

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



Universidad de El Salvador

Hacia la libertad por la cultura

**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENCURTIDOS
ARTESANALES UTILIZADOS EN PUPUSERIAS DEL DISTRITO NUMERO
DOS DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

JORGE ALBERTO ESCALANTE ESCOBAR

MANUEL EDUARDO GARCIA MORALES

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO 2010

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS MICROBIOLOGICO

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

**ASESORA DE AREA DE APROVECHAMIENTO DE RECURSOS
NATURALES**

MSc. Sonia Maricela Lemus Martínez

DOCENTE DIRECTORA

MSc. Coralia de Los Angeles González de Díaz

DEDICATORIA

Después de un arduo viaje, hemos llegado al final del camino y no puedo seguir adelante sin agradecer a quienes me acompañaron durante este difícil camino.

Primero agradezco a Dios por haberme dado las herramientas y oportunidades para lograr coronar mi carrera.

A mi madre quien es el pilar principal de mi vida y quien lucho a mi lado por finalizar esta etapa tan importante en mi vida, así como también a mis hermanos fuente de inspiración.

Agradezco de manera muy especial a toda mi familia por haberme apoyado en los momentos más difíciles, dándome ánimos para nunca darme por vencido y enseñándome que la familia es lo más importante en la vida.

A nuestra Directora de Proyecto MSc. Coralia de Los Angeles González de Díaz, por compartirnos de la manera más desinteresada sus conocimientos y experiencias, enriqueciendo este trabajo.

Finalmente a mi compañero de Trabajo por su solidaridad y determinación para lograr la meta y finalización de este proyecto.

Jorge

DEDICATORIA

Primeramente quisiera agradecer a Dios por brindarme la oportunidad y darme la sabiduría necesaria para caminar hasta el final de este camino.

A mi familia, mi madre Elizabeth por estar conmigo en la tristeza y la alegría de la vida, por el apoyo brindado, a mi padre Víctor por sus consejos y enseñanzas.

A mis hermanos Víctor y Steffany por ser parte de mi vida y estar siempre que les necesite y finalmente a la familia Escalante por ser parte de este éxito y de mi familia.

A nuestra Directora de Proyecto MSc. Coralia de Los Angeles González de Díaz, por guiarnos con sus conocimientos y experiencias, enriqueciendo este trabajo.

Finalmente a mi compañero de Trabajo por su solidaridad y determinación para lograr la meta y finalización de este proyecto.

Eduardo

INDICE

	Página
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xx
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	26
3.1 Alimento	26
3.2 Tipos de Alimento	27
3.3 Hortalizas y Verduras	27
3.3.1 Clasificación de las Hortalizas	28
3.3.2 Beneficios Generales	29
3.4 Alimentos Encurtidos	30
3.4.1 Encurtido de Pupusas	30
3.4.2 Descripción de Componentes	31
3.4.2.1 Vinagre	31
3.4.2.2 Sal	33
3.4.2.3 Orégano	36
3.4.2.4 Repollo	37
3.4.2.5 Pimiento Verde	39

3.4.2.6	Cebolla	40
3.4.2.7	Zanahoria	42
3.5	Tipos, Fuentes y Mecanismos de Contaminación en Alimentos	43
3.5.1	Tipos de Contaminación	43
3.5.1.1	Contaminación Física	43
3.5.1.2	Contaminación Química	44
3.5.1.3	Contaminación Biológica	45
3.5.2	Fuentes de Contaminación	47
3.5.2.1	El Aire	47
3.5.2.2	El Suelo	48
3.5.2.3	El Agua Para la Preparación de Alimentos	48
3.5.2.4	El Ser Humano	48
3.5.2.5	Los Animales	51
3.5.3	Mecanismos de Contaminación	51
3.5.3.1	Contaminación de Origen	51
3.5.3.2	Contaminación Cruzada	51
3.6	Buenas Prácticas Higiénicas	52
3.6.1	Desinfección de Hortalizas y Verduras	53
3.7	Buenas Prácticas Agrícolas	54
3.8	Flora Natural de las Hortalizas	54
3.9	Enfermedades Transmitidas por Alimentos	55
3.9.1	Infecciones	56

3.9.2	Intoxicaciones	56
3.10	Organismos Indicadores de la Calidad Microbiológica	57
3.11	Métodos de Evaluación Sanitaria en Hortalizas y Verduras	58
3.11.1	Recuento en Placa de Bacterias Mesófilas Aerobias	58
3.11.2	Coliformes Totales	61
3.11.3	Coliformes Fecales	61
3.11.4	<i>Escherichia coli</i>	63
3.11.4.1	Patogenia	64
3.11.4.2	Virulencia	64
3.11.4.3	Clasificación	65
3.11.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	67
3.11.5.1	Epidemiología	68
3.11.5.2	Toxinas	68
3.11.6	<i>Salmonella</i>	69
3.11.6.1	Epidemiología	70
3.11.6.2	Patogenia	72
3.11.7	Parásitos	72
Capítulo IV		
4.0	Diseño Metodológico	78
4.1	Tipo de Estudio	78
4.2	Investigación Bibliográfica	78
4.3	Investigación de Campo	79

4.3.1	Prueba Preliminar	79
4.3.2	Muestreo	80
4.4	Parte Experimental	82
4.4.1	Realización de una Guía de Observaciones en la Preparación de Encurtido Artesanal	82
4.4.2	Toma, manejo y Transporte de Muestra de Alimentos para su Análisis Microbiológico	83
4.4.3	Identificación de la Muestra	83
4.4.4	Medición de pH de la Muestra	83
4.4.5	Preparación de la Muestra	84
4.4.6	Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa	85
4.4.7	Determinación de Bacterias Coliformes	86
4.4.7.1	Coliformes Totales	86
4.4.7.2	Coliformes Fecales	86
4.4.7.3	<i>Escherichia coli</i>	87
4.4.8	Método para la Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	87
4.4.9	Método para la Determinación de <i>Salmonella</i>	88
4.4.9.1	Aislamiento	88
4.4.9.2	Prueba de Identificación Bioquímica	88
4.4.10	Método de Identificación de Parásitos	90

Capítulo V

5.0	Resultados	92
5.1	Resultados del Análisis Estadístico de las Encuestas de Diagnóstico	92
5.2	Recuento Total de Bacterias Mesófilas Aerobias	94
5.3	Recuento de Bacterias Coliformes Fecales	95
5.4	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	96
5.5	Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	97
5.6	Determinación de <i>Salmonella sp</i>	98
5.7	Determinación de Parásitos en las Muestras	100

Capítulo VI

6.0	Conclusiones	103
-----	--------------	-----

Capítulo VII

7.0	Recomendaciones	106
-----	-----------------	-----

Bibliografía

Glosario

Anexos

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Receta de encurtido de repollo para pupusas e imagen fotográfica
2. Ilustración de los componentes vegetales usados en encurtido para pupusas
3. Ilustración de *Ascaris lumbricoides*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli* y *Giardia intestinalis*
4. Pruebas bioquímicas para la determinación de *Salmonella* y límites microbiológicos de referencia establecidos por el Reglamento Técnico Centro Americano
5. Número más probable para tres tubos
6. Distribución del universo muestral
7. Mapa de la zona uno, del distrito dos, del área metropolitana de San Salvador
8. Mapa de la zona dos, del distrito dos, del área metropolitana de San Salvador
9. Mapa de la zona tres, del distrito dos, del área metropolitana de San Salvador
10. Mapa de la zona cuatro, del distrito dos, del área metropolitana de San Salvador

11. Formato de encuesta de diagnóstico para la guía de observaciones referentes a la elaboración y preparación de encurtidos
12. Esquema de la toma, transporte e identificación de muestras
13. Esquema para la preparación de la muestra
14. Esquema para realizar el método de cuenta de bacterias aerobias en placa
15. Esquema para la determinación de bacterias coliformes fecales y ***Escherichia coli***
16. Esquema para la determinación de ***Staphylococcus aureus***
17. Esquema para la determinación de ***Salmonella***
18. Esquema para la identificación de parásitos

INDICE DE CUADROS

CUADRO Nº	Página
1. Resultados de la encuesta de diagnóstico para la guía de observaciones referentes a la elaboración y preparación de encurtidos	92
2. Resultado de recuento total de bacterias mesófilas aerobias	94
3. Resultado de recuento de coliformes fecales	95
4. Resultado de la determinación de <i>Escherichia coli</i>	96
5. Resultado de la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	97
6. Resultado de la determinación de <i>Salmonella sp</i>	98
7. Resultado de la determinación de parásitos en las muestras	100
8. Porcentaje de muestras analizadas que cumplen y no cumplen con los parámetros del Reglamento Técnico Centro Americano	101
9. Receta de encurtido de repollo para pupusas	115
10. Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella sp</i>	119
11. Ensayos y límites en RTCA 67.04.50:08 para vegetales y alimentos preparados, listos para consumir que no requieren tratamiento térmico	119
12. Número más probable para tres tubos	120
13. Distribución del universo muestral del distrito número dos del área metropolitana de San Salvador	121

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Página
1. Recuento total de BAM en placa con agar Plate count	95
2. Determinación de coliformes fecales en caldo EC	96
3. Tubo con caldo Fluoro cult LMX	97
4. Placa de agar Baird Parker con colonias sospechosas de <i>Staphilococcus aureus</i>	98
5. Colonias sospechosas de <i>Salmonella sp</i>	99
6. Gráfico de barras comparativo, para el porcentaje de muestras que cumplen y que no cumplen con los límites del RTCA 67.04.50:08	101
7. Fotografía de alimentos encurtidos	115
8. Imágenes de especies vegetales comúnmente utilizadas en la elaboración de encurtidos artesanales	116
9. Fotografías de la morfología de parásitos <i>Ascaris</i> <i>lumbricoides, Giardia intestinalis y Entamoeba coli.</i>	117
10. Mapa de la zona 1 del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador	122
11. Mapa de la zona 2 del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador	123

12. Mapa de la zona 3 del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador	124
13. Mapa de la zona 4 del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador	125
14. Toma, manejo y transporte de muestra de alimentos	127
15. Diagrama para la preparación de la muestra	128
16. Método para la cuenta de BAM	129
17. Determinación de bacterias coliformes en alimentos	130
18. Determinación y prueba confirmatoria de <i>Staphylococcus aureus</i>	131
19. Diagrama para el aislamiento y la determinación de <i>Salmonella sp</i>	132
20. Determinación de parásitos por método directo	133

RESUMEN

RESUMEN

Los encurtidos que acompañan a las pupusas, son una fuente de alimentación diaria para la población de San Salvador, por esta razón es necesario conocer la calidad microbiológica de los mismos. Estos alimentos son preparados por fermentación utilizando vinagre, de componentes vegetales como repollo, cebolla, chile verde, zanahoria, entre otros. El objetivo de este estudio fue el de realizar diagnóstico microbiológico de dichos alimentos, mediante la cuantificación e identificación de microorganismos indicadores de la calidad, tales como Bacterias Mesófilas Aerobias, Bacterias Coliformes Fecales y patógenos como ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus*** y ***Salmonella***, así como también parásitos intestinales para el hombre.

Se emplearon métodos de análisis microbiológicos en alimentos basados en el Manual Analítico Bacteriológico (BAM), desarrollados durante los meses de Septiembre a Octubre de 2009, aplicados en diez muestras tomadas aleatoriamente de diez establecimientos diferentes del distrito N° 2 del área metropolitana de San Salvador, dedicados a comercializar encurtidos artesanales para pupusas. De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de las muestras tomadas en la prueba piloto, estas tienen un recuento de bacterias mesófilas aerobias muy por encima del valor límite según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos, lo cual indica una alta contaminación ambiental; el 50% de ellas está contaminada con ***Escherichia***

coli, el 10% con **Salmonella** y el 100% de las muestras contiene diferentes parásitos intestinales.

Estos alimentos no son aptos para consumo humano, ya que no cumplen con los criterios del RTCA antes mencionados y por lo tanto, se recomienda a los fabricantes de vinagre artesanal, darle un tratamiento térmico e implementar las buenas prácticas higiénicas.

En base a los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda para la preparación de alimentos encurtidos, implementar las buenas prácticas higiénicas y de manufactura para asegurar un origen sanitario del mismo; así como la utilización de vinagre de origen industrial para la fermentación de las materias primas. Además se debe dar un tratamiento adecuado de desinfección de todos los insumos utilizados para la fabricación. Es de vital importancia la participación activa de la Universidad de El Salvador, la Facultad de Química y Farmacia como proyección social, además de las autoridades competentes, en la educación y seguimiento de los manipuladores de alimentos que fabrican estos alimentos en los establecimientos que comercializan pupusas.

Finalmente cabe mencionar que ninguna de las muestras analizadas cumple con la normativa vigente, utilizada como referencia: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La calidad sanitaria de los alimentos está determinada por una amalgama de atributos que pueden y deben procurarse, desde su generación en donde quiera que ésta ocurra, hasta su servicio y consumo. Debería ser norma y objetivo de quienes producen, preparan, procesan y sirven alimentos, como una responsabilidad social, y para la población como norma de conducta para adquirirlos y consumirlos.⁽¹¹⁾

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.⁽¹⁶⁾

En El Salvador, debido a la cultura transmitida de generación en generación, la población suele consumir alimentos típicos, siendo de los principales las pupusas acompañadas con encurtido.

Los encurtidos, son alimentos que no tienen antecedentes en la investigación de la calidad microbiológica; por lo tanto no existe una regulación ó normativa vigente que establezca la calidad sanitaria de dicho grupo alimenticio.

Debido a que sus materias primas son principalmente hortalizas, se tomó como base el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos, y se investigaron otros microorganismos, en base a una prueba presuntiva de tamizaje.

Durante la investigación se realizó un recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias (BAM), como indicio de la carga total de microorganismos en el alimento; recuento de bacterias coliformes fecales por el método del número más probable; así como también la presencia ó ausencia de microorganismos patógenos tales como *Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Staphylococcus aureus*.⁽¹⁾

Además se investigaron parásitos intestinales patógenos para el hombre, presentes en los encurtidos, como por ejemplo *Giardia lamblia*, *Entamoeba hystolítica*, *Ascaris lumbricoides*; por medio de la técnica método directo de tinción con lugol, seleccionados en base a un estudio preliminar. Este estudio preliminar consistió de una prueba piloto, con 10 muestras escogidas al azar, de los establecimientos que comercializan encurtido para pupusas, ubicados en el distrito dos del área metropolitana, de la ciudad de San Salvador, entre los meses de Septiembre a Octubre, para poder estimar el tamaño de muestra más representativo de la totalidad del universo muestral, además brindó conocimientos estadísticos sobre el comportamiento de la muestra, tales como porcentaje de la muestra positivo a los análisis realizados.

Se determinó por medio de esta prueba piloto, que la cantidad de muestras analizadas en el estudio era representativa de la totalidad del universo, por lo que los datos fueron definitivos.

Se analizó estadísticamente, una encuesta exploratoria para diagnosticar el tratamiento y preparación del alimento encurtido, en cada establecimiento.

Luego mediante pruebas microbiológicas se determinaron todos los parámetros de comparación establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Posteriormente en base a estos resultados se establecieron recomendaciones, que ayuden a los manipuladores y a los entes regulatorios a medir y controlar el proceso de fabricación, almacenamiento y distribución de este tipo de alimento.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar la calidad microbiológica de encurtidos artesanales, utilizados en pupuserías del distrito número dos, del área metropolitana de San Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 2.2.1 Elaborar una guía de observaciones referentes a la elaboración y preparación, de encurtidos.
- 2.2.2 Cuantificar la carga de Bacterias Mesófilas Aerobias y Coliformes fecales presentes en las muestras de encurtidos.
- 2.2.3 Investigar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos, ***Salmonella sp, Staphylococcus aureus y Escherichia coli***, en las muestras seleccionadas.
- 2.2.4 Verificar la presencia ó ausencia de parásitos, en las muestras seleccionadas.
- 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, y determinar si es apto para consumo humano.

