

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



**EVALUACION MICROBIOLOGICA DE LAS CONDICIONES HIGIENICO
SANITARIAS DE LOS SERVICIOS DE ALIMENTACION EN EL INSTITUTO
SALVADOREÑO PARA EL DESARROLLO INTEGRAL DE LA NIÑEZ Y
ADOLESCENCIA (ISNA)**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:
KARLA MARICELA ACOSTA REYES
ROBERTO CARLOS ZEPEDA QUINTEROS**

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

SEPTIEMBRE 2012

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORAS DEL AREA DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS: MICROBIOLÓGICO

MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

DOCENTE DIRECTORA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todopoderoso por habernos guiado, iluminado, dándonos ese espíritu de confianza en poder lograr lo que uno se propone en esta vida, y así poder culminar exitosamente nuestra carrera.

A nuestros padres y hermanos por su apoyo incondicional a lo largo de esta carrera, y animarnos en los momentos difíciles.

Al comité de Trabajo de Graduación: Coordinadora General, Licda. Odette Rauda, Asesoras de área: MSc. Maria Evelin Sanchez de Ramos, MSc. Amy Elieth Moran Rodríguez, Docente Directora: MSc. Coralia de los Angeles Gonzalez de Diaz, por orientarnos a lo largo de la realización de este trabajo de Graduación.

A nuestros profesores por compartir con nosotras sus conocimientos, habilidades y ayudarnos durante el transcurso de nuestra carrera.

Al personal del laboratorio de CENSALUD, por su colaboración y amabilidad durante el desarrollo de la parte experimental de este trabajo de graduación.

A nuestros amigos y compañeros, por todos los momentos inolvidables que compartimos en todo este tiempo y su inmenso cariño hacia nosotros.

Karla y Roberto

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso y a la Virgen María, ya que con su protección e iluminación han guiado mi camino con mucha sabiduría para cumplir esta meta tan importante en mi vida.

A mis padres: María Mélida Reyes de Acosta y Francisco Javier Acosta dos tesoros que Dios puso en mi vida por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi hermana: Mélida Suhei Acosta Reyes, quien siempre ha sido una inspiración para mí a ser su ejemplo, en quien puedo confiar y quien siempre está cuando necesito su ayuda, siempre me apoya sin esperar nada a cambio.

A mi abuela Rafaela Reyes (Q.D.D.G) por enseñarme que en la vida hay que luchar y nunca darse por vencido, por sus consejos que han hecho de mi, ser una mejor persona.

A mis amigos Celso Joel Galdámez y Carlos Alberto Carranza que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos, gracias por sus palabras de aliento en los momentos difíciles, por su cariño y apoyo incondicional.

Karla Maricela Acosta Reyes.

DEDICATORIA

A MI AMADO DIOS TODOPODEROSO

Por caminar siempre a mi lado y ayudarme a salir adelante en los momentos que más lo necesito y brindarme la sabiduría para culminar mi carrera.

A MIS PADRES

Nehemías Zepeda y Lucia Quinteros de Zepeda por confiar siempre en mí y brindarme su incondicional apoyo para mi formación espiritual y personal.

A MI COMPAÑERA DE TESIS Y AMIGA

Karla Maricela Acosta Reyes por su apoyo incondicional y comprensión en los momentos más difíciles de la elaboración de nuestra tesis, y sobre todo por brindarme su amistad.

Roberto Carlos Zepeda Quinteros

INDICE

| | Pág. |
|---|-------------|
| Resumen | |
| Capitulo 1 | |
| 1.0 Introducción | xxiii |
| Capitulo 2 | |
| 2.0 Objetivos | |
| Capitulo 3 | |
| 3.0 Marco teórico | 30 |
| 3.1 Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA). | 30 |
| 3.2 Los alimentos | 31 |
| 3.3 Inocuidad de los alimentos | 32 |
| 3.4 Buenas prácticas Higiénicas | 33 |
| 3.4.1 Cuidados que el manipulador debe tener en cuenta | 34 |
| 3.4.2 Higiene en la preparación | 35 |
| 3.5 Los alimentos como sustrato de los microorganismos | 37 |
| 3.6 Los microorganismos como agentes de deterioro de alimentos | 37 |
| 3.6.1 Los microorganismos como agentes patógenos transmitidos por alimentos | 38 |
| 3.7 La contaminación de los alimentos | 40 |
| 3.8 Enfermedades transmitidas por los alimentos | 41 |

| | |
|---|----|
| 3.9 Causas principales de intoxicación alimentaria | 41 |
| 3.10 Microorganismos de interés de acuerdo a la norma | |
| Salvadoreña Obligatoria (N.S.O67.18.01:01) | 42 |
| 3.11 Microorganismos indicadores de higiene y contaminación fecal | 43 |
| 3.11.1 Mohos y levaduras | 43 |
| 3.11.2 Microorganismos mesofilos aerobios | 43 |
| 3.11.3 Grupo coliforme total | 43 |
| 3.11.4 Grupo de coliforme fecal | 44 |
| 3.11.5 Bacterias patógenas causantes de intoxicación alimentaria | 44 |
| 3.11.6 <i>Escherichia coli</i> | 45 |
| 3.11.7 <i>Staphylococcus aureus</i> | 46 |
| 3.11.8 <i>Salmonella spp</i> | 48 |
| 3.11.9 <i>Pseudomona aeruginosa</i> | 49 |
| 3.11.10 Efectos sobre la salud humana | 49 |
| 3.11.11 Relevancia de su presencia en el agua de consumo | 50 |
| Capitulo 4 | |
| 4.0 Diseño metodológico | 52 |
| 4.1 Tipo de estudio | 52 |

| | |
|---|----|
| 4.2 Investigación bibliográfica | 52 |
| 4.3 Investigación de Campo, Universo y Muestra | 53 |
| 4.4 Parte experimental | 55 |
| 4.4.1. Procedimiento de toma de muestra | 55 |
| 4.5 Identificación de la muestra | 57 |
| 4.6 Procedimiento para la preparación de las muestras | 57 |
| 4.6.1 Para muestras del ambiente (Placas dejadas al aire libre) | 57 |
| 4.6.2 Para muestras de manipuladores (manos) | 57 |
| 4.6.3 Para muestras de utensilios | 58 |
| 4.6.4 Para muestras: lácteos, ensaladas, tortillas, embutidos, Pan dulce, fruta, carnes. | 58 |
| 4.6.5 Para muestras: refrescos | 59 |
| 4.6.6 Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobias para refresco | 59 |
| 4.6.7 Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobias para agua | 60 |
| 4.6.8 Determinación y recuento de mohos y levaduras para refresco | 61 |
| 4.6.9 Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> | 61 |
| 4.6.9.1 Recuento de placas de <i>Staphylococcus aureus</i> | 62 |
| 4.6.10 Prueba para coliformes totales | 62 |
| 4.6.10.1 Prueba para muestras de agua potable y refresco | 62 |
| 4.6.11 Prueba para coliformes fecales en agua y refrescos | 63 |

| | |
|--|-----|
| 4.6.12 Prueba para <i>Escherichia coli</i> | 63 |
| 4.6.13 Prueba para <i>Pseudomona aeruginosa</i> en agua | 64 |
| 4.6.14 Para muestras de utensilios (recuento de coliformes totales y fecales) | 64 |
| 4.6.15 Prueba para la determinación y recuento de <i>Escherichia coli</i> en alimentos | 65 |
| 4.6.16 Prueba para la determinación de <i>Samonella spp</i> en lácteos, embutidos, ensalada fresca, y carnes | 66 |
| 4.6.16.1 Aislamiento de <i>Salmonella spp</i> | 66 |
| Capitulo V | |
| 5.0 Resultados | 69 |
| Capítulo VI | |
| 6.0 Discusión de resultados | 92 |
| Capítulo VII | |
| 7.0 Conclusiones | 103 |
| Capítulo VIII | |
| 8.0 Recomendaciones | 106 |
| Bibliografía | |
| Anexos | |

INDICE DE CUADRO

Cuadro No.

- 1 Resultados de la guía de observación en la preparación y manipulación de alimentos.
- 2 Resultados obtenidos del recuento de bacterias coliformes totales.
- 3 Resultados obtenidos del recuento de bacterias coliformes fecales.
- 4 Resultados obtenidos del recuento de bacterias mesofilos aerobios.
- 5 Resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras en muestras de refresco.
- 6 Resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras en muestra de ambiente.
- 7 Resultados obtenidos de bacterias patógenas en agua (***Escherichia coli*** y ***Pseudomona aeruginosa***).
- 8 Resultados obtenidos de bacterias patógenas en refresco (***Escherichia coli*** y ***Pseudomona aeruginosa***).
- 9 Resultados obtenidos de bacterias patógenas en manos de manipuladores (***E. coli*** y ***Staphylococcus aureus***).

- 10 Resultados obtenidos de bacterias patógenas en utensilio ***Escherichia coli***.
- 11 Resultados del recuento de ***Escherichia coli*** en las muestras de alimento.
- 12 Resultados del recuento de ***Staphylococcus aureus*** en las muestras de alimento.
- 13 Resultados del recuento de ***Salmonella spp/25g*** en las muestras de alimento.
- 14 Resultado obtenido a las muestras analizadas.
- 15 Porcentajes de coliformes totales y fecales en las muestras seleccionadas.
- 16 Porcentajes de ***Escherichia coli*** y ***Staphylococcus aureus*** en las muestras analizadas.
- 17 Porcentajes de ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** en las muestras analizadas.
- 18 Porcentajes de muestras de ambiente y refresco con mohos y levaduras.
- 19 Porcentaje de bacterias mesofilas aerobias en muestras de agua y refresco.

INDICE DE FIGURAS

Figura No.

- 1 Logo del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia.
- 2 Colonias de *Escherichia coli* en agar EMB.
- 3 Colonias de *Staphylococcus aureus*, en agar Baird Parker.
- 4 Colonias de *Salmonella spp* en agar Rambach.
- 5 Determinación de coliformes totales en caldo fluorogénico (LMX) para agua.
- 6 Determinación de coliformes totales en caldo fluorogénico (LMX) para refresco de tamarindo.
- 7 Colonias características de coliformes totales (colonias rosadas) agar Chromocult muestras de utensilios.
- 8 Recuento de bacterias mesofilas aerobias para agua.
- 9 Recuento de bacterias mesofilas aerobias para refresco de tamarindo.
- 10 Mohos y levaduras en agar Papa Dextrosa para refresco.
- 11 Mohos y levadura en agar Papa Dextrosa para ambiente.

- 12 Ausencia de bacterias patógenas en agua observando que no posee fluorescencia.
- 13 Ausencia de bacterias patógenas en refresco.
- 14 Presencia de ***Escherichia coli*** en manos de manipuladores.
- 15 Colonias características de ***Escherichia coli*** (colonias moradas) en agar Chromocult.
- 16 Colonias características de ***Escherichia coli*** (colonias moradas) en agar Chromocult para muestra de lácteo.
- 17 Colonias características de ***Escherichia coli*** (colonias moradas) en agar Chromocult para muestra de ensalada fresca.
- 18 Colonias características de ***Escherichia coli*** (colonias moradas) en agar Chromocult, para muestra de embutido.
- 19 Colonias características de ***Staphylococcus aureus*** en agar Baird Parker.
- 20 Confirmación de ***Staphylococcus aureus*** coagulasa positiva.
- 21 Muestras en caldo lactosado.
- 22 Enriquecimiento de ***Salmonella spp*** en caldo Tetracionato y Rappaport.

- 23** Aislamiento de ***Salmonella spp*** en agar XLD y Bismuto sulfito.
- 24** Porcentaje de coliformes totales y fecales en muestras de agua, refresco manipuladores y utensilios.
- 25** Porcentaje de ***Escherichia coli*** en las muestras de lácteo ensalada, tortilla, refresco embutido, pan dulce fruta, carne, agua, manipuladores y utensilios.
- 26** Porcentaje de ***Staphylococcus aureus*** en muestras de lácteo embutido y manos de manipuladores.
- 27** Porcentajes de mohos y levaduras para las muestras de ambiente y refresco.
- 28** Porcentajes para bacterias mesofilas aerobias en muestras de agua y refresco.
- 29** Manipuladores del ISNA escuchando la charla educativa de buenas prácticas higiénicas alimentarias.
- 30** Personal del ISNA presente en la charla.

ANEXOS

Anexo No.

- 1.** Mapa de ubicación del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).
- 2.** Plano de ubicación del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).
- 3.** Guía de observación
- 4.** Parámetros microbiológicos que se realizaron por muestra.
- 5.** Etiqueta que se utilizó para identificar las muestras.
- 6.** Técnica para muestreo de ambiente.
- 7.** Técnica para toma de muestra de manipuladores.
- 8.** Técnica para alimentos.
- 9.** Técnica para refrescos.
- 10.** Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobias para refresco.
- 11.** Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobias para agua.

12. Determinación y recuento de mohos y levaduras para refresco.
13. Aislamiento de ***Staphylococcus aureus***.
14. Recuento de placas de ***Staphylococcus aureus***.
15. Prueba para coliformes totales (prueba para muestras de agua potable y refrescos).
16. Procedimiento para la determinación de coliformes fecales.
17. Prueba para ***Escherichia coli***.
18. Prueba para ***Pseudomonas aeruginosa*** en agua.
19. Técnica para muestras de utensilio.
20. Prueba para la determinación y recuento de ***Escherichia coli*** en alimentos.
21. Prueba para la determinación de ***Salmonella spp*** en lácteo, fruta, ensalada fresca, embutido, y carne.
22. Pruebas bioquímicas convencionales para ***Salmonella spp*** y ***Pseudomonas aeruginosa***.
23. Tablas de valores máximos admisibles en cada una de las determinaciones.

- 24.**Tabla de valores máximos para alimentos, utensilios y ambiente.
- 25.**Lista de asistencia de la charla sobre las BPHA.
- 26.**Diapositivas de la Charla impartida a los manipuladores y carta de recepción de resultados al ISNA.
- 27.** Informe de resultados a las autoridades del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y la Adolescencia (ISNA).

ABREVIATURAS

UFC/g= Unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

NMP/g= Número más probable por gramo de muestra.

ETAs= Enfermedades transmitidas por alimentos.

BAM= Manual de análisis bacteriológico.

RTCA= Reglamento Técnico Centroamericano.

TSI= Agar triple azúcar hierro.

S. aureus= *Staphylococcus aureus*.

BPHA= Buenas prácticas de higiene alimentaria

E. coli= *Escherichia coli*.

Agar EMB= Eosina-azul de metileno.

Agar TSA = Tripticasa soya

Agar BS = Bismuto sulfito

Agar XLD = Xilosa Lisina Desoxicolato

RESUMEN

Las malas prácticas higiénicas alimentarias por parte de los manipuladores, son un problema de muchas instituciones encargadas de cuidar, educar y alimentar a niños, produciendo como consecuencia intoxicaciones alimentarias.

La presente investigación se realizó en una institución nacional dedicada al cuidado de niños con custodia legal gubernamental llamada Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y la Adolescencia (ISNA).

Se determinó a través de una lista de chequeo las condiciones de preparación y manipulación de alimentos, para evaluar microbiológicamente las condiciones higiénico sanitarias de los servicios de alimentación de la institución.

Se evaluaron los parámetros microbiológicos de recuento de coliformes totales, fecales, mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias, detección de ***Escherichia coli*** , ***Staphylococcus aureus***, ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** en las muestra de alimentos seleccionados, agua, ambiente, manos de manipuladores y utensilios en la cocina general de dicha institución .

Esto se realizó en los meses de agosto a septiembre del año 2011, en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), ubicado en la Universidad de El Salvador.

Se utilizó como metodología el Manual de Análisis Bacteriológicos (BAM por sus siglas en ingles), los resultados se compararon con lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08, con la Guía Técnica para el análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú, Productos Alimenticios. Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol NSO 67.18.01:01, Agua potable NSO 13.07.01:08 y Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07).

Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano se utilizo está ya que no existe una normativa oficial para monitoreo de ambiente para áreas destinadas a la preparación de alimentos.

Los alimentos que cumplen con los parámetros microbiológicos fueron agua, refresco (tamarindo), tortilla, pan dulce (pegadito) y fruta (guineo).

Los resultados mostraron la falta de aplicación de Buenas Prácticas Higiénicas Alimentarias. La presencia de microorganismos patógenos como la ***Escherichia coli*** en muestras de utensilios, manos de manipuladores y ensalada fresca indicaron posible contaminación de origen fecal, la presencia de ***Staphylococcus aureus*** en manos de manipuladores y lácteos (queso duro), indicaron malas prácticas higiénicas alimentarias por parte de los manipuladores.

Se impartió una charla a los manipuladores sobre la aplicación de Buenas Prácticas Higiénicas.

Los resultados se entregaron a las autoridades del ISNA, para la implementación de medidas preventivas y correctivas para lo cual se sugieren una serie de recomendaciones para mejorar las deficiencias entre las que se incluyen la evaluación de métodos de limpieza, que realicen gestión a través de un proyecto para mejora de las instalaciones, constante capacitación a los manipuladores de alimentos sobre las buenas prácticas de higiene, y a las autoridades de la institución que proporcionen al personal encargado de la preparación de alimentos las herramientas necesarias para garantizar el cumplimiento de las buenas prácticas higiénicas alimentarias.

La falta de prácticas higiénicas alimentarias se demostró en los análisis microbiológicos; por lo que se debe de trabajar en coordinación con las autoridades del ISNA y manipuladores de la institución para el cumplimiento de ellas.

CAPITULO I

INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

Las enfermedades transmitidas por los alimentos, son unos de los principales problemas en países en vías de desarrollo como el nuestro. En la sociedad existen grupos vulnerables como la población infantil y adulto mayor.

En todos los países del mundo se encuentran niños en estado de abandono o huérfano los cuales se ven en la obligación de vivir en centros adaptados para su cuidado, como orfanatos. ^{(7), (8)}

En muchas ocasiones las personas responsables en la preparación de alimentos en esta clase de instituciones, no cuentan con la capacitación necesaria sobre las buenas prácticas higiénicas alimentarias. Esta falta de conocimiento proporciona un alto riesgo de que los niños que viven en orfanatos adquieran algún tipo de enfermedad relacionada con los alimentos. ⁽²³⁾

En el país, existe una institución gubernamental llamada Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA) la cual se encarga de cuidar, educar y alimentar a niños en estado de abandono o huérfanos que se encuentran entre las edades de 0-17 años de edad, hasta que estos son adoptados o cumplen su mayoría de edad. ⁽³⁷⁾

Los niños reciben su alimentación sobre un menú calendarizado por semana el cual cubre las calorías necesarias según su edad. La preparación de alimentos se divide para niños entre las edades de 0-3 años, 3-10 años y 11-17 años con el fin de obtener una nutrición adecuada.

En el presente trabajo de investigación se realizó una evaluación microbiológica de las condiciones higiénico sanitarias de los servicios de alimentación para niños entre las edades de 3 -10 años del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA). Siendo estos, nuestro grupo de estudio por presentar un mayor números de casos de enfermedades

de origen gastrointestinal, proporcionadas por las estadísticas de la Unidad de Salud de la institución.

Se utilizó una guía de observación para conocer las condiciones de preparación y manipulación de alimentos de la cocina general del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).

Se evaluarón los parámetros microbiológicos de recuento de coliformes totales y coliformes fecales, recuento de hongos y levaduras, bacterias mesófilas aeróbicas e identificación de microorganismos patógenos como ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** en las muestra de alimentos seleccionados, agua, ambiente, manos de manipuladores y utensilios.

Los resultados obtenidos fueron comparados con lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08, con la Guía Técnica para el análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú, Productos Alimenticios. Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol NSO 67.18.01:01, Agua potable NSO 13.07.01:08 y Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano.

Se impartió una charla educativa a los manipuladores de alimentos del ISNA, sobre las buenas prácticas higiénicas alimentarias.

Además se dieron a conocer los resultados de los análisis microbiológicos a las autoridades del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA), con el propósito de mejorar las condiciones de preparación y manipulación de los alimentos.

Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en el período entre agosto - septiembre de 2011.

CAPITULO II

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar microbiológicamente las condiciones higiénico sanitarias de los servicios de alimentación en el Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Determinar las condiciones de preparación y manipulación de alimentos en el Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA), mediante una guía de observación.

2.2.2 Evaluar los parámetros microbiológicos de recuento de coliformes totales y fecales, mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias, detección de ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** en las muestra de alimentos seleccionados, agua, ambiente, manos de manipuladores y utensilios en la cocina general del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).

2.2.3 Comparar los resultados obtenidos con lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08, con la Guía Técnica para el análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú, Productos Alimenticios. Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol NSO 67.18.01:01, Agua potable NSO 13.07.01:08 y Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano.

2.2.4 Dar una charla educativa a los manipuladores de alimentos del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA), sobre Buenas Prácticas Higiénicas Alimentarias.

2.2.5 Proporcionar los resultados obtenidos a las autoridades del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA.)

CAPITULO III

MARCO TEORICO

III. MARCO TEORICO

3.1 Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y la Adolescencia (ISNA)

Ante la necesidad de legislar la protección a niñez y adolescencia, se creó una institución bautizada con el nombre de Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y la Adolescencia (ISNA) en el año 2003 habiendo tenido anteriormente otros nombres y objetivos enfocados de distinta manera.

El objetivo por el que fue creado el ISNA es que los niños y niñas ya no sean institucionalizados sino que tengan la oportunidad de integrarse a un ambiente familiar. ⁽³⁷⁾

Esta institución gubernamental, reconocida a nivel nacional e internacional, donde su visión es garantizar la articulación del sistema y protección, contribuyendo con ello, al cumplimiento de los derechos de las niñas, niños y adolescentes de El Salvador. ⁽³⁷⁾



Figura N° 1. Logo del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia.

El instituto puso en marcha el 24 de abril del 2003, un nuevo concepto para atender en forma integral a la niñez y la adolescencia que se encuentra en situación de calle y alto nivel de riesgo. ⁽³⁷⁾

Los objetivos de este programa son reflejados en la creación del Complejo de Integración Social para la Niñez y la Adolescencia (CISNA), es erradicar el fenómeno social de los niños, niñas y adolescentes en situación de calle, mediante un proceso de participación para la construcción de un proyecto de vida. Facilitar condiciones, espacios y servicios de apoyo para el tratamiento hacia la desintoxicación y educación para la vida, fomentando su inclusión en la familia, escuela y comunidad. ⁽³⁷⁾

El Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y la Adolescencia (ISNA), está ubicado en la Colonia Costa Rica Avenida Irazú y Final Calle Santa Marta, N°. 2, San Salvador, El Salvador.

La institución cuenta con una área muy grande y con instalaciones destinada para muchos fines, entre las que encontramos; una unidad médica, biblioteca, centro de recreación, área de Psicología, escuela primaria, áreas administrativas y una unidad de nutrición, la cual tiene a su responsabilidad el área de cocinas la cual se divide en dos, cocina de lactantes que se encarga de proporcionar alimentos a niños entre las edades de 0 – 2 y la cocina general que prepara los alimentos para grupos de niños entre las edades de 3 – 10 años y 11 - 18 años. Divididos con la finalidad de cumplir sus necesidades nutricionales, esta área cuenta con 6 personas manipuladores en turnos rotativos de 2 días, los cuales preparan los alimentos en base a un menú proporcionado por el nutricionista de la institución. ⁽³⁷⁾

3.2 LOS ALIMENTOS

Todo ser vivo necesita alimentos para vivir ya que un organismo vivo mantiene sus componentes corporales y su crecimiento gracias a la alimentación. Normalmente se ingieren por vía digestiva. El alimento está destinado a suministrar estructuras químicas para desarrollar las funciones y mantener la salud ^{(8), (19).}

El alimento es cualquier sustancia (sólida o líquida) normalmente ingerida por los seres vivos con fines: Nutricionales: regulación del metabolismo y mantenimiento de las funciones fisiológicas, como la temperatura corporal. Psicológicos: satisfacción y obtención de sensaciones gratificantes. ⁽¹⁹⁾

La Alimentación es la acción de incorporar alimentos a nuestro cuerpo, para luego digerirlos. Esta acción es voluntaria y la podemos modificar; sólo depende de factores externos, tales como factores económicos y sociales. Es decir, los alimentos que nosotros ingerimos, traen nutrientes, y el organismo se encarga de aprovecharlos, los que son indispensables para llevar a cabo todos los procesos que nos permiten estar vivos. ⁽²⁰⁾

3.3 Inocuidad de alimentos

Es la cualidad que poseen los alimentos de no causar daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso al que se destinan. ^{(11),}

⁽¹²⁾ (8)

La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que junto con las nutricionales, las organolépticas y las comerciales componen la calidad de los alimentos ⁽¹²⁾. Es fundamental prevenir la contaminación de los alimentos, todas las acciones para combatir la contaminación una vez que se produjo, pueden resultar riesgosas para el consumidor.

Relacionados con la inocuidad existen dos sistemas de aseguramiento de la calidad:

Las BPM son una herramienta básica para la obtención de producto seguro para el consumo humano, que se centralizan en la higiene y forma de manipulación. Técnicamente la calidad de las materias primas, no debe comprometer el desarrollo de las Buenas Prácticas de Manufactura. ⁽⁷⁾

Las materias primas deben ser almacenadas en condiciones apropiadas que aseguren la protección contra contaminantes. El depósito debe estar alejado de los productos terminados para impedir la contaminación cruzada. Además deben tenerse en cuenta las condiciones óptimas de almacenamiento como: temperatura, humedad, ventilación e iluminación. El transporte debe prepararse especialmente teniendo en cuenta los mismos principios higiénicos – sanitarios que se consideran para los establecimientos. ⁽⁸⁾

3.4 Buenas prácticas higiénicas

Se puede definir como higiene alimentaria:

- La destrucción y cada una de las bacterias perjudiciales del alimento por medio de prácticas de procesado.
- La protección del alimento frente a la contaminación: incluyendo a bacterias perjudiciales, cuerpos extraños y tóxicos
- La prevención de la multiplicación de las bacterias perjudiciales por debajo del umbral en el que producen enfermedad en el consumidor, y el control de la alteración prematura del alimento.

Para obtener alimentos realmente higiénicos, todo el personal involucrado en la producción y comercialización deberá guardar unas buenas prácticas higiénicas. ⁽¹³⁾

3.4.1 Cuidados que el manipulador de alimentos debe tener en cuenta:

Higiene de los alimentos

Higiene de los alimentos incluye cierto número de rutinas que deben realizarse al manipular los alimentos con el objeto de prevenir daños potenciales a la salud. Los alimentos pueden transmitir enfermedades de persona a persona así como ser un medio de crecimiento de ciertas bacterias (tanto en el exterior como en el interior del alimento) que pueden causar intoxicaciones alimentarias.

Los alimentos no vigilados pueden ser un medio de propagación de enfermedades, hay que considerar que desde el mismo instante de su producción hasta el de su consumo los alimentos están constantemente expuestos a las posibles contaminaciones bien sean por agentes naturales o por efecto de la intervención humana. ⁽²²⁾

Selección de algunos alimentos

El primero de los pasos recomendados por las autoridades encargadas de vigilar la higiene de los alimentos es que se haga una correcta selección de los alimentos ya en el momento de su adquisición.

Carnes

Las carnes deben ser elegidas de tal forma que presenten una textura agradable (si posee una textura flácida su conservación es dudosa), las carnes rojas deben tener un color rojo brillante en los cortes frescos, es de recordar que las carnes viejas tienen colores más oscuros. ^{(18), (20)}

Los embutidos, como una forma de carne procesada, deben rechazarse cualquier embutido con aire en su interior o con la piel suelta. Las carnes por regla general si no se van a consumir en 48 horas, lo mejor es someterlas a congelación, en el caso de la carne picada este periodo se reduce a 24 horas.

Pescados

Los pescados se pueden detectar por diferentes indicativos:

- Los pescados frescos huelen a mar, no a pescado.
- Las agallas deben ser rojas brillantes y no de color marrón.
- Los ojos deben estar prominentes y limpios, si están hundidos no deben emplearse.
- Las escamas deben ser brillantes.

Verduras y Frutas

Las verduras requieren de un lavado y enjuague con abundante agua limpia que permita limpiar las arenas y suciedades que quedan adheridas a su superficie, por regla general basta con quitar las primeras capas de piel o las cáscaras para que la verdura quede limpia.⁽¹⁸⁾

Lácteos y Huevos

Los lácteos suelen someterse en origen a una pasteurización que elimina gran parte de los microorganismos patógenos (como en el caso de la leche). Los huevos deben refrigerarse, colocarlos en los contenedores diseñados para ello en las heladeras es la mejor opción. Al momento de utilizarlos es conveniente lavar la cascara con agua y jabón, de esta forma se eliminan restos de materia fecal de las aves.⁽¹¹⁾

3.4.2 Higiene en la preparación

La preparación de los alimentos para su cocinado o conserva debe tener presente siempre que el ser humano es el principal origen de gérmenes. Es por esta razón que la higiene en estos casos es obligada para con el cocinero y se puede garantizar siempre que se cumplan ciertas normas y pasos. Algunos de los más importantes son:

- Manos limpias- Las manos deben estar limpias en todo momento antes de la manipulación y descanso. Para ello basta con lavar las manos con agua y jabón y hacerlo sobre todo cuando se haya interrumpido el proceso de cocinado. Las uñas deben estar perfectamente limpias en todo momento.
- Instrumental limpio - Los instrumentos como cuchillos, tablas de cortar, recipientes, y otros deben tener superficies limpias, sin gotas ni humedades, en cada paso o cambio de alimento deben enjuagarse con agua limpia. Los instrumentos en contacto con alimentos crudos deben limpiarse en cualquier instante.
- Cocer bien los alimentos: las carnes frescas pueden tener un cierto grado de contaminación y su cocción elimina ciertas colonias de bacterias. Las aguas de origen dudoso deben ser hervidas al menos veinte minutos. Las leches deben estar pasteurizadas. En la mayoría de los alimentos se elimina una gran población de agentes patógenos si se alcanzan los 70 °C en toda la masa del alimento. ⁽¹⁰⁾
- No mezclar alimentos crudos con cocinados - Si los crudos están junto a los cocinados, estos últimos se contaminan en breve período, que por el proceso de cocción ya han disminuido la población de organismos patógenos. Mantener esta regla incluso en el frigorífico. Las carnes cocinadas no deben mezclarse con las crudas, las verduras preparadas con las crudas, y otros se debe extremar en este punto las precauciones.
- Conservar adecuadamente los alimentos. En los casos en los que un alimento deba ser conservado o consumido con posterioridad, debe ser introducido en el refrigerador recubierto de un protector para que no se mezcle con otros alimentos. En el caso de alimentos para bebés deben ser ingeridos de inmediato. ^{(18), (20)}

3.5 Los alimentos como sustrato de los microorganismos.

Los microorganismos utilizan nuestros alimentos como fuente de nutrientes para su propio crecimiento, hecho que naturalmente puede ocasionar su alteración. Los microorganismos pueden alterar un alimento porque se multiplican en él, utilizan nutrientes, producen modificaciones enzimáticas y porque producen sabores desagradables mediante el desdoblamiento de determinadas sustancias o mediante la síntesis de nuevos compuestos. (7)

La alteración de los alimentos es consecuencia lógica de la actividad de los microorganismos, ya que en la naturaleza una de sus funciones es la reconversión de las formas reducidas de carbono, de nitrógeno y de azufre existentes en las plantas y en los animales muertos, en otras formas oxidadas que necesitan las plantas, las cuales a su vez, son consumidas por los animales. Por lo tanto, simplemente desempeñando su función en la naturaleza, muchas veces pueden convertir en no aptos para el consumo a nuestros alimentos. Con el fin de evitar esto, reducimos al mínimo el contacto entre los microorganismos y nuestros alimentos (prevención de la contaminación) y también eliminamos los microorganismos que contienen, o por lo menos adaptamos las condiciones de su almacenamiento para evitar que en ellos se multipliquen los microorganismos (conservación). (4), (6)

3.6 Los microorganismos como agentes de deterioro de alimentos.

Se considera alimento deteriorado aquel dañado por agentes microbianos, químicos y físicos de forma que es inaceptable para el consumo humano.

