

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



Determinación de la calidad microbiológica de pescado fresco comercializado en el área de mariscos del mercado de mayoreo La Tiendona, Ciudad de San Salvador.

POR

Br. César Antonio Rodríguez Ruano

Br. Junior Alberto Vásquez Guardado

Br. César Eduardo Inaeres Hernández

Requisito para optar al título de:

Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia

CIUDAD UNIVERSITARIA. MARZO 28 DE 2019

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

Msc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

LIC. CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

ING.AGR. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO

ING. AGR. MSc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

Msc. MVZ. ROSY FRANCIS ALVARENGA ARTIGA

DOCENTES DIRECTORES

Msc. MVZ. ROSY FRANCIS ALVARENGA ARTIGA

MSc. MARÍA EVELIN SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADORA GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACION

M.SP. MVZ. MARIA JOSE VARGAS ARTIGA

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias, por su apoyo, ayuda y acompañamiento durante todos estos años.

A nuestros amigos y compañeros de universidad, con los que compartimos clases, conocimientos y experiencias.

A nuestros docentes de la facultad por sus enseñanzas, dedicación y conocimientos compartidos durante nuestra carrera.

Al personal de CENSALUD, Zoily, Msc Evelyn y Lic. Amy por su ayuda durante la fase de laboratorio, por su paciencia y ayuda durante todo el proceso.

A Cesar Arquimides y el Lic. Mario Catota de la empresa Agrobiotek, por ayudarnos con sus conocimientos para la determinación de los resultados y facilitar la realización de nuestra investigación.

Al MVZ Luis Meléndez, por su ayuda y acompañamiento durante toda nuestra investigación, sirviéndonos como asesor, por su tiempo y sus conocimientos.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó para conocer la calidad microbiológica del pescado fresco comercializado en los establecimientos de ventas del mercado de mayoreo la Tiendona, para ello se identificaron los microorganismos (*Staphylococcus áureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*) utilizando 25 gramos de muestra de carne de pescado fresco.

Durante una inspección inicial, se observó la población total del estudio, la cual comprendía 11 puestos de ventas fijas de pescado fresco. La investigación se llevó a cabo mediante un muestreo aleatorio simple seleccionándose 10 puestos como población en estudio según formula estadística.

Se realizaron cinco muestreos, y en cada uno se tomaron cinco muestras (de 228, grs cada una) de dos puestos elegidos al azar, cada muestreo se hizo con dos semanas de diferencia. Todas las muestras fueron recolectadas en condiciones de asepsia manteniéndose separadas y debidamente rotuladas y trasladadas al laboratorio para sus análisis en un lapso menor a 2 horas.

La determinación y cuantificación se compararon con los límites máximos permitidos por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Alimentos criterios microbiológicos para la inocuidad de alimento. Sub grupo 9.1 Pescados y productos pesqueros frescos. Todos los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

El 33% de las muestras analizadas superan el límite máximo permitido para *Escherichia coli*, mientras que el 67% de las muestras cumplen con especificaciones del reglamento, en cuanto *Salmonella spp*. El 100% de las muestras no cumplen con especificaciones del reglamento. Para *Staphylococcus áureus*. el 2% de las muestras no cumplen y el 98% de las muestras cumplen con especificaciones del reglamento.

ÍNDICE GENERAL

	PAG.
INDICE DE CUADROS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	x
INDICE DE ANEXOS.....	xi
1. INTRODUCCION.....	01
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	03
2.1 Generalidades del pescado.....	03
2.2 Características de la carne de pescado.....	05
2.3 Consumo y comercialización.....	05
2.4 Situación epidemiológica sobre las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) en El Salvador.....	08
2.5 Reglamentación técnica.....	11
2.6 Evaluación microbiológica del pescado fresco.....	13
2.7 Agentes patógenos en estudio.....	14
2.7.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.7.2 <i>Escherichia coli</i>	15
2.7.3 <i>Salmonella spp</i>	16
3. MATERIALES Y METODOS.....	18
3.1 Descripción del estudio.....	18
3.2 Metodología de campo.....	18
3.3 Metodología de laboratorio.....	19
3.3.1 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.3.2 Determinación de <i>Escherichia coli</i>	21

3.3.3 Determinación de <i>Salmonella spp.</i>	22
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	26
4.1 Determinación de <i>Salmonella spp.</i>	26
4.2 Determinación de <i>Escherichia coli.</i>	32
4.3 Determinación de <i>Staphylococcus aureus.</i>	34
5. CONCLUSIONES.....	36
6. RECOMENDACIONES.....	37
7. BIBLIOGRAFIA.....	38
8. ANEXOS.....	41

INDICE DE CUADROS

	PAG.
1. Consumo per cápita de carne de pescado de 2000 al 2010.....	06
2. Informe epidemiológico según diagnóstico en el período de 2002 a 2007.....	09
3. Casos de diarrea según grupos de edad período 2005 a 2006.....	10
4. Eventos de notificación en el presente año hasta abril 17.....	10
5. Egresos, fallecidos y letalidad por diarrea hasta 17 de abril del 2018.....	10
6. Criterios microbiológicos de inocuidad para pescado y productos marinos frescos.....	13
7. Reacciones de pruebas bioquímicas de <i>Salmonella spp.</i>	24
8. Datos obtenidos en determinación de <i>Salmonella spp.</i>	26
9. Datos obtenidos en identificación bioquímica de <i>Salmonella spp.</i>	28
10. Comparación de resultados obtenidos con límites máximos.....	29
11. Datos obtenidos <i>Escherichia coli</i> UFC/g comparado con límites máximos permitidos por (RTCA 67.04.50:08).....	32
12. Datos obtenidos <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g. Comparado con límites máximos permitidos por RTCA 67.04.50:08.....	34

INDICE DE FIGURAS

	PAG.
1. Proporción de hogares con consumo de pollo, res, embutidos y pescado, por regiones.....	07
2. Proporción de hogares con consumo de pollo, res, embutido y pescado, según nivel de pobreza.....	07
3. Procedimiento para inoculación de placa compact Dry Sxc.....	21
4. Procedimiento para inoculación placa Compact Dry Ec.....	22
5. Procedimiento para determinación de <i>Salmonella spp</i>	25
6. Colonias características de <i>Salmonella</i> en siembra agar Bismuto Sulfito.....	27
7. Colonias características de <i>Salmonella</i> en siembra agar <i>Salmonella-Shigella</i>	27
8. Pruebas bioquímicas realizadas a muestras sospechosas a <i>Salmonella</i>	30

INDICE DE ANEXOS

	PAG.
Anexo 1 Mapa de ubicación del mercado municipal La Tiendona.....	41
Anexo 2 criterios microbiológicos para el registro sanitario de alimentos.....	42
Anexo 3 preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas para la investigación.....	43
Anexo 4 preparación de diluciones en caldos de pre-enriquecimiento (caldo Lactosado y agua peptona buferada) e inoculación en placas Compact Dry.....	44
Anexo 5 aislamiento en agar <i>Salmonella Shigella</i> y bismuto sulfito.....	45
Anexo 6 identificación bioquímica a colonias sospechosas de <i>Salmonella spp.</i> En las siembras en agar <i>Salmonella Shigella</i> y bismuto sulfito.....	46
Anexo 7 conteo de UFC/g de <i>Staphylococcus áureo</i> y <i>Escherichia coli</i> . En placas incubadas Compact Dry.....	47

1. INTRODUCCION

La pesca y la acuicultura siguen siendo importantes fuentes de alimentos, nutrición, ingresos y medios de vida para cientos de millones de personas en todo el mundo. La oferta mundial per cápita alcanza un nuevo máximo histórico de 20 kg (FAO 2016).

El pescado es un alimento ideal para el consumo humano, posee un alto valor nutricional, gran cantidad de proteínas, vitaminas hidrosolubles y liposolubles, algunos minerales y un contenido de calorías muy bajo. (Herrera y Santos, 2005)

La vulnerabilidad en el pescado se presenta en tres fases, una inicial adquirida por el producto al ingresar en el establecimiento o por contaminación añadida, generada por malas prácticas de manufactura y sanitización, y una fase final adquirida por la falta de conciencia por parte del manipulador del producto, resaltando que en todas y cada una existen parámetros importantes a cumplir para evitar por completo la vulnerabilidad. (Morato 2010)

El pescado puede ser contaminado con *Staphylococcus aureus*. Con mayor frecuencia la contaminación procede de un individuo con una infección en las manos, con un resfriado o con afección de garganta. *Staphylococcus aureus* al multiplicarse en los alimentos produce diversas enterotoxinas. En general, estas toxinas son muy resistentes a las enzimas proteolíticas y al calor. (Arispe, Tapia 2007)

Las *Enterobacteriaceae* (*Salmonella spp*, *Shigella*, *Escherichia coli*) están presentes en los productos pesqueros como resultado de la contaminación a partir del reservorio animal/humano. Esta contaminación normalmente se ha relacionado con la contaminación fecal o la contaminación de las aguas naturales o de los medios acuáticos, donde estos microorganismos pueden sobrevivir durante mucho tiempo (meses), o a través de la contaminación directa de los productos durante su elaboración. La contaminación del pescado con *Salmonella spp* debido a su proliferación en aguas costeras contaminadas ha sido un problema en muchas partes del mundo. (Arispe, Tapia 2007)

En el mercado de mayoreo la Tiendona no se llevan a cabo controles microbiológicos de los productos comercializados en el área de mariscos (Ministerio de Salud Pública) por lo tanto se desconoce la inocuidad de los productos de dicho sector, poniendo en riesgo la salud de los consumidores. El RTCA 67.04.50:08 que fue nombrado como reglamento técnico por el consejo de ministros de integración económica centroamericana (COMIECO), que tiene

como objeto establecer los parámetros microbiológicos de la inocuidad de los alimentos y sus límites de aceptación para el registro de la vigilancia en los puntos de comercialización, establece en el sub grupo 9.1 pescados y productos pesqueros frescos, congelados incluidos moluscos, crustáceos, equinodermos, empacado.

El RTCA establece los parámetros microbiológicos de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en pescado fresco. A fin de proteger a los consumidores procurando que los alimentos que ellos consuman no estén contaminados con microorganismos que puedan causarles daño. Y garantizar alimentos inocuos a nivel regional para fomentar el comercio y la productividad de la región.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Generalidades del pescado.

Un pez es cualquiera de los vertebrados e invertebrados acuáticos de sangre fría (ectotermos). No incluye a los anfibios ni reptiles acuáticos. (Huss 1999).

Según el Código alimentario para productos pesqueros, el pescado fresco es el pescado o productos pesqueros que no han recibido ningún tratamiento de conservación fuera del enfriamiento. (FAO, OMS 2009).

Clasificación.

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

Cinco clases de vertebrados poseen especies que pueden ser llamadas peces, pero sólo dos de estos grupos - los peces cartilagosos (los tiburones y las rayas) y los peces óseos - son generalmente importantes y están ampliamente distribuidos en el ambiente acuático.

La clasificación de los peces en cartilagosos y óseos (los peces no mandibulados son de menor importancia) resulta importante desde el punto de vista práctico y también por el hecho de que estos grupos de peces se deterioran en formas diferentes y varían respecto a su composición química. (Huss, 1999).

Biología de los peces.

Piel: consiste en células epidérmicas, escamas en la mayoría de las especies cubierta por una capa de moco. Las escamas están incrustadas en la dermis y cubiertas por una capa de epidermis. El moco es una parte importante protectora de la piel.

Branquias: principal superficie de intercambio gaseoso de los peces, son delicadas y protegidas por el opérculo.

Órganos internos: parecidos a los de los mamíferos en estructura y función, pero más sencillos. La vejiga natatoria está presente en algunos peces; los riñones se encuentran a lo largo de la columna vertebral. No poseen diafragma. (Maclean, 2012).

Sistema cardiovascular: El corazón del pez está diseñado para una circulación simple. En los peces óseos el corazón consiste en dos cámaras consecutivas que bombean sangre venosa hacia las branquias, vía la aorta ventral.

1. El corazón bombea sangre hacia las branquias.
2. La sangre es aireada en las branquias.
3. La sangre arterial es dispersada dentro de los capilares, donde tiene lugar la transferencia de oxígeno y nutrientes al tejido circundante.
4. Los nutrientes del alimento ingerido son absorbidos del intestino y transportados al hígado y posteriormente dispersados en la sangre a lo largo de todo el cuerpo.
5. En los riñones la sangre es "purificada" y los productos de desecho son excretados por vía urinaria. (Huss, 1999).

Anatomía y fisiología

El esqueleto

Posee columna vertebral y cráneo cubriendo la masa cerebral. La columna vertebral se extiende desde la cabeza hasta la aleta caudal y está compuesta por vertebras. Estas se prolongan dorsalmente para formar las espinas neurales y en la región del tronco tienen apófisis laterales que dan origen a las costillas. Estas costillas son estructuras cartilaginosas u óseas en el tejido conectivo, y ubicadas entre los segmentos musculares. (Huss, 1999).

Anatomía del musculo y su función

Carece del sistema tendinoso (tejido conectivo) que conecta los paquetes vasculares al esqueleto del animal, posee células musculares que corren en paralelo, separadas perpendicularmente por tabiques de tejido conectivo (miocomata), ancladas al esqueleto y la piel.

Todas las células musculares extienden su longitud total entre dos miocomatas, y corren paralelamente en el sentido longitudinal del pez. La masa muscular a cada lado del pez forma el filete. La parte superior del filete se denomina músculo dorsal y la parte inferior músculo ventral.

El tejido muscular del pez, está compuesto por músculo estriado. La unidad funcional, es decir, la célula muscular, consta de sarcoplasma que contiene el núcleo, granos de glucógeno, mitocondria, etc. Y un número (hasta 1000) de miofibrillas. La célula está envuelta por una cubierta de tejido conectivo denominada sarcolema. Las miofibrillas contienen proteínas contráctiles, actina y miosina. (Huss, 1999).

2.2 Características de la carne de pescado.

En general, la carne de pescado contiene 20-25% de proteínas de alto valor biológico, vitaminas (tiamina, vitamina B12, riboflavina, ácido pantoténico, ácido fólico, niacina y piridoxina) y minerales (yodo, sodio, potasio, fósforo, calcio, magnesio, hierro, flúor, manganeso, cloro, azufre, etc.). El contenido graso varía entre 4-8% y está constituido por triglicéridos y fosfolípidos. Es pobre en hidratos de carbono.

El pH del pescado inmediatamente después de su captura es neutro, luego desciende a 6.2-6.5 para luego subir a 6.6-6.7. Este parámetro contribuye a la inestabilidad del pescado luego de su muerte porque estos valores de pH favorecen el desarrollo microbiano. (Audisio, 2007).

Composición química: La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies. El agua: se encuentra entre 55-80%. Proteínas: presente entre 18-20%. Hidratos de carbono: son muy inferiores a 0.8g. Es precisamente el contenido en grasas el principal responsable del valor energético de estos alimentos. Con respecto al tipo de grasa que presentan es destacable su proporción en ácidos grasos poliinsaturados, en cantidades comprendidas entre un 25-45%. Hierro: En mayor cantidad en los pescados de mar que en los de agua dulce. Sodio: contiene entre 20mg-140mg/100g. Potasio: contiene 200mg – 400mg/100g. Vitaminas hidrosolubles del complejo B, siendo las más abundantes las tiamina (B1), riboflavina (B2) y nicotinamida (B3). Las vitaminas liposolubles A y D abundan en el hígado de los pescados – hígado de bacalao – mientras que la vitamina E se encuentra en proporciones significativas en diversos pescados. (Moreno et al, 2005).

2.3 Consumo y comercialización

El pescado es valioso en la alimentación debido a que suministra una buena cantidad de proteína de alto valor biológico, sobre todo aminoácidos que contienen azufre. Dondequiera

que haya disponibilidad de agua, los peces ofrecen una forma sencilla para aumentar el consumo de proteína. (Latham 2002)

El consumo de carne de pescado en El Salvador, ha tenido un considerable aumento en los últimos años. En el período del 2000 al 2010, el consumo per cápita (kg/persona/año) de pescado tuvo un aumento de más de 4 kg, (cuadro 1) dando como resultado un promedio per cápita de consumo de 6.6 kg en ese periodo de tiempo. (FAO, 2014) Se estima que el consumo de carne de pescado en los hogares Salvadoreños es aproximadamente del 42% (figura 1), y no se conoce relación entre el sector que habiten ya sea rural o urbano ni el nivel adquisitivo (figura 2). Por lo tanto se considera que en El Salvador es una proteína de origen animal que está a disposición de la mayoría de hogares Salvadoreños. (Menchu, Mendez 2011)

Cuadro 1 Consumo per cápita de carne de pescado de 2000 al 2010

Fuente: Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá

Año	Consumo per cápita (kg/persona/año)
2000	2.26
2001	2.73
2002	5.53
2003	4.90
2004	5.43
2005	7.88
2006	7.32
2007	9.28
2008	7.00
2009	11.83
2010	8.43
Promedio	6.60

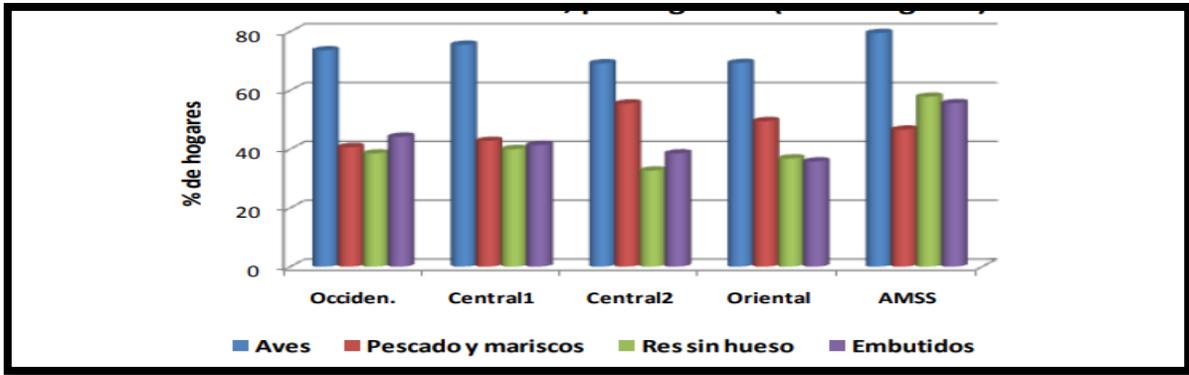


Figura 1 Proporción de hogares con consumo de pollo, res, embutidos y pescado, por regiones. Fuente: Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá.

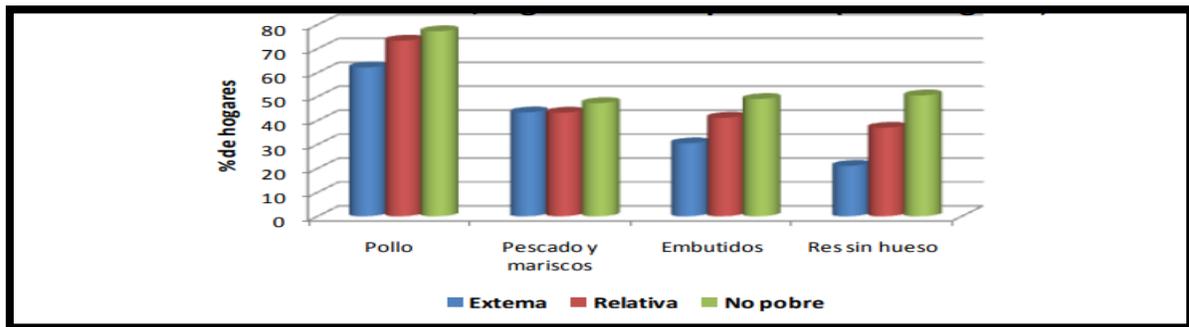


Figura 2 Proporción de hogares con consumo de pollo, res, embutido y pescado, según nivel de pobreza. Fuente: Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá.

El comercio desempeña un papel importante en el sector pesquero y acuícola al crear empleo, proveer alimentos, generar ingresos y contribuir al crecimiento y el desarrollo económicos, así como a la seguridad alimentaria y nutricional. El pescado y los productos pesqueros representan uno de los segmentos más comercializados del sector de la alimentación mundial; se estima que alrededor del 78 % de los productos marinos está expuesto a la competencia del comercio internacional. Para muchos países y regiones costeras, ribereñas, insulares y continentales, las exportaciones de pescado y productos pesqueros son esenciales para su economía. (FAO 2016).

En El Salvador, el Mercado Mayorista La Tiendona, es el mayor centro de distribución de alimentos en el país, y el principal abastecedor del área metropolitana de El Salvador, cuenta con más de 6 mil vendedores de diferentes productos.

2.4 Situación epidemiológica sobre las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) en El Salvador.

A nivel mundial las infecciones diarreicas, son las más comúnmente asociadas al consumo de alimentos contaminados, hacen enfermar cada año a unos 550 millones de personas y provocan 230 000 muertes. (OMS 2015)

Las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años, y ocasionan la muerte de 525 000 niños cada año. Los niños malnutridos o inmunodeprimidos son los que presentan mayor riesgo de enfermedades diarreicas potencialmente mortales. La diarrea suele ser un síntoma de una infección del tracto digestivo, que puede estar ocasionada por diversos organismos bacterianos, víricos y parásitos. La infección se transmite por alimentos o agua de consumo contaminados, o bien de una persona a otra como resultado de una higiene deficiente. (OMS 2017)

Las enfermedades diarreicas son una causa principal de mortalidad y morbilidad en la niñez en el mundo, y por lo general son consecuencia de la exposición a alimentos o agua contaminados. En todo el mundo, 780 millones de personas carecen de acceso al agua potable, y 2500 millones a sistemas de saneamiento apropiados. La diarrea causada por infecciones es frecuente en países en desarrollo. En países de ingresos bajos, los niños menores de tres años sufren, de promedio, tres episodios de diarrea al año. Cada episodio priva al niño de nutrientes necesarios para su crecimiento. En consecuencia, la diarrea es una importante causa de malnutrición, y los niños malnutridos son más propensos a enfermar por enfermedades diarreicas. (OMS 2017)

En El Salvador no existe un diagnóstico real sobre el agente etiológico productor de las enfermedades gastrointestinales como las diarreas que, en grado importante, pueden ser provocadas por el consumo de alimentos contaminados. La OMS estima que América Latina y el Caribe el 70% de las diarreas son de origen alimentario. (Calderón 2009)

Un brote de ETA es definida como un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento, y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad. Los brotes pueden involucrar números diferenciados de casos (un individuo afectado es lo que se entiende como "caso"). Un único caso de botulismo, envenenamiento químico o de una enfermedad que no se encuentre en el país, puede ser suficiente para desencadenar acciones relativas a un brote epidémico, debido a la gravedad de la enfermedad provocada por esos agentes.

Además, es importante observar que pueden ocurrir casos aislados de enfermedades de origen alimentario. Los brotes y casos de ETA registrados representan apenas la "punta del iceberg". La probabilidad de que un brote o caso se reconozca y notifique por las autoridades de salud depende, entre otros factores, de la comunicación de los consumidores, del relato de los médicos y de las actividades de vigilancia sanitaria de las secretarías municipales, departamentales y provinciales de salud. Los alimentos involucrados con más frecuencia en las epidemias y casos de ETA son aquellos de origen animal. En el 48% de las epidemias ocurridas entre 1973 y 1987 en los EUA, donde se identificó el vehículo, los productos involucrados eran carne bovina, huevos, carne porcina, carne de aves, pescados, crustáceos, moluscos, o productos lácteos. (MINSAL 2018)

En El Salvador se desconoce la incidencia exacta de las enfermedades ocasionadas por la ingestión de alimentos, debido en parte a limitaciones del servicio de información epidemiológica y a dificultades por parte de los laboratorios para identificar el o los agentes causales. (Calderón 2009)

En el período de 2002 a 2006, según datos del Informe Epidemiológico del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, podemos observar que los casos de diarreas y gastroenteritis no varían mucho (entre 365209 a 384354) (cuadro 2), los números de casos se mantienen en ese período de tiempo, y podemos ver que un poco más del 40% de los casos, no fue diagnosticado su agente causal, esto genera una deficiencia en el Ministerio de Salud dificultando las decisiones en salud pública. (Calderon 2009)

Cuadro 2 Informe Epidemiológico según diagnóstico en el periodo de 2002 a 2007

Diagnóstico/número de casos	2002	2003	2004	2005	2006	Enero/junio 2007
Amibiasis	135 247	128 380	129 062	130 678	128 618	
Giardiasis	44 156	41 181	42 487	41 705	39 881	
Uncinariasis	6 718	5 008	4 699	s.d.	s.d.	
Infección cestodos	3 840	2 346	2 162	s.d.	s.d.	
Enfermedades intestinales infecciosas y parasitarias						
Helmintiasis	s.d.	s.d.	s.d.	11 193	15 569	
Cólera	0	0	0	0	0	
Shigelosis	463	248	147	s.d.	s.d.	
Fiebre tifoidea y paratifoidea	1 296	1 385	1 509	764	664	
Salmonelosis	1 171	1 021	1 055	s.d.	s.d.	
Infección de <i>Escherichia coli</i>	552	286	840	s.d.	s.d.	
Diarrea, enteritis y gastroenteritis	365 209	348 941	379 883	379 529	384 354	59 096 (cifra preliminar)

s. d: sin datos
Fuente: Informe de labores 2002-2007. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Entre el 2005 y 2006, el mayor número de casos de diarreas y gastroenteritis se dio en niños menores de 5 años (cuadro3) esto coincide con informes de la OMS que indican que la mayor incidencia de casos de diarreas y gastroenteritis se presentan en niños menores de 5 años. (Calderón 2009).

Cuadro 3 Casos de diarreas según grupos de edad período 2005 - 2006

Diarrea, enteritis, gastroenteritis (número de casos)									
Edad	< 1 año	1 – 4	5 – 9	10 – 19	20- 29	30 – 39	40 - 49	50 – 59	> 60
2005	74 757	132 620	32 432	20 315	37 297	30 817	19 875	13 361	18 055
2006	66 997	131 980	35 055	24 387	39 731	32 438	20 730	13 705	19 331

Fuente: Informe de labores. Informe Epidemiológico, 2005-2006. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Cuadro 4 Eventos de notificación en el presente año hasta 17 de abril del 2018.

No	Evento	Semana	Acumulado		Diferencia absoluta	Diferencial para 2018 (%)
		epidemiológica 15	2017	2018		
1	Infección respiratoria aguda	30,657	566,256	530,461	35,795	(-6)
2	Casos con sospecha de dengue	70	1,083	1,085	2	(0)
3	Casos con sospecha de chikungunya	8	190	78	112	(-59)
4	Casos con sospecha de Zika	5	150	88	62	(-41)
5	Paludismo Confirmado *	0	1	1	0	(0)
6	Diarrea y gastroenteritis	5,471	120,828	83,140	37,688	(-31)
7	Parasitismo intestinal	3,275	52,704	43,101	9,603	(-18)
8	Conjuntivitis bacteriana aguda	1,325	17,007	15,675	1,332	(-8)
9	Neumonías	434	9,152	7,622	1,530	(-17)
10	Mordido por animal trans. de rabia	329	6,061	6,182	121	(2)

* Casos importados

Cuadro 5 Egresos, fallecidos y letalidad por diarrea hasta 17 de abril del 2018.

Egresos, fallecidos y letalidad por diarrea hasta la semana 15			
Año	Egresos	Fallecidos	Letalidad (%)
2018	2,692	14	0.52
2017	6,280	13	0.21

En El Salvador la principal causa de diarreas son de etiología bacteriana como enterobacterias que circulan en los principales afluentes del país, (Hidalgo 2006) Durante el año 2018 al 17 de abril, se habían reportado 83140 casos de diarrea y gastroenteritis por diferentes agentes causales. (Cuadro 4). Y durante el mismo periodo, se habían reportado 14 fallecidos por enfermedades diarreicas. (Cuadro 5)**Brotos epidémico de relevancia en El Salvador.**

2001

- 55 personas fueron afectadas por consumir alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, en una cafetería de una escuela en el departamento de la Paz. (Calderón 2009).
- En el centro de rehabilitación de menores del departamento de Santa Ana, 45 jóvenes resultaron intoxicados por ingerir alimentos contaminados. En un hotel de playa en San Luis la Herradura, mas de 40 asistentes de un curso sufrieron intoxicación por ingesta de cocteles de camarón. Los principales agentes causales fueron *E. coli* y *S. aureus*. (Calderón 2009).

2011

- El 19 de marzo, 48 personas que se encontraban en el Centro Escolar Gregorio Fuentes, del Cantón San Gregorio, Sensuntepeque, Cabañas. Fueron ingresadas al hospital por diarrea profusa y malestares estomacales, sufrieron intoxicación por ingestión de alimentos contaminados con *E. coli*. (El salvador noticias.net 211).

2018

- Desde enero al 10 de junio del presente año, el departamento de Vigilancia Epidemiológica del ISSS ha reportado 663 casos confirmados de Fiebre Tifoidea, mientras que el sistema de vigilancia del MINSAL ha reportado 346 casos confirmados.

2.5 Reglamentación técnica.

El comercio internacional es cada vez más globalizado y competitivo, para que los productos y servicios de El Salvador puedan acceder a mercados regionales e internacionales es

necesario cumplir ciertas reglas; algunas de carácter arancelario y otras de carácter no arancelario, tales como las características, requisitos o especificaciones técnicas de observancia obligatoria. Estos últimos son denominados Reglamentos técnicos.

Una de las formas más reales de implementación de los Acuerdos comerciales, es la inclusión de las Buenas Prácticas de Reglamentación, en todos los procesos de mejora regulatoria, a través de la utilización de normas internacionales, o sus elementos pertinentes, como base de los Reglamentos Técnicos nacionales, en la medida en la que sea posible.

Las buenas prácticas de Reglamentación pueden contribuir a mejorar y hacer más eficaz la aplicación de obligaciones sustantivas. Se considera que la utilización de prácticas óptimas que permitan una aplicación efectiva es un importante medio de evitar y minimizar los obstáculos técnicos al comercio.

En el 2002 el Consejo de Ministros de Integración Económica firmo el Tratado General de Integración Económica Centroamericana, con el compromiso de construir una Unión Aduanera a fin de estandarizar procesos por medio de la elaboración de reglamentos, que describan la forma correcta de procesos que sean aplicados en toda la región para agilizar el comercio.

El Salvador, desde 2009 acepto la normativa vigente del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 correspondiente a “Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos”. El cual establece los parámetros y rangos aceptados de inocuidad en los alimentos comercializados en la región. El cual en el apartado “grupo 9- pescado, derivados y productos marinos: subgrupo de alimento pescado y productos marinos frescos”, establece las bacterias y carga bacteriana de las mismas, que debe de verificarse en los puntos de comercialización, para que el pescado fresco sea apto para el consumo humano.

Desde que fue aceptada la normativa técnica, las instituciones encargadas de su cumplimiento (Dirección de protección al consumidor y el Ministerio de Salud). Nunca han realizado controles para asegurarse el cumplimiento del reglamento técnico. El incumplimiento de estas normas puede generar graves sanciones económicas y de importación de productos pesqueros.

2.6 Evaluación de la calidad microbiológica del pescado fresco.

Tanto los pescados dulces como de agua salada contienen una elevada cantidad de proteínas y de otras sustancias nitrogenadas. (Jay *et al* 2005). Esto es un factor determinante para la facilidad en la alteración microbiana de la carne de pescado.

Según el Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros. (FAO 2009) el pescado fresco es todo aquel producto pesquero que no ha recibido ningún tratamiento de conservación fuera de la congelación, y en este punto se debe tener mucha atención. La alteración del pescado, que conlleva su rechazo por parte del consumidor, está causada principalmente por la actividad bacteriana (Ruiter 1995), muchas de estas bacterias se encuentran presentes de forma natural en el medio acuático, sin embargo, hay muchas otras que contaminan el pescado mediante el proceso de almacenamiento o manipulación.

El RTCA, en su apartado de grupo de alimento: pescado, derivados y productos marinos. Establece los parámetros permitidos de presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus áureus*, así como la usencia de *Salmonella spp.* En carne de pescado fresco, para ser apta para el consumo humano. (Cuadro 6)

Cuadro 4 Criterios microbiológicos de inocuidad para pescado y productos marinos frescos.
Fuente: RTCA 67.04.50:08

9.1 Subgrupo de alimento: Pescado y productos marinos frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos, empacados.			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	4	A	10 ² UFC/g
<i>Staphylococcus áureus</i> (solo para pescados)	7		10 ³ UFC/g
<i>Salmonella spp.</i>	10		Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> (solo para productos listo para el consumo: sushi, ceviche, etc)	10		Ausencia
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (solo para moluscos bivalvos)	8		10 ³ UFC/g

2.7 Agentes patógenos en estudio.

2.7.1 *Staphylococcus aureus*.

Los *Staphylococcus* se encuentran presentes principalmente en los operarios que procesan y manipulan el pescado, que lo contaminan debió a malas prácticas higiénicas. Suelen encontrarse en la piel, en cortes y rozaduras, en la nariz y el cabello. (Ruiter 1995).

Pertenece al género *Staphylococcus*, se presenta en forma de cocos Gram-positivos y catalasa-positivos, crece en anaerobiosis y muestra un metabolismo anaerobio facultativo.

Staphylococcus aureus se encuentra en las mucosas y piel de la mayoría de animales de sangre caliente, es un patógeno oportunista y muy resistente a la congelación y a la descongelación y sobrevive perfectamente en los alimentos que se conservan a temperaturas $\leq -20^{\circ}\text{C}$. En algún momento, hasta un 50% de las personas serán portadoras de este organismo. Con frecuencia se encontrará en el polvo existente en los sistemas de ventilación.

El origen principal de las cepas productoras de enterotoxina es el portador humano. Los alimentos se pueden contaminar como consecuencia de prácticas higiénicas defectuosas en cualquier parte de la cadena alimentaria. Por tanto, el control se consigue protegiendo los productos de la contaminación y evitando las condiciones en las que puede existir crecimiento bacteriano. (ICMSF 1996).

Enfermedades transmitidas.

Los estafilococos pueden producir enfermedad por su capacidad para multiplicarse y propagarse de modo extenso en los tejidos y mediante la producción de muchas sustancias extracelulares. En un extremo de la diversidad de la enfermedad se encuentra en la intoxicación alimentaria por estafilococo, atribuible únicamente a la ingestión de enterotoxina preformadas;

De 40 a 50% de los humanos albergan *Staphylococcus aureus* en la nariz, los estafilococos también se encuentran regularmente en las vestimentas y la ropa de cama y en otros fómites en el entorno humano.

El envenenamiento alimentario causado por enterotoxina estafilocócica se caracteriza por un breve periodo de incubación (1 a 8 horas); náuseas severas, vómito y diarrea; y convalecencia rápida. No hay fiebre. El síndrome de choque tóxico se manifiesta por inicio

brusco de fiebre alta, vómito, diarrea, mialgia, erupción escarlatiniforme e hipotensión con insuficiencia cardíaca y renal en los casos más graves (Brooks et al 2011).

2.7.2 *Escherichia coli*.

La mayor parte de las especificaciones para el pescado y los productos pesqueros citan a estos microorganismos como indicadores de contaminación fecal de las aguas de crecimiento o captura y de una higiene inadecuada del personal que manipula el pescado, puesto que los microorganismos no viven en condiciones de refrigeración, su presencia indica contaminación por la materia prima o los manipuladores. (Ruiter 1995).

Perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo corto Gram-negativo, catalasa-positivo, oxidasa-negativo, anaerobio facultativo. Es una bacteria asociada a cuadros diarreicos.

Algunas cepas de *Escherichia coli* patógeno pueden sobrevivir a temperaturas menores a 7°C y mayores a 46°C. Se cree que las personas portadoras, tanto sintomáticas como asintomáticas, son el reservorio principal y la fuente de diferentes cepas de *Escherichia coli* patógena. Los alimentos pueden ser contaminados por manipuladores de alimentos infectados que practican una defectuosa higiene personal. Las medidas más importantes para prevenir la contaminación por *Escherichia coli* incluyen la capacitación de manipuladores y operarios, y un estricto control de prácticas de higiene personal. (ICMSF 1996).

Enfermedades transmitidas

Enfermedades transmitidas por los alimentos que resulta del consumo de alimentos contaminados con las cepas patógenas de *Escherichia coli* puede adoptar diversas formas. Las formas enteropatógenas de la enfermedad generalmente toman 5-48 h para desarrollar después del consumo de alimentos. La aparición de la enfermedad es una función de la cepa, así como los números de *Escherichia coli* consumido por la víctima. En general, los síntomas incluyen dolor abdominal severo.

Cuando la enfermedad implica las formas enteropatógenas y hemorrágicas de *Escherichia coli*, los síntomas son mucho más grave y el resultado mucho más grave. Los síntomas generalmente comienzan aproximadamente 10-24 h después del consumo del alimento contaminado. El dolor generalmente se acompaña de diarrea y la diarrea puede ser sanguinolenta. Otros síntomas incluyen náuseas, vómitos, fiebre, escalofríos, dolor de

cabeza y dolor muscular. Como la forma hemorrágica de la enfermedad progresa, puede pasar sangre en la orina. Esta etapa de la enfermedad se denomina síndrome hemolítico urémico e implica anemia hemolítica, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda. Para evitar que la etapa de la colitis avanza en el síndrome hemolítico urémico, los pacientes a veces se infunden con agentes terapéuticos 70 para inactivar la citotoxina. Los pacientes que llegan a la etapa de síndrome urémico hemolítico pueden sufrir daños permanentes o no pueden sobrevivir. (Brooks et al 2011).

2.7.3 *Salmonella spp.*

Perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, son bacterias Gram-negativas, anaerobias facultativas, asporógenas, de forma bacilar, suelen ser catalasa-positivas, y oxidasa-negativas y reducen los nitratos a nitritos. Se encuentra principalmente en el tracto intestinal del hombre y los animales, como patógeno o comensal.

Las *Salmonellas* invaden la luz del intestino delgado, donde se multiplican. Atraviesan el íleon, y el colon, donde producen una reacción inflamatoria. Los folículos linfáticos pueden aumentar de tamaño y ulcerarse. Los ganglios mesentéricos con frecuencia se inflaman. Las salmonellas pueden atravesar las barreras mucosa y linfática, llegar a la corriente sanguínea y originar abscesos. Los principales cuadros clínicos que pueden provocar son gastroenteritis, fiebres entéricas, bacteremias e infecciones focales.

Las *Salmonellas* se encuentran en todas partes y son zoonóticas. Han sido identificados numerosos reservorios animales. Algunos alimentos, especialmente los de origen animal, han sido identificados como vehículos para la transmisión de estos patógenos a los seres humanos. Se alojan en el tracto intestinal de los animales y el hombre, eliminándose por las heces y transmitidas por contacto directo. Se puede presentar contaminación cruzada por alimentos crudos contaminados y también se pueden multiplicar en el ambiente y el material de las diversas instalaciones de elaboración y almacenamiento de alimentos. (ICMSF 1996).

Enfermedades transmitidas

La *Salmonella* origina efectos patógenos al hombre el cual dependiendo de la especie responsable se originan cuadros clínicos como:

Infecciones con carácter entérico, tipo fiebres tifoideas o paratifoideas que pueden originar en casos más graves septicemias y localización en viseras.

Infecciones gastrointestinales, tipo de gastritis o enterocolitis.

Con respecto a las infecciones tipo fiebres tifoideas y paratifoideas, se sabe que el agente etiológico es *Salmonella typhi* (fiebre tifoidea) y *Salmonella paratyphi* A, B o C (fiebre paratifoideas).

Las fiebres tifoideas son transmitidas al hombre vía oral (alimentos crudos, mal conservados o que llevan mucho tiempo preparados). Esta llega al estómago, resiste la acidez gástrica y pasa al intestino delgado, concretamente al ileon y penetra por endocitosis destruyendo parte de las células de la mucosa intestinal; una vez dentro, las salmonellas son fagocitadas por macrófagos, que las transportan por diferentes vías hasta originar una primera bacteremia. Todo eso sucederá en el periodo de incubación, que comprende de 8 a 15 días. A partir de aquí hay un comienzo brusco de los signos y síntomas de la enfermedad. Las Salmonellas en la sangre son de nuevo captadas por nuevas células mononucleares y de aquí pasan bazo, hígado y médula ósea, produciendo la multiplicación de nuevas salmonellas, volviendo de nuevo a intestino donde se generan placas ulceradas en algunos casos con necrosis (placas de peyer) en casos más graves origina perforación y hemorragias.

Las fiebres paratifoideas son una enfermedad mucho más leve con un periodo de incubación de entre 7 y 10 días, donde no existe bacteremia, aunque el estado febril (38 - 40 °C) puede durar varias semanas. No hay perforación intestinal ni hemorragias ni invasión de salmonella a otros órganos, aunque son característicos dolores de cabeza, fiebres altas, anorexia, abstinencia, entre otros.

Infecciones gastrointestinales y enterocolitis. El agente etiológico corresponde a *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhimurium* y otras especies. Estas infecciones con un periodo de incubación de entre 12 y 36 horas, se produce generalmente por consumir alimentos contaminados, necesitando para ello una concentración de salmonellas de 10⁶ a 10⁹ UFC por mililitro. En general los mismos alimentos ejercen un efecto protector sobre las bacterias, ya que cuando llegan al estómago les permite pasar con cierta facilidad al intestino delgado colonizando fundamentalmente las zonas del ileon y el ciego; en estas colonizaciones penetran por fagocitosis al epitelio donde se multiplican originando una inflamación que genera pérdida de electrolitos y agua dando lugar a cuadros diarreicos con dolor abdominal, fiebres más o menos altas, náuseas, vómitos, etc. (Brooks et al 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del estudio.

La investigación se llevó a cabo en el área de pescados y mariscos del mercado de mayoreo La Tiendona, el mercado es propiedad de la Alcaldía Municipal de San Salvador y es administrado a través de la gerencia de mercados que está ubicada dentro de las instalaciones del mercado. El mercado está ubicado en un terreno delimitado al norte por la calle Concepción, al sur por la Avenida Peralta, al oriente por la calle Renovación y la comunidad Don Bosco y al occidente con la 24 avenida norte. El área de terreno del mercado es de 32550 m² distribuidos de la siguiente manera: área construida: 6948 m², área de parqueos: 7087 m², área verde: 690 m², vías internas: 20275 m². (Anexo) La investigación se realizó entre los meses de julio a diciembre del 2017, periodo durante el cual se tomaron muestras de carne y vísceras de pescado fresco de dicha área, Las muestras fueron sometidas a análisis, de laboratorio para determinar presencia/ausencia de *Salmonella spp* y cuantificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos fueron comparados con los criterios microbiológicos establecidos por el RTCA 67.04.50:08, para determinar si las muestras en estudio, cumplían con los estándares requeridos por el citado reglamento, y por consiguiente, son aptas para el consumo humano.

3.2 Metodología de Campo

Durante una inspección inicial, se observó la población total del estudio, la cual comprendía 11 puestos de ventas fijas de pescado fresco. El estudio se llevó a cabo mediante un muestreo aleatorio simple seleccionándose cinco muestras de cada puesto haciendo un total de 50 muestras de una población de 10 puestos incluidos en el estudio.

La muestra se seleccionó mediante la siguiente fórmula (Gorgas et al 2011):

$$n = \frac{z^2 pq N}{(N-1)e^2 + z^2 pq}$$

Donde:

n=muestra

Z²= nivel de confianza al 95%

p= población que posee características de interés

q= población que no posee características de interés

N= universo

e= error muestral permisible en la investigación

Sustituyendo:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.5)(0.5)(11)}{(11-1)(0.05)^2 + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

n= 10.5 aprox= 10 tamaño de la muestra.

El muestreo se realizó mediante cinco visitas al mercado la Tiendona, y en cada una de las visitas se tomaron muestras a 2 puestos diferentes escogidos al azar. Se tomaron cinco muestras de pescado fresco de cada puesto, en base a las especificaciones de planes de muestreos establecidas por el RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos, grupo 9 pescados, derivados y productos marinos. Subgrupo de alimentos pescado y productos marinos frescos. Que recomienda hacer un plan de muestreo de 2 clases, el cual es un plan de muestreo por atributos, donde de acuerdo con los criterios microbiológicos puede dividirse en dos grados “aceptable” y “no aceptable”, comprobando la presencia o ausencia de microorganismos, o si el límite microbiológico es superior o inferior a un nivel crítico establecido. Y se recomienda tomar 5 muestras de cada puesto a investigar para hacer una mejor determinación.

3.3 Metodología de laboratorio.

Toma de muestra

Durante cada visita, se escogió un pescado de un peso aproximado de ½ lb para poder realizar los análisis correspondientes, cada muestra fue colocada en una bolsa individual de polietileno y depositada en una hielera previamente sanitizada con alcohol etílico al 70%, se les colocó una capa de hielo y fueron transportadas al laboratorio para su posterior análisis.

Preparación de diluciones

Dado el tamaño de las poblaciones microbianas que pueden estar presentes en un alimento, que van desde algunos miles hasta varios millones de células por gramo, su determinación cuantitativa requiere la preparación de diluciones conocidas de la muestra (Camacho 2009).

Preparación de diluciones

Procedimiento

Pesar asépticamente 10 gramos de muestra directamente en una bolsa de polietileno añadir 90 ml de solución de agua peptona dabsuferada (APB) utilizar stomacher a 260 rpm. Esta será la dilución 10^1

Pipetear 10 ml de la dilución anterior y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 ml de (APB). Esta será la dilución 10^2 .

Pipetear 10 ml de la dilución anterior y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 ml de (APB). Esta será la dilución 10^3

3.3.1 Determinación de *Staphylococcus aureus*.

- De las diluciones seriadas decimales 10^1 10^2 10^3 realizadas en el apartado 3.3.5 inocular de la siguiente manera en Placas compact Dry XSA (específica para determinar *Staphylococcus aureus*.)
- Inocular 1 ml de la dilución 10^1 con ayuda de una pipeta volumétrica en el centro de una placa XSA sembrar por duplicado.
- incubar a 37° C por 24 horas.
- Inocular 1 ml de la dilución 10^2 con ayuda de una pipeta volumétrica en el centro de una placa XSA sembrar por duplicado.
- incubar a 37° C por 24 horas.
- Inocular 1 ml de la dilución 10^3 con ayuda de una pipeta volumétrica en el centro de una placa XSA sembrar por duplicado.
- incubar a 37° C por 24 horas.
- Identificar y cuantificar las UFC/gramo de muestra.
- Compact Dry XSA para *Staphylococcus aureus*. Las colonias características se observan verde azuladas.

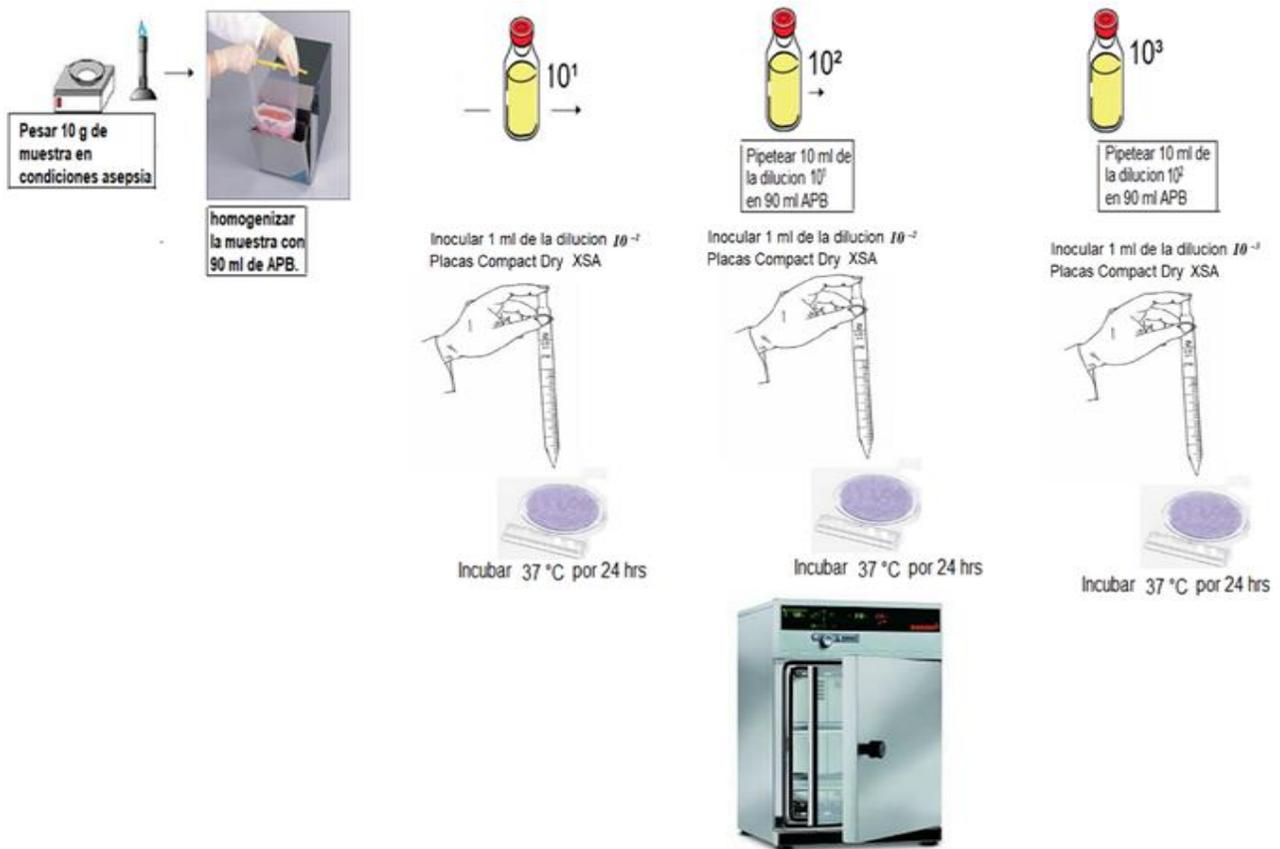


Figura 3 Procedimiento para inoculación de placa compact Dry Sxc. Fuente: Andrews-Jacobson 2007

3.3.2 Determinación de *Escherichia coli*. (Placas compact Dry)

- De las diluciones seriadas decimales 10^1 10^2 10^3 realizadas en el apartado 3.3.5 inocular de la siguiente manera en Placas compact Dry EC (específica para *Escherichia coli*.)
- Inocular 1 ml de la dilución 10^1 con ayuda de una pipeta volumétrica en el centro de una placa EC sembrar por duplicado.
- incubar a 37° C por 24 horas.
- Inocular 1 ml de la dilución 10^2 con ayuda de una pipeta volumétrica en el centro de una placa EC sembrar por duplicado.
- incubar a 37° C por 24 horas.

- Inocular 1 ml de la dilución 10^3 con ayuda de una pipeta volumétrica en el centro de una placa EC sembrar por duplicado.
- incubar a 37°C por 24 horas.
- Identificar y cuantificar las UFC/gramo de muestra.
- Los coliformes se observan como colonias color rojo, mientras que las colonias de *E. Coli*, se observan en color azul.

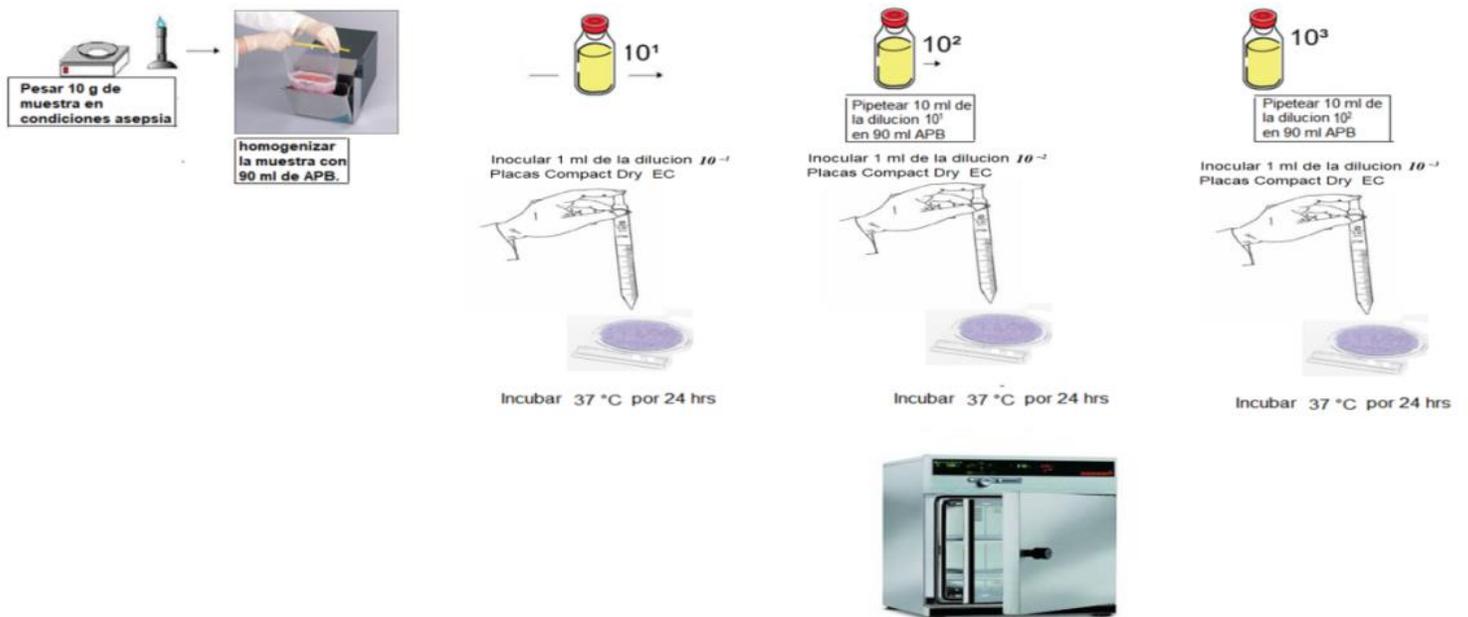


Figura 4 Procedimiento para inoculación placa Compact Dry Ec. Fuente: Andrews-Jacobson 2007

3.3.3 Determinación de *Salmonella spp.* (Andrews et al 2007).

Pesar asépticamente 25 g de muestra (musculo y/o vísceras) directamente en una bolsa de polietileno estéril previamente tarada.

Añadir 225 ml de caldo Lactosado y homogenizar por 2 minutos en el Stomacher a 260 rpm. Rotular como dilución 1:10 (10^1).

Transferir a un Erlenmeyer estéril de 250 ml y cubrirlo con papel aluminio. Homogenizar por 1 min.

Incubar a una temperatura de 37⁰ C por 24 horas.

Enriquecimiento

Transferir con ayuda de una pipeta volumétrica 1 ml de la dilución (10¹) sobre 10 ml de caldo tetracionato.

Mezclar

Incubar a una temperatura de 37⁰ C por 24 horas.

Transferir 1 ml de la dilución 10¹ sobre 10 ml de medio rapaport vassiliadis.

Mezclar

Incubar a una temperatura de 37⁰ C por 24 horas.

Enriquecimiento selectivo de *Salmonella spp.*

Agitar suavemente la muestra incubada

Tomar una muestra del inculo de medio rapaport vassiliadis. Con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo y sembrar en Agar Bismuto-Sulfito (BS).

Esterilizar el asa bacteriológica y tomar nuevamente una muestra del inculo y sembrar en Agar Salmonella-Shigella (SS).

Tomar una muestra del inculo de medio Caldo Tetracionato Con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo y sembrar en Agar Bismuto-Sulfito (BS).

Esterilizar el asa bacteriológica y tomar nuevamente una muestra del inculo y sembrar en Agar Salmonella-Shigella (SS).

Incubar a una temperatura de 37⁰ C por 24 horas.

Luego del periodo de incubación, verificar las colonias características que indican la presencia de *Salmonella spp.*

Colonias características de *Salmonella* en siembra agar Bismuto Sulfito presentan brillo metálico y color negro.

Colonias características de *Salmonella* en agar *Salmonella-Shigella* se aprecian colonias incoloras transparentes con centro color negro.

Aislamiento.

Seleccionar una colonia sospechosa y sembrar en TSA con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo.

Identificación bioquímica.

Realización de pruebas bioquímicas (glucosa, TSI, Lisina descarboxilasa, LIA, Motilidad, Ureasa, Indol, Voges-Proskauer, Rojo de Metilo, Citrato de Simmons). Incubar a 37° C por 24 horas, Comparar resultados con tabla de pruebas bioquímicas.

Cuadro 5 Reacciones de pruebas bioquímicas de *Salmonella spp.*

Prueba o sustrato	Resultado Positivo	Resultado negativo	Reacciones de especie <i>Salmonella spp</i>
Glucosa (TSI)	Fondo amarillo	Fondo rojo	+
Lisina descarboxilasa (LIA)	Fondo purpura	Fondo amarillo	+
Motilidad	Coloración negra	No cambia de color	+
Ureasa	Formación anillo rosa	No cambia de color	-
Prueba de indol	Superficie violeta	Superficie amarilla	-
Voges-Proskauer	Rosa- rojo	No cambia de color	-
Rojo de metilo	Rojo difuso	Amarillo difuso	+
Citrato de Simmons	Crecimiento azul	No cambia de color	V

Fuente: NORMA Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos

DETERMINACIÓN DE *Salmonella* spp. EN ALIMENTOS

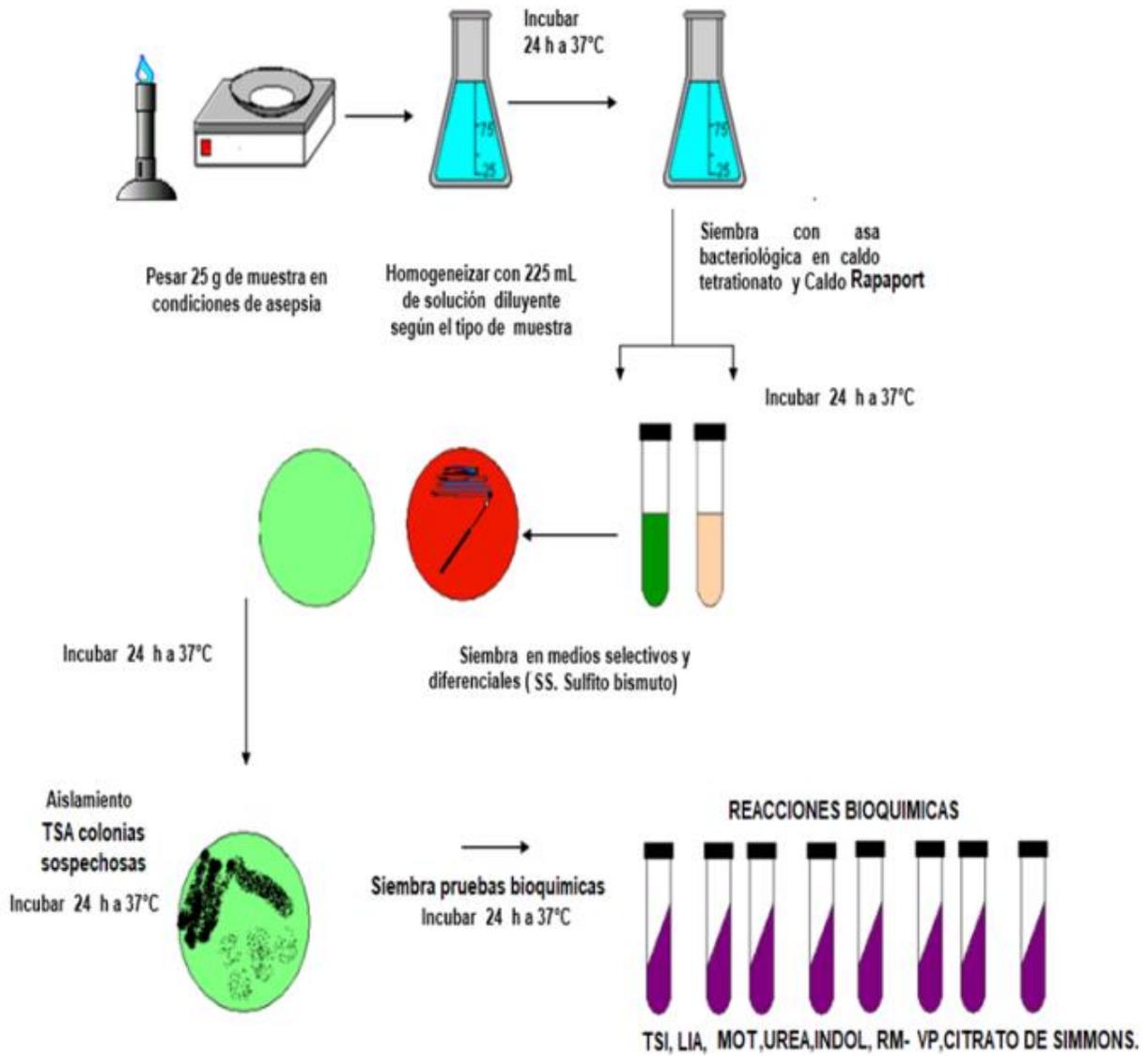


Figura 5 Procedimiento para determinación de *Salmonella* spp. Fuente: Andrews-Jacobson 2007

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Determinación de *Salmonella spp.*

Cuadro 8. Datos obtenidos en determinación de *Salmonella spp.*

Numero de puesto	Muestras	Agar Salmonella Shigella	Agar bismuto sulfito	TSA
1	1-2-3-4-5	+	+	+
2	6-7-8-9-10	+	+	+
3	11-12-13-14-15	+	+	+
4	16-17-18-19-20	+	+	+
5	21-22-23-24-25	+	+	+
6	26-27-28-29-30	+	+	+
7	31-32-33-34-35	+	+	+
8	36-37-38-39-40	+	+	+
9	41-42-43-44-45	+	+	+
10	46-47-48-49-50	+	+	+

Resultados muestras de musculo y vísceras de pescado fresco en siembras Agar *Salmonella Shigella*, Agar Bismuto Sulfito y Tripticasa Soya Agar.

Agar Bismuto Sulfito:

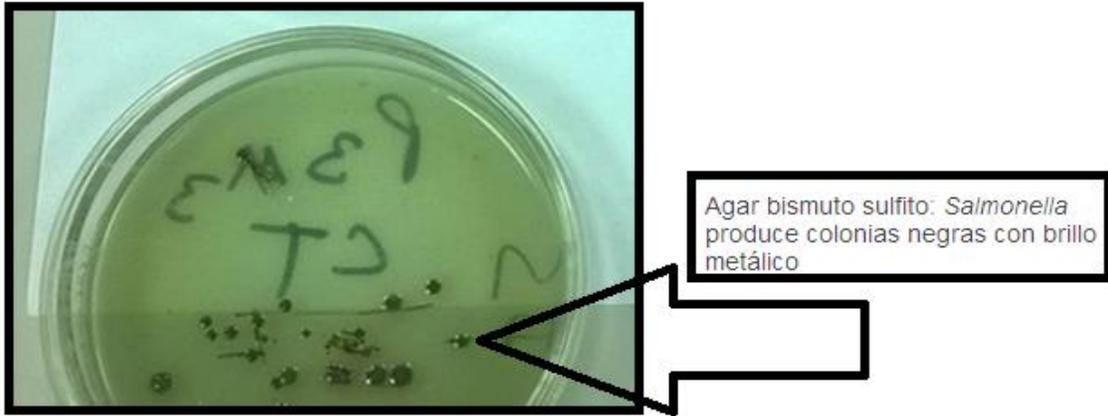


Figura 6 Colonias características de *Salmonella* en siembra agar Bismuto Sulfito.

Agar *Salmonella-Shigella*

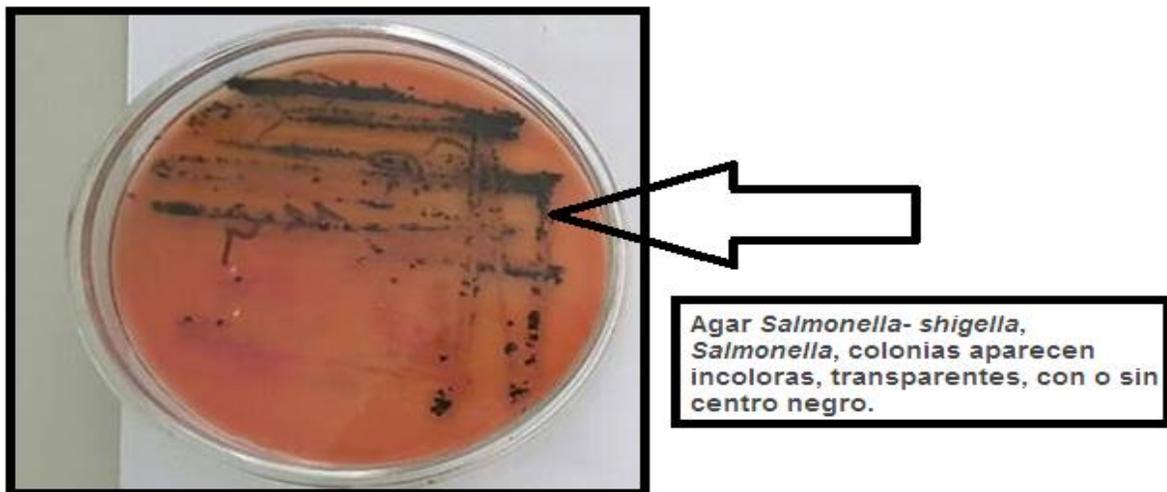


Figura 7 Colonias características de *Salmonella* en siembra agar *Salmonella-Shigella*.

Cuadro 9. Datos obtenidos en identificación bioquímica de *Salmonella spp.*

Puesto/Nº muestra	TSI	LIA	SIM	UREA	INDOL	VOGES PROSKAUER	ROJO DE METILO	SIMMONS
P1M1	+	+	-	-	-	-	+	+
P1M2	+	+	-	-	-	-	+	+
P1M3	+	+	+	-	-	-	+	+
P1M4	+	+	+	-	-	-	+	+
P1M5	+	+	+	-	-	-	+	+
P2M1	+	+	+	-	-	-	+	+
P2M2	+	+	+	+	+	-	+	+
P2M3	+	+	+	-	-	-	+	+
P2M4	+	+	+	+	+	-	+	+
P2M5	+	+	+	+	+	-	+	+
P3M1	+	+	+	-	+	-	+	+
P3M2	+	+	+	+	+	-	+	+
P3M3	+	+	+	-	+	-	+	+
P3M4	+	+	+	-	-	-	+	+
P3M5	+	+	+	-	+	-	+	+
P4M1	+	+	+	-	+	-	+	+
P4M2	+	+	+	-	+	-	+	+
P4M3	+	+	+	-	+	-	+	+
P4M4	+	+	+	-	+	-	+	+
P4M5	+	+	+	-	+	-	+	+
P5M1	+	+	+	-	+	-	+	+
P5M2	+	+	+	-	+	-	+	+
P5M3	+	+	+	-	+	-	+	+
P5M4	+	+	+	-	+	-	+	+
P5M5	+	+	+	-	+	-	+	+
P6M1	+	+	+	+	-	-	+	+
P6M2	+	+	+	+	-	-	+	+
P6M3	+	+	+	+	-	-	+	+
P6M4	+	+	+	+	-	-	+	+
P6M5	+	+	+	+	-	-	+	+
P7M1	+	+	+	+	-	-	+	+
P7M2	+	+	+	+	-	-	+	+
P7M3	+	+	+	+	-	-	+	+
P7M4	+	+	+	+	-	-	+	+
P7M5	+	+	+	+	-	-	+	+
P8M1	+	+	+	-	-	-	+	+
P8M2	+	+	+	-	-	-	+	+
P8M3	+	+	+	-	-	-	+	+
P8M4	+	+	+	-	-	-	+	+
P8M5	+	+	+	-	-	-	+	+
P9M1	+	+	+	-	-	-	+	+
P9M2	+	+	+	-	-	-	+	+
P9M3	+	+	+	-	-	-	+	+
P9M4	+	+	+	-	-	-	+	+
P9M5	+	+	+	-	-	-	+	+
P10M1	+	+	+	+	+	-	+	+
P10M2	+	+	+	+	+	-	+	+
P10M3	+	+	+	+	+	-	+	+
P10M4	+	+	+	+	+	-	+	+
P10M5	+	+	+	+	+	-	+	+

Cuadro 10. Comparación de resultados obtenidos con límites máximos permitidos por (RTCA 67.04.50:08).

Puesto/N° muestra	Tipo de muestra	Resultado obtenido	Especificación RTCA 67.04.50:08
P1M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P1M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P1M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P1M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P1M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P2M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P2M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P2M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P2M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P2M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P3M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P3M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P3M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P3M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P3M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P4M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P4M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P4M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P4M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P4M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P5M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P5M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P5M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P5M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P5M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P6M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P6M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P6M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P6M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P6M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P7M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P7M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P7M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P7M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P7M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P8M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P8M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P8M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P8M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P8M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P9M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P9M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P9M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P9M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P9M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P10M1	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P10M2	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P10M3	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P10M4	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia
P10M5	Musculo y vísceras	Presencia	Ausencia

Pruebas bioquímicas



Figura 8 Pruebas bioquímicas realizadas a muestras sospechosas a *Salmonella*.

El 100% de las muestras analizadas, dieron como resultado presencia de *Salmonella spp*, por lo cual no cumplen con el criterio microbiológico establecido por el RTCA 67.04.50:08. (cuadro 10) El cual determina ausencia total de esta bacteria, lo cual hace este producto no apto para el consumo humano por el riesgo que conlleva su ingestión para la salud de los consumidores.

Las *Salmonellas* se alojan en el tracto intestinal de los humanos, eliminándose por las heces y transmitidas por contacto directo. Se puede presentar contaminación cruzada por alimentos crudos contaminados y también se pueden multiplicar en el ambiente y el material de las diversas instalaciones de elaboración y almacenamiento de alimentos. (ICMSF 1996). Por lo que su presencia en las muestras indica contaminación cruzada y mala manipulación del producto por parte de los vendedores del área de mariscos.

Al realizar la recolección de las muestras, se pudo observar que las instalaciones del área de pescados y mariscos del Mercado La Tiendona, no son las adecuadas para la comercialización de estos productos en base al “Manual de buenas prácticas de manejo y aseguramiento de la calidad de productos pesqueros” (Ramirez, Ishihara 2008). Ya que los puestos de comercialización no cuentan con un cuarto frío, no tienen superficies lavables, no cuentan con agua potable para cada puesto, no hay desagües ni un área adecuada para lavar utensilios ni equipo que se utiliza para la venta. Todo esto representa un riesgo para la contaminación de los alimentos de *Salmonella spp*.

Romero-Ronquillo, en 2015 realizaron una investigación en el puerto de la libertad en la cual analizaron muestras de pescado fresco de barcos de pesca artesanal. En su investigación el 37% de las muestras dieron positivo a presencia de *Salmonella spp.* En esa investigación relacionaron la presencia de la bacteria en las muestras analizadas debido a una mala manipulación por parte de los pescadores y personas que comercializaban el producto en el puerto.

En el 2005 Hernández Arias realizó una investigación en el mercado de Pamplona, Colombia. Analizaron muestras de pescado fresco encontrando la bacteria en un 12% de las muestras analizadas. Relacionaron la presencia de la bacteria a las malas prácticas de manejo por parte de los vendedores del mercado.

4.2 Determinación de *Escherichia coli*

Cuadro 11. Datos obtenidos *Escherichia coli* UFC/g comparado con límites máximos permitidos por (RTCA 67.04.50:08).

Puesto/N° muestra	Tipo de muestra	Resultado obtenido	Límite máximo permitido <i>E. coli</i> RTCA 67.04.50:08
P1M1	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P1M2	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P1M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P1M4	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P1M5	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P2M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P2M2	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P2M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P2M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P2M5	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P3M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P3M2	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P3M3	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P3M4	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P3M5	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P4M1	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ² UFC/g
P4M2	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ² UFC/g
P4M3	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ² UFC/g
P4M4	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ² UFC/g
P4M5	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ² UFC/g
P5M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P5M2	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P5M3	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P5M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P5M5	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P6M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P6M2	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P6M3	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P6M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P6M5	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P7M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P7M2	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P7M3	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P7M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P7M5	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P8M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P8M2	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P8M3	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P8M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P8M5	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P9M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P9M2	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P9M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ² UFC/g
P9M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P9M5	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P10M1	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P10M2	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P10M3	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P10M4	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g
P10M5	Musculo y vísceras	>100 UFC/g	10 ² UFC/g

El 66 % de las muestras no cumplen límites máximos permitidos por el RTCA 67.04.50:08. para *Escherichia coli* (Cuadro 11) este microorganismo indica que los productos pesqueros analizados han tenido contacto con heces fecales.

Huss (Huss 1997), establece que los principales riesgos de contaminación de *E. coli* es la mala higiene y poca educación sanitaria de los manipuladores de los puntos de comercialización de pescado fresco, ya que al ser *E. coli* un organismo propio del tracto intestinal del humano y animales de sangre caliente, su presencia en cualquier alimento indica que hubo contaminación fecal.

Al realizar la recolección de las muestras se pudo constatar que los manipuladores del pescado en los puntos de venta no contaban con la vestimenta adecuada para la manipulación de alimentos, la cual está establecida en el “Manual de buenas prácticas de manejo y aseguramiento de la calidad de productos pesqueros” (Ramirez, Ishihara 2008) como lo es tapaboca, redecilla, guantes, gabacha, etc. Y que los puestos no cuentan con conexión de agua, lavamanos y desagüe. La mayoría almacenaba el agua para limpieza en huacales o barriles, y no cuentan con sistema de desagüe de aguas contaminadas, y el servicio sanitario se encuentra en medio de los puestos comerciales y contiguo al cuarto frío donde algunos comerciantes guardan el pescado que sobra del día, y que representa un gran riesgo de contaminación de *E. coli*.

En el 2015 Romero-Ronquillo, realizaron una investigación en el puerto de la Libertad, El Salvador. En sus resultados el 100% de las muestras sobrepasaron los límites permitidos para *E coli*, Relacionaron la presencia de la bacteria a las malas prácticas higiénicas por parte de los pescadores y vendedores de pescado fresco del puerto.

4.3 Determinación de *Staphylococcus áureus*.

Cuadro 12. Datos obtenidos *Staphylococcus áureus* UFC/g. Comparado con límites máximos permitidos por RTCA 67.04.50:08.

Puesto/N° muestra	Tipo de muestra	Resultado obtenido	Límite máximo permitido <i>S.áureus</i> RTCA 67.04.50:08
P1M1	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P1M2	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P1M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P1M4	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P1M5	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P2M1	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P2M2	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P2M3	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P2M4	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P2M5	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P3M1	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P3M2	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P3M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P3M4	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P3M5	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P4M1	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P4M2	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P4M3	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P4M4	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P4M5	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P5M1	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P5M2	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P5M3	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P5M4	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P5M5	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P6M1	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P6M2	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P6M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P6M4	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P6M5	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P7M1	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P7M2	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P7M3	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P7M4	Musculo y vísceras	<100 UFC/g	10 ³ UFC/g
P7M5	Musculo y vísceras	>1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P8M1	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P8M2	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P8M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P8M4	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P8M5	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P9M1	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P9M2	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P9M3	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P9M4	Musculo y vísceras	<10 UFC/g	10 ³ UFC/g
P9M5	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P10M1	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P10M2	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P10M3	Musculo y vísceras	<1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P10M4	Musculo y vísceras	>1000 UFC/g	10 ³ UFC/g
P10M5	Musculo y vísceras	>1000 UFC/g	10 ³ UFC/g

El 4 % de las muestras que no cumplen límites máximos permitidos por el RTCA 67.04.50:08. (Cuadro 12) Las personas sanas suelen albergar *Staphylococcus aureus* en la piel, la nariz o en la garganta. La mayor parte de los brotes epidemiológicos están causados por contaminación directa con los alimentos, manos contaminadas con secreciones procedentes de nariz, boca y heridas. (Ruiter 1995).

Según “El manual de buenas prácticas de manejo y aseguramiento de la calidad de productos pesqueros”, (Ramirez, Ishihara 2008) establece que los manipuladores de los puntos de comercialización deben contar con vestimenta adecuada (tapa boca, redecilla, guantes, delantal, etc), para evitar la contaminación con *Staphylococcus aureus* al pescado, y que los encargos del personal de los puestos de comercialización deben asegurarse que sus empleados se realicen controles médicos frecuentes para detectar enfermedades infecciosas y fomentar buenos hábitos higiénicos.

Los resultados obtenidos coinciden con los datos reportados por Romero y Ronquillo quienes realizaron una determinación microbiológica en carne de pescado fresco en el puerto de la libertad, El Salvador en 2015, en su caso el 100% de las muestras presentaron ausencia de *Staphylococcus aureus*. Y de igual forma relacionaron los resultados obtenidos con las malas prácticas de manejo y manipulación por parte de los vendedores de los puestos en el puerto de la libertad.

Gutierrez-Hernandez en 2011 realizaron una evaluación de la calidad del producto pesquero comercializado en el mercado “Teodoro Martínez”, en la ciudad de Bluefields, Nicaragua. En el cual el 8% de las muestras excedió el límite permisible de 100 UFC para la determinación de *Staphylococcus aureus*.

5. CONCLUSIONES

La presencia de las bacterias en estudio en las muestras de pescado fresco indica que hay contaminación por mala manipulación y que no se cumplen las normas básicas de protección para productos de consumo humano.

E. coli es una bacteria sensible a temperaturas de refrigeración (2-6 °C), su presencia en las muestras indica que podría haber una falla en la cadena de frío del producto.

En general, el pescado distribuido en el área de mariscos la Tiendona, no es apto para el consumo humano por no cumplir con los parámetros establecidos por el RTCA 67.04.50:08, principalmente en el caso de la bacteria *Salmonella spp*, la cual según indicación del manual debe haber ausencia total de la bacteria, y está se encontró en todas las muestras analizadas.

Al realizar la investigación, se pudo constatar que los comerciantes del área de pescados y mariscos del mercado municipal La Tiendona, no cumplen con las normas básicas de higiene, vestimenta y buenas prácticas de manejo. Eso se vuelve un factor de riesgo para la contaminación del pescado comercializado en esa área.

6. RECOMENDACIONES

Que las autoridades competentes realicen capacitaciones de Buenas Prácticas de Manejo a los vendedores que laboran en el área de mariscos del Mercado La Tiendona, a fin de minimizar el riesgo de contaminación de los alimentos, por mala manipulación de los vendedores.

La administración del mercado debe hacer una restructuración y mejoras en la infraestructura y diseño del área de mariscos del mercado, ya que el estado actual facilita la contaminación cruzada de los productos que ahí si comercializan.

Que la administración del mercado habilite un área más grande para cuarto frío, ya que la actual es insuficiente, y que verifique la utilización de hielo certificado y en cantidades adecuadas.

La administración del mercado debe establecer un registro y control sobre la procedencia de los productos pesqueros, para determinar si estos vienen contaminados desde su lugar de procedencia.

Establecer una oficina de vigilancia epidemiológica en las instalaciones del Mercado Mayorista La Tiendona y que cuente con personal capacitado (Médicos Veterinarios, Microbiólogos, etc.) Para asegurar la inocuidad de todos los alimentos que se comercializan ahí así como poder detectar de forma oportuna brotes o casos relacionados con productos comercializados en ese mercado.

A los consumidores de pescado fresco, que los cocinen adecuadamente debido que muchos de los microorganismos encontrados son sensibles a temperaturas altas, y eso reduce la probabilidad de causar daños a la salud.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Arispe, I., y Tapia, M. S. (2007). Inocuidad y calidad: requisitos indispensables para la protección de la salud de los consumidores. *Innocuity and quality: essential requirements for consumer health protection* (en línea). *Agroalimentaria*, 13(24). Consultado 20 enero de 2017. <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/agroalimentaria/article/view/1401>
2. Andrews Wh, Jacobson Ts, Wang H. 2007. *Bacteriological Analytical Manual*. Capítulo 5: Salmonela. (en línea). Consultado enero 15 2018.
3. Audisio MC. 2007. *Manual de Microbiología de los alimentos: Pescados y mariscos*. 1ra edición. San Salvador de Jujuy. Argentina. Págs. 125-132.
4. Brooks, G, Butel, J. & Morse, S.. (1999). *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg* (pp. 241, 242, 244, 245, 269, 291, 292, 293.). (Trad.) México: Editorial Manual Modern.
5. Camacho, A., M.Giles, A.Ortegón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez. 2009. *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
6. Calderon, G- 2009. Estudio. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico, Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. Ed rev, San Salvador. ES, FAO (Organización de las Naciones Unidad para la Agricultura y la Alimentación) 120 pag.
7. El salvador noticias.net. 2011. Intoxicación en escuela de Sensuntepeque fue causada por bacteria *Escherichia coli* /(en línea). Consultado 30 mayo 2018. Disponible en <http://elsalvadornoticias.net/2011/03/25/intoxicacion-en-escuela-de-sensuntepeque-fue-causada-por-bacteria-escherichia-coli/>
8. FAO (Organización de las Naciones Unidad para la Agricultura y la Alimentación). 2009. *Enfermedades transmisibles por alimentos y su impacto socioeconómico*(online) Estudio de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Informe técnico sobre ingeniería N 6 ISSN 1814-1153) Roma, Italia, Consultado el 13 de noviembre de 2016.disponible en: <http://http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>.
9. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), OMS (Organización Mundial para la Salud). 2009. *Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros*. 1ra edición. Roma. Italia.

10. FAO.2016. El estado de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.
11. Gorgas Gracia J; Cardiel López N; Zamorano Calvo J. 2011. Estadística Básica Para Estudiantes de Ciencias. Madrid, ES, s.e. p. 9-45.
12. Gutiérrez Gadea, DV; Hernández, FB; 2014. La calidad del pescado en Bluefields. (en línea). Revista Huellas. 46-51. Consultado 15 jul. 2016. Disponible en <http://revistas.bicu.edu.ni/index.php/Hu/article/viewFile/627/623>.
13. Herrera Arias, FC; Santos Buelga, JA. 2005. Prevalencia de *Salmonella spp.* En pescado fresco expandido en Pamplona (Norte de Santander). Bistu: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 3(2). 34-42. Consultado 10 nov. 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90330205>.
14. Huss, H.H. 1997 Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. *FAO Documento Técnico de Pesca*. No. 334. Roma, FAO. 174p
15. Huss, HH. 1999. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. Consultado 13 jul. 2016, de Laboratorio Tecnológico Ministerio de Pesca Dinamarca Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm>.
16. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1996. Microbiología de los alimentos: Características de los patógenos microbianos. Trad. MR Vergés. 1 ed. Zaragoza, ES. Acribia. 147-153, 255-266, 349-355.
17. Jay JM; Loessner MJ; Golden DA. 2005. Microbiología moderna de los alimentos. Trad. JA Ordóñez; MA Asensio; GDG de Fernando. 5 ed. Zaragoza, ES. Acribia. 106-118.
18. Latham C. Michael. 2002. Nutrición Humana en el mundo en desarrollo. Colección FAO: Alimentación y Nutrición N°29. Roma. Consultado marzo 20 de 2018. <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s00.htm#Contents>
19. Maclean, Bruce. 2012. Manual de Animales Exóticos: Peces ornamentales. Meredith Ana, Redrobe Sharon. 1ra edición. Lexus. Pgs 382-384..
20. Martínez Ronquillo, BL. Romero Angulo, MSD. 2015. Evaluación de la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el muelle del puerto de la libertad. Tesis Lic. San Salvador, El Salvador. UES. 88-101.
21. Menchu, T. Méndez, H, 2011. Análisis de la situación alimentaria en El Salvador. Guatemala. INCAP (Instituto de nutrición de Centro América y Panamá) 55 P.

22. MINECO (Ministerio de Economía), CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), MIFIC (Ministerio de Fomento, Industria y Comercio), SIC (Secretaría de Industria y Comercio), MEIC (Ministerio de Economía, Industria y Comercio). (2009). Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Junio, 15, 2016, de Reglamento Técnico Centroamericano. Sitio web: http://www.cacia.org/documentos/Criterios_microbiologicos.pd.pdf.
23. MINSAL (Ministerio de Salud). 2018. Boletín epidemiológico semana 09 (del 25 de febrero al 3 de marzo 2018). El Salvador. 32 pp.
24. Morató, N. G. (2010). Pescado: Higiene y conservación para evitar contaminaciones (en línea). Consultado enero 20 2017 de: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-yconsumo/2010/06/28/193936.php>
25. Moreno Posada, P; Ortuño Soriano, I; Villarino Marín, AL. 2005. El pescado en la dieta. Pinto Fontanillo, José Antonio. 1ra edición. Madrid. España. Nueva Imprenta. Pgs. 51-63
26. NORMA Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos
27. OMS (Organización Mundial para la Salud). 2015. Inocuidad de alimentos: Datos y cifras (en línea). Centro de Prensa, Nota descriptiva N°399 consultado 14 de agosto de 2016. Sitio Web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>.
28. OMS (Organización Mundial Para la Salud). 2017. Enfermedades diarreicas. (en línea). Centro de Prensa. Consultado 14 de agosto de 2016. Sitio Web: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
29. Ramirez Villalobos R., Ishihara H. 2008. Manual de Buenas Prácticas y Aseguramiento de la Calidad de Productos Pesqueros. El Salvador. CENDEPESCA (Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura). 19-20. 44-53.
30. Ruitter A. 1995. El pescado y los productos derivados de la pesca: Composición, propiedades nutritivas y estabilidad. Trad. ML Ferrándiz Martín. 1ed. Zaragoza, ES. Acribia. 257-273.
31. Vértice, ed., 2012, Dietética y manipulación de alimentos, Ed Rev., S.L, Elearning, 258 p.

Anexo 2 criterios microbiológicos para el registro sanitario de alimentos

<p>9.0 Grupo de Alimento: Pescado, derivados y productos marinos. Esta amplia categoría se subdivide en categorías para el pescado fresco y para diversos productos marinos elaborados. Se incluyen en ella los vertebrados acuáticos y mamíferos acuáticos (p. ej., ballenas), los invertebrados acuáticos (p. ej., medusas), los moluscos (p. ej., almejas y caracoles), los crustáceos (p. ej., camarones cangrejos, langostas). Los productos marinos se pueden recubrir, p. ej., con glaseados o especias, antes de su comercialización para el consumo (p. ej., filetes de pescado congelados y glaseados). En el SCA esto se indica con una anotación relativa al “uso como glaseado o recubrimiento (tratamiento de superficie)”</p>			
<p>9.1 Subgrupo del alimento: Pescado y productos marinos frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceo y equinodermos, empacados.</p>			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	4	A	10 ² UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i> (solo para pescados)	7		10 ³ UFC/g
<i>Salmonella ssp/25 g</i>	10		Ausencia
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i> (solo para producto crudo listo para consumo, ejemplo sushi y ceviche)	10		Ausencia
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (solo para moluscos bivalvos)	8		10 ³ UFC/g

Anexo 3 preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas para la investigación.



Anexo 4 preparación de diluciones en caldos de pre-enriquecimiento (caldo Lactosado y agua peptona buferada) e inoculación en placas Compact Dry.



Anexo 5 aislamiento en agar *Salmonella Shigella* y bismuto sulfito.



Anexo 6 identificación bioquímica a colonias sospechosas de *Salmonella spp.* En las siembras en agar *Salmonella Shigella* y bismuto sulfito.



Anexo 7 conteo de UFC/g de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En placas incubadas Compact Dry.