CAPITULO III

MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 ALIMENTO

Alimento es cualquier sustancia, sólida o líquida, normalmente ingerida por los seres vivos con fines:

1. nutricionales: regulación del metabolismo y mantenimiento de las funciones fisiológicas, como la temperatura corporal.
2. psicológicos: satisfacción y obtención de sensaciones gratificantes.

Los alimentos son el objeto de estudio de diversas disciplinas de la ciencia: la biología, y en especial la ciencia de la nutrición, estudia los mecanismos de digestión y metabolización de los alimentos, así como la eliminación de los desechos por parte de los organismos; la ecología estudia las cadenas alimenticias; la química de alimentos analiza la composición de los alimentos y los cambios químicos que experimentan cuando se les aplican procesos tecnológicos; la tecnología de los alimentos que estudia la elaboración, producción y manejo de los productos alimenticios destinados al consumo humano; así como la microbiología de los alimentos estudia los parámetros sanitarios que debe cumplir un alimento para asegurar la inocuidad de éste, y determinar si es apto para el consumo humano.⁽²⁵⁾

3.2 TIPOS DE ALIMENTO

Los alimentos se pueden clasificar en panes y cereales, leguminosas o legumbres, tubérculos y rizomas, frutas, hortalizas y verduras, carne, pescado, huevos; leche y derivados, grasas y aceites, y azúcares, confituras y almíbares.⁽²⁵⁾

Además, los alimentos pueden clasificarse en : alimento procesado, cuando ha sido sometido a un proceso tecnológico adecuado para su conservación y consumo ulterior; alimento semiprocado, cuando ha sido sometido a un proceso tecnológico adecuado para su conservación y que requiere de un tratamiento previo a su consumo ulterior; alimento no procesado, cuando no ha sufrido modificaciones de tipo físico, químico ó biológico, salvo las indicadas por razones de higiene, ó por la separación de partes no comestibles.⁽⁶⁾

3.3 HORTALIZAS Y VERDURAS

Las hortalizas son un conjunto de plantas cultivadas generalmente en huertas o regadíos, que se consumen como alimento, ya sea de forma cruda o preparada culinariamente. El término hortaliza incluye a las verduras y a las legumbres verdes como las habas y los guisantes. ⁽¹⁷⁾

Las hortalizas excluyen a las frutas y a los cereales. Sin embargo esta distinción es bastante arbitraria y no se basa en ningún fundamento botánico, por

ejemplo, los tomates y pimientos se consideran hortalizas, no frutas, a pesar de que la parte comestible es un fruto. Las frutas y verduras son una fuente directa de muchos minerales y vitaminas que faltan en las dietas de cereales, en especial la vitamina C de los cítricos y la vitamina A procedente del caroteno de las zanahorias y verduras con hoja. En las verduras están presentes el sodio, cobalto, cloro, cobre, magnesio, manganeso, fósforo y potasio. ⁽¹⁷⁾ La celulosa de las verduras, casi imposible de digerir, proporciona el soporte necesario para hacer pasar la comida por el tracto digestivo. Muchas de las vitaminas más frágiles hidrosolubles se encuentran en las frutas y verduras, pero se destruyen con gran facilidad con el exceso de cocción. ⁽²⁵⁾

3.3.1 CLASIFICACION DE LAS HORTALIZAS ⁽¹⁸⁾

Se las puede clasificar según su uso y aplicación:

A.- Para fines de alimentación directa;

Plantas que nos dan sus:

- 1- Semillas-granos: frijol, haba, arveja, vainita, choclo (maíz suave y duro).
- 2- Frutos: tomate, pimiento, pepinillo, berenjena, pepino, zapallo.
- 3- Hojas: coles, lechugas, acelga, espinaca, col china, nabo, berro.
- 4- Flores: coliflor, brócoli, alcachofa.
- 5- Tallos: espárragos, apio.

6- Raíces: rábano, remolacha, zanahoria, papanabo.

7- Bulbos: cebollas, puerros, ajo.

B.- Hortalizas para la condimentación:

1. Por su aroma: perejil, cilantro, orégano, hierbabuena.
2. Por su gusto: ají.

3.3.2 BENEFICIOS GENERALES

- Las hortalizas juegan un papel importante en la alimentación humana, constituyen un grupo especial de alimentos por su alto contenido vitamínico como las vitaminas A, B, C, D, E, K y P y mineralógico como calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, azufre, magnesio, hierro, yodo, etc.
- Son cultivos que demandan bastante mano de obra y por lo tanto en parte es la solución para la falta de empleo en las áreas rurales.
- En los procesos productivos rurales, permite la utilización de mano de obra familiar.
- Cultivados adecuadamente, son altamente rentables en pequeñas superficies.
- Son cultivos adecuados para la producción orgánica de sus productos.
- Sus ciclos de cultivo son cortos, desde los 45 días en adelante, lo cual permite tener varias cosechas en el año.⁽²⁵⁾

3.4 ALIMENTOS ENCURTIDOS

Los encurtidos son aquellos alimentos que han sido sumergidos ó marinados durante algún tiempo en una disolución de vinagre y sal, con el objeto de poder extender su conservación. ⁽¹¹⁾ La característica que permite la conservación es el medio ácido del vinagre que posee un pH menor de 4.6, el cual es suficiente para matar la mayor parte de las necrobacterias. Se le conoce además como alimento en conserva; el encurtido permite conservar los alimentos durante meses. Se suele añadir a la marinada hierbas y sustancias antimicrobianas, tales como la mostaza, el ajo, la canela o los clavos. Se denomina también encurtido así al proceso que consiste en someter a la acción del vinagre de origen vínico, alimentos vegetales. ver anexo N°1 ⁽¹¹⁾

3.4.1 ENCURTIDO DE PUPUSAS

El encurtido de pupusas es un alimento que acompaña y da sabor a las pupusas, para prepararlo se mezcla aderezo, vinagre, sal y orégano en un recipiente grande; luego se le agregan los ingredientes restantes, sumergiéndolos para cubrirlos con el aderezo.

Ingredientes: vinagre, sal, hojas secas de orégano, repollo verde, repollo morado, pimienta roja, cebolla, zanahorias. ver anexo N°1 ⁽²⁹⁾

Debido a que está preparado con vinagre, y ha sido sometido a un proceso tecnológico adecuado para su conservación y posterior consumo, se clasifica como un alimento procesado, específicamente en conserva ó encurtido.⁽⁵⁾

Por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tiene una mediana probabilidad de causar daños a la salud; según el Reglamento Técnico Centroamericano vigente.⁽⁵⁾

PREPARACION

Mezclar bien el vinagre, la sal y el orégano en un tazón grande.

Agregar los ingredientes restantes; revolver para cubrirlos con el vinagre.

Refrigerar por varias horas, y llevar a temperatura ambiente antes de servir. ⁽²⁹⁾

3.4.2 DESCRIPCION DE COMPONENTES

3.4.2.1 VINAGRE

El vinagre, del latín *vinum acre* y de éste pasó al francés antiguo *vinaigre*, vino agrio es un líquido miscible, con sabor agrio, que proviene de la fermentación acética del vino, mediante la bacteria ***Acetobacter aceti***.



El vinagre contiene típicamente una concentración que va de 3% al 5% de ácido acético. Los vinagres naturales también contienen pequeñas cantidades de ácido tartárico y ácido cítrico. (24)

También se puede hacer vinagre con una piña o cinco manzanas. La piña debe estar limpia y sin cáscara, las manzanas se utilizan con piel. También se necesitan cinco litros de agua en ambos casos y un dulce de panela.

En un frasco de vidrio se dejan fermentar los ingredientes. La nata que se formara se conoce como ~~%~~madre+del vinagre, esta se guarda y se utiliza para preparar vinagre de manera más rápida. Este vinagre lleva de uno a dos meses en el proceso, se debe conservar en un lugar fresco, seco y oscuro. Al producir vinagre de esta manera, su fermentación y rendimiento de ácido acético puede variar, por lo cual el pH también varía así como su carga microbiana. Debido a esto el pH del vinagre es más cercano al pH neutro, lo cual favorece la proliferación de todo tipo de microorganismos, siendo los más importantes los coliformes, provenientes del agua utilizada; y los hongos provenientes del ambiente y de las frutas mismas. (6)

USOS

El vinagre puede ser usado de muchas formas, aunque en la mayoría de las ocasiones su uso se limita al encurtido de alimentos. (11)(24)

Se calcula que existen más de 300 aplicaciones distintas; la aplicación más conocida es la gastronomía y, junto al aceite, se usan para encurtir verduras y vegetales resaltando su sabor. Sin embargo, su uso es mucho más extenso ya que se trata de un ingrediente clave en productos como escabeches, marinados, mostazas o salsas de tomate debido a su capacidad conservadora responsable de evitar la degradación del alimento. ⁽²⁴⁾

Debido a sus propiedades conservadoras y antibacterianas, es un producto ampliamente utilizado en varias industrias. En conclusión, el vinagre puede ser utilizado en cualquier medio que requiera un acidulante natural. ⁽²⁴⁾

3.4.2.2 SAL

La sal de mesa, conocida popularmente de forma abreviada como sal, se trata de la sal específica denominada cloruro sódico, cuya fórmula química es NaCl. Otras denominaciones frecuentes son: sal marina y sal común. Se obtiene fundamentalmente de la evaporación del agua marina o de su extracción minera en forma de roca-mineral denominada hialita. La sal proporciona a los alimentos uno de los sabores básicos: el salado, debido a que en la lengua poseemos receptores específicos para el sabor salado. ⁽³³⁾ El consumo de sal modifica nuestro comportamiento frente a los alimentos ya que es un generador del apetito e incita su ingesta. Se emplea fundamentalmente en dos áreas: condimento de algunos platos y como un conservante típico de las salazones

de carnes y pescado, incluso de algunas verduras, así como en la elaboración de ciertos encurtidos. (33)

Se entiende por sal de calidad alimentaria al producto cristalino que consiste predominantemente en cloruro de sodio.

Se obtiene del mar, de depósitos subterráneos de sal mineral o de salmuera natural. (33)

COMPOSICION ESENCIAL Y FACTORES DE CALIDAD

CARACTERISTICAS GENERALES (33)

La sal debe presentarse en forma de cristales blancos, y la granulación de los cristales debe ser uniforme.

De acuerdo con su tipo es necesario que la sal contenga los aditivos requeridos por el Ministerio de Salud, en la proporción, de:

Yodo de 30 a 60 mg/kg de sal (expresado como I)

Flúor de 175 a 225 mg kg de sal (expresado como F)

CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS (33)

Aspecto: cristales, de acuerdo con el tipo de sal.

Color: blanco.

Olor: Inodoro.

Sabor: Salino.

CLASIFICACION

La sal para consumo humano de acuerdo con sus características de pureza y granulometría, será clasificada en:

- Sal común o sal gruesa: Producto no procesado cuyos cristales deberán pasar en un 90% o más por el tamiz N° 8 (2,36 mm).
- Sal molida: Producto obtenido por la molienda de sal común o sal gruesa, cuyos cristales deberán pasar en un 95% o más, por un tamiz N° 18 (1,00 mm).
- Sal refinada: Producto procesado para eliminar sales higroscópicas de magnesio y calcio, impurezas orgánicas, arena, tierra y fragmentos de concha; los cristales deberán pasar totalmente por el tamiz N° 20 (0,85 mm de abertura) y el 25% como mínimo, deberán pasar por el tamiz N° 60 (0,25 mm de abertura).⁽³³⁾

CARACTERISTICAS MICROBIOLÓGICAS

La sal debe estar libre de detritos, impurezas y microorganismos halofílicos, patógenos y cromogénicos que indiquen manipulación defectuosa del producto.

El recuento bacteriano no podrá ser mayor de 20UFC/g o lo que establezca el Ministerio de Salud. ⁽³³⁾

USOS

Como condimento, ésta se utiliza al gusto; como conservante, se utiliza en concentraciones altas para limitar el agua libre de los alimentos para uso de los microorganismos y evitar así su proliferación. ⁽³³⁾

3.4.2.3 OREGANO

Nombre vulgar: Orégano

Nombre científico: *Oreganum vulgare L.*

Familia: Labiadas

Hábitat: En herbazales secos y al lado de los bosques.

Características: Planta perenne de la familia de las labiadas de hasta 80 cm. Tallos erectos, pilosos y aromáticos. Hojas ovales, pecioladas, dentadas o enteras. Flores rosadas, violáceas o blancas de hasta 7 mm, reunidas en inflorescencias redondeadas terminales; estambres sobresalientes. En herbazales secos y al lado de los bosques. ver anexo N°2 ⁽¹⁷⁾

Componentes activos:

- Ácidos: rosmarínico, palmítico, esteárico, oleico, ursólico, cafeico.
- Aceite esencial rico en timol, cineol, carvacrol, borneol, beta-bisoboleno, limoneno, alfa pineno, beta pineno, mirceno, camfeno, alfa terpineno.

- Minerales: potasio, magnesio, manganeso, zinc, cobre, hierro.
- Taninos
- Vitaminas: niacina, beta-caroteno.⁽⁴⁾

USOS

Es muy famoso el empleo del orégano en la cocina, se trata de un condimento ideal para platos elaborados con salsa de tomate, como la pasta y las pizzas. También se usa en caldos, en la elaboración de licores digestivos, para adobar la carne, para hacer chorizos, en el chili con carne mexicano y otros.

En encurtidos, una pizca de orégano realza el sabor, incluso echando las mismas flores. Una ramita de orégano en una botella de aceite o vinagre le transmite su fragancia. ⁽⁴⁾

3.4.2.4 REPOLLO

Nombre vulgar: Repollo, Repollos, Col repollo de hoja lisa

Nombre científico: ***Brassica oleracea var. capitata***

Familia: Crucíferas.

Características: Los repollos están disponibles en varias tonalidades de verde, así como también rojos o púrpuras. La forma típica del repollo varía del redondo estándar al aplanado o puntiagudo.

Las variedades que maduran más tarde tienen la cabeza (repollo) más grande y son generalmente mejores para hacer repollo conservado en vinagre que las variedades tempranas. ver anexo N°2 ⁽¹⁷⁾

Hay muchas variedades disponibles:

- Repollo verde: las hojas de afuera son verdes oscuras y las interiores van de verde pálido a verde claro.
- Repollo rizado: enrollado o rizado, con líneas onduladas verde-azul en las hojas, el repollo rizado le da una vista muy bonita al huerto o jardín.
- Repollo colorado o rojo (lombarda): esta variedad es generalmente más pequeña y más densa que las variedades de repollo para cabezas verdes. El sabor del repollo rojo es levemente picante y es muy susceptible al cambio de color de las hojas.

USOS

Se emplea en la cocina como base para preparar alimentos encurtidos diversos, para preparar rellenos de repollo, como aditivo para enriquecer algunas sopas y como base para algunas ensaladas.

3.4.2.5 PIMIENTO VERDE

Nombre vulgar: ají, chile, pimiento o pimentón.

Nombre científico: ***Capsicum annuum***.

Familia: Solanáceas

Hábitat: Es originario de Mesoamérica y cultivado mundialmente.

Características: La planta puede ser anual, bianual, o vivir varios años. Posee un tallo lleno de ramas y ésta alcanza los 0,5. 1,5 m. Sus flores son blancas y los frutos pueden variar de color dependiendo del grado de madurez en el que se encuentren; incluso algunas variedades suelen comerse cuando el fruto está aún inmaduro. ver anexo N°2

Mientras que la especie puede tolerar la mayoría de los climas, es especialmente productiva en zonas cálidas y climas secos. Se trata de una planta de cultivo extendido por todo el mundo, es considerada una planta de huerta y generalmente se suele comercializar en diferentes colores: verde, rojo y amarillo. Dentro de esta especie se pueden encontrar numerosas variedades, generadas por diferencias en el clima, las condiciones del suelo, etc. (17)

Componentes activos:

- Vitaminas: calcio, vitamina A y vitamina C.
- Otros: capsaicina, (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida, $C_{18}H_{27}NO_3$).⁽⁴⁾

USOS

Se emplea frecuentemente en la cocina, asados, cocidos, preparados al horno, como base para rellenos de carne y como ingrediente de las ensaladas. ⁽²⁵⁾

En los encurtidos, se agrega chile verde para reafirmar el sabor y vistosidad del alimento, por su color brillante.

3.4.2.6 CEBOLLA

Nombre vulgar: Cebolla

Nombre científico: *Allium cepa*.

Familia: Aliáceas

Hábitat: podemos situar su origen en Asia Central. Más certeza se tiene en su entrada europea por los griegos y romanos. ⁽¹⁷⁾

Características: presenta un sistema radicular formado por numerosas raicillas fasciculadas, de color blanquecino, poco profundas, que salen a partir de un tallo a modo de disco o "disco caulinar". Este disco caulinar presenta

numerosos nudos y entrenudos (muy cortos), y a partir de este salen las hojas. Las hojas tienen dos partes claramente diferenciadas: una basal, formada por las "vainas foliares" engrosadas como consecuencia de la acumulación de sustancias de reserva, y otra terminal, formada por el "filodio", que es la parte verde y fotosintéticamente activa de la planta.⁽¹⁷⁾ Las vainas foliares engrosadas forman las "túnicas" del bulbo, siendo las más exteriores de naturaleza apergaminada y con una función protectora, dando al bulbo el color característico de la variedad. Los filodios presentan los márgenes foliares soldados, dando una apariencia de hoja hueca. Las hojas se disponen de manera alterna. ver anexo N°2 ⁽¹⁷⁾

Componentes activos:

- Minerales: fósforo, silicio, calcio, azufre, hierro, yodo, potasio, sodio.
- Flavonoides: quercetina.
- Vitaminas: vitaminas A, B, C.⁽⁴⁾

USOS

La cebolla es imprescindible en la cocina pues es uno de los condimentos más empleados en la cultura gastronómica mediterránea. Gracias a su jugosidad, la cebolla permite cocinar con muy poco aceite y agua. En los encurtidos se utiliza como base para los mismos, así como complemento de otros alimentos encurtidos; realza el sabor y aporta elementos de condimento.

3.4.2.7 ZANAHORIA

Nombre vulgar: Zanahoria

Nombre científico: ***Daucus carota subespecie sativus***

Familia: Umbelíferas

Hábitat: oriunda de Europa y Asia sudoccidental.

Características: Planta bienal que forma una roseta de hojas en primavera y verano, mientras desarrolla la gruesa raíz principal, la cual almacenará grandes cantidades de azúcar para la floración del año siguiente. El tallo floral crece alrededor de 1m, con una umbela de flores blancas en el ápice. La raíz comestible suele ser de color naranja, blanca, ó en una combinación de rojo y blanco, con una textura crujiente cuando está fresca. ver anexo N°2 ⁽¹⁷⁾

Componentes activos:

- Carbohidratos
- Minerales: Potasio, fósforo, magnesio, yodo y calcio.
- Vitaminas: beta-caroteno o pro-vitamina A, vitamina E, vitaminas del grupo B como los folatos y la vitamina B3 o niacina.⁽⁴⁾

USOS

En crudo se utiliza para ensaladas, licuada se utiliza como zumo natural o para elaboración de cocteles refrescantes. También se utiliza como base de espumas de sifón, o para la elaboración de gelatinas, flanes, mousses o pasteles en pastelería.

En encurtidos se utiliza como fuente de contraste, ya que aporta un sabor dulzón. Aporta azúcares importantes para que se produzca la fermentación; además provee viscosidad al alimento y aporta antioxidantes.

3.5 TIPOS, FUENTES Y MECANISMOS DE CONTAMINACION EN ALIMENTOS

3.5.1 TIPOS DE CONTAMINACION.

3.5.1.1 CONTAMINACION FISICA

Esta tiene como común denominador el agregado de elementos extraños al alimento en cualquiera de sus etapas y que se mezclan con este, como trozos de vidrio, pedazos de metal, astillas de madera y otros. Son relativamente fáciles de detectar en los alimentos, ya sea porque provocan cambios en estos o, analíticamente pueden ponerse en evidencia mediante técnicas relativamente sencillas, así como por simple inspección visual. ⁽¹⁵⁾⁽²⁵⁾

Pueden provocar trastornos de tipo agudo: los síntomas aparecen al cabo de poco tiempo, pueden ser días o semanas después de la ingestión. En los encurtidos, estos contaminantes pueden ser adquiridos desde la recolección de las hortalizas al inicio del proceso de producción, hasta el momento de su envasado en los recipientes; para esto se deben inspeccionar minuciosamente las materias primas, en busca de elementos extraños. (15)(25)

3.5.1.2 CONTAMINACION QUIMICA

La moderna explotación agropecuaria se ayuda de infinitos productos químicos, que dejan su huella en los alimentos. A ellos se suman los residuos que las actividades mineras, industriales y urbanas esparcen por tierra, aire y agua. Otras sustancias extrañas llegan a los cultivos, la pesca y los forrajes de forma accidental, a través de aguas contaminadas por vertederos industriales, humos y cenizas de fábricas, restos de combustibles dispersos en el mar, etc., introduciéndose seguidamente en nuestra dieta. (15)(25)

Dependiendo de la dosis en que los consumamos, estos agentes contaminantes pueden ser inocuos o causar en nuestro organismo intoxicaciones agudas o crónicas, que es una acumulación continuada de pequeñas dosis, capaces de producir alteraciones a largo plazo. (15)(25)

En el caso de los contaminantes más habituales, la ciencia ha fijado las dosis diarias y semanales que el organismo humano es capaz de asimilar sin

problemas, tomando como referencia las cantidades toleradas por animales sujetos a estudio aunque faltan por investigar muchas sustancias. Estas cifras son las que emplea la normativa alimentaria para establecer los límites máximos permitidos de residuos químicos en los alimentos que comemos. (15)(25)

Entre estos contaminantes tenemos: pesticidas, que son sustancias químicas con las que se combaten las plagas que dañan los cultivos; los residuos medicamentosos, como los antibióticos que se utilizan para tratar y prevenir las enfermedades del ganado, los cuales pueden provocar reacciones alérgicas en el hombre y lo que es peor, estimular la aparición de bacterias resistentes a sus poderes curativos, lo que invalida su eficacia médica y dificulta la lucha contra enfermedades hasta ahora controladas gracias a ellos; las hormonas naturales y sintéticas, tienen usos terapéuticos, pero se emplean también para estimular el crecimiento de los animales; los tranquilizantes calman la excitación de los animales durante el transporte y antes del sacrificio; y estos son tan solo algunos ejemplos. (15)(25)

3.5.1.3 CONTAMINACION BIOLÓGICA

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. (15)(25)

La principal causa es la contaminación de alimentos durante la elaboración, manipulación, transporte y distribución al público por falta de las previsiones sanitarias requeridas. Son muy frecuentes los casos de verduras contaminadas por riego y lavado con aguas servidas; la manipulación de alimentos en lugares sucios; el contacto de los mismos con fauna nociva, el transporte en forma no higiénica sin refrigeración, sin cobertura, otros; y el deterioro por almacenamiento prolongado sin las medidas necesarias como la refrigeración. (15)(25)

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. Estos pueden ser transmitidos desde el suelo, el agua, el aire, animales, insectos y los manipuladores de los alimentos. 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. (15)(25)

3.5.2 FUENTES DE CONTAMINACION

3.5.2.1 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. ⁽¹⁵⁾

El aire no constituye un hábitat microbiano; las células bacterianas existen en el aire, como contaminantes accidentales ó como esporas de hongos dispersadas en él. Muchas bacterias patógenas son transportadas por el aire sobre partículas de polvo, ó sobre residuos secos de gotitas de saliva. ⁽¹⁶⁾

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. En el aire se aíslan frecuentemente bacterias esporuladas de los géneros ***Bacillus***, ***Clostridium*** y Actinomicetos. ⁽¹⁵⁾

3.5.2.2 EL SUELO

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/m². (15)

3.5.2.3 EL AGUA PARA LA PREPARACION DE ALIMENTOS

El agua natural contiene nutrientes en suficiente cantidad para sostener grupos especializados de poblaciones de microorganismos. Pocos ó ninguno de dichos microorganismos provocan enfermedades en el humano; la presencia de patógenos humanos indica contaminación por la tierra ó por introducción deliberada de agua de desagüe. (15)

3.5.2.4 EL SER HUMANO

Se refiere a la persona que manipula los alimentos y que puede contaminarlos, sin una adecuada higiene de sí mismo, así como de los utensilios empleados; debido a que es huésped de diferentes microorganismos, entre los cuales hay algunos patógenos para el hombre. (15)

Los manipuladores de alimentos son todas aquellas personas que, por su actividad laboral, tienen contacto directo con los alimentos durante su

preparación, fabricación, transformación, elaboración, envasado, transporte, almacenamiento, distribución, venta, suministro y servicio.

Estos manipuladores deben tomar en cuenta ciertas medidas higiénicas para evitar la contaminación de microorganismos en los alimentos, así como también deben ser monitoreados periódicamente, para conocer su estado de salud. ⁽²⁰⁾

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. ⁽¹⁵⁾

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 ó 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. ⁽³⁾

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. ⁽³⁾

Una herida o corte que pueda ponerse en contacto directo o indirectamente con los alimentos es un peligroso foco de contaminación por lo que siempre ha de ser desinfectado y protegido con un vendaje impermeable apropiado.

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. ⁽³⁾

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. ⁽³⁾

3.5.2.5 LOS ANIMALES

En los animales existe una flora microbiana normal tanto en la piel, como en el aparato gastrointestinal, desde los cuales son capaces de transmitir los microorganismos hacia los alimentos ⁽¹⁶⁾; así como también pueden ser huéspedes de parásitos patógenos para el hombre. Éstos se transmiten hacia los alimentos por medio de materia fecal, agua contaminada ó por contacto directo de animales domésticos con los alimentos, utensilios, manipuladores, entre otros. ⁽¹⁵⁾

3.5.3 MECANISMOS DE CONTAMINACION.

3.5.3.1 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, ó como componente de la flora natural. ⁽¹⁵⁾

3.5.3.2 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. ⁽¹⁵⁾

3.6 BUENAS PRÁCTICAS HIGIENICAS (B.P.H.)

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. ⁽³⁾

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 ó 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. ⁽³⁾

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. ⁽³⁾

3.6.1 DESINFECCION DE HORTALIZAS Y VERDURAS

Un buen manejo sanitario de hortalizas y verduras, permitirá asegurarnos su calidad e inocuidad, pero para esto se hace necesario conocer la existencia de microorganismos patógenos presentes, así como implementar las medidas de prevención o control que permitan reducir los riesgos de contaminación. Dentro de estas medidas están la implementación de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura. ⁽³⁾⁽¹¹⁾

Una de estas prácticas es el proceso de desinfección, que consiste en tratar los productos limpios con sustancias químicas, para reducir sustancialmente las cantidades de microorganismos que implican un riesgo para la salud pública, sin que se afecte negativamente la calidad del producto o la seguridad del consumidor. ⁽³⁾⁽¹¹⁾

Para un proceso de desinfección, es importante realizar un lavado previo de la hortaliza ó verdura, tal que permita reducir la suciedad superficial, bajando la carga de materia orgánica y permitiendo así la eficaz acción de los desinfectantes. Es indispensable que el agua que se emplee, tanto en el lavado como en la desinfección, sea potable. Además se debe renovar periódicamente para evitar que se acumule suciedad, bacterias y esporas de hongos. ⁽³⁾⁽¹¹⁾

3.7 BUENAS PRÁCTICAS AGRICOLAS (B.P.A.)

Las BPA inician con el reconocimiento del sitio de siembra, usos previos del suelo, acciones de conservación del ambiente, calidad de las semillas y protección de las fuentes de agua de riego y otras. Para su implementación debe haber un plan de trabajo en donde se establezcan las labores, los productos necesarios para sanidad del cultivo, cantidades, manejo de residuos de soluciones y material vegetal, servicios sanitarios en el campo. ⁽⁸⁾ También incluyen la administración de la actividad en términos de limitar el trasiego de personas ajenas a la empresa y al trabajo de campo, al igual que el tránsito de animales domésticos y silvestres. La limpieza y mantenimiento de las herramientas, deben ser las adecuadas. ⁽⁸⁾

Las BPA incluyen a todas aquellas acciones que pretenden evitar los peligros mencionados, durante el proceso productivo. Es importante conocer con detalle la actividad y los insumos adecuados, legalmente aprobados ó reconocidos. ⁽⁸⁾

3.8 FLORA NATURAL DE LAS HORTALIZAS

Los factores que determinan el tipo de flora presente en las hortalizas, dependen del entorno en el que éstas se encuentran. La presencia de agentes biológicos patógenos está determinada por las prácticas que se siguen en la fertilización de la tierra, así como por las condiciones sanitarias implementadas, incluyendo el proceso de cosecha de dichos productos. Entre los

microorganismos más importantes tenemos: bacterias productoras de ácido láctico, bacterias productoras de gases, y levaduras. Estos microorganismos están presentes de forma natural en las hortalizas. Las bacterias productoras de ácido láctico, aunque presentan variaciones estacionales y de distribución, son siempre las responsables de los mayores cambios. Dentro de este grupo se encuentran bacterias tales como: *Leuconostoc mesenteroides*, que en los primeros momentos de la fermentación degradativa predomina sobre el resto de la flora. Entre las bacterias más comunes en las verduras, predominan los bacilos Gram-negativos. ⁽¹⁶⁾

La concentración de bacterias mesófilas aerobias (BAM), varía de 4 (brócoli) a 10 (apio) log UFC/g. La carga total está afectada por factores con frecuencia incontrolables; por ejemplo: la presencia de diminutas partículas de tierra ó de materia orgánica ajena a la planta en una cierta porción examinada, pueden conducir a cifras extremas y no frecuentes. ⁽¹⁶⁾

A partir de verduras crudas es posible recuperar una diversidad de bacterias patógenas; siendo de las enteropatógenas las más frecuentes en los terrenos expuestos a contaminación fecal. ⁽¹⁶⁾

3.9 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) son aquellas que se originan por la ingestión de alimentos infectados con agentes contaminantes en

cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor. Sean sólidos naturales, preparados, o bebidas simples como el agua, los alimentos pueden originar dolencias provocadas por patógenos, tales como bacterias, virus, hongos, parásitos o componentes químicos, que se encuentran en su interior. Las enfermedades transmitidas por alimentos pueden manifestarse a través de infecciones ó intoxicaciones. ⁽³⁶⁾

3.9.1 INFECCIONES

Son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen microorganismos vivos perjudiciales. Por ejemplo: salmonelosis, hepatitis viral tipo A y toxoplasmosis. ⁽³⁶⁾

3.9.2 INTOXICACIONES

Son las ETA producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas o animales, o de productos metabólicos de microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional desde su producción hasta su consumo. Ocurren cuando las toxinas o venenos de bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido. Estas toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar enfermedades después que el microorganismo es eliminado. Algunas toxinas pueden estar presentes de manera natural en el alimento, como en el caso de ciertos hongos y animales como el pez globo.

Ejemplos: botulismo, intoxicación estafilocócica, o por toxinas producidas por hongos. ⁽³⁶⁾

3.10 ORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA

El uso de microorganismos indicadores se inició con la determinación de ***Escherichia coli*** en el agua, como prueba sustitutoria de la determinación de ***Salmonella typhi***. El concepto de microorganismos indicadores se basa en la afirmación hecha por Shardingger en el año 1892, según la cual las bacterias de las especies que hoy denominamos ***Escherichia coli*** podían ser utilizadas como índice ó indicadores de contaminación fecal, ya que podían ser aislados con mayor facilidad que las especies de ***Salmonella***. ⁽¹⁶⁾

Otros grupos de bacterias indicadoras y otras pruebas ideadas ó utilizadas incluyen los estreptococos fecales ó enterococos, las enterobacterias, los estafilococos, indicando la posible presencia de la endotoxina de ***Staphylococcus aureus*** ó un mal manejo. La mayoría de los alimentos industrializados excepto, por ejemplo, los productos fermentados, deben ser considerados como inadecuados para el consumo cuando contienen un gran número de microorganismos, aun cuando estos microorganismos no sean conocidos como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable los caracteres organolépticos del alimento. ⁽¹⁶⁾ El recuento de microorganismos mesófilos aeróbicos, conocido también como recuento de placas aeróbicas

(APC), es el método más usual para la estimación del número de microorganismos viables en alimentos, aunque frecuentemente es usado mal. El APC no mide el total de la población de bacterias en una muestra de comida, sino la fracción de la flora microbiana que es capaz de producir colonias en el medio de cultivo bajo las condiciones predominantes en la incubación de la placa. El fenómeno de contaminación de los alimentos es mixto, debido a la participación de bacterias, hongos filamentosos y levaduras, pero ha sido estudiado mayormente en bacterias y hongos filamentosos por su protagonismo en el daño. Aunque el papel de las levaduras es secundario en la contaminación microbiana de alimentos, las condiciones ambientales de preservación de estos, que tienden a inhibir el crecimiento de bacterias, han favorecido la aparición de levaduras contaminantes, causantes igualmente de afectaciones en los parámetros organolépticos de buena calidad en alimentos frescos, semielaborados y elaborados. ⁽¹⁶⁾

3.11 METODOS DE EVALUACION SANITARIA EN HORTALIZAS Y VERDURAS

3.11.1 RECUESTO EN PLACA DE BACTERIAS MESOFILAS AEROBIAS

Recuentos altos de BAM en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también

condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que puede haberse dado condiciones favorables o la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal. Algunas cepas de bacterias mesófilas comunes, no generalmente consideradas como agentes de enfermedades transmitidas por los alimentos por ejemplo: ***Proteus sp***, enterococos y pseudomonas mesófilas han sido señaladas como causa de enfermedad cuando existía un número elevado de células viables en los alimentos. ⁽²¹⁾ Sin embargo, los datos con que se cuenta acerca de la patogenicidad de estas cepas son conflictivos. No obstante, parece prudente evitar que los alimentos industrializados no fermentados den recuentos en placa elevados. En los casos anteriores, las bacterias aerobias mesófilas, como grupo (es decir, las que crecen en placa de agar a 30-37°C), pueden ser consideradas generalmente como organismos indicadores, aunque representan una medida mucho menos precisa y fiable del peligro de intoxicación alimentaria que otros indicadores. ⁽²¹⁾

Todas las bacterias patógenas conocidas vehiculadas por los alimentos son mesófilas y en algunos casos contribuyen con su presencia a los recuentos en placa encontrados.

Cuando la alteración de los alimentos es debida al desarrollo en ellos de microorganismos, la causa más frecuente de alteración, deben esperarse en los mismos recuentos elevados. Los niveles de población precisos para producir

modificaciones organolépticas ostensibles varían ampliamente según el tipo de alimento y, de modo particular, la clase de microorganismo. ⁽²¹⁾

En el momento en que la descomposición puede ser detectada por el olor, el gusto o el aspecto, la mayoría de los alimentos contienen más de 10^6 microorganismos por gramo (revisado por Elliott y Michener, 1961).

Algunos alimentos pueden ya ser inaceptables cuando contienen 10^7 bacterias por gramo, pero un número reducido de ellos se consumen aun cuando la población bacteriana alcance los 10^8 /gramo. Los productos fermentados, tales como el queso, alcanzan normalmente poblaciones microbianas del orden de 10^9 /gramo, mientras que este nivel de microorganismos se correlaciona con una alteración muy avanzada en otros alimentos no fermentados. ⁽²¹⁾

La alteración de los alimentos refrigerados es producida frecuentemente por bacterias que no pueden crecer a temperaturas de 30°C y superiores.

Así, los recuentos en placa de gérmenes aerobios realizados en alimentos alterados mientras se mantengan refrigerados pueden alcanzar cifras uno o más ciclos logarítmicos superiores cuando la incubación se hace a $5-28^{\circ}\text{C}$ que cuando se lleva a cabo a $35-37^{\circ}\text{C}$.

Los recuentos elevados de bacterias mesófilas, por ejemplo en productos crudos o no tratados, a menudo están constituidos por la microflora normal o quizás indican una alteración incipiente del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor. ⁽²¹⁾

3.11.2 COLIFORMES TOTALES

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Tradicionalmente se los ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano en razón de que, en los medios acuáticos, los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura. (21)

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

1. *Escherichia*
2. *Klebsiella*
3. *Enterobacter*
4. *Citrobacter*

No todos los autores incluyen al género *Citrobacter* dentro del grupo coliforme.

3.11.3 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. (21)

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.

El recuento de los coliformes tanto totales como fecales, se realiza por el NMP (número más probable) la cual es laboriosa, lenta y requiere mayor volumen de material de laboratorio, pero siendo muy sensible. El NMP se determina consultando tablas especialmente diseñadas, en las que se indica la concentración estimada de coliformes por 100mL de muestra. (1)

3.11.4 *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* es quizás el organismo procarionta más estudiado por el ser humano, se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales y por ende en las aguas negras. Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quién la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. Ésta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. Además produce vitaminas B y K. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram, es anaeróbico facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y su prueba de IMVIC es ++---.(23)

La *Escherichia coli* O157:H7 es una de cientos de cepas de la *Escherichia coli*. Aunque la mayoría de las cepas son inocuas y viven en los intestinos de los seres humanos y animales saludables, esta cepa produce una potente

toxina y puede ocasionar una enfermedad grave. Se diferencia de las otras *Escherichia coli* en que no fermenta el sorbitol, no crece a 44°C y no produce -glucoronidasa. La combinación de letras y números en el nombre de la bacteria se refiere a los marcadores antigénicos específicos que se encuentran en su superficie y la distingue de otros tipos de *Escherichia coli*: El antígeno somático O, proveniente del lipopolisacárido de la pared celular; el antígeno flagelar H, compuesto por 75 polisacáridos. (23)

El grupo de riesgo comprende prácticamente a todas las personas inmunocompetentes o no. Los niños menores de 5 años de edad con problemas de alimentación, así como los ancianos son los más susceptibles de contraer complicaciones graves. (23)

3.11.4.1 PATOGENIA

La *Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas, tales como infecciones del aparato excretor, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa. (23)

3.11.4.2 VIRULENCIA

La *Escherichia coli* entérica está dividida sobre la base de sus propiedades virulentas, pudiendo causar diarrea en humanos y otros animales, como cerdos,

cabras, ganado, perros y caballos. Otras cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad.

En muchos países ya hubo casos de muerte con esta bacteria. Generalmente le pasa a niños entre 1 año y 8 años. Causado generalmente por la contaminación de alimentos, y posterior mala cocción de los mismos, es decir, a temperaturas internas y externas menores de 70°C. (23)

3.11.4.3 CLASIFICACION (23)

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). (23)
- ***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. (23)
- ***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. ⁽²³⁾

- ***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. ⁽²³⁾
- ***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. ⁽²³⁾

- ***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.⁽²³⁾

3.11.5 ***Staphylococcus aureus***

El ***Staphylococcus aureus*** es una bacteria que se encuentra en la piel y fosas nasales de las personas sanas, causa gran variedad de infecciones, desde infecciones menores de la piel y abscesos cutáneos hasta enfermedades que pueden poner en peligro la vida como neumonía, meningitis, endocarditis, síndrome del shock tóxico (SST) y sepsis.⁽²³⁾

Es un coco que crece agrupado en racimos, que responde positivamente a la tinción de Gram, es aerobio y anaerobio facultativo por lo que puede crecer tanto en una atmósfera con oxígeno y también sin el mismo; no presenta movilidad ni forma cápsula. Es capaz de crecer hasta con un 10 % de sal común. Por esto puede crecer en el agua del mar. Produce la fermentación láctica. Es catalasa positivo y coagulasa positivo. ⁽²³⁾

3.11.5.1 EPIDEMIOLOGIA

El *Staphylococcus aureus* es un agente patogénico que actúa como un microorganismo saprófito, se encuentra en la piel del individuo sano pero en ocasiones en que las defensas de la piel caen puede causar enfermedad.

El principal grupo de riesgo lo constituyen los pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos. Cerca de 2 mil millones de personas han sido colonizadas mundialmente por este microorganismo. (23)

3.11.5.2 TOXINAS

Produce hemolisina, leucocidinas toxina del síndrome del shock tóxico, toxina epidermolítica y enterotoxinas.

Citotoxinas como:

- Alfa toxina: destruye monocitos y plaquetas (forma anillo polimérico)
- Beta toxina: esfingomielinasa C
- Gamma toxina: hemolítica

Para no tener problemas con este microorganismo es necesario evitar la contaminación cruzada en la elaboración de alimentos, almacenarlos a altas o bajas temperaturas para evitar o restringir su crecimiento y cocinar los alimentos. (23)

El ***Staphylococcus aureus***: es un agente corriente de las infecciones piógenas y de las toxiinfecciones alimentarias. Los estafilococos se diseminan por las actividades domésticas y comunitarias tales como hacer cama, vestirse o desvestirse. Se hallan presentes en fosas nasales, sobre la piel y el cabello de una gran proporción de la población. (23)

El ***Staphylococcus aureus*** es coagulasa positivo, lo cual constituye su característica más distintiva. En los pocos casos de un posible ***Staphylococcus aureus*** que no produce coagulasa puede realizarse la prueba para desoxirribonucleasa termoestable que es aún más específica.(23)

3.11.6 ***Salmonella***

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 (H₂S). 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. (23) Algunas salmonellas son comunes en la piel de tortugas y de muchos reptiles, lo cual puede ser importante cuando se manipulan a la vez este tipo de mascotas y alimentos. (23)

La ***Salmonella sp*** 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. ⁽²³⁾

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. ⁽²³⁾

3.11.6.1 EPIDEMIOLOGIA

La ***Salmonella sp*** recibe su nombre por Daniel Elmer Salmon, un patólogo veterinario norteamericano, aunque fue su colega y contemporario Theobald Smith (conocido por su trabajo con anafilaxis) quien descubrió la bacteria por primera vez en 1885, aislándola de cerdos con cólera. La salmonelosis entérica causada por ***Salmonella typhimurium***, con más de 2.000 cepas descritas, es de importancia en países en desarrollo, donde su incidencia está en aumento, y en algunos países, la enfermedad es endémica. ⁽²³⁾ La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria, en especial por alimentos de origen

animal y pueden aparecer en brotes en escuelas, guarderías, restaurantes y residencias de ancianos. El período de incubación es por lo general entre 12 a 36 horas, a veces hasta 6 y 48 horas. ⁽²³⁾ El único reservorio de la ***Salmonella typhi*** es el hombre, de modo que se transmite de una persona a otra. ⁽²³⁾

En el caso de la ***Salmonella sp***, es necesaria una inoculación relativamente grande, entre 10 a 100 millones de organismos, para provocar los síntomas en humanos saludables, según estudios hechos con voluntarios, al ser estas bacterias muy poco resistentes a los medios ácidos. Sin embargo, un pH estomacal artificialmente elevado, poco ácido, reduce enormemente el número de organismos necesario para provocar síntomas (de 10 a 100 órdenes de magnitud). ⁽²³⁾ La fiebre paratifoidea tiene ciertas similitudes con la fiebre tifoidea, pero tiene un curso más benigno. Las infecciones por ***Salmonella Paratyphi A*** son comunes en África, la paratifoidea B es más frecuente en Europa que se presenta como una gastroenteritis severa y la paratifoidea C es una infección rara, generalmente vista en el Extremo Oriente que se presenta como una septicemia. La salmonella habita normalmente en la superficie de los huevos, la piel de tomates y de aquellos frutos y verduras que tienen contacto con la tierra. ⁽²³⁾

3.11.6.2 PATOGENIA

Produce salmonelosis con un período de incubación de entre 5 horas y 5 días, diarrea y dolor abdominal, a través de las heces del enfermo se elimina un gran número de esta bacteria y fiebre entérica con un periodo de incubación de 7 a 28 días, causante de dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal y diarrea, erupción maculopapulosa en pecho y espalda, los enfermos presentan un período de convalecencia entre 1 y 8 semanas, las personas curadas eliminan ***Salmonella sp.*** También puede ocasionar fiebres entéricas o infección intestinal por intoxicación con algunos alimentos. ⁽²³⁾

3.11.7 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 N°3 ⁽³⁴⁾

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 ó residuales, ó abonados con estiércoles contaminados. ⁽²³⁾ 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. ⁽²³⁾

A continuación se exponen las más importantes parasitosis humanas de posible transmisión a través de hortalizas y frutas:

Uno de los más representativos es la ***Giardia lamblia***, que contamina a través de la manipulación directa de personas portadoras o de aguas contaminadas con restos fecales. Este tipo de parásito infecta, sobre todo mediante el riego, alimentos vegetales que no se tratan térmicamente, como ensaladas. También pueden producirse brotes de transmisión hídrica por ingesta de agua contaminada. ver anexo N°3 ⁽²³⁾

Otro ejemplo es la amebiasis, la cual es una infección del intestino grueso causada por la ***Entamoeba histolytica***, un parásito unicelular. La ***Entamoeba histolytica*** existe en dos formas durante su ciclo de vida: El parásito activo ó trofozoito, y el parásito inactivo ó quiste. ver anexo N°3

Los trofozoitos viven entre el contenido intestinal y se alimentan de bacterias o bien de la pared del intestino. Cuando se inicia la infección, los trofozoitos pueden causar diarrea, lo cual hace que salgan fuera del cuerpo. Una vez fuera,

los frágiles trofozoitos mueren. Cuando el enfermo no tiene diarrea, suelen convertirse en quistes antes de abandonar el intestino. Los quistes son muy resistentes y pueden diseminarse tanto directamente de persona a persona, como indirectamente a través de los alimentos o el agua. La transmisión directa se produce a través del contacto con heces infectadas. Es más probable que la amebiasis se propague entre los que viven en instituciones y tienen una higiene incorrecta que entre los que no viven de ese modo; también se hace más probable su contagio por contacto sexual, particularmente entre varones homosexuales, más que por un contacto eventual o fortuito. La transmisión indirecta de los quistes es más frecuente en las zonas con malas condiciones sanitarias, como los campos de trabajo no permanentes. Las frutas y verduras pueden contaminarse cuando crecen en tierra fertilizada con abono humano, se lavan con agua contaminada o las prepara alguien que está infectado. (23)

La ***Trichuris trichiura***, un gusano nematodo intestinal, causa una infección conocida como trichuriasis. Este parásito se encuentra principalmente en los trópicos y subtrópicos, donde la falta de medidas sanitarias y el clima cálido y húmedo brindan las condiciones necesarias para que los huevos incuben en la tierra.(32) La infección se produce cuando alguien ingiere alimentos que contienen huevos que se han incubado en la tierra durante 2 a 3 semanas.

Las larvas maduran en el intestino delgado, migran al intestino grueso y entierran sus cabezas en el revestimiento mucoso. (ver anexo N°4) (23)

Cada larva crece aproximadamente hasta 12 centímetros de largo. Las hembras maduras producen alrededor de 5 000 huevos al día, que se transmiten a través de las heces. (23)

Otro de los parásitos implicados en la contaminación de alimentos es ***Cryptosporidium parvum***, que afecta al agua, ensaladas y verduras crudas o leche sin pasteurizar. (23)

La ascaridiasis es una infección causada por ***Ascaris lumbricoides***, un gusano nematodo intestinal. (23) La infección se produce en todo el mundo, pero es más frecuente en zonas cálidas con deficientes condiciones sanitarias, en donde persiste largo tiempo debido a la defecación incontrolada de los niños. El ciclo vital del parásito ***Ascaris*** se parece al del parásito que produce trichuriasis, a excepción de que las larvas también migran hacia los pulmones. Una vez que ha madurado, migra por la pared del intestino delgado y es transportada por los vasos linfáticos y el flujo sanguíneo hasta los pulmones. De allí pasa a los sacos aéreos (alvéolos), asciende por el tracto respiratorio y es tragada. La larva madura en el intestino delgado, donde permanece como gusano adulto. Los gusanos adultos oscilan entre 15 y 50 centímetros de largo y de 2,5 a 5 milímetros de diámetro. (23)

La sintomatología puede producirse debido a la migración de las larvas a través de intestino y por la presencia del gusano adulto en el intestino.

El Comité de Expertos de la OMS en aspectos microbiológicos de los alimentos, clasificó los parásitos transmitidos por los alimentos en dos categorías:

- Parásitos cuya forma infectante se encuentra naturalmente en los alimentos (carne, pescado, moluscos, etc.)
- Parásitos procedentes del medio ambiente (suelo o agua), de los animales y de los manipuladores de alimentos, cuya forma infectante contamina los alimentos. ⁽²³⁾

Prevención para evitar la contaminación por parásitos:

- Mantener una adecuada higiene personal, que obliga sobre todo a lavarse bien las manos, especialmente después de ir al baño.
- Tapar cualquier corte o herida que pueda tenerse en las manos mientras se manipula comida.
- Consumir agua y materias primas seguras.
- Cubrir los alimentos para mantenerlos inocuos.
- Evitar la contaminación cruzada entre crudos y cocinados.
- Conservar limpias las superficies donde se manipulan los alimentos.
- Lavar bien los vegetales y pelarlos si es necesario.
- Cocinarlos bien y evitar consumirlos crudos. ⁽²³⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO:

- Experimental: Se llevó a cabo el análisis, en muestras de encurtidos, en el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador. (CENSALUD)
- Transversal: Éste estudio se realizó en el período de Septiembre a Noviembre de 2009.

4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

- Bibliotecas:
 - Dr. Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia; Universidad de El Salvador,
 - De las Ingenierías; Universidad de El Salvador,
 - Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador.
 - Biblioteca Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Bibliografía particular
- Internet

4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

INVESTIGACION DE CAMPO

El estudio de campo se realizó en todas las pupuserías del distrito dos, del área metropolitana de San Salvador; por medio de una prueba exploratoria en formato de encuesta, ver anexo N°11.

UNIVERSO

El universo fue conformado por treinta y una pupuserías, ordenadas en establecimientos fijos, ubicadas dentro del distrito dos, distribuido en cuatro zonas; del área metropolitana de San Salvador, a excepción de la zona uno que no presenta ningún establecimiento, ver anexo N° 6.

MUESTRA

Formada por diez muestras de alimentos encurtidos, equivalentes a 25g cada una, que se comercializan en diez de los establecimientos que forman parte del universo, ver anexo N° 6.

4.3.1 PRUEBA PRELIMINAR

Fue necesario llevar a cabo una prueba piloto, con diez muestras por duplicado, ya que no se contaba con una investigación previa; ésta prueba ayudó a calcular el error muestral máximo permisible en la investigación, la desviación

estándar de la población, así como también el porcentaje de pruebas positivas y negativas.

Estos valores se introdujeron en una fórmula estadística que calcula el tamaño muestral de la investigación. Dichos cálculos son descritos en el siguiente apartado. Las muestras fueron seleccionadas de manera aleatoria, tomando una muestra de diez pupuserías, hasta completar diez muestras totales para realizar la prueba preliminar ó piloto.

4.3.2 MUESTREO

Para la prueba piloto, se realizó un muestreo de tipo aleatorio simple, tomando como universo la totalidad de las pupuserías ubicadas dentro del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, seleccionándolas al azar. Se tomaron diez muestras de alimento encurtido, representando a diez pupuserías diferentes, del universo muestral; tomando una cantidad equivalente a 25g como mínimo, y realizando los análisis por duplicado.

TAMAÑO MUESTRAL

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el número de la muestra que se necesita para el estudio, a través de los datos obtenidos de la prueba piloto.

$$n = Z^2pq / d^2$$

Donde:

n = tamaño de muestra.

Z = grado de confianza del 95%.

Pq = desviación típica ó estándar de la población.

d = error muestral máximo permisible en la investigación

Cálculos

Datos de la Prueba piloto

$$n = Z^2 pq / d^2$$

Donde:

Z = 1.96 (valor obtenido por medio de la tabla de áreas bajo la curva normal)

Pq = desviación típica ó estándar de la población.

P=10 (Muestras que no cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano
RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de
alimentos)

q= 0 (Muestras que cumplen las normas)

$d = 0.9.$

Sustituyendo

$$N = \frac{(1.96)^2(1.0)(0.0)}{(0.9)^2}$$

$N = 0$

Interpretación de resultados: el valor de N es 0 por lo tanto, no es necesario tomar más muestras, ya que con la prueba piloto se alcanzó una cantidad de muestras que son representativas del universo estudiado.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

4.4.1 REALIZACION DE UNA GUIA DE OBSERVACIONES EN LA PREPARACION DE ENCURTIDO ARTESANAL

- Se elaboró una guía, con formato de encuesta, formulando preguntas exploratorias sobre, la elaboración y manejo de los encurtidos dentro del establecimiento. ver anexo N°11
- Previo a la toma de la muestra, el analista recolectó la información requerida por la guía, directamente de la persona que elabora el encurtido.
- La información recabada se analizó por medio de cálculos estadísticos.

- Luego se maceró suavemente el alimento encurtido para liberar el líquido de fermentación retenido, al cual se le tomó pH con papel indicador, mediante comparación con patrón.

4.4.2 TOMA, MANEJO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANALISIS MICROBIOLÓGICO

- Se tomó de un mismo frasco de encurtido 25g de muestra en una bolsa estéril de poliestireno, la cual posteriormente se cerró.
- Se procedió a colocar las bolsas identificadas como se explica a continuación, en una hielera portátil conteniendo hielo.
- Se transportó al laboratorio para su análisis, ver anexo N°12.⁽¹⁾

4.4.3 IDENTIFICACION DE LA MUESTRA

- Se identificó la bolsa inmediatamente después de colocar en ella la muestra, mediante etiquetas indelebles, con los siguientes datos: Fecha, lugar, hora del muestreo y el nombre de la persona que tomó la muestra.
- Se colocó la etiqueta en el nudo o cierre de la bolsa en forma tal que evitó que la muestra fuese alterada, ver anexo N°12. ⁽¹⁾

4.4.4 MEDICION DE pH DE LA MUESTRA

- Se maceró suavemente el alimento encurtido dentro de la bolsa, para extraer su jugo de fermentación.
- Luego se humedeció en este líquido, una tira de papel indicador de pH.

- Posteriormente se comparó contra un patrón de colores para determinar el valor de pH de la muestra.

4.4.5 PREPARACION DE LA MUESTRA

Preparación de la dilución 10^{-1} :

- Se pesó una cantidad de 25g de la muestra en una bolsa plástica estéril de tamaño adecuado.
- Luego se adicionó un volumen de 225mL de agua peptonada buferada, a una temperatura similar a la de la muestra.
- Se utilizó el homogenizador peristáltico (Stomacher), colocando la bolsa con la muestra por 2 minutos a 260 RPM, hasta obtener una suspensión completa y homogénea.
- Luego se transfirió el volumen líquido (aproximadamente 225mL) de la bolsa a un frasco de vidrio con cierre hermético.
- Se rotuló dilución 10^{-1} .

Preparación de las diluciones decimales adicionales:

- Se transfirió 10mL de la dilución 10^{-1} , en otro recipiente conteniendo 90mL de agua peptonada estéril a temperatura ambiente, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.
- Se agitó la dilución manualmente con 25 movimientos de arriba a abajo en un arco de 30cm efectuados en un tiempo de 7 segundos. Se rotuló dilución 10^{-2} .

- De la misma forma se transfirió 10mL de la dilución 10^{-2} , en otro recipiente conteniendo 90mL de agua peptonada estéril a la temperatura ambiente, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.
- Se agitó la dilución manualmente con 25 movimientos de arriba a abajo en un arco de 30cm efectuados en un tiempo de 7 segundos y se rotuló dilución 10^{-3} , ver anexo N°13.(1)

4.4.6 METODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA

- Se colocaron 6 placas estériles en la mesa de trabajo, rotulándolas de la manera siguiente: 2 placas dilución 10^{-1} , 2 placas dilución 10^{-2} , 2 placas dilución 10^{-3} .
- Luego se agregó a las placas de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , 1mL de la dilución correspondiente.
- Posteriormente se vertió aproximadamente 20mL del medio Estándar Método Agar en cada placa vertida, mezclándolo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio.
- Se dejó solidificar el medio y se incubaron las placas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por un período de 24 ± 2 h, a una temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- Se contó el total de las colonias desarrolladas en las placas, a excepción de aquellas formadas en la superficie de la placa, ver anexo N°14. (1)

4.4.7 DETERMINACION DE BACTERIAS COLIFORMES (16)

TECNICA DEL NUMERO MAS PROBABLE (NMP)

4.4.7.1 COLIFORMES TOTALES

- Se tomaron tres tubos conteniendo 9mL de caldo Fluorocult LMX.
- Luego se pipeteó y transfirió a cada uno de estos tubos 1mL 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 ± 2 horas y se observó la formación de una coloración verde azulada, la cual indica presencia de Coliformes totales. ver anexo N°5 (16)

4.4.7.2 COLIFORMES FECALES

- De los tubos que dieron positivo en caldo Fluorocult LMX, se transfirieron tres asadas a tubos conteniendo caldo EC y campana de Durham.
- Se incubaron en Baño María con flujo y temperatura constante, a 44.5°C por 24h.

- Se observó la formación de gas atrapado en la campana de Durham que indica la presencia de Coliformes Fecales. ver anexo N°15 ⁽¹⁶⁾

4.4.7.3 *Escherichia coli*

- 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 indica la presencia de *Escherichia coli*.
- A cada tubo con fluorescencia se le agregó, 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°15 ⁽¹⁾

4.4.8 METODO PARA LA DETERMINACION DE *Staphylococcus aureus*

- Utilizando una pipeta de 1.0mL, se depositó 0.3, 0.3 y 0.4mL de la dilución primaria sobre la superficie de 3 placas de agar Baird-Parker.
- Luego se distribuyó el inóculo sobre la superficie del agar con varillas estériles de vidrio en ángulo recto, utilizando una para cada dilución.
- Se mantuvieron las placas en su posición hasta que el inóculo fue absorbido por el agar.
- Se colocaron Invertidas las placas y se incubaron por 24h a 35°C. Las colonias que mostraron las siguientes características: negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, y que mostraron una zona opaca y un halo claro

alrededor de la colonia, se transfirieron a un tubo conteniendo caldo BHI (Brain Heart Infusion) incubándolo por 24h a 35° C.

- Se realizó la prueba de coagulasa y se observó a las 24 h, para verificar la formación de coagulo. ver anexo N°16 ⁽¹⁾

4.4.9 METODO PARA LA DETERMINACION DE *Salmonella*

4.4.9.1 AISLAMIENTO

- Se transfirió 1mL de la dilución 10^{-1} de la muestra a un tubo con 10mL de caldo tetrionato y a otro con 10mL de caldo selenito cistina.
- Luego se incubaron durante 24 h a 35°C.
- Pasadas las 24h se estrió directamente, de los tubos con caldo de enriquecimiento, en Agar Salmonella-Shigella
- Incubando las placas 24 ± 2 h a 35°C. ⁽¹⁾
- Se examinaron las placas para investigar la presencia de colonias típicas de ***Salmonella***, de acuerdo con las siguientes características:
- Agar SS: colonias translúcidas, ó de color anaranjado claro ocasionalmente opacas. Algunas colonias dan centro negro. Las colonias fermentadoras de la lactosa son rojas. ver anexo N°17 ⁽¹⁾

4.4.9.2 PRUEBA DE IDENTIFICACION BIOQUIMICA

Se realizaron pruebas IMVIC a las muestras que presentaron colonias características de ***Salmonella*** o que se sospechara que fuera esta bacteria.

PRUEBA DE TSI y H₂S

- Se seleccionaron dos colonias típicas de cada medio selectivo, tocando levemente el centro de cada colonia e inoculando en tubos con agar triple azúcar hierro (TSI), por estría en la superficie inclinada y por punción en el fondo. Incubándolo 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. ⁽¹⁾

PRUEBA DE INDOL

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

PRUEBA DE ROJO DE METILO

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

PRUEBA DE MOVILIDAD

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

PRUEBA DE VOGES PROSKAUER

- Se inoculó una colonia sospechosa, e incubó durante 24h a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- 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 indicaría una reacción positiva. ⁽¹⁾

Los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas se compararon con el cuadro de caracterización bioquímica de *Salmonella sp.* ver anexo N°4 ⁽¹⁾

4.4.10 METODO DE IDENTIFICACION DE PARASITOS ⁽¹²⁾

METODO CUALITATIVO (TINCIÓN CON LUGOL)

- Se tomaron dos asadas directamente de la dilución 10^{-1} de la muestra, colocándolas sobre un portaobjetos.
- Luego se agregó sobre la muestra una gota de Lugol y se cubrió con un cubreobjetos.
- 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 comparó las imágenes observadas al microscopio con láminas ilustrativas de parásitos ver anexo N°3.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 RESULTADOS DEL ANALISIS ESTADISTICO DE LAS ENCUESTAS DE DIAGNOSTICO

Para determinar la calidad sanitaria de los alimentos, se utilizaron herramientas exploratorias para conocer el proceso de manufactura de los alimentos encurtidos, basadas en encuestas.

Cuadro N°1: Resultados de la encuesta de diagnóstico para la guía de observaciones referentes a la elaboración y preparación de encurtidos.

Correlativo	Preguntas	Respuestas	%Total
1	Ingredientes utilizados	Vinagre, sal , zanahoria, repollo, cebolla	100
		Otros (color)	10
2	Tipo de Vinagre	Artesanal	40
		Industrial	60
3	Elaboración del Vinagre	Cáscara de piña	75
		No sabe	25
4	Pretratamiento a Materias Primas	Lavado con agua	10
		Lavado con agua y jabón	30
		Baño de agua hirviendo	50
		Todas las anteriores	10
5	Cuidados especiales	Lavado de verduras	100
		Lavado de manos	80
		Recipientes limpios	90
6	Tiempo de Fermentación	1 día	70
		3 días	20
		1 semana	10
7	Tratamiento posterior al uso	Ninguno	10
8	Frecuencia de limpieza en contenedores	Hasta que el encurtido se termina	80
		Al final del día	20
9	Tiempo de disponibilidad por contenedor, conteniendo encurtido	1 día	40
		entre 1 día y 1 semana	60

El análisis estadístico de las encuestas dio los siguientes resultados:

- El 100% de los establecimientos utilizan vinagre, repollo, orégano, zanahoria, sal, chile y cebolla para producir alimentos encurtidos. El 10% de los encuestados adicionan colorante al encurtido.
- El 40% de los establecimientos utiliza vinagre artesanal y el 60% utiliza vinagre comercial.
- De los establecimientos que utilizan vinagre artesanal, el 75% utiliza vinagre proveniente de la cáscara de piña y el 25% restante, no sabe de dónde proviene el vinagre.
- Antes de elaborar el encurtido el 10% de los establecimientos lavan solamente con agua los vegetales que utilizan, el 30% los lava superficialmente con agua y jabón, el 50% lo pasa rápidamente por agua hervida y el 10% restante, los lava con agua y jabón, para luego pasarlo por agua hervida.
- Entre las medidas higiénicas que los manipuladores utilizan durante el proceso de manufactura, podemos mencionar lavado de manos, lavado de verduras, utilización de utensilios y recipientes limpios.
- El 70% de los establecimientos fermenta el encurtido durante 1 día, el 20% por 3 días y el 10% por una semana.
- Luego de la exposición del alimento a la manipulación de los consumidores, ninguno de los establecimientos somete a tratamiento de conservación sus productos.

- La limpieza para los contenedores utilizados en la distribución de los encurtidos, es realizada en un 20% de los establecimientos al final del día, y en el 80% de los casos, hasta que el alimento encurtido se ha agotado.
- Los recipientes con encurtido, se ofrecen al público por períodos de 1 día en el 40% de las ocasiones, y de un día a una semana en el 60% de las ocasiones, sin que se realice la operación de limpieza.

5.2 RECUESTO TOTAL DE BACTERIAS MESOFILAS AEROBIAS

Cuadro N°2: Resultado de Recuento total de Bacterias Mesófilas Aerobias.

Muestra	Recuento Total de BAM (UFC/g)	Límite en RTCA
D2Z2-I	25000	<10 UFC/g
D2Z3-J	13000	
D2Z3-G	> 6500000	
D2Z3-O	> 6500000	
D2Z3-N	23000	
D2Z3-F	> 6500000	
D2Z3-K	26000	
D2Z3-I	> 6500000	
D2Z4-E	3500	
D2Z4-C	> 6500000	

Como resultado del análisis microbiológico, el recuento de bacterias mesófilas aerobias en las muestras analizadas arrojó conteos en un rango comprendido entre 3,500 UFC/g y 6,500,000 UFC/g. Al comparar este rango con el límite (<10 UFC/g) establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos, cuyo recuento total límite es de 10 UFC/g máximo; se observa que todas las muestras analizadas no cumplen con la especificación.

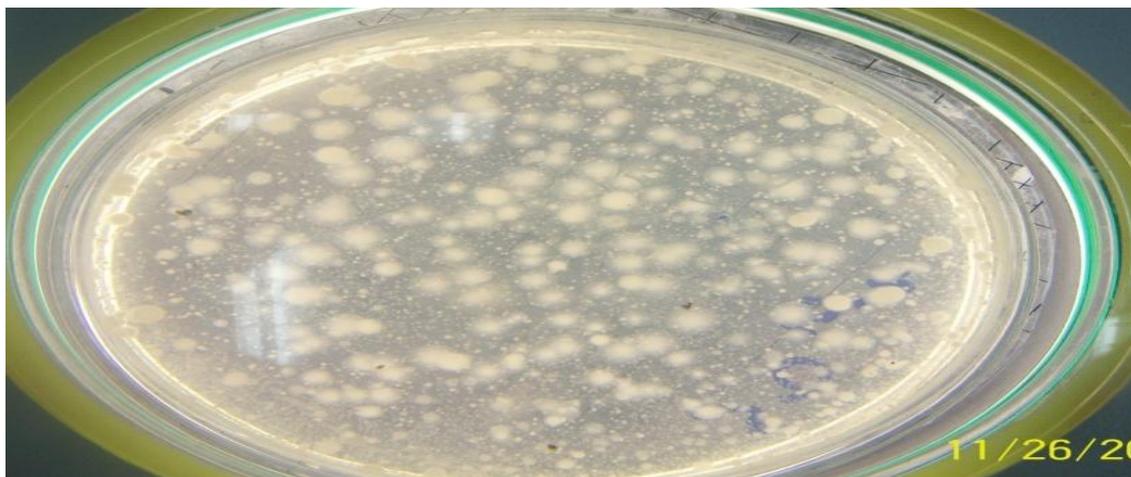


Figura N°1. Recuento total de BAM en placa con Agar Plate-Count.

5.3 RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES FECALES

Cuadro N°3: Resultados del Recuento de Bacterias Coliformes Fecales.

Muestra	<i>Escherichia coli</i> NMP/g	Límite en RTCA
D2Z2-I	4	<3 NMP/g
D2Z3-J	43	
D2Z3-G	4	
D2Z3-O	<3	
D2Z3-N	<3	
D2Z3-F	9	
D2Z3-K	<3	
D2Z3-I	14	
D2Z4-E	<3	
D2Z4-C	<3	

Se analizaron las muestras por medio de la técnica del número más probable para determinar bacterias coliformes fecales, obteniendo como resultado que del total de 10 muestras, 5 muestras con código D2Z2-I, D2Z3-J, D2Z3-G, D2Z3-F y D2Z3-I, dieron valores superiores a 3 NMP/g, el cual es el límite máximo de la norma; lo cual indica una contaminación por heces fecales.

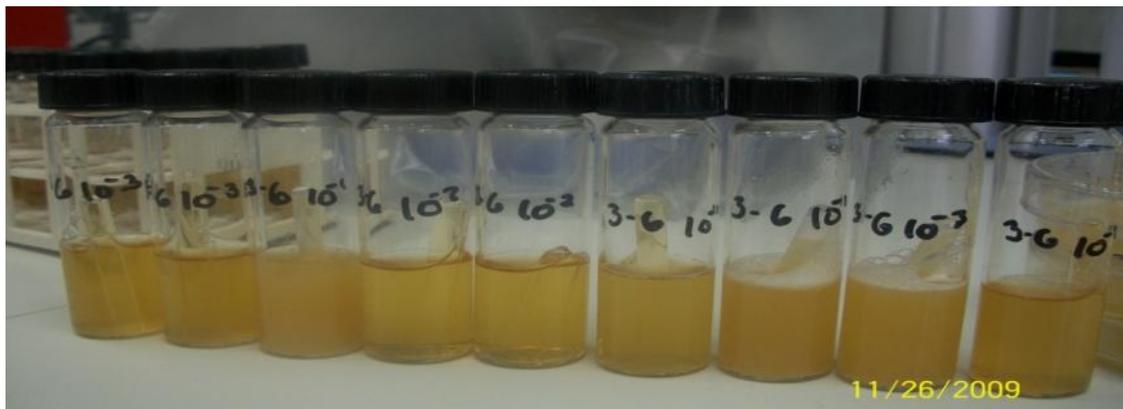


Figura N°2. Determinación de coliformes fecales en caldo EC.

5.4 DETERMINACION DE *Escherichia coli*

Cuadro N°4: Resultado de la Determinación de *Escherichia coli*.

Muestra	Coliformes fecales NMP/g	Límite en RTCA
D2Z2-I	4	<3 NMP/g
D2Z3-J	43	
D2Z3-G	4	
D2Z3-O	<3	
D2Z3-N	<3	
D2Z3-F	9	
D2Z3-K	<3	
D2Z3-I	14	
D2Z4-E	<3	
D2Z4-C	<3	

Al analizar las 5 muestras con valores superiores al límite del punto anterior, y agregando reactivo de Kovac, se observó el desarrollo de un anillo violeta en la superficie del tubo, lo cual indica la presencia de *Escherichia coli*.

Se confirmó la presencia de *Escherichia coli* con la formación de gas en la campana de Durham, colocada en el caldo EC.

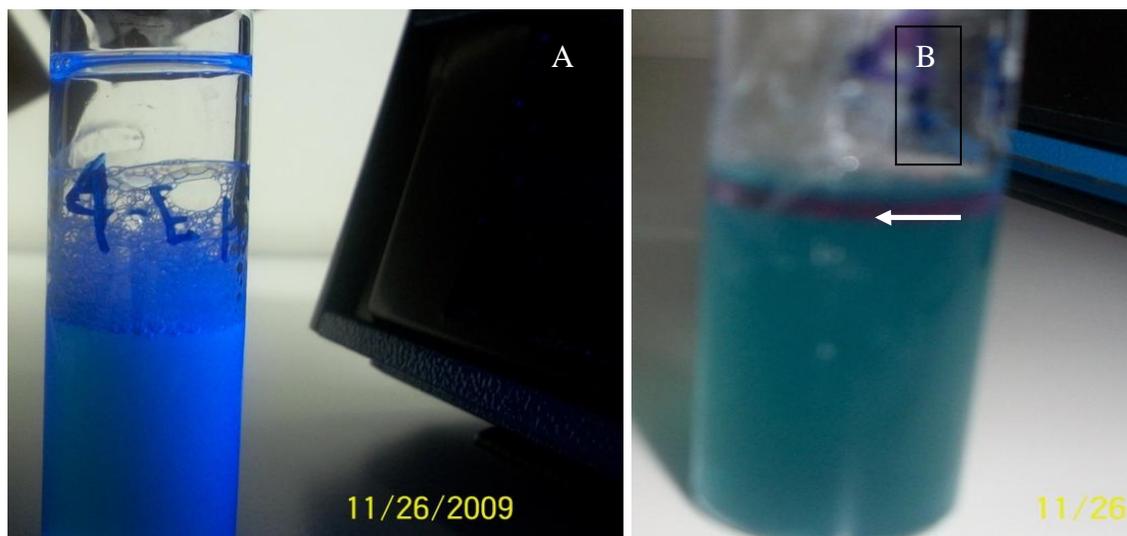


Figura N°3. A. Tubo con caldo Fluorocult LMX.
 B. Observar la formación de un anillo violeta al adicionar reactivo de Kovac.

5.5 DETERMINACION DE *Staphylococcus aureus*

Cuadro N°5: Resultado de la Determinación de *Staphylococcus aureus*.

Muestra	<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	Límite en RTCA
D2Z2-I	< 100	<100 UFC/g
D2Z3-J	< 100	
D2Z3-G	< 100	
D2Z3-O	< 100	
D2Z3-N	< 100	
D2Z3-F	< 100	
D2Z3-K	< 100	
D2Z3-I	< 100	
D2Z4-E	< 100	
D2Z4-C	< 100	

En el ensayo para la determinación de *Staphylococcus aureus* en las muestras, 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.

El recuento de *Staphylococcus aureus* fue menor de 100 UFC/g, cumpliendo así con el parámetro de referencia.

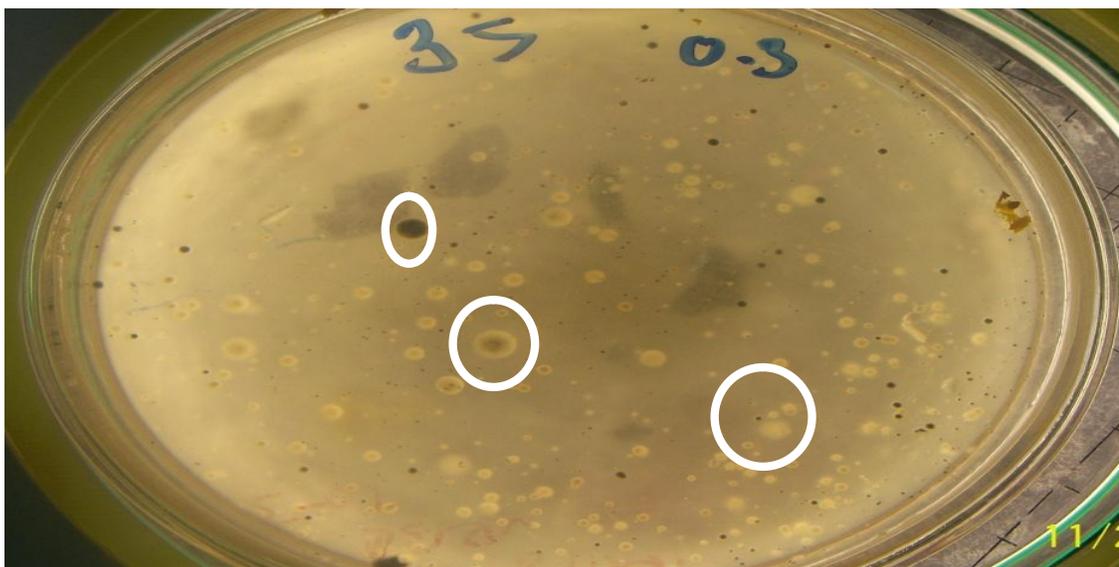


Figura N°4. Placa de Agar Baird-Parker con colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.

5.6 DETERMINACION DE *Salmonella sp*

Cuadro N°6: Resultado de la Determinación de *Salmonella sp*.

Muestra	<i>Salmonella sp</i>	Límite en RTCA
D2Z2-I	Ausencia	Ausente en 25g de Mx
D2Z3-J	Ausencia	
D2Z3-G	Ausencia	
D2Z3-O	Ausencia	
D2Z3-N	Ausencia	
D2Z3-F	Presencia	
D2Z3-K	Ausencia	
D2Z3-I	Ausencia	
D2Z4-E	Ausencia	
D2Z4-C	Ausencia	

En las muestras, se observó crecimiento de colonias características de *Salmonella sp* en agar Salmonella-Shigella; la cual se confirmó por medio de pruebas de caracterización (IMVIC), dando positivo únicamente la muestra con código D2Z3-F.



Figura N°5. Colonias sospechosas de *Salmonella sp*.

5.7 DETERMINACION DE PARASITOS EN LAS MUESTRAS

Cuadro N°7: Resultado de la determinación de parásitos en las muestras.

Mx	pH	Vinagre	Observaciones	Parásito Observado
D2Z2-I	4.0	Industrial	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i>
D2Z3-G	3.0	Artesanal	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto, abundante cúmulos de heces. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Entamoeba coli</i>
D2Z3-J	3.5	Artesanal	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto, abundante cúmulos de heces. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Giardia intestinalis</i>
D2Z3-N	4.0	Industrial	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Giardia intestinalis</i>
D2Z3-O	4.0	Industrial	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Entamoeba coli</i>
D2Z3-I	3.0	Artesanal	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Entamoeba coli</i> y <i>Giardia intestinalis</i>
D2Z3-K	3.0	Industrial	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Giardia intestinalis</i>
D2Z3-F	3.0	Artesanal	Ecurtido color naranja oscuro, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Entamoeba coli</i>
D2Z4-C	3.0	Industrial	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Giardia intestinalis</i>
D2Z4-E	3.0	Industrial	Ecurtido color grisáceo, olor agrio, aspecto descompuesto. Abundantes levaduras y bacterias al observar bajo microscopio.	Quistes de <i>Giardia intestinalis</i>

En todas las muestras seleccionadas se encontraron parásitos, siendo los más comunes los quistes de *Entamoeba coli* y *Giardia intestinalis*, así como huevos de *Ascaris lumbricoide*.

CUADRO N° 8: Porcentaje de muestras analizadas que cumplen y no cumplen con los parámetros del Reglamento Técnico Centroamericano.

Muestras que no cumplen con la Normativa correspondiente	
Cumple	No Cumple
0%	100%

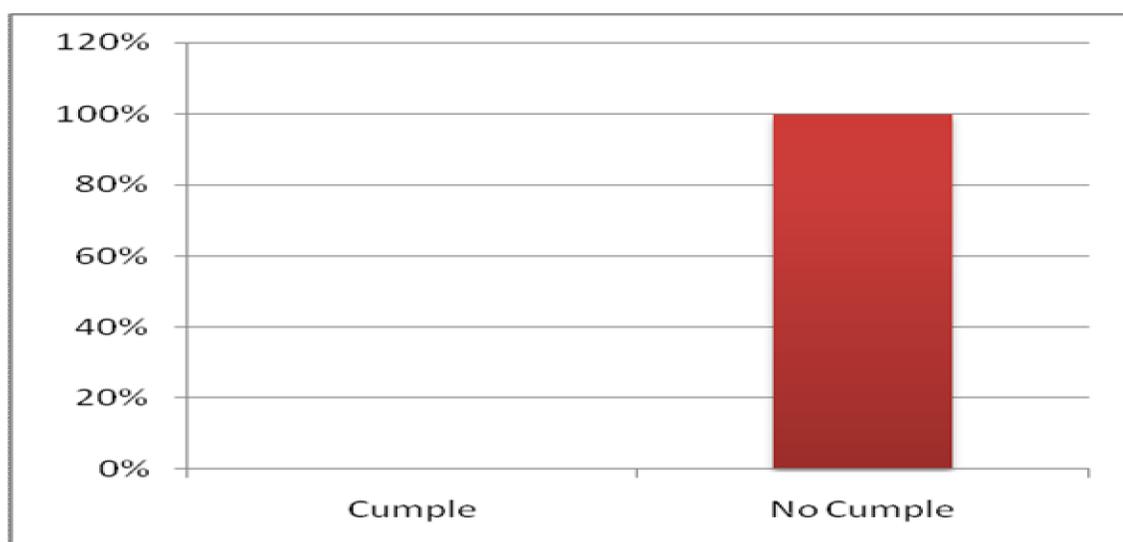


Figura N°6. Gráfico de barras comparativo, para el porcentaje de muestras que cumplen y que no cumplen los límites del RTCA 67.04.50:08.

El 100% de las muestras analizadas, no cumple con los límites establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos, para bacterias mesófilas aerobias; el cual es referencia en este estudio, por lo tanto no son aptas para consumo humano.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Las medidas higiénicas implementadas durante la manufactura del alimento, no son efectivas debido a que la limpieza de los contenedores, se realiza hasta que el alimento se agota.
2. La cuantificación de bacterias mesófilas aerobias y coliformes fecales muestran un alto grado de contaminación dando valores muy por encima del límite establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos; esto deriva de las materias primas utilizadas, así como del proceso de elaboración de estos alimentos.
3. La investigación de microorganismos patógenos reveló que del total de las muestras recolectadas, el 50% está contaminada con ***Escherichia coli***, el 10% con ***Salmonella sp.***
4. El ***Staphilococcus aureus***, está ausente en el 100% de las muestras. Esto se debe a las condiciones adversas de pH del sustrato (4.0-3.0), mientras que su pH óptimo de crecimiento es de 7.0-7.5.
5. La totalidad de las muestras están contaminadas con parásitos tales como ***Ascaris lumbricoides***, ***Entamoeba coli*** y ***Giardia intestinalis***, por lo cual estos alimentos constituyen una fuente importante de infección para los consumidores.

6. Ninguna de las muestras seleccionadas, cumple con los parámetros de referencia establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que los Agricultores apliquen las Buenas Prácticas Agrícolas para tener la seguridad que las hortalizas sean inocuas desde su origen, así como los productores de estos alimentos apliquen las Buenas Prácticas de Manufactura, reforzando las medidas de limpieza aplicadas durante el proceso de elaboración del alimento.
2. A los fabricantes de encurtidos, si utilizan vinagre artesanal para fermentar el alimento encurtido, darle un tratamiento térmico (hervir), para disminuir la contaminación biológica.
3. A los establecimientos, que comercializan alimentos encurtidos, implementar las Buenas Prácticas Higiénicas adaptadas a la fabricación de alimentos. Utilizar solo insumos de procedencia confiable y seguros.
4. Almacenar los encurtidos sin manipulación, a temperaturas no mayores de 10°C, por períodos cortos de tiempo.
5. Evaluar los procesos de recolección, limpieza, elaboración, almacenamiento y distribución, implementados por los proveedores de materias primas, así como la salud de los manipuladores a fin de evitar la contaminación del alimento terminado.
6. Evitar el contacto directo del alimento encurtido y su envase contenedor, con las manos de los consumidores, utilizando un instrumento adecuado para su servicio.

7. A las autoridades Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), dar seguimiento sanitario a los establecimientos de alimentos encurtidos, a fin de asegurar el cumplimiento de los parámetros establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.
8. A la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, que capacite a los manipuladores de los establecimientos sobre buenas prácticas higiénicas y buenas prácticas de fabricación, adaptadas a la fabricación de los alimentos.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. AOAC International (Association of Analytical Communities).1992. Bacteriological Analytical Manual. 7ª edición. USA, Arlington.
2. Azorín Poch F. 1972. Curso de muestreo y aplicaciones. España, Madrid. Editorial Aguilar.
3. Benítez Palomeque E. 1996 Good Manufacturing Practices. España, Madrid. Editorial Imprime Graficas Fanny.
4. Bravo Díaz L. 2006. Farmacognosia. España. Editorial Elsevier España.
5. CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) et al. 2004. Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08. Centro América.
6. Earle R.L. 1998. Ingeniería de los alimentos. 2ª Edición. España, Zaragoza. Editorial Acribia.
7. Escartín E. 2000 Microbiología e inocuidad de los alimentos. Primera edición. México, Universidad Autónoma de Querétaro.
8. Escoto Umaña W. y otros. 2004. Propuesta de manejo del cultivo de pipián Cucurbita argyrosperma ssp. argyrosperma dentro del contexto de buenas prácticas agrícolas en el Caserío Río Frío distrito de riego y avenamiento Lempa-Acahuapa, San Vicente, El Salvador. Ingeniería en Ciencias Agronómicas, San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador.

9. Espinoza Alemán C. y otros. 1999. Evaluación de la calidad microbiológica de ensaladas frescas elaboradas artesanalmente en los comedores de los mercados del área de San Salvador y Antiguo Cuscatlán. Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador. Páginas 57 y 58.
10. FAO (The Food and Agriculture Organization) Codex STAN 150-85. 1985. Norma del Codex para la Sal de Calidad Alimentaria, Suplemento1 al CAC/v01. XII - Ed. 1, Italia, Roma.
11. FAO. (The Food and Agriculture Organization) 2004. Manual for trainers in fruit and vegetables safety. Consultado en Febrero de 2009. Disponible en: <http://www.fao.org>
12. Faust y Craig. 1974. Parasitología clínica. España, Barcelona. Editorial Salvat.
13. Flores Hernández A. y otros. 2005. Propuesta de un manual de procedimientos normalizados de análisis microbiológico de alimentos para un laboratorio de microbiología. Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador.
14. Herrera Díaz J. y otros. 2008. Determinación de la inocuidad microbiológica de dos marcas de ensaladas empacadas listas para consumo, comercializadas en los supermercados del área metropolitana de San Salvador. Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador.

15. Jawetz E., y otros. 2005. Microbiología Médica. Manual moderno 18ª edición. México.
16. Jay J. Microbiología Moderna de Los alimentos, cuarta edición. España, Zaragoza. Editorial Acribia S.A. Páginas 123, 169, 361, 535.
17. Lagos J. A. 1983. Compendio de Botánica Sistemática. Segunda edición. El Salvador, San Salvador. Página 213, 251.
18. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador). 2008. Las Hortalizas. Consultado en Enero de 2009. Disponible en: <http://www.sica.gov.ec>
19. Mejía Saravia J. y otros. 2004. Parásitos de importancia clínica encontrados en vegetales y frutas. Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América. Universidad de El Salvador.
20. Monge R. 1996. Presencia de oocitos de *Cryptosporidium* en vegetales frescos. *Journal of Food Protection*, Vol. 59: 202-203.
21. Moreno García B. Análisis Microbiológico de los Alimentos. España, Zaragoza. Editorial ACRIBIA.
22. MSPAS (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social). 2008. Informe de labores 2002-2007. El Salvador, San Salvador.
23. Sherris J.C. 2004. Microbiología Médica, Una Introducción a las Enfermedades Infecciosas. Primera Edición en español. México, México D.F. Editorial McGraw-Hill Interamericana.

24. Smith B. L. 1992. FAO/OMS Comisión de CODEX Alimentarius. Roma, Italia.
25. Vaclavik V. A. 1998. Fundamentos de ciencia de los alimentos. Primera edición. España, Zaragoza. Editorial Acribia.
26. Vega y otros. 2005. Determinación de bacterias de origen fecal en hortalizas cultivadas en Xochimilco de octubre de 2003 a marzo de 2004. Universidad Simón Bolívar D. F, México. Consultado en Julio de 2009. Disponible en: <http://www.usb.edu.mx/downloads/publicaciones/No6>
27. <http://www.analizacalidad.com>. Analiza Calidad. Microorganismos indicadores. 2008. Consultada en Febrero de 2009.
28. <http://www.telmeds.org> Atlas virtual de parasitología. Consultado en Marzo de 2009.
29. <http://www.publiboda.com/cm/pbreceta/3091/CURTIDO> Curtido para Pupusas. 2008. Consultado en Enero de 2009.
30. <http://www.elsalvador.com/noticias/2006/11/11/nacional/nac6.asp> El Diario de Hoy, Aval a pupusas, Superan pruebas de Laboratorio. Consultado en Enero de 2009.
31. <http://ucce.ucdavis.edu> Mejorando la Seguridad y la Calidad de Frutas y Hortalizas Frescas. Consultado Enero de 2009.

32. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html> Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, bienes y servicios. Practicas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Consultada en Febrero de 2009.
33. <http://www.ministeriodesalud.go.cr/reglamentos/18959-ms.pdf> Norma Oficial para la Sal de Calidad. Consultada en Febrero de 2009.
34. <http://biblioteca.sp.san.gva.es> Plan de seguridad alimentaria. Consultado Enero de 2009.
35. http://bvs.sld.cu/revistas/spu/vol30_3_04/spu16304.htm Revista Cubana de Salud Pública. Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. 2004. Consultada en Febrero de 2009.
36. <http://www.Worldfoodscience.org> The World of Food Science. Enfermedades transmitidas por los alimentos. 2008. Consultada en Febrero de 2009.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Cuadro N° 9: Receta de encurtido de repollo para pupusas. (29)

CANTIDAD	INGREDIENTE
1/4 de taza	vinagre blanco
1 cucharadita	Sal
1/2 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



Figura N°7. Fotografía de alimentos encurtidos (Encurtido para pupusas)

ANEXO N° 2



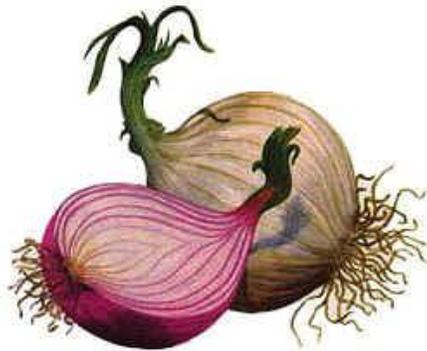
a) *Oreganum vulgare* L. Orégano



b) *Brassica oleracea* var. *Capitata*, repollo



c) *Capsicum annum*, Chile



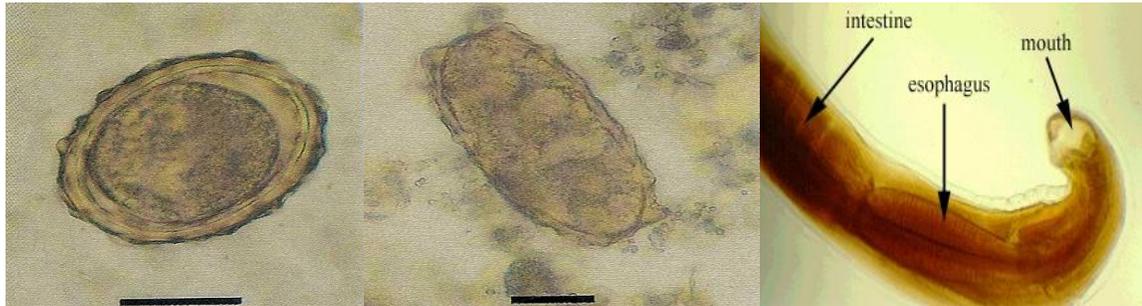
d) *Allium cepa*, cebolla



e) *Daucus carota sativus*, Zanahoria

Figura N°8. Imágenes de especies vegetales comúnmente utilizadas en la elaboración de encurtidos artesanales.(17)

ANEXO N° 3



a) *Ascaris lumbricoides*
huevo fértil

b) *Ascaris lumbricoides*
huevo infértil

c) *Ascaris lumbricoides*
adulto



d) *Giardia intestinalis*, quiste

d) *Entamoeba coli*, quiste
dos núcleos

e) *Entamoeba coli*, quiste
cuatro núcleos

Figura N°9. Fotografías de la morfología de parásitos *Ascaris lumbricoides*, *Giardia intestinalis* y *Entamoeba coli*.⁽¹⁵⁾

ANEXO N° 4

Cuadro N°10: Pruebas bioquímicas para *Salmonella sp* ⁽¹⁾

PRUEBA	RESULTADO
H ₂ S	+
TSI	K/A gas (+/-)
INDOL	-
VP	-
RM	+
Citrato	+
Movilidad	+

Cuadro N°11: Ensayos y límites en RTCA 67.04.50:08 para conservas vegetales y alimentos preparados, listos para consumir que no requieren tratamiento térmico. ⁽⁵⁾

Ensayo	Límite Establecido
Recuento de bacterias mesófilas aerobias	<10 UFC/g
Coliformes Fecales	<3 NMP/g
Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	10 ² UFC/g
Determinación de <i>Salmonella</i>	Ausente en 25g de muestra
Determinación de <i>Escherichia coli</i>	<3 NMP/g

ANEXO Nº 5

Cuadro Nº12: Número más probable para tres tubos ⁽¹⁾

No. de tubos positivos por dilución			95% de límite de confianza
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	NMP/g
0	0	0	<3
0	1	0	3+
1	0	0	4
1	0	1	7+
1	1	0	7
1	2	0	11+
2	0	0	9
2	0	1	14+
2	1	0	15
2	1	1	20+
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	39
3	1	0	43
3	1	1	75
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210+
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>1100

ANEXO N° 6

Cuadro N°13: Distribución del universo muestral del distrito N° 2, del área metropolitana de San Salvador.

Nº	CODIGO	PUPUSERIA	DIRECCIÓN
ZONA 2			
1	D2Z2-A	GABRIELA	Col. Serramonte, ave. Bernal y Calle San Antonio Abad #37B
2	D2Z2-B	ANAÍ	Col. Serramonte II, ave. Bernal #11
3	D2Z2-C	MICHELLAS	Col. Serramonte II, ave. Bernal
4	D2Z2-D	BERNAL	Col. Serramonte II, ave. Bernal
5	D2Z2-E	NELLY☿	Barrio Santa Lucía, ave. Bernal y Calle El Progreso
6	D2Z2-F	VISTA HERMOSA	Barrio Santa Lucía, ave. Bernal y Calle Donald Bank #211
7	D2Z2-G	LA ESQUINITA PUPUSERA	Urbanización Altos de Miramonte, calle los Sisimiles y pasaje los Geranios
8	D2Z2-H	SANTANECA	Urbanización Altos de Miramonte, calle los Sisimiles #30
9	D2Z2-I	PANES Y PUPUSAS DOÑA DELMY	Urbanización Altos de Miramonte, calle los Sisimiles y avenida Augusta
ZONA 3			
10	D2Z3-A	MAYA	Reparto Santa fe, avenida Morazán, calle Los Lirios
11	D2Z3-B	PEMMY	Centro urbano Libertad, avenida Washington
12	D2Z3-C	LAS VIOLETAS	Urbanización San Luis, calle principal #38-A block 3
13	D2Z3-D	LA ESQUINITA	Urbanización San Luis, calle ppal., avenida 4 block 4
14	D2Z3-E	CLAUDIA	Urbanización San Luis, avenida Izalco #39-B block 6
15	D2Z3-F	IZALCO	Urbanización San Luis, avenida Izalco #B2C9
16	D2Z3-G	SAN LUIS	Residencial San Luis, Boulevard Universitario #1
17	D2Z3-H	LA TURQUITA	Residencial San Luis, Boulevard Universitario, senda 6, #4F
18	D2Z3-I	PUPUSERIA FAMILIAR ENMANUEL	Residencial San Luis, Boulevard Universitario, #37F
19	D2Z3-J	DANIEL☿	Residencial San Luis, Boulevard Universitario
20	D2Z3-K	OLOCUILTA #3	Residencial San Luis, final Boulevard Universitario, Avenida Bernal
21	D2Z3-L	MERENDERO LAS ROSAS	Colonia Las Rosas, Ave Bernal, calle Santa Teresa

Cuadro N°13: (Continuación) Distribución del universo muestral del distrito N°2, del área metropolitana de San Salvador.

Nº	CODIGO	PUPUSERIA	DIRECCIÓN
ZONA 3			
22	D2Z3-M	PUPUSERIA ᄇᄃᄇ	Colonia Las Rosas, Ave Bernal, calle Santa Teresa
23	D2Z3-N	CAFETERIA Y PUPUSERIA MISTER COFFEE TIME	Colonia Las Rosas, Ave Las Flores #110
24	D2Z3-O	JOSUÉ	Colonia Las Rosas, Ave Bernal, avenida Las Flores #137
25	D2Z3-P	COMEDOR Y PUPUSERIA REBECA	Centro comercial Andrómeda, Boulevard Constitución
26	D2Z3-Q	GEKO MAYA	Colonia Ciudad Satélite, Boulevard Constitución #3
ZONA 4			
27	D2Z4-A	JUAN PABLO	Residencial Escalón norte, Prolongación Alameda Juan Pablo II, Calle El Escorial
28	D2Z4-B	CAFETERIA Y COMIDA A LA VISTA LOS GIRASOLES	Residencial Escalón norte, 75 ave norte.
29	D2Z4-C	DELICIOSAS PUPUSAS	Condominio Jardines de la Escalón, edificio G apartamento 102
30	D2Z4-D	PUPUSERIA PATY	Colonia 15 de Noviembre, calle 15 de Noviembre # 51
31	D2Z4-E	PUPUSERIA SAN ANTONIO	Residencial Monte fresco, calle principal

ANEXO N° 7



Figura N°10. Mapa de la zona 1, del distrito número dos, del área metropolitana de San Salvador. No se encuentran marcas, de ubicación debido a la ausencia de establecimientos que comercialicen pupusas.

ANEXO Nº 8



Figura Nº11. Mapa de la zona 2, del distrito número dos, del área metropolitana de San Salvador. En color verde aparecen los establecimientos muestreados.

ANEXO Nº 10



Figura Nº13. Mapa de la zona 4, del distrito número dos, del área metropolitana de San Salvador. En color verde aparecen los establecimientos muestreados.

ANEXO Nº 11

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
DETERMINACION DE MICROORGANISMOS DE INTERES SANITARIO DE
ENCURTIDOS ARTESANALES UTILIZADOS EN PUPUSERIAS DEL
DISTRITO NUMERO DOS DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR

Indicaciones : Lea detenidamente las preguntas de la encuesta y conteste lo que se le pide.

1. Seleccione los ingredientes que ocupa para la producción de encurtido de pupusas

- vinagre ____
- Sal ____
- orégano ____

- repollo ____
-chile ____
-cebolla ____

- zanahorias ____
- Otros : ____

2. ¿Que Tipo de vinagre utiliza?

-Artesanal____ - Industrial____

3. si utiliza vinagre artesanal de ¿que ingredientes esta manufacturado?

4. ¿Que tratamiento se le da a las materias primas previo a su elaboración?

5. ¿Que cuidados especiales tiene al momento de elaborar el encurtido?

6. ¿Cuanto tiempo deja fermentar el encurtido?

7. ¿Cuando el encurtido ha sido manipulado por los clientes, que tratamiento se le da a este?

8. ¿con que frecuencia limpia los contenedores de encurtido?

9. ¿Por cuanto tiempo utiliza el encurtido?

menos de un dia ____
un dia ____
mas de un dia ____

ANEXO Nº 12

Tomar 25g de Mx
•Lavarse las manos
•Colocar guantes de latex



Identificar la Mx
•Hacer nudo a la bolsa
•Colocar la Mx en bolsa



Transporta a laboratorio
•Colocar Mx en hielera portátil
•Identificar Mx

a) Procedimiento para el muestreo

Identificar la bolsa
inmediatamente con
etiqueta



Colocar fecha, lugar,
hora, código de
muestra y nombre de
quien muestrea.



Colocar etiqueta
sobre el cierre de la
bolsa

b) Procedimiento para la identificación de la muestra

Figura Nº14. Toma, manejo y transporte de muestras de alimentos, para su análisis microbiológico.

ANEXO N° 13

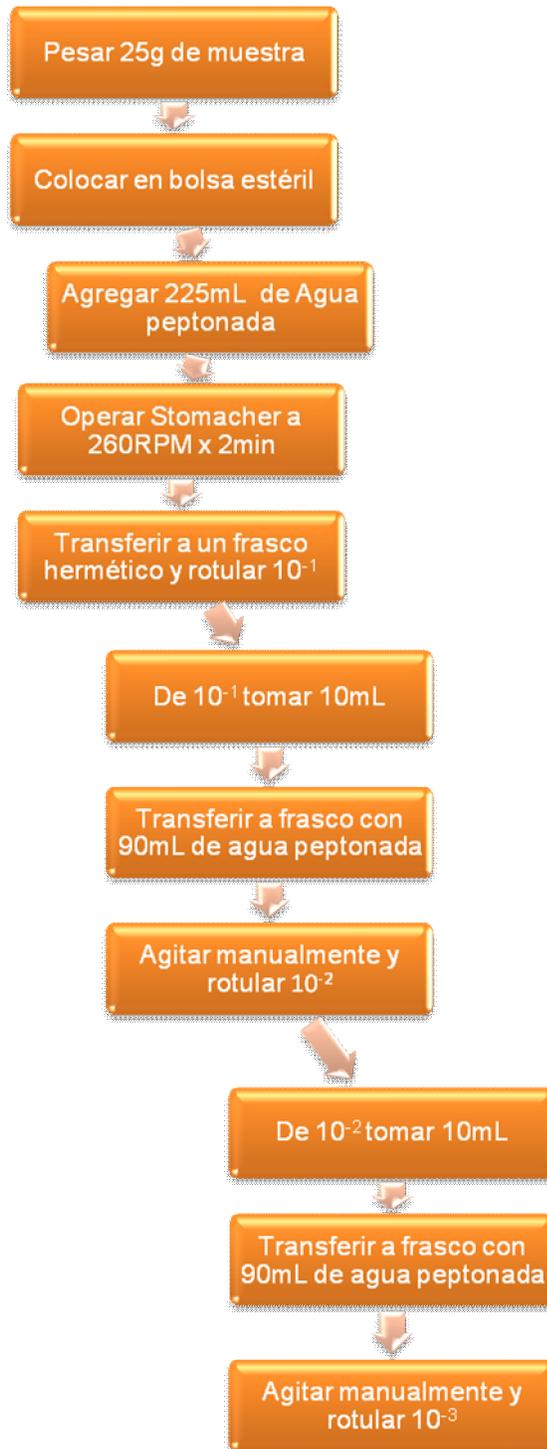


Figura N°15. Diagrama para la preparación de la muestra.

ANEXO N° 14

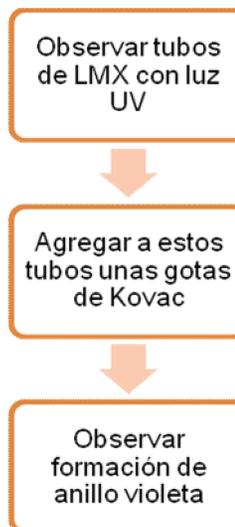


Figura N°16. Método para la cuenta de Bacterias Mesófilas Aerobias (BAM).

ANEXO N° 15



a) Determinación de Coliformes Fecales



b) Determinación de *Escherichia coli*

Figura N°17. Determinación de bacterias coliformes en muestras de alimentos.

ANEXO N° 16

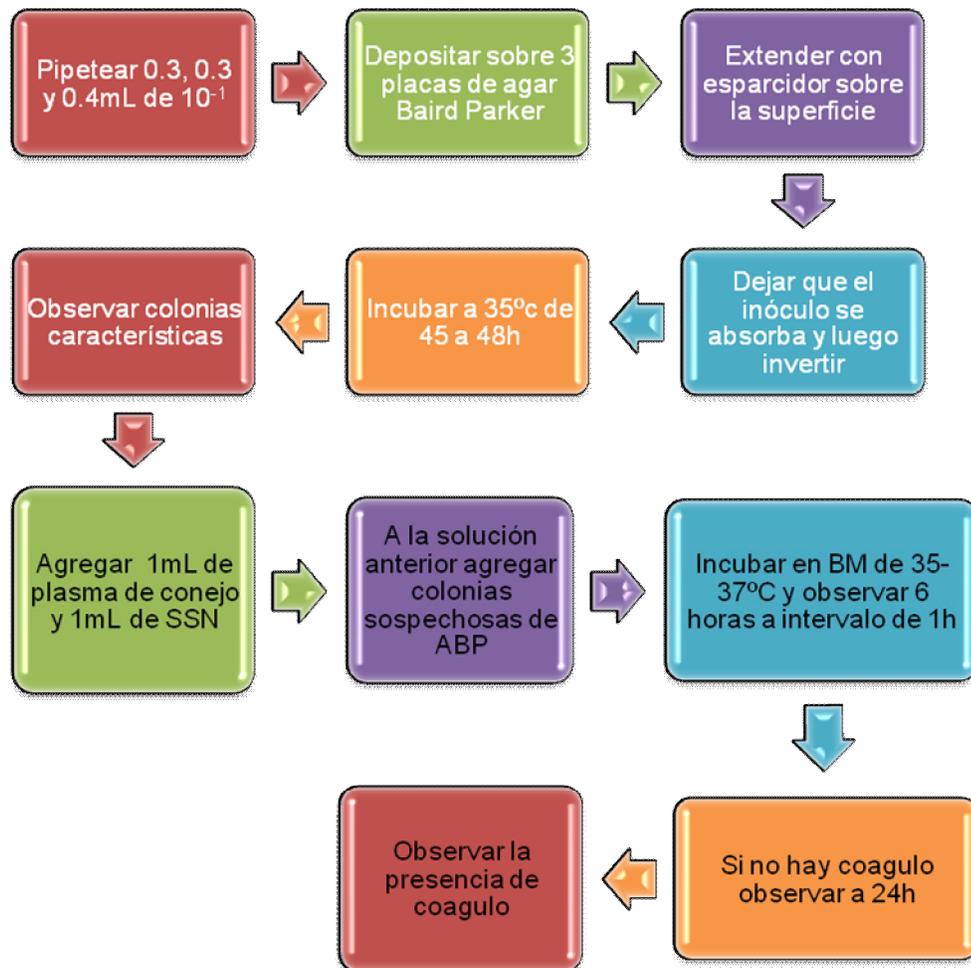


Figura N°18. Determinación y prueba confirmatoria de *Staphylococcus aureus*.

ANEXO N° 17

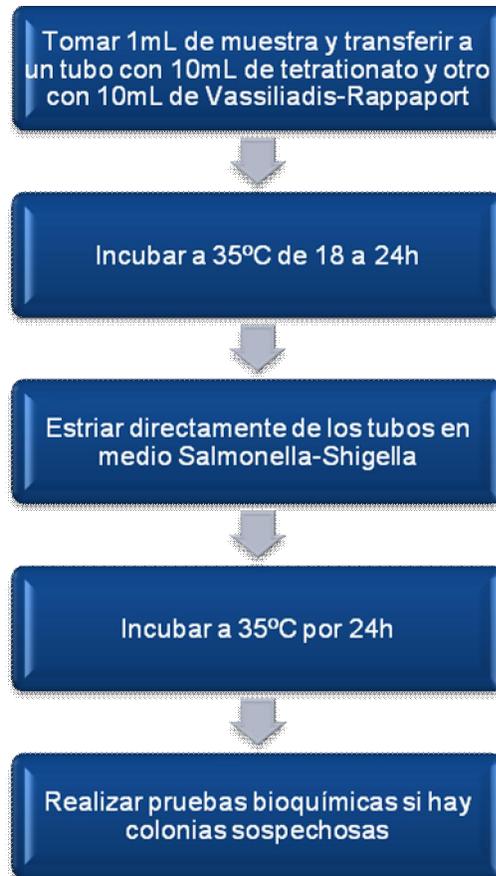


Figura N°19. Diagrama para el aislamiento y determinación de *Salmonella sp.*

ANEXO N° 18

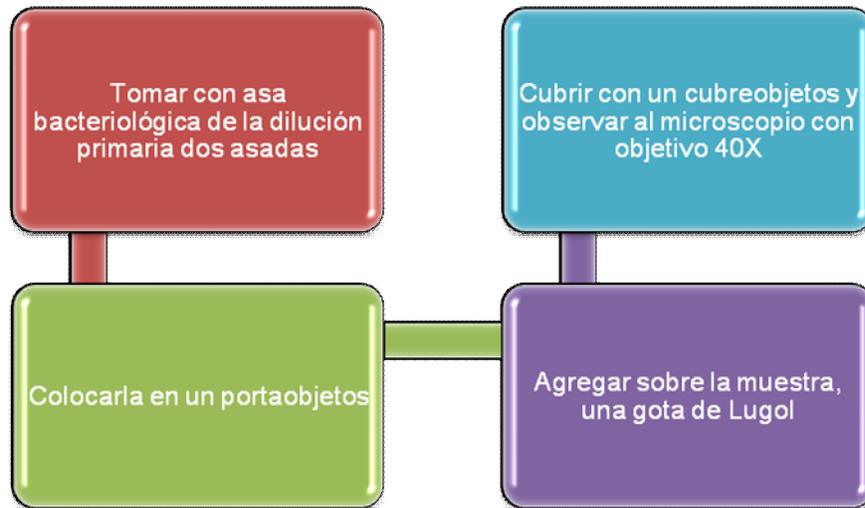


Figura N°20. Determinación de parásitos por método directo, tinción con Lugol.