Los agentes causantes de deterioro pueden ser bacterias, mohos y levaduras; siendo las bacterias y mohos los más importantes. De todos los microorganismos presentes en un alimento, solo algunos son capaces de

multiplicarse activamente sobre el alimento por lo que resultando seleccionados con el tiempo de forma que la población heterogénea inicial presente en el alimento va quedando reducida a poblaciones más homogéneas y finalmente, un solo tipo de microorganismos consiguen colonizar todo el alimento desplazado a los demás. ⁽⁷⁾

3.6.1 Los microorganismos como agentes patógenos transmitidos por alimentos.

Ciertos microorganismos patógenos son potencialmente transmisibles a través de los alimentos. En estos casos, las patologías que se producen suelen ser de carácter gastrointestinal, aunque pueden dar lugar a cuadros más extendidos en el organismo e incluso a septicemias. ^{(7), (12)}

Las patologías asociadas a alimentos pueden aparecer como casos aislados, cuando el mal procesamiento del alimento se ha producido a nivel particular; pero suelen asociarse a brotes epidémicos más o menos extendidos en el territorio. ⁽⁸⁾

Las patologías asociadas a transmisión alimentaria pueden ser de dos tipos. Infecciones alimentarias producidas por la ingestión de microorganismos o intoxicaciones alimentarias producidas como consecuencia de la ingestión de toxinas bacterianas producidas por microorganismos presentes en los alimentos. En ciertos casos, pueden producirse alergias causadas por la presencia de microorganismos. ⁽⁹⁾

En cualquier caso, para que se produzca una toxiinfección es necesario que el microorganismo haya producido:

- Suficiente número para colonizar el intestino
- Suficiente número para intoxicar el intestino

- Cantidades de toxina significativa.

Los tipos de microorganismos patógenos con importancia alimentaria comprenden bacterias, protozoos y virus, en el caso de las infecciones alimentarias; y bacterias, hongos (mohos) en el caso de las intoxicaciones. ⁽¹⁰⁾

La procedencia de microorganismos patógeno puede ser de dos tipos:

Microorganismos endógenos presentes en el interior del alimento, y microorganismos exógenos depositados en la superficie del alimento. Los primeros suelen estar asociados a alimentos animales ya que los patógenos de animales pueden serlo de humanos, mientras que los patógenos vegetales pueden serlo debido a las diferencias entre ambos tipos de microorganismos. ⁽⁸⁾

Por último, debido a la importancia en salud pública de las toxiinfecciones alimentarias, la labor del microbiólogo de alimentos se dirige en muchos casos, al control destinado a evitar el consumo de productos elaborados en condiciones deficientes y que, por tanto, sean potencialmente peligrosos. Para ello, se deben tener en cuenta, a la hora de realizar un análisis microbiológico de alimentos.

- Las fuentes de contaminación del alimento
- Las rutas de infección patógena
- La resistencia de los patógenos a condiciones adversas
- Las necesidades de crecimiento de los patógenos
- Minimizar la contaminación y el crecimiento de los microorganismos
- Método de muestreo proporcional al riesgo

Todo lo anterior obliga a la regulación legal de las características microbiológicas de cada alimento, lo que comprende la definición de cada

alimento o producto alimentario y las regulaciones sobre la tolerancia del número de microorganismos permisibles. ⁽⁷⁾

3.7 La contaminación de los alimentos

Un alimento contaminado es aquél que contiene gérmenes capaces de provocar enfermedad a las personas que lo consumen.

Un alimento contaminado puede parecer completamente normal, por ello es un error suponer que un alimento con buen aspecto está en buenas condiciones para su consumo puede estar contaminado por bacterias. ⁽²¹⁾

Los gérmenes llegan a los alimentos de diversas formas pues se encuentran en todas partes, algunos son perjudiciales para el hombre causando enfermedades, éstos toman el nombre de gérmenes patógenos. Las bacterias o gérmenes se encuentran también en personas y animales, en el hombre en la boca, nariz, aparato digestivo, y otros.

La persona que tiene bacterias patógenas se llama portador y puede ser un portador sano o enfermo.

El portador sano no presenta síntomas de enfermedad y no sabe que es portador. Todo manipulador por ello debe de poner en práctica rigurosas medidas de higiene siempre, para no contaminar los alimentos.

Los alimentos generalmente se contaminan por dos vías:

- La directa del portador (sano o enfermo) al alimento.
- La indirecta, del portador (sano o enfermo) a un intermediario, insectos, utensilios, y de éste último al alimento. ⁽¹⁵⁾

3.8 Enfermedades transmitidas por los alimentos

Pocas personas saben que los alimentos que consumen todos los días pueden causarles enfermedades conocidas como **ETAs** -Enfermedades Transmitidas por Alimentos-. Llamadas así porque el alimento actúa como vehículo en la transmisión de organismos patógenos (que nos enferman, dañinos) y sustancias tóxicas. Las **ETAs** están causadas por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados con agentes patógenos. ⁽²⁴⁾

Es importante diferenciar las infecciones alimentarias de las intoxicaciones alimentarias:

Infecciones alimentarias: Son las **ETA's** producidas por la ingestión de alimentos o agua contaminada con agentes infecciosos específicos tales como bacterias, virus, hongos, parásitos. ⁽²³⁾

Intoxicaciones alimentarias: Son las **ETA's** producidas por la ingestión de alimentos o agua contaminadas con cantidades suficientes de toxinas elaboradas por proliferación bacteriana o con agentes químicos que se incorporan a ellos, en cualquier momento desde su producción hasta su consumo. ⁽¹²⁾

3.9 Causas principales de intoxicación alimentaria

- Cuando a las bacterias se les incorpora las condiciones de temperatura, humedad y nutrientes durante el tiempo suficiente, crecerán y se multiplicarán hasta el número necesario para producir un brote de intoxicación alimentaria. Alimentos preparados anticipadamente y conservados fuera de refrigeración.

- El empleo de alimentos contaminados con bacterias patógenas.
- Manipuladores de alimentos infectados.
- Contaminación cruzada debida a la ignorancia y a la falta de cuidado en los procesos de limpieza. ⁽¹²⁾
- Alimentos de mayor riesgo en salud pública. Son aquellos que por sus características de composición, especialmente en sus contenidos de nutrientes, actividad acuosa y pH, favorecen el crecimiento microbiano, por consiguiente, cualquier deficiencia en su proceso. ⁽¹⁸⁾

3.10 Microorganismos de interés de acuerdo a la norma salvadoreña obligatoria (N.S.O 67.18.01:01)

Estos contaminantes microbiológicos pueden causar enfermedades por sí mismo o por productos de su metabolismo como toxinas generadas a consecuencia de su crecimiento. Sin embargo los métodos de identificación, aislamiento y enumeración de microorganismos patógenos suelen ser complejos y demandar demasiado tiempo. Esto ha sido la causa de que se utilicen grupos de bacterias de enumeración más fácil y cuya presencia en cierto número se considera como una indicación de que los alimentos estuvieron expuestos a almacenamiento, manipulación y prácticas higiénicas inadecuadas o sin fueron elaborados con materia prima que no poseen la calidad necesaria para dicho fin. Los grupos de microorganismos que se utilizan con este fin se llaman “microorganismos indicadores”.

Entre los microorganismos más importantes que se encuentran en los alimentos y que se utilizan como indicadores de contaminación están: Bacterias Mesofilas Aerobias, Mohos y Levaduras, Bacterias Coliformes y *Escherichia coli*. ^{(12), (9)}

3.11 Microorganismos indicadores de higiene y contaminación fecal

3.11.1 Mohos y levaduras

Los mohos y levaduras se pueden encontrar como parte de un alimento o como agentes contaminantes. Se encuentran en el ambiente en forma de esporas, las cuales resisten el calor, contaminan los equipos y utensilios lavados inadecuadamente; provocando el deterioro fisicoquímico de las materias primas. Además pueden sintetizar sustancias tóxicas resistentes al calor y a los métodos de esterilización convencionales, son capaces de soportar la irradiación, pudiendo contribuir al crecimiento de bacterias patógenas.

El recuento de estos microorganismos se realiza en agar papa dextrosa acidificado con ácido tartárico al 10%, después de incubarse a una temperatura ambiente de 3 a 5 días. ⁽¹³⁾

3.11.2 Microorganismos mesófilos aerobios

Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer entre 15 y 45 °C, con un rango óptimo de 35°C.

Son contaminantes de alimentos y posibles causantes de enfermedades intestinales, en la industria de alimento es considerado como el grupo indicador más grave que existe. El recuento elevado indica la posible presencia de patógenos y predicen la posibilidad de que el alimento este próximo a descomponerse. ⁽⁹⁾

3.11.3 Grupo coliforme total

Está formado por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gram negativas, no formadoras de esporas y con forma de bastón corto, que fermentan la lactosa produciendo gas y ácido en 48 horas a 35°C.

Pertenecen a este grupo los géneros: ***Escherichia***, ***Citrobacter***, ***Enterobacter*** y ***Klebsiella***. Aunque se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en general las bacterias de este grupo se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, por tal motivo suele decirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en los alimentos, son introducidos en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. ⁽⁹⁾

Debido a que no todos los coliformes son de origen fecal, se hizo necesario desarrollar pruebas para diferenciarlos a efecto de emplearlos como indicadores de contaminación. Por lo cual se distinguen los coliformes totales que comprende la totalidad del grupo y los coliformes fecales aquellos de origen fecal. Desde el punto de vista de la salud pública es importante, puesto que permite asegurar con alto grado de certeza que la contaminación que presentan los alimentos es de origen fecal. ^{(7), (9)}

3.11.4 Grupo de coliforme fecal

Son bacterias que forman parte del grupo coliforme total y se utilizan para detectar la presencia de ***Escherichia coli***. Son definidas como bacilos gram negativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 44 ± 0.5 °C dentro de las 48 ± 2 horas. La especie más predominante de este grupo es la ***Escherichia coli***, que constituye una gran porción de la población intestinal humana. Su presencia indica limpieza y desinfección inadecuada de materias primas, utensilios y equipos, mal procedimiento de lavarse las manos o la utilización de agua contaminada con heces fecales para preparar los alimentos. ⁽⁹⁾

3.11.5 Bacterias patógenas causantes de intoxicación alimentaria ⁽¹³⁾

La ingestión de alimentos que contengan bacterias patógenas o enterotoxinas bacterianas es causa de enfermedades gastrointestinales, por lo tanto se

consideran no aptos para el consumo humano. Entre estas se encuentra la ***Escherichia coli***, cuya presencia puede implicar la presencia de otros microorganismos patógenos como ***Salmonella tiphy***, ***Vibrio sp.*** y parásitos como ***Entamoeba sp.***

3.11.6 *Escherichia coli*

La ***Escherichia coli*** es una bacteria que se encuentra habitualmente formando parte de la flora normal de los intestinos de los seres humanos.

Microscópicamente es una bacteria en forma de bacilo, aerobia y aerobia facultativa, que consta de una pared celular delgada debida a una capa de peptidoglucano, por lo que impide que el reactivo de tinción (cristal violeta), sea retenido en el interior de la célula clasificándola como gram negativa; estructuralmente la mayoría forman fimbrias y pilis los cuales les sirven para desplazarse, así como también microcapsulas. Macroscópicamente forma colonias con brillo metálico en agar Eosina Azul de Metileno (EMB). ⁽⁴¹⁾

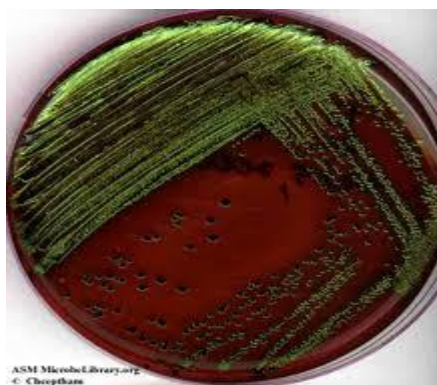


Fig. N° 2 Colonias de ***Escherichia coli*** en agar EMB.

Esta bacteria solo se encuentra en forma vegetativa, no forma esporas. Se caracteriza por ser un patógeno intestinal capaz de causar enfermedad diarreica en el hombre y en los animales. Cuando la ***Escherichia coli*** se

encuentra habitando en tejidos fuera del intestino, induce a procesos inflamatorios febriles, cuyos síntomas a menudo se pueden confundir con los ocasionados por otras bacterias entéricas.

En la actualidad, las formas patógenas han sido relacionadas con la enfermedad transmitida por alimentos y son cinco tipos principales de *Escherichia coli* patógenas: ***Escherichia coli enteropatogeno (EPEC)***, ***Escherichia coli enterotoxigénico (ETEC)***, ***Escherichia coli enteroinvasor (EIEC)***, ***Escherichia coli enteroagregativa (ADEC)*** y ***Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC)***.⁽⁹⁾

La transmisión de estas bacterias a los humanos puede ocurrir por medio de alimentos contaminados, por manipuladores de alimentos infectados que practican una defectuosa higiene personal o por contacto con agua contaminada de aguas residuales humanas. Las medidas importantes para prevenir la intoxicación alimentaria incluyen la formación de operarios en técnicas de manipulación inocua de alimentos e higiene personal.⁽⁹⁾

3.11.7 *Staphylococcus aureus*

El ***Staphylococcus aureus***, es una bacteria anaerobia gram positiva productora de coagulasa y catalasa.^{(7), (26)}

En la actualidad, este microorganismo es el principal causante de las infecciones nosocomiales. Esta situación se ve favorecida por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado, o incluso, con otro paciente.

El ***Staphylococcus aureus*** es un coco inmóvil, de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, que se divide en tres planos para formar grupos de células irregulares

semejantes a racimos de uvas. En extendidos de pus los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Los racimos irregulares son característicos de extendidos tomados de cultivos que se desarrollan en medios sólidos, mientras que en otros cultivos son frecuentes las formas de diplococos y en cadenas cortas. Unas pocas cepas producen una cápsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo. El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo gram positivo pero las células viejas y los microorganismos fagocitados se tiñen como gram negativos. ^{(13), (26)}

Características morfológicas

Los estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*) producen colonias brillantes, convexas, de color gris oscuro a negro, con o sin una zona opaca alrededor de las colonias en agar Baird Parker. ⁽²⁶⁾



Fig. N° 3 Colonias de *Staphylococcus aureus*, en agar Baird Parker.

Metabolismo

El *Staphylococcus aureus* tiene un metabolismo de tipo fermentativo y anaerobio facultativo, catalasa positivo y oxidasa negativo. Son capaces de fermentar la glucosa sin producción de gases y producen acetil metil carbinol. Fermentan también el manitol con formación de ácidos y puede hacerlo en anaerobiosis. ⁽²⁶⁾

Su temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos. Poseen una enzima, la coagulasa, que los diferencia del resto de las especies del género; ésta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina.

⁽²⁶⁾

3.11.8 *Salmonella* spp

Salmonella es un género de bacterias que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gram negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula (excepto la especie *S. typhi* 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. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar, también por vía sexual.

La 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. ⁽⁴³⁾

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. ⁽³⁹⁾

Las colonias de ***Salmonella*** en agar Rambach son de color rojo o rosado intenso.



Figura N° 4 Colonias de ***Salmonella spp*** en agar Rambach.

3.11.9 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos. Secreta una variedad de pigmentos como piocianina (azul verdoso), fluoresceína (amarillo verdoso fluorescente) y piorubina (rojo pardo). ⁽⁴²⁾

3.11.10 Efectos sobre la salud humana

Pseudomonas aeruginosa puede causar diversos tipos de infecciones pero rara vez causa enfermedades graves en personas sanas sin algún factor predisponente. Coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos. Desde estos lugares puede invadir el organismo y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis. ⁽⁴²⁾

3.11.11 Relevancia de su presencia en el agua de consumo

Puede asociarse la presencia concentraciones altas de *Pseudomona aeruginosa* en el agua potable, especialmente en el agua envasada, por su sabor, olor y turbidez. *Pseudomona aeruginosa* es sensible a la desinfección, por lo que una desinfección adecuada puede minimizar su entrada en los sistemas de distribución. ⁽⁴²⁾

Las medidas de control diseñadas para limitar la formación de biopelículas, como el tratamiento para optimizar la eliminación del carbono orgánico, la restricción del tiempo de residencia del agua en los sistemas de distribución y el mantenimiento de concentraciones residuales de desinfectantes, deberían reducir la proliferación de estos microorganismos. ⁽⁴²⁾

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLOGICO

IV. DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio: Prospectivo, Campo y experimental. ⁽¹⁾

Prospectivo: Será un antecedente para la institución de estudio.

Campo: Se utilizó una guía de observación para conocer las condiciones de preparación y manipulación de alimentos en el Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA) y se recolectaron las muestras de los alimentos seleccionados.

Experimental: Se evaluaron los parámetros microbiológicos de recuento de coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias, detección de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* y *Pseudomona aeruginosa*; que se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

4.2 Investigación bibliográfica: La recopilación de información bibliográfica se llevó a cabo en bibliotecas de diferentes instituciones y universidades.

- Facultad de Química y Farmacia Dr. Benjamín Orozco
- Central de la Universidad de El Salvador
- Universidad Alberto Masferrer (USAM)
- Universidad Centro Americana José Simeón Cañas (UCA).
- Internet

4.3 Investigación de Campo, Universo y Muestra

Universo: Toda el área de la cocina general del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).

Muestra: Áreas seleccionadas de la cocina general, (alimentos, manos de manipuladores, ambiente y utensilios).

Muestreo: Se llevó a cabo un muestreo aleatorio simple tomando en cuenta el menú calendarizado por semana proporcionado por la unidad de nutrición de la institución.

Las muestras se recolectaron tomando en cuenta los grupos básicos de alimentación incluidos en el menú.

El ISNA cuenta con un total de seis manipuladores con turnos rotativos de 2 días (3 manipuladores por turno), las muestras de sus manos se tomaron en dos semanas para poder tener muestras del 100% de los manipuladores.

Las muestras de ambiente fueron tomadas considerando los puntos más críticos de contaminación y las muestras de utensilios se incluyeron aquellos con mayor potencial de contaminación del alimento.

Se tomaron 24 muestras por duplicado haciendo un de total de 48 incluyendo muestras de alimentos, manos de manipuladores, ambiente y utensilios.

El muestreo se desglosó de la siguiente manera:

Semana 1

- Nueve muestras de alimentos: lácteo, ensalada fresca, tortilla, refresco, embutido, carne, pan dulce, fruta fresca, y agua proveniente de la fuente de suministro.
- Ocho muestras de ambiente: 2 de comedor, 2 de preparación de alimentos de la cocina de lactantes, 2 de bodega de alimentos y 2 de preparación de alimentos de la cocina general.
- Tres muestras de manipuladores: 3 personas (manos).
- Cuatro muestras de utensilios: tabla de picar, licuadora, rayador, cuchillo.

Semana 2

- Nueve muestras de alimentos: lácteo, ensalada fresca, tortilla, refresco, embutido, carne, pan dulce, fruta fresca, y agua proveniente de la fuente de suministro.
- Ocho muestras de ambiente: 2 de comedor, 2 de preparación de alimentos de la cocina de lactantes, 2 de bodega de alimentos y 2 de preparación de alimentos de la cocina general.
- Tres muestras de manipuladores: 3 personas (manos)
- Cuatro muestras de utensilios: tabla de picar, licuadora, rayador, cuchillo.

4.4 Parte experimental

4.4.1 Procedimiento de toma de muestra. ⁽¹³⁾

Se tomaron las muestras utilizando para ello bolsas y frascos estériles. Se identificaron y colocaron en una hielera previamente desinfectada; se mantuvieron a una temperatura entre 0-10° C. Las muestras de ambiente se mantuvieron a temperatura ambiente a 37° C. Posteriormente las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

Procedimiento para cada muestra:

- Agua y refrescos

Se utilizaron frascos estériles, de boca ancha con tapón de rosca con capacidad de 500.0 mL.

El agua se tomó del filtro, el cual fue previamente esterilizado con una torunda de alcohol isopropílico antes de tomar la muestra. Esta se llenó hasta unos 2 cm abajo del cuello dejando el espacio suficiente de aire para una posterior homogenización. ⁽⁹⁾

El refresco se sacó de su recipiente con un cucharón estéril y luego se pasó a un frasco de boca ancha. Este se llenó hasta unos 2 cm abajo del cuello dejando el espacio suficiente de aire para una posterior homogenización. Se le colocó a cada frasco su respectiva viñeta para su identificación. ⁽⁹⁾

- Alimentos

Se utilizaron 14 bolsas asépticas estériles, una para cada muestra. Las muestras se tomaron directamente de donde se encuentran almacenadas. Al realizar el análisis se partieron las muestras utilizando cuchillos y espátulas estériles e inmediatamente se comenzó el análisis.

- Ambiente

Se vertió aproximadamente 20.0 ml de agar Papa Dextrosa en 16 placas de petri que se dejó solidificar y se guardaron. Estas fueron utilizadas al momento del muestreo. ⁽⁹⁾

- Manipuladores

Se utilizaron 6 frascos conteniendo diluyente estéril y hasta el momento del muestreo se depositó el contenido de cada frasco en bolsas estériles separadas. ⁽⁹⁾

- Utensilios

Se utilizaron 4 frascos conteniendo diluyente estéril y hasta el momento del muestreo se depositaron el contenido de cada frasco en bolsas estériles separadas, utilizando una torunda de algodón estéril para cada uno, se humedeció cada torunda de algodón, se drenó el exceso de líquido y se procedió con el muestreo. ⁽⁹⁾

4.5 Identificación de la muestra. Ver anexo N° 5. ⁽¹³⁾

A cada una de las muestras se les colocó sus datos completos para su correcta identificación: Fecha, tipo de muestra, lugar de muestreo, hora de la toma de muestra y nombre del analista.

4.6 Procedimiento para la preparación de las muestras. ⁽¹³⁾

4.6.1 Para muestras del ambiente (placas dejadas al aire libre). Ver anexo N° 6. ⁽¹³⁾

Las 16 cajas de petri que contenían agar Papa Dextrosa acidificado con ácido tártrico al 10 %, se dejaron abiertas durante 4 horas en diferentes puntos del lugar: 2 muestras del área del comedor, 2 de preparación de alimentos de la cocina de lactantes, 2 muestras de la bodega de alimentos y 2 muestras del área de preparación de alimentos de la cocina general. Posteriormente se dejaron incubadas las placas de 5-7 días a temperatura ambiente y luego se observó si hubo algún crecimiento. Se realizó el recuento como recuento de mohos y levaduras en 4 horas de exposición.

4.6.2 Para muestras de manipuladores (manos). ⁽¹³⁾

Cada manipulador introdujo las manos una por una, dentro de una bolsa con agua peptonada, se lavaron las manos dentro de ella, por un espacio de 3 minutos. Se realizó para detectar portadores esporádicos o permanentes de ***Staphylococcus aureus*** y ***Escherichia coli*** en las manos de los manipuladores. Ver anexo N° 7.

4.6.3 Para muestras de utensilios. ⁽¹³⁾

Se humedecieron 4 torundas de algodón estériles cada una en su respectiva bolsa de agua peptonada, luego se pasó cada torunda sobre la superficie de un utensilio de cocina a muestrear. Se colocó las torundas en las bolsas con diluyente respectivamente y se agitó. Posteriormente se siguió con el procedimiento para la determinación de coliformes totales y presencia de patógeno (*Escherichia coli*).

4.6.4 Para muestras: lácteos, ensaladas, tortillas, embutidos, pan dulce, fruta, carnes .Ver anexo N° 8. ⁽¹³⁾

Para cada una de las muestras se realizaron las siguientes diluciones: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .

- Primera dilución (10^{-1}): Se pesó en forma directa y aséptica 25.0 g, de muestra en una bolsa estéril, se agregaron 225.0 mL de agua peptonada y luego se agitó en un Stomacher por 3 minutos a 260 rpm, luego se pasó a un frasco para diluciones.

- Segunda dilución (10^{-2}): De la dilución anterior, luego de ser agitada, se tomaron 10.0 mL con pipeta estéril y se pasó a un frasco de dilución que contenía 90.0 mL de solución diluyente estéril.

- Tercera dilución (10^{-3}): De la dilución anterior, se tomó 10.0 mL y se adicionó a otro frasco que contenía 90.0 mL de solución diluyente.

4.6.5 Para muestras: refrescos. Ver anexo N° 9. ⁽¹³⁾

Se agitó vigorosamente unas 25 veces antes de ser analizada, para asegurar una buena homogenización. Preparación de diluciones:

- Primera dilución (10^{-1}): Se midió asépticamente 10.0 mL de la muestra, con una pipeta estéril, se adicionó a 90.0 mL de agua peptonada en un frasco para diluciones y luego se agitó para homogenizar.

- Segunda dilución (10^{-2}): Se midió 10.0 mL de la dilución anterior, se adicionó a otro frasco de dilución que contenía 90.0 mL de agua peptonada y se agitó para homogenizar.

- Tercera dilución (10^{-3}): Se midió 10.0 mL de la dilución anterior, se adicionó a otro frasco de dilución que contenía 90.0 mL de agua peptonada y se agitó para homogenizar.

4.6.6 Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobias para refresco. Ver anexo N° 10. ⁽¹³⁾

A partir de las diluciones ya preparadas: (10^{-1}), (10^{-2}), (10^{-3}).

- Se midieron de cada una de las diluciones, 1.0 mL y se adicionó a una placa de petri por separado (se realizó por duplicado).
- A cada una de las placas, que contenía la dilución de la muestra, se le adicionó aproximadamente 20.0 mL de agar Plate Count (medio de cultivo.)
- Se homogenizó por medio de la técnica de ocho y se dejó solidificar.

- Posteriormente se invirtió la placa y se dejó en incubación por un tiempo de 24-48 horas a una temperatura de $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Utilizando un cuenta colonias, se determinó la cantidad de colonias presentes en cada una de las placas de las distintas diluciones.

4.6.7 Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobias para agua. Ver anexo N° 11.⁽¹³⁾

La muestra original de agua, se agitó y luego:

- Se midió 1.0 mL y 0.1 mL, luego se adicionaron a una placa petri por separado (se realizó por duplicado).
- A cada una de las placas, contenida la dilución de la muestra, se le adicionó aproximadamente 20.0 mL de agar Plate Count (medio de cultivo.)
- Se homogenizó por medio de la técnica de ocho y se dejó solidificar.
- Posteriormente se invirtió la placa y se dejaron en incubación por un tiempo de 24-48 horas a una temperatura de $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Utilizando un cuenta colonias, se determinaron la cantidad de colonias presentes en cada una de las placas de las distintas diluciones.

4.6.8 Determinación y recuento de mohos y levaduras para refresco.

Ver anexo N° 12. ⁽¹³⁾

A partir de las diluciones ya preparadas: (10^{-1}), (10^{-2}), (10^{-3}).

- Se midió de cada una de las diluciones, 1.0 mL y se adicionó a una placa de petri por separado (se realizará por duplicado).
- A cada una de las placas, contenida la dilución de la muestra, se le adicionó aproximadamente 20.0 mL de agar Papa Dextrosa (medio de cultivo.)
- Se homogenizó por medio de la técnica de ocho y se dejó solidificar.
- Posteriormente se invirtió la placa y se dejó en incubación por un tiempo de 5 días a temperatura ambiente.
- Utilizando un cuenta colonias, se determinó la cantidad de colonias presentes en cada una de las placas de las distintas diluciones.

4.6.9 Aislamiento de *Staphylococcus aureus*. Ver anexo N° 13. ⁽¹³⁾

- De la dilución 10^{-1} , se transfirió asépticamente 1.0 mL de muestra y se distribuyó equitativamente en 3 placas con agar Baird –Parker: 0.4, 0.3 y 0.3 mL.
- Se distribuyó el inóculo sobre la superficie del agar, utilizando una varilla en “L” estéril se mantuvieron las placas en posición horizontal hasta que el inóculo se absorbiera por el medio de cultivo (aproximadamente 10 minutos.)

- Las placas invertidas se incubaron por un tiempo de 24-48 horas a una temperatura de 35° C.
- Se seleccionaron las placas que contenían colonias con apariencia típica de ***Staphylococcus aureus***. Estas eran circulares, lisas, convexas, húmedas, de 2 a 3 mm. de diámetro , color gris o negro azabache, con margen de luz blanquecino, rodeado por una zona opaca y frecuentemente con una zona clara exterior, con consistencia gomosa al ser tocada por la punta de la asa.

4.6.9.1 Recuento de placas de *Staphylococcus aureus*. Ver anexo N° 14. ⁽¹³⁾

Se seleccionaron de cada placa más de una colonia sospechosa de ***Staphylococcus aureus*** y se le realizó la prueba de la producción de coagulasa.

4.6.10 Prueba para coliformes totales

4.6.10.1 Prueba para muestras de agua potable y refresco. Ver anexo N° 15.

⁽¹³⁾

Utilizando la muestra original (sin ninguna dilución), se midieron 10.0 mL y se adicionaron a cada uno de 10 tubos que contenían 10.0 mL de caldo fluorogénico (LMX) se incubaron por 24-48 horas a una temperatura de 35°C ± 1°C, luego se observó su coloración.

4.6.11 Prueba para coliformes fecales en agua y refrescos. Ver anexo N°

16. ⁽¹³⁾

De los tubos con caldo fluorogénico (LMX) utilizados para coliformes totales, que resultaron positivos:

- Se tomaron tres asadas (con asa de platino) y se inocularon en tubos que contendrán caldo EC con campana de Durham.
- Se incubaron por 24 horas a una temperatura de 44.5°C, utilizando Baño María. Después de la incubación, se observó la presencia de gas, la cual indicó prueba positiva para coliformes fecales.

4.6.12 Prueba para *Escherichia coli*. Ver anexo N° 17. ⁽¹³⁾

Los tubos que resultaron positivos en la prueba de coliformes totales, se procedió a lo siguiente:

- Se observó si los tubos tenían fluorescencia, para lo cual se utilizó una lámpara de luz ultravioleta.
- Luego se le adicionó dos gotas de reactivo de indol a cada uno de los tubos. Donde la prueba positiva estaba indicada por la formación de un anillo de color violeta.
- De los tubos positivos se tomó una asada y se sembró en placas con agar EMB.
- Se incubó a 37°C por 24-48 horas.
- El desarrollo de colonias con brillo metálico confirmó la presencia de *Escherichia coli*.

4.6.13 Prueba para *Pseudomona aeruginosa* en agua. Ver anexo N° 18. ⁽¹³⁾

- De los tubos con caldo fluorogénico (LMX) que contenía la muestra de agua, utilizados para coliformes totales, se incubaron y se observaron con luz U.V. y se registraron como positivos aquellos tubos que produjeron pigmento verde.
- Con la ayuda de una asa bacteriológica se sembraron por el método de estrías el contenido de los tubos positivos en agar Cetrimide, incubándose a $35 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 24-48 horas.
- Se seleccionaron las colonias típicas (verdes azuladas y fluorescentes a luz U.V., las colonias seleccionada se transfirieron a (T.S.A.) y se incubaron a 35°C por 24 horas.
- De las colonias en agar TSA se realizaron pruebas bioquímicas convencionales para su confirmación. Ver anexo N° 22. ⁽¹³⁾

4.6.14 Para muestras de utensilios (recuento de coliformes totales y fecales) Ver anexo N° 19. ⁽¹³⁾

La muestra original se agitó y luego:

- Se midió 1.0 mL de cada muestra aplicada a los utensilios y se adicionaron a una placa petri por separado (se realizó por duplicado).
- A cada una de las placas, conteniendo la muestra, se le adicionó aproximadamente 20.0 mL de agar Chromocult.

- Se homogenizó por medio de la técnica de ocho y se dejó solidificar.
- Posteriormente se invirtió la placa y se dejó en incubación por un tiempo de 18-24 horas a una temperatura de $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Utilizando un cuenta colonias, se determinó la cantidad de colonias presentes en cada una de las placas.

Coliormes totales: colonias rosadas. Coliformes fecales: colonias moradas.

4.6.15 Prueba para la determinación y recuento de *Escherichia coli* en alimentos. Ver anexo N° 20. ⁽¹³⁾

A partir de las diluciones ya preparadas: (10^{-1}), (10^{-2}), (10^{-3}).

- Se midió de cada una de las diluciones, 1.0 mL y se adicionó a una placa de petri por separado (se realizó por duplicado).
- A cada una de las placas, contenida la dilución de la muestra, se le adicionó aproximadamente 20.0 mL de agar Chromocult (medio de cultivo.)
- Se homogenizó por medio de la técnica de ocho y se dejó solidificar.
- Adicionó 3-4 mL de agar Chromocult, para inhibir el crecimiento de las colonias en la superficie.
- Posteriormente se invirtió la placa y se dejó en incubación por un tiempo de 24-48 horas a temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- Utilizando un cuenta colonias, se determinó la cantidad de colonias presentes en cada una de las placas.

4.6.16 Prueba para la determinación de *Samonella spp* en lácteos, embutidos, ensalada fresca, y carnes. Ver anexo N° 21. ⁽¹³⁾

- Se pesó asépticamente 25g de la muestra.
- Se agregaron 225.0 mL de Caldo Lactosado y se homogenizó por un minuto en stomacher a 260 rpm.
- Se tapó el frasco con la muestra y se mezcló por movimiento.
- Se incubó por 24 ± 2 horas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.6.16.1 Aislamiento de *Salmonella spp*.

- De la dilución 10^{-1} , se tomó 1.0 mL y se colocó en un tubo con 10.0 mL de Caldo Tetrionato y 0.1 mL en un tubo con 10.0 mL de Caldo Rappaport Vassilidius. Después de la inoculación se homogenizó.
- Los Caldo Rappaport Vassilidius se incubaron por 24 ± 2 horas a $42 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ y los tubos con Caldo Tetrionato se incubaron por 24 ± 2 horas a $42 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Se tomarón dos asadas de cada tubo y se sembraron sobre la superficie de agar Bismuto sulfito (BS) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), se incubarán a 35°C por 24 horas ± 2 horas. Se observarán colonias gris o negras, a veces con brillo metálico en agar Bismuto sulfito (BS) y en

agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), colonias rosadas con o sin centro negro.

- Se seleccionaron dos colonias aisladas en agar BS y XLD y se sembraron en agar TSA, para aislar a la bacteria. Se incubó a 35 °C por 24 horas.

- De las colonias en agar TSA se realizaron pruebas bioquímicas convencionales para su confirmación. Ver anexo N° 22. ⁽¹³⁾

CAPITULO V

RESULTADOS

5.1 Resultado del análisis estadístico de la guía de observación.

Se utilizó una guía de observación para evaluar los factores que intervienen en la calidad microbiológica de la preparación y manipulación de alimentos en el Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA). Ver Anexo N°3

Cuadro N° 1: Resultados de la guía de observación en la preparación y manipulación de alimentos.

| PARÁMETROS EVALUADOS | SI | NO | TOTAL |
|--|-------|-------|-------|
| 1. ¿La ubicación del lugar dónde se preparan los alimentos es la adecuada? | 0% | 100% | 100% |
| 2. ¿Los equipos y utensilios utilizados para la preparación de alimentos se encuentran en condiciones adecuadas de almacenamiento? | 12.5% | 87.5% | 100% |
| 3. ¿Se observa una apariencia limpia en las superficies dónde se preparan los alimentos? | 100% | 0% | 100% |
| 4. ¿Mantiene las uñas limpias y recortadas? | 0% | 100% | 100% |
| 5. ¿Se lava las manos para manipular los alimentos? | 100% | 0% | 100% |
| 6. ¿Utiliza ropa de trabajo limpia, cofia o redecilla en el cabello para manipular los alimentos? | 100% | 0% | 100% |
| 7. ¿Usa guantes para preparar los alimentos? | 0% | 100% | 100% |
| 8. ¿Las tablas que utilizan para cortar los alimentos están limpias? | 12.5% | 87.5% | 100% |
| 9. ¿Cuentan con agua potable en las instalaciones? | 100% | 0 % | 100% |
| 10. ¿Los manipuladores platican en el momento de preparar los alimentos? | 100% | 0% | 100% |
| 11. ¿Tienen los sanitarios a una distancia cercana al lugar dónde se preparan los alimentos? | 100% | 0% | 100% |
| 12. ¿Se realiza exámenes de heces periódicamente? * | 100% | 0 % | 100% |

*Respuesta proporcionada por el Dr. de la Unidad de Salud (ISNA)

El resultado estadístico de la guía de observación dio los resultados siguientes:

- El área donde preparan los alimentos no es la adecuada, ya que los sanitarios están cerca de la cocina general y las ventanas se encuentran sucias.
- Los equipos y utensilios utilizados para la preparación de alimentos no se encuentran en condiciones adecuadas de almacenamiento, ya que estos están en estantes y otros en el suelo.
- A los manipuladores de alimentos se les observaron las uñas cortas, con esmalte y sucias.
- No se observó que se lavarán las manos durante la manipulación de alimentos, pero si antes de su preparación.
- El 100% de los manipuladores de alimentos (6 personas que manipulan los alimentos) utilizan ropa adecuada a la hora de preparar los alimentos.
- La población total de las personas encargadas de preparar los alimentos, no utiliza guantes cuando están manipulándolos.
- El 100% de los manipuladores de alimentos hablan cuando los preparan.

Al consultar al Dr. de la Unidad de Salud de la Institución, acerca de la realización de exámenes médicos a los manipuladores de alimentos, él respondió que si se les realizan en los primeros meses de cada año, siendo estos: sangre, orina y heces. Posteriormente se les brinda una capacitación.

5.2. Resultados de la primera semana y de la segunda semana para cada muestra de alimentos.

5.2.1. Recuento de bacterias coliformes totales

5.2.1.1 Recuento de coliformes totales

Cuadro N° 2: Resultados obtenidos del recuento de bacterias coliformes totales

| Muestra | Coliforme total | Limites según la normativa |
|----------------------------|--|---------------------------------|
| Agua | < 1,1 NMP/100 mL | < 1,1 NMP/100 mL |
| Refresco (tamarindo) | < 1,1 NMP/100 mL | < 1,1 NMP/100 mL |
| Manos de manipuladores | 150 UFC/ manos | < 100 UFC/ manos |
| Utensilio (a, b, c y d) * | 250 UFC/ superficie muestreada 200 UFC/ superficie muestreada 125 UFC/ superficie muestreada 250 UFC/ superficie muestreada | < 25 UFC/ superficie muestreada |

*a: cuchillo, b: licuadora, c: tabla de picar y d: rayador.

En el cuadro N° 2, se muestran los resultados obtenidos en la determinación de coliformes totales en muestras de agua, refresco, manos de manipuladores y utensilios. Se puede observar que de las 4 muestras, solo 2 cumplen con los parámetros microbiológicos que son el agua y el refresco ya que cumplen con el límite establecido de < 1,1 NMP/100 mL.

En los utensilios y las manos de los manipuladores, no cumplen las buenas prácticas higiénicas alimentarias, razón por la que están contaminados con coliformes totales.



Fig. N° 5 Determinación de coliformes totales en caldo fluorogénico (LMX) para agua.

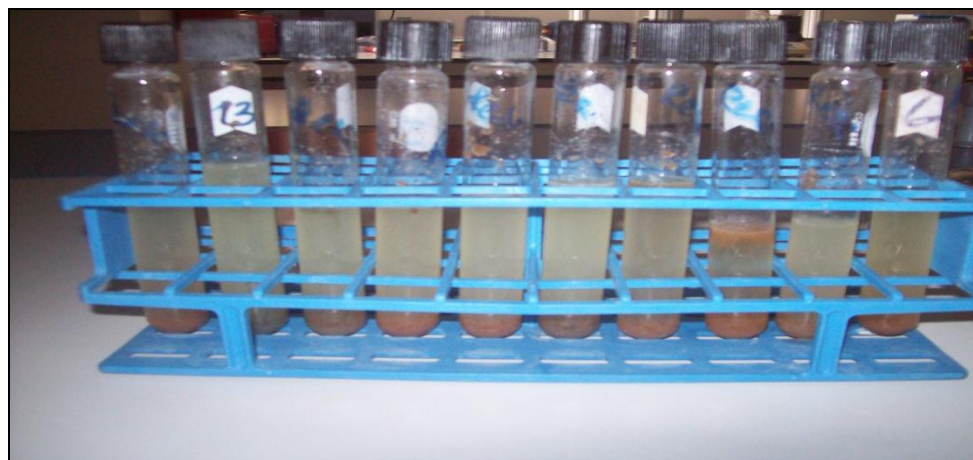


Fig. N° 6 Determinación de coliformes totales en caldo fluorogénico (LMX) para refresco de tamarindo.

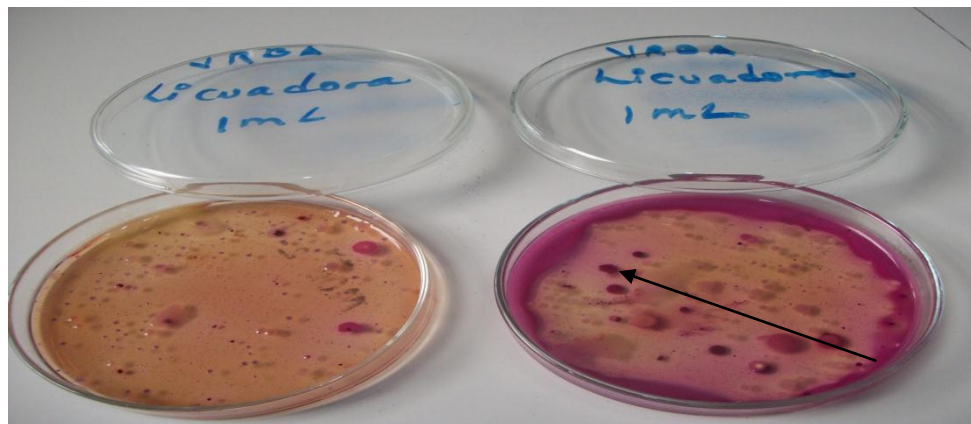


Fig. N° 7 Colonias características de coliformes totales (colonias rosadas) en agar Chromocult muestras de utensilios.

5.2.1.2 Recuento de coliformes fecales

Cuadro N°3: Resultados obtenidos del recuento de bacterias coliformes fecales

| Muestra | Coliforme fecal | Limites según la normativa |
|-----------------------|------------------|----------------------------|
| Agua | < 1,1 NMP/100 mL | < 1,1 NMP/100 MI |
| Refresco (tamarindo) | < 1,1 NMP/100 mL | < 1,1 NMP/100 mL |

En el cuadro N° 3, se muestran los resultados obtenidos en la determinación de coliformes fecales en muestras de agua y refresco. Se puede observar que las 2 muestras cumplen con los parámetros microbiológicos ya que se encuentran en el rango establecido.

Los resultados para el agua y refresco de tamarindo estaban ausentes de coliformes fecales debido a que el agua es proveniente de un filtro que se le dá mantenimiento cumpliendo con la función de potabilizar el agua, el refresco se prepara de la misma agua que proviene del filtro, ya que el refresco de tamarindo se pone a cocción para prepararlo, lo que implica que al hervir aumenta la temperatura y destruye las posibles bacterias presentes.

5.2.2 Recuento de microorganismos mesofilos aerobios

Cuadro N°4: Resultados obtenidos del recuento de bacterias mesofilos aerobios

| Muestra | Bacterias mesofilas aerobias | Limites según la normativa |
|-----------------------|------------------------------|----------------------------|
| Agua | <100 UFC/mL | <100 UFC/mL |
| Refresco (tamarindo) | 15 UFC/mL | 100 UFC/mL |

En el cuadro N°4, se muestran los resultados obtenidos del recuento de bacterias mesofilos aerobios. Se puede observar que las 2 muestras cumplen con los parámetros microbiológicos ya que se encuentran en el rango establecido.

Un recuento elevado indica la posible presencia de microorganismos patógenos, como la muestras de agua y refresco de tamarindo contenían cierta cantidad de bacterias mesofilas aerobias que son permisibles en los criterios, razón por la que se consideran cumplen con sus normativas.

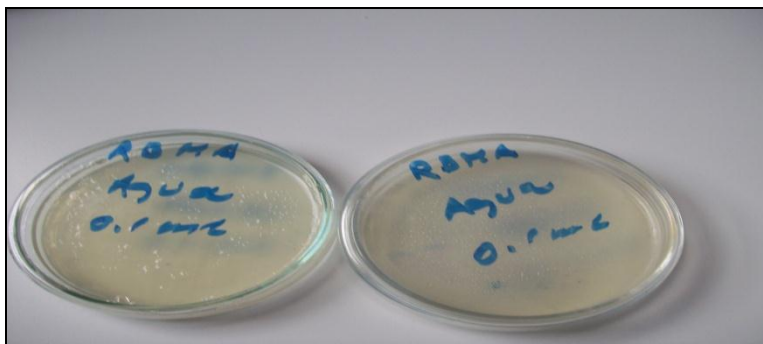


Fig. N° 8 Recuento de bacterias mesofilas aerobias para agua.



Fig. N° 9 Recuento de bacterias mesofilas aerobias para refresco de tamarindo.

5.2.3 Recuento de mohos y levadura

Cuadro N°5: Resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras en muestra de refresco .

| Muestra | Recuento de mohos y levaduras | Limites según la normativa de NSO 67.18.01:01 |
|----------------------|-------------------------------|---|
| Refresco (tamarindo) | 70 UFC/ MI | < 100 UFC/ mL |

En el cuadro N°5, se muestran los resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras en muestra de refresco. Se puede observar que la muestra se encuentra en el rango establecido, por lo que cumple con los parámetros microbiológicos porque no sobrepasa los límites establecidos.

Las condiciones en la que preparan el refresco son favorables ya que hay cierta cantidad de hongos y levaduras; pero son aceptables según su correspondiente normativa.

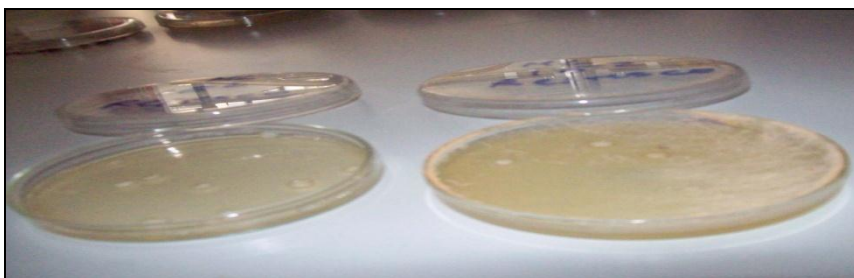


Fig. N° 10 Mohos y levaduras en agar Papa Dextrosa para refresco

Cuadro N°6: Resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras en muestra de ambiente .

| Muestra | Recuento de mohos y levaduras | Limites según el RTCA 11.03.42:07.Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano. Placas de sedimentación (diámetro 90 mm) UfC/4 horas |
|---------------------------------|--------------------------------------|---|
| Cocina general* | 150 UFC/ 4 horas | 100 UFC/ 4 horas |
| Bodega* | 130 UFC/ 4 horas | 100 UFC/ 4 horas |
| Área de la cocina de lactantes* | 200 UFC/ 4 horas | 100 UFC/ 4 horas |
| Área del comedor* | 180 UFC/ 4 horas | 100 UFC/ 4 horas |

* Comparado con clase D. Ver Anexo N °24

En el cuadro N°6, se muestran los resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras en ambiente. Se puede observar que las muestras no se encuentran en el rango establecido, por lo que no cumple con los parámetros microbiológicos.

Las muestras de ambientes realizadas al área de la cocina mostraron una cantidad de mohos y levaduras que sobrepasan los límites establecidos debido a que en esta área las ventanas se encuentran sucias, hay entrada de polvo y acumulación en las bodegas, razón por las que no cumplen los criterios microbiológicos.

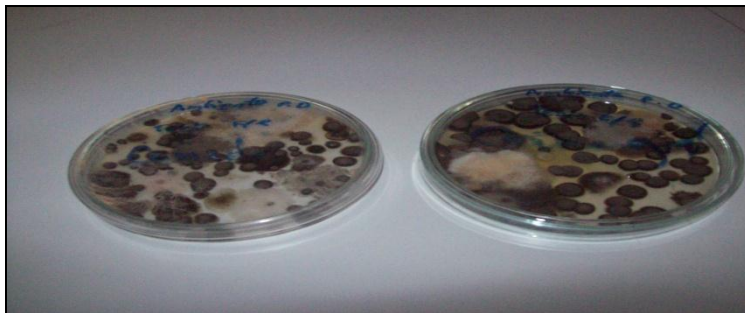


Fig.N°11 Mohos y levadura en agar Papa Dextrosa para ambiente.

5.2.4 Recuento de bacterias patógenas

5.2.4.1 Recuento de bacterias patógenas en agua

Cuadro N°7: Resultados obtenidos de bacterias patógenas en agua (*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*).

| Muestra de agua | Resultados | Limites según la normativa de Agua Potable |
|------------------------------|------------|--|
| Bacterias | | NSO 13.07.01:08 |
| <i>Escherichia coli</i> | Ausencia | Ausencia |
| <i>Pseudomona aeruginosa</i> | Ausencia | |

En el cuadro N°7, se muestran los resultados obtenidos del recuento de bacterias patógenas en agua como son *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Se puede observar que en la muestra hay ausencia de estas, por lo tanto cumple con los parámetros microbiológicos.

El agua que utilizan para preparar los alimentos, la adquieren del filtro que la potabiliza, por consiguiente no está contaminada con bacterias patógenas, considerando que el agua es apta para consumirla y preparar los alimentos.

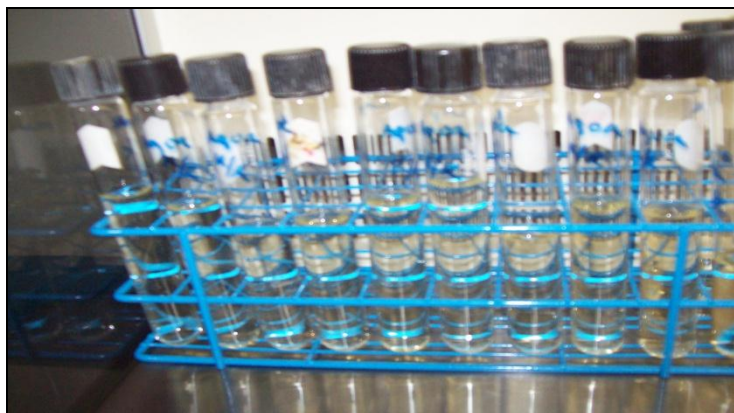


Fig. N°12 Ausencia de bacterias patógenas en agua observando que no posee fluorescencia.

5.2.4.2 Recuento de bacterias patógenas en refresco

Cuadro N°8: Resultados obtenidos de bacterias patógenas en refresco (*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*).

| Muestra de refresco | | |
|------------------------------|------------|--|
| Bacterias | Resultados | Limites según la normativa de Bebidas no carbonatadas sin alcohol. Especificaciones NSO 67.18.01:01. |
| <i>Escherichia coli</i> | Ausencia | Ausencia |
| <i>Pseudomona aeruginosa</i> | Ausencia | |

En el cuadro N°8, se muestran los resultados obtenidos del recuento de bacterias patógenas en refresco como son *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Se puede observar que en la muestra hay ausencia de estas ya que no producen fluorescencia, ni pigmentación verde, por lo tanto cumple con los parámetros microbiológicos.

El agua que utilizan para preparar el refresco, la adquieren del filtro que la potabiliza, por consiguiente no está contaminada con bacterias patógenas, considerando que el agua es apta para consumirla y preparar los alimentos.

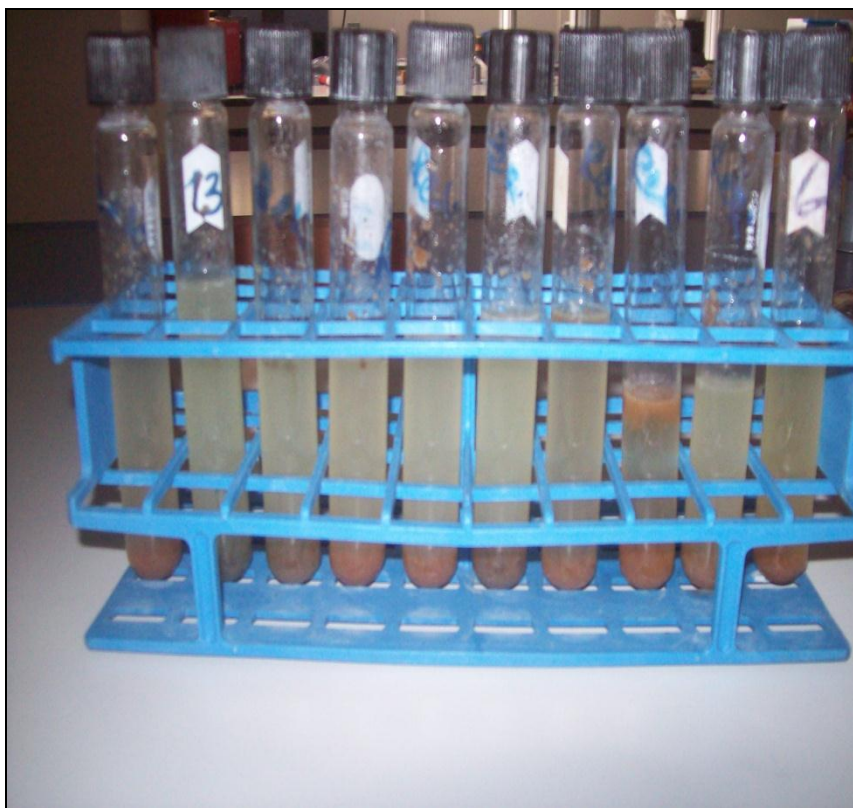


Fig. N° 13. Ausencia de bacterias patógenas en refresco.

5.2.4.3 Recuento de bacteria patógena en manos de manipuladores

Cuadro N°9: Resultados obtenidos de bacterias patógenas en manos de manipuladores (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*).

| Muestra de manos de manipuladores | Resultados | Limites según Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú. Método Enjuague |
|-----------------------------------|------------|--|
| Bacterias | | |
| <i>Escherichia coli</i> | Presencia | Ausencia |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Presencia | Ausencia |

En el cuadro N°9, se muestran los resultados obtenidos del recuento de bacterias patógenas en manos de manipuladores como son *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se puede observar que en las muestras hay presencia de estas bacterias, por lo tanto no cumple con los parámetros microbiológicos.

Los manipuladores de cocina, no cumplen las buenas prácticas higiénicas alimentarias, se lavan las manos antes de prepararlos; pero no después que van al baño, razón por la que están contaminadas sus manos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.



Fig. N° 14. Presencia de *Escherichia coli* en manos de manipuladores.



Fig. N°15. Colonias características de *Escherichia coli* en agar E.M.B.

5.2.4.4 Recuento de bacterias patógenas en utensilios

Cuadro N°10: Resultados obtenidos de bacterias patógenas en utensilios
Escherichia coli.

| Muestra de utensilio | Resultados | Límites según Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú. Método Esponja |
|-------------------------|------------|---|
| Bacterias | | |
| <i>Escherichia coli</i> | Presencia | Ausencia |

En el cuadro N°10, se muestran los resultados obtenidos del recuento de bacterias patógenas en utensilios indicando presencia de *Escherichia coli*. Se puede observar que en la muestra hay presencia de esta bacteria, por lo tanto no cumple con los parámetros microbiológicos.

Los utensilios de cocina que utilizan para preparar los alimentos se contaminan porque no los lavan adecuadamente e incluso hay contaminación cruzada ya que no cambian de tabla para picar para diferentes alimentos usan la misma.

Otro factor es la licuadora y rayador; se le observaban residuos de comida adheridos a las paredes y así la utilizan para prepararlos sin lavarlos correctamente.



Fig. N°16 Colonias características de *Escherichia coli* (colonias moradas) en agar Chromocult

5.2.5 RECUESTO DE *Escherichia coli*

5.2.5.1 *Escherichia coli*

Cuadro N°11: Resultados del recuento de *Escherichia coli* en las muestras de alimento. Ver Anexo N° 5

| Muestra | <i>Escherichia coli</i> UFC/ g | Limites según RTCA 67.04.50:08 |
|----------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Lácteo (queso duro) | 10 UFC/g | < 3 UFC/g |
| Fruta (guineo) | <10 ² UFC /g | 10 ² UFC /g |
| Ensalada fresca | 150 UFC /g | 10 ² UFC /g |
| Pan dulce (pegadito) | <10 ² UFC /g | 10 ² UFC /g |
| Embutido (jamón) | 15 UFC/g | < 10 UFC/g |
| Carne | 10 ² UFC /g | 10 ² UFC /g |
| Tortilla | < 3 UFC/g | < 3 UFC/g |

En el cuadro N° 11, se muestran los resultados obtenidos del recuento de *Escherichia coli* en las muestras de queso duro, guineo, ensalada fresca, pan dulce, jamón, carne y tortilla. Se puede observar que de las 7 muestras, solo 4 cumplen con los parámetros microbiológicos ya que se encuentran en el rango establecido como los son la fruta, el pan dulce, la carne y la tortilla.

La fruta (guineo), no estaba contaminada porque la cáscara le da protección, la carne, pan dulce y la tortilla son alimentos que son cocinados a altas temperaturas destruyendo las posibles bacterias presentes en ellos.

El lácteo y embutido, son alimentos que se encontraban empacados al vacío, estos se contaminaron en el procesamiento de empacarlos y porque no utilizan las buenas prácticas higiénicas para hacerlo.

La ensalada fresca presentó contaminación de origen y los manipuladores que no se lavan las manos correctamente cuando la están preparando.

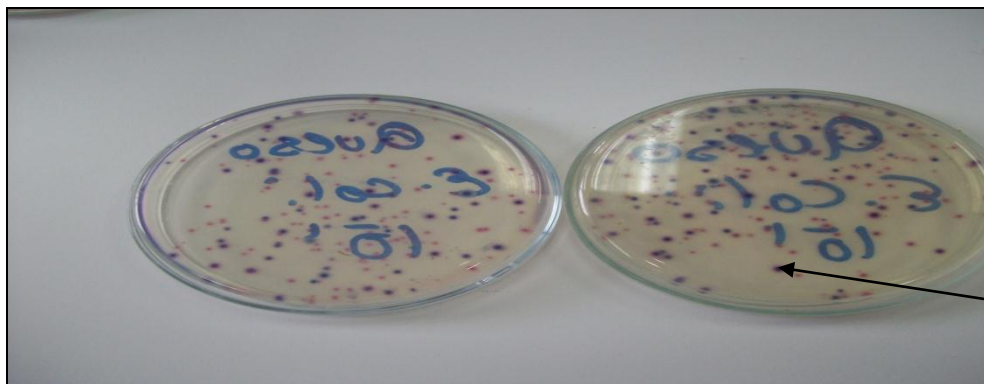


Fig. N°17 Colonias características de *Escherichia coli* (colonias moradas) en agar Chromocult para muestra de lácteo.



Fig. N°18 Colonias características de *Escherichia coli* (colonias moradas) en agar Chromocult para muestra de ensalada fresca.



Fig. N°19 Colonias características de *Escherichia coli* (colonias moradas) en agar Chromocult, para muestra de embutido.

5.2.6 RECUESTO DE *Staphylococcus aureus*

5.2.6.1 *Staphylococcus aureus*

Cuadro N°12: Resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* en las muestras de alimento. Ver Anexo N° 5

| Muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/ g | Limites según RTCA 67.04.50:08 |
|------------------------|--|-----------------------------------|
| Lácteo (queso duro) | >10 ² UFC/g | 10 ² UFC/g |
| Embutido (jamón) | >10 ² UFC/g | 10 ² UFC/g |
| Manos de manipuladores | >100 UFC/ manos | < 100 UFC/ manos |

En el cuadro N° 12 muestra los resultados obtenidos de ***Staphylococcus aureus***, indicando que ningún alimento cumple con los parámetros microbiológicos establecidos por el RTCA 67.04.50:08, esto se debe a las practicas higiénicas deficientes por parte de los manipuladores.

Se verificó el crecimiento de colonias negras con halo en agar Baird Parker. Al realizar la prueba de confirmación de la coagulasa las tres muestras presentaron coagulo, lo que indica que no cumplen con los criterios establecidos por la normativa correspondiente.

Las personas que manipulan los alimentos se tocan la nariz y estornudan sobre ellas razón por los que se consideran portadores esporádicos.

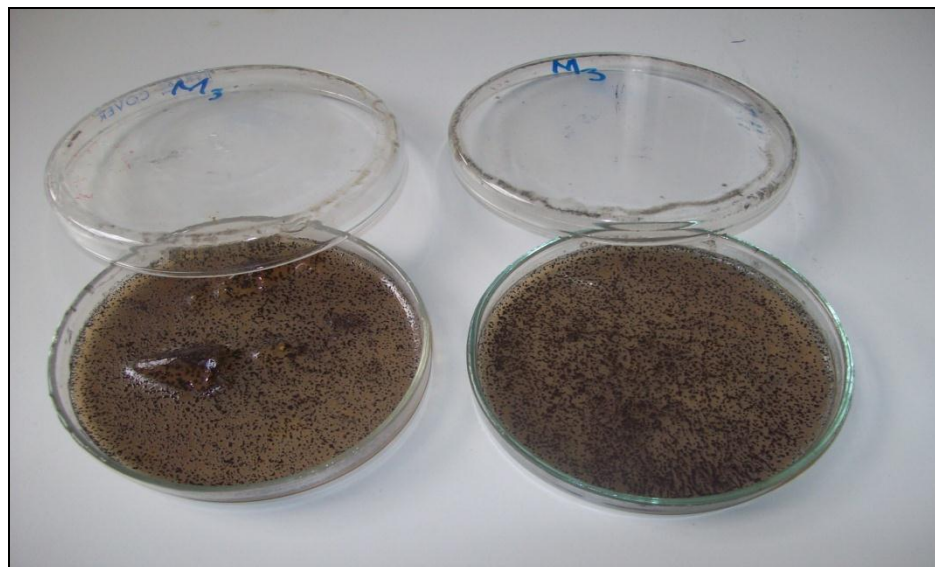


Fig. N°20. Colonias características de ***Staphylococcus aureus*** (colonias negras con halo transparente) en agar Baird Parker.



Fig. N° 21. Confirmación de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva.

5.2.7 RECUESTO DE *Salmonella spp/25g*

5.2.7.1 *Salmonella spp/25g*

Cuadro N°13: Resultados del recuento de *Salmonella spp/25g* en las muestras de alimento. Ver Anexo N° 5

| Muestra | <i>Salmonella spp/25g</i> | Limites según RTCA 67.04.50:08 |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| Lácteo (queso duro) | Ausencia | Ausencia |
| Embutido (jamón) | Ausencia | Ausencia |
| Ensalada fresca | Ausencia | Ausencia |
| Fruta (guineo) | Ausencia | Ausencia |
| Carne | Ausencia | Ausencia |

En el cuadro N° 13 se encuentran los resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella spp* se puede observar que los 4 alimentos de lácteo, embutido, ensalada fresca y fruta cumplen con los criterios microbiológicos del RTCA 67.04.50:08, donde hay ausencia de *Salmonella spp* que corresponde a un 100% de muestras.

La *Salmonella spp*, no aparece en los alimentos porque la carne se lleva a cocción, la fruta es un guineo la cáscara le da protección de agentes externos, el lácteo y embutidos son alimentos empacados al vacío.

Para la determinación del género *Salmonella spp*, se realizó en las siguientes etapas:

- **Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo**

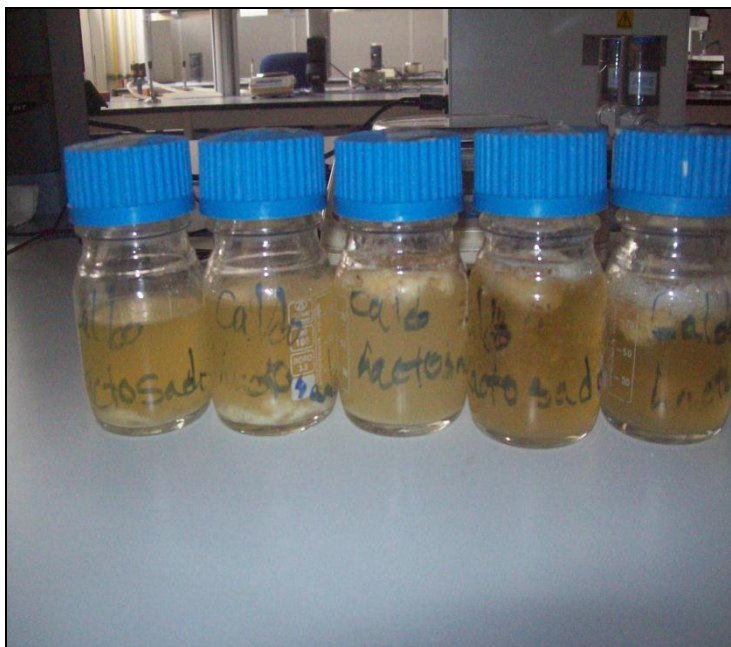


Fig. N° 22. Muestras en caldo lactosado

- **Enriquecimiento en medios líquidos selectivos**

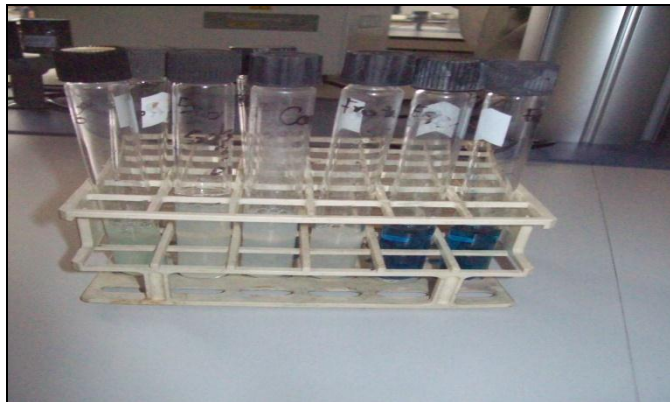


Fig. N° 23 Enriquecimiento de *Salmonella spp* en caldo Tetrionato y Rappaport.

- **Aislamiento diferencial sobre medios selectivos sólidos**



Fig. N° 24 Aislamiento de *Salmonella spp* en agar XLD y BS.

Cuadro N° 14: Resultados obtenidos a las muestras analizadas

| Muestra | Coliformes totales | Coliformes fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Salmonella spp</i> | <i>Pseudomona aeruginosa</i> | Recuento de bacterias mesofilas aerobias | Recuento de mohos y levaduras | Resultado final |
|---------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|--|-------------------------------|-----------------|
| Lácteo | | | 10 UFC/g | DNPC | Ausencia | | | | No cumple |
| Ensalada | | | 150 UFC /g | | Ausencia | | | | No cumple |
| Tortilla | | | < 3 UFC/g | | | | | | Cumple |
| Refresco | <1,1NMP/100 mL | <1,1NMP/100 mL | Ausencia | | | Ausencia | 15 UFC/mL | 70 UFC/ mL | Cumple |
| Embutido | | | 15 UFC/g | DNPC | Ausencia | | | | No cumple |
| Pan dulce | | | <10 ² UFC /g | | | | | | Cumple |
| Fruta | | | <10 ² UFC /g | | Ausencia | | | | Cumple |
| Carne | | | 10 ² UFC /g | | Ausencia | | | | Cumple |
| Agua | <1,1NMP/100 mL | <1,1NMP/100 mL | Ausencia | | | Ausencia | <100 UFC/mL | | Cumple |
| Ambiente | | | | | | | | 230 UFC/ 4 horas | No cumple |
| Manipuladores | 150 UFC/ manos | | Presencia | DNPC | | | | | No cumple |
| Utensilios | 250 UFC/superficie muestreada | | Presencia | | | | | | No cumple |

En el cuadro N° 14, se muestran los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados a las 48 muestras seleccionadas.

En los datos obtenidos, se puede observar que de las muestras analizadas solo cumplen con los criterios microbiológicos las muestras de agua, refresco, tortilla, pan dulce, fruta y la carne indicando que estas son aptas para el consumo humano.

VI DISCUSION DE RESULTADOS

Cuadro N° 15: Porcentajes de coliformes totales y fecales en las muestras seleccionadas.

| Porcentajes de coliformes totales y fecales | | |
|---|--------------------|--------------------|
| Muestra | Coliformes fecales | Coliformes totales |
| Refresco (tamarindo) | 0% | 0% |
| Agua | 0% | 0% |
| Manipuladores | - | 100% |
| Utensilios (a, b, c y d)* | - | 100% |

*a: cuchillo, b: licuadora, c: tabla de picar y d: rayador.

0%: Muestra no está contaminada

100%: Muestra está contaminada y no cumple con los parámetros establecidos.

--: No aplica determinación.

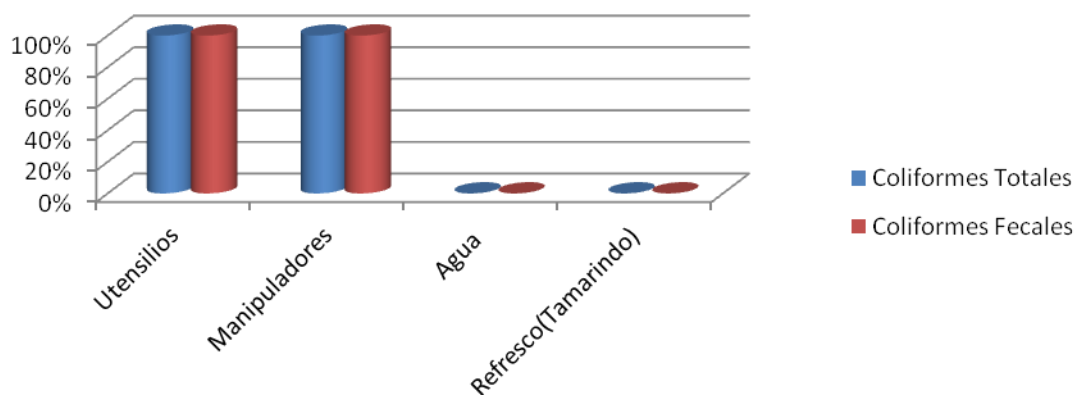


Figura N° 25: Porcentaje de coliformes totales y fecales en muestras de agua, refresco, manipuladores y utensilios.

El 0% de las muestras de agua y refresco indican que no estaba contaminada con coliformes fecales, cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos en la normativa y el 100% de las muestras de manipuladores y

utensilios , estaban contaminadas sobrepasando los límites establecidos lo que implica que no cumplen con sus respectivos criterios , porque los manipuladores no cumplen las practicas higiénicas correctamente y los utensilios que usan para preparar los alimentos no les hacen un lavado o higienización adecuadamente.

Cuadro N° 16: Porcentajes de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en las muestras analizadas. Ver anexo N° 4

| Porcentajes de microorganismos patógenos en las muestras analizadas. | | |
|---|--------------------------------|-------------------------------------|
| Muestra | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Lácteo (queso) | 100% | 100% |
| Ensalada fresca | 100% | - |
| Tortilla | 0% | - |
| Refresco (tamarindo) | 0% | - |
| Embutido (jamón) | 100% | 100% |
| Pan dulce (pegadito) | 0% | - |
| Fruta (guineo) | 0% | - |
| Carne | 0% | - |
| Agua | 0% | - |
| Manipuladores | 100% | 100% |
| Utensilios (licuadora, cuchillo, tabla de picar y rayador) | 100% | - |

0%: Muestra no está contaminada

100%: Muestra está contaminada y no cumple con los parámetros establecidos.

--: No aplica determinación

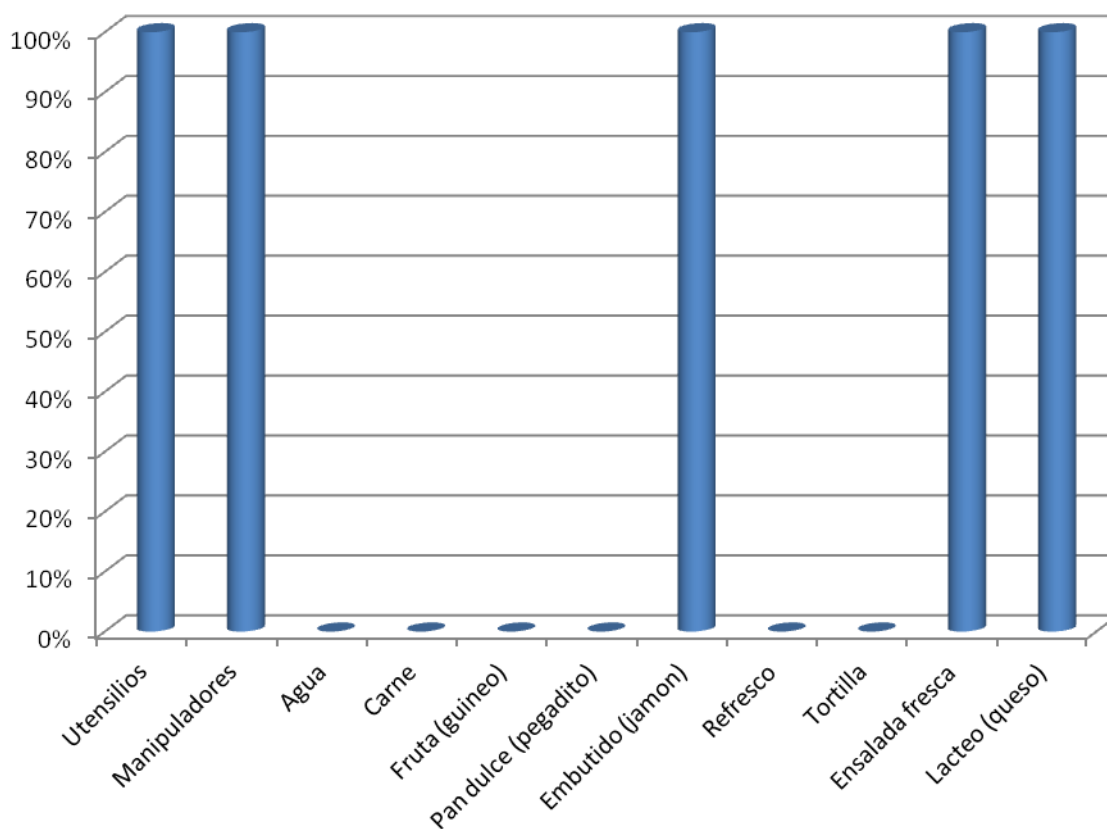


Figura N° 26. Porcentaje de *Escherichia coli* en las muestras de lácteo, ensalada, tortilla, refresco, embutido, pan dulce, fruta, carne, agua, manos de manipuladores y utensilios.

Las muestras analizadas de tortilla, refresco, pan dulce, fruta, carne y agua no presentaban contaminación con *Escherichia coli*.

Para las muestras de lácteo, ensalada, manipuladores y utensilios el 100% de las muestras indican que estaban contaminadas y no cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos por la normativa.

El agua que utilizan para preparar los alimentos proviene de filtro el cual cumple con la función de potabilizar el agua, razón por las que está ausente de ***Escherichia coli***.

El pan dulce, tortilla y carne son alimentos que se llevan a cocción durante su preparación, mediante el proceso de calor se destruyen las bacterias.

La presencia de ***Escherichia coli*** en manos de manipuladores indica falta de higiene personal.

Los utensilios utilizados en la preparación de alimentos pueden acumular los microorganismos si el proceso de lavado no fue el adecuado y se multiplican por los restos de alimentos adheridos a ellos que los utilizan como nutrientes.

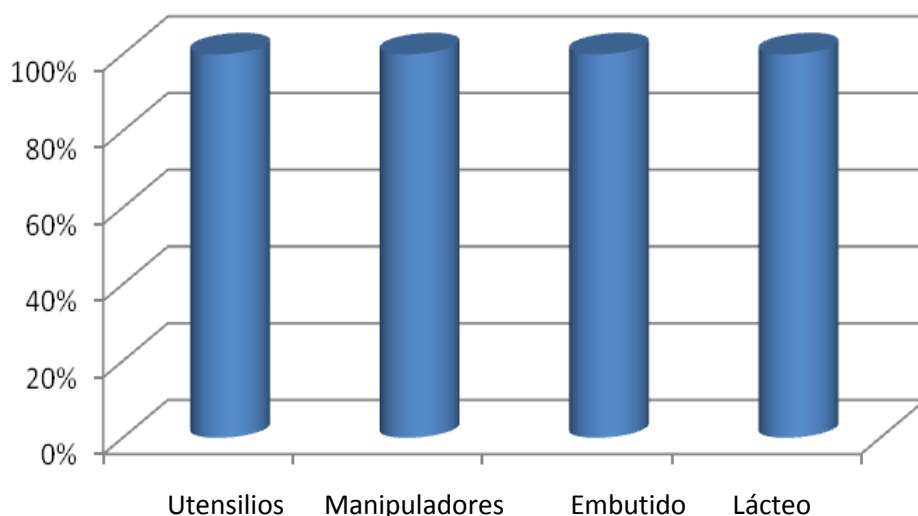


Figura N° 27: Porcentaje de ***Staphylococcus aureus*** en muestras de lácteo, embutido y manos de Manipuladores.

El 100% de las muestras analizadas se encontró la presencia de ***Staphylococcus aureus***.

El ***Staphylococcus aureus***, cuando produce coagulasa positiva se considera que los manipuladores constituyen portador permanente y no deben estar en contacto directo de los alimentos, razón por lo que se contaminaron y no cumplen con sus normativas.

Cuadro N° 17: Porcentajes de ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** en las muestras analizadas. Ver anexo N° 5

| Porcentajes de <i>Salmonella spp</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en las muestras analizadas | | |
|--|------------------------------|-------------------------------------|
| Muestras | <i>Salmonella spp</i> | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |
| Lácteo | 0% | - |
| Ensalada | 0% | - |
| Refresco | 0% | 0% |
| Embutido | 0% | - |
| Fruta | 0% | - |
| Carne | 0% | - |
| Agua | 0% | 0% |

0%: Muestra no está contaminada

--: No aplica determinación

El 0% significa que todas las muestras especificadas en el gráfico, no estaban contaminadas y por lo tanto cumplen con los parámetros microbiológicos.

El agua y refrescos no estaban contaminados ya que el filtro cumple con su función. Los alimentos están ausentes de ***Salmonella spp***, ya que se destruye cuando se cocinan los alimentos debido al calor por el aumento de temperatura.

Cuadro N° 18: Porcentajes de muestras de ambiente y refresco con mohos y levaduras.

| Porcentajes de muestras de ambiente y refresco con mohos y levaduras | |
|--|-------------------|
| Muestra | Mohos y levaduras |
| Refresco (tamarindo) | 25% |
| Ambiente | 100% |

25% :Muestra está contaminada, pero posee bacterias que se encuentran en el rango específico.

100% : Muestra está contaminada y no cumple con los parámetros establecidos.

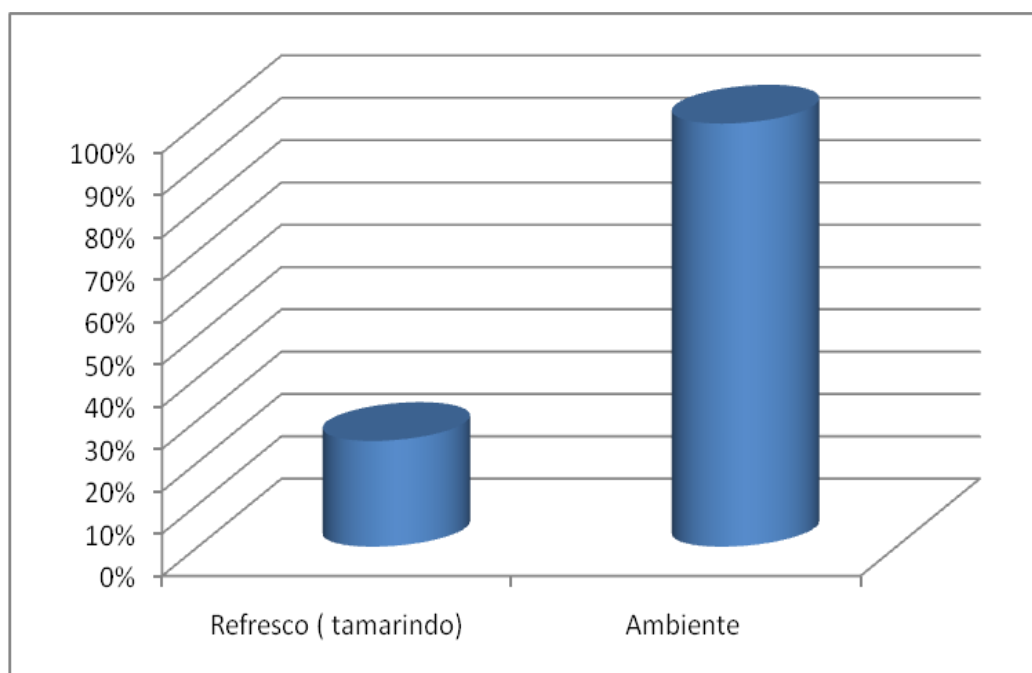


Figura N° 28. Porcentajes con mohos y levaduras para las muestras de ambiente y refresco.

El 25 % indica que la muestra de refresco contenía mohos y levaduras, pero están en el rango permisible según la normativa, en cambio para la muestra de ambiente estaba demasiado contaminada que no cumple con su normativa.

La presencia de hongos muestra las condiciones en las que se prepararon el refresco, según los resultados obtenidos es aceptable.

Para el ambiente al compararlo con las normativas, es un área donde entra demasiado polvo y es necesario controlar las corrientes de aire y aquellos espacios donde se acumula polvo como en las bodegas, para disminuir la contaminación de estos.

Cuadro N° 19: Porcentaje de bacterias mesofilas aerobias en muestras agua y refresco.

| Porcentaje de bacterias mesofilas aerobias presentes en muestras de agua y refresco | |
|--|------------------------------|
| Muestras | Bacterias mesofilas aerobias |
| Agua | 25% |
| Refresco | 25% |

25% :Muestra está contaminada, pero posee bacterias que se encuentran en el rango específico.

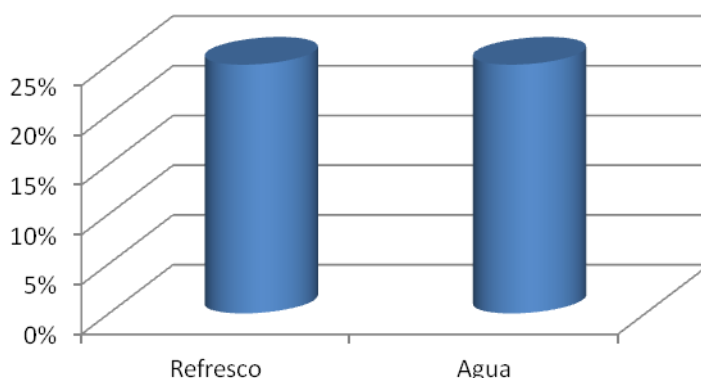


Fig. N° 29. Porcentajes para bacterias mesofilas aerobias en muestras de agua y refresco.

El grafico expresa que los porcentajes obtenidos no sobrepasan los límites establecidos y que las muestras de agua y refresco contenían estos microorganismos, pero se encuentran en el rango establecido por los criterios microbiológicos.

Cuando el agua y refresco se encuentra con demasiadas bacterias aeróbicas implica que hay presencia de bacterias patógenas, en este caso las muestras contenían cantidades aceptables que cumplen con los criterios microbiológicos, evidenciando que no hay presencia de bacterias patógenas.

CHARLA EDUCATIVA SOBRE LAS BUENAS PRÁCTICAS HIGIENICAS ALIMENTARIAS

Se impartió una charla educativa a los manipulares que preparan los alimentos en la cocina general del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia, sobre la buenas prácticas higiénicas alimentarias que incluyen los conceptos básicos, técnicas y rutinas necesarias de cómo elaborar los alimentos inocuos y no causar daños al consumidor.



Fig. N° 30. Manipuladores del ISNA escuchando la charla educativa de buenas prácticas higiénicas alimentarias.



Fig. N° 31. Personal del ISNA presente en la charla.

AGENDA DE CHARLA INFORMÁTIVA A LOS MANIPULADORES DEL ISNA SOBRE BUENAS PRÁCTICAS DE HIGIENE ALIMENTARIA. Ver anexo N° 26

1. Saludo
2. Introducción
3. Practicas higiénicas y sanidad en la preparación de los alimentos
4. ¿Qué es la calidad en alimentos para los consumidores?
5. Tipos de alimentos
6. Reglas de oro de la Organización Mundial de la Salud (OMS)
7. Ingresos de los contaminantes
8. Contaminación de los alimentos
9. Enfermedades trasmitidas por los alimentos (ETAS)
10. Higiene de alimentos
11. Manipulación de alimentos
12. Lavado y desinfección de vegetales
13. Instalaciones físicas y sanitarias
14. Contaminación Cruzada

CAPITULO VII

CONCLUSIONES

7.0 CONCLUSIONES

1. Mediante la guía de observación utilizada para determinar las condiciones en que preparan los alimentos, se encontraron deficientes las siguientes áreas; los baños están demasiado cerca de la cocina, los manipuladores platican en el momento de preparar los alimentos, lo cual se evaluó q el lugar no es el adecuado y que los manipuladores no cumplen las prácticas higiénicas alimentarias.
2. Las prácticas de preparación deficientes por parte de los manipuladores de alimentos contribuyen en alto porcentaje para que aumente la carga microbiana de los alimentos, lo cual se refleja en los resultados de la lista de chequeo, debido que el 100% de los manipuladores de alimentos no cumple con la mayoría de los parámetros evaluados.
3. Al realizar la cuantificación de Coliformes Totales, Fecales y detección de patógenos (*E. coli* y *Pseudomona aeruginosa*) a las muestras de agua y refresco se obtuvo ausencia de éstas. Esto debido a que el agua era proveniente de un filtro al cual se le da mantenimiento periódico, y el refresco era preparado con el agua proveniente del filtro, y además durante la preparación se pasa por un proceso de ebullición.
4. La presencia de *Staphylococcus aureus* en las manos de manipuladores se debe posiblemente a que poseen costumbres como tocarse la nariz o rascarse zonas del cuerpo.
5. La presencia de *E. coli* en las manos de manipuladores indica falta de higiene personal por parte de ellos.
6. Las muestras de utensilios resultaron contaminadas con *E. coli*, posiblemente por el lugar donde están almacenadas ya que estas se encontraban muy cerca de los servicios sanitarios y no le hacen un lavado correcto

7. La presencia de ***Staphylococcus aureus*** y ***E. coli***, en las muestras lácteas y embutidos tomadas directamente de su empaque sellado se debe posiblemente a malas prácticas de higiene por parte del proveedor a la hora de la preparación de los mismos, por lo tanto no son aptos para el consumo humano.
8. La muestra de ensalada fresca resultó presencia positiva de ***E. coli***, se debió a que presentó contaminación de origen, así como también a la contaminación cruzada por parte de los utensilios.
9. La presencia de hongos y levaduras en el ambiente (aire) se debe a la acumulación de polvo y tierra en las instalaciones.
10. De las muestras de alimentos analizados la carne, fruta, pan dulce, agua, refresco y tortilla cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos en RTCA 67.04.50:08.

CAPITULO VIII

RECOMENDACIONES

8.0 Recomendaciones

1. A los manipuladores de alimentos, tener buenos hábitos higiénicos para que así pongan atención en los puntos críticos de contaminación del alimento, como lavado de frutas y verduras, el uso de las tablas de picar y el almacenamiento de los alimentos tomando las medidas de extremo cuidado para garantizar la inocuidad del alimento.
2. A la Unidad de Nutrición del ISNA, que evalúe la lista de proveedores para la requisición de productos de la Cocina General y que exijan Certificados de Análisis Microbiológicos de Alimentos realizados por Laboratorios Acreditados.
3. Que el departamento de Nutrición de la institución de capacitaciones periódicas dirigidas a los manipuladores de alimentos para que estos puedan elaborar y proporcionar a los consumidores alimentos inocuos.
4. A las autoridades del ISNA junto con Unidad de la Salud, evaluar los procedimientos de limpieza y control de vectores, para evitar la contaminación de los alimentos y la difusión de enfermedades.
5. A las autoridades del ISNA, que realicen gestión a través de un proyecto para implementar una mejora en las instalaciones del área de la cocina general, la cual incluye: lugar adecuado para almacenar los alimentos, ventilación adecuada, comedor cerrado, servicios sanitarios aislados y mejoras en general.
6. Que el departamento de Nutrición, debe proporcionar las herramientas y equipos necesarios como: guantes, mascarillas, desinfectantes, refrigeradores, estantes, utensilios de cocina para mejorar las Buenas Prácticas Higiénicas Alimentarias (BPHA).

Bibliografía

- 1- Bonilla, G. 1996. Estadística I. Elementos de estadística descriptiva y probabilidad. 4 ed. San Salvador, El Salvador. UCA editores. 3p
- 2- Desroiser. N. 2000. Conversión de alimentos.2 ed. México. Editorial continental. 10- 13p. 93p
- 3- Carrillo López Ana Feltri, G. Leotta, G. González, E. Manfredi, G. Gottardi, M. Elder, C. Patri, et al. Brote de enfermedad alimentaria en la localidad de El Huecú, provincia de Neuquén. Revista Argentina de Microbiología (2008) 40: 198-203.
- 4- Carrera, J. 1998. Vigilancia de ***Staphylococcus aureus*** y ***Salmonella sp*** en alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr. 12(1):16-9
- 5- Escalante Escobar, Luis G., Ortiz Hernandez Roxana Melany. 2010. Evaluación de la calidad Microbiológica de Refrescos no pasteurizados, comercializados en el interior y los alrededores de la Universidad de El Salvador. . Trabajo de graduación. Lic. F.Q.F. San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador.
- 6- FDA (Food and Drug Administration).1992. Bacteriological analytical manual. 7th edition. Arlington, United States of America. AOAC. Internacional.27p.
- 7- Frazier WC.1976.Microbiología de Los alimentos. 2 ed. Zaragoza España. Acribia Editorial. 64p
- 8- Forsythe S. y otros.2002. Higiene de los alimentos Microbiología y HACCAP. Zaragoza España. Editorial Acribia 23-28,62-64, 133-135, 165-175 p 11,12.

- 9- García, M°. 2000. Microorganismos de los alimentos, Técnicas de laboratorio microbiológico.v1, 2 edición Zaragoza España. Editorial Acribia.8p
- 10- Gómez P. y otros 2005. Revista de Tecnología e Higiene de Alimentos. ISSN 0300-5755 N° 335:69-74, 14.
- 11-Helen C. 1987, Tecnología de los Alimentos, 1 edición, México, Editorial Limusa, 637,648-649, 661,666p.
- 12- Jawetz y otros. 1992. Microbiología Médica 14. Ed. México. Editorial el manual moderno. 229p
- 13- Manual de Análisis Bacteriológico (BAM); última actualización 05/06/2009; Consultado el 5 de mayo de 2011 Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>
- 14-OMS-OPS (Organización Mundial de la Salud- Organización Panamericana de la Salud) Sistema de información regional para la vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (sirve-eta) 1995.
- 15-P. Ortiz, Bessy Guadalupe.1993 Determinación de la calidad Microbiológica en Chorizos y Salchichas corrientes comercializadas en San Salvador. . Trabajo de graduación. Lic. F.I. San Salvador, El Salvador. Universidad Centroamericana José Simeón Cañas.
- 16- R. M.K.I., G.Q. S.L. 2003. Evaluación de la Calidad Sanitaria de Embutidos Crudos (Chorizos) conforme a la Norma Salvadoreña Obligatoria. N.S.O 67.02.13: 98. Trabajo de graduación. Lic. F.Q.F .B.

San Salvador, El Salvador. Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.

17- Rosa María Carbó Malonda, brote de toxiinfección alimentaria por ***Salmonella entérica*** en un establecimiento de restauración colectiva. Servicio de Vigilancia y control epidemiológico. Rev. Esp. Salud Publica v.79 n.1 Madrid.

Disponible:http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S113557272005000100005&script=sci_arttext

18-http://members.wto.org/crnattachments/2008/sps/CRI/08_1142_00_s.pdf. Reglamento Técnico RTCA 67.04.50:08 Centroamericano. Consultado el 5 de enero de 2011.

19- <http://www.elergonomista.com/alimentos/importanciaalimentos.htm>. Importancia de los alimentos. Consultado el 23 de febrero de 2010.

20- <http://es.wikipedia.org/wiki/Alimento>. Clasificación de los alimentos. Consultado 23 de febrero de 2011.

21- <http://html.rincondelvago.com/composicion-de-los-alimentos.html> . Star media consultado el 24 de febrero de 2011.

22- 18-http://es.wikipedia.org/wiki/Higiene_de_los_alimentos. Higiene de los alimentos. Consultado el 24 de febrero de 2011.

23- 1<http://www.mailxmail.com/curso-manipulador-alimentos/> ontaminación-alimentos. 15 Contaminación de los alimentos. Consultado el 24 de febrero de 2011.

- 24- http://www.calidadalimