Imágenes de la morfología de parásitos a), b) y c) *Ascaris lumbricoides*, d) *Giardia intestinalis* y d) y e) *Entamoeba coli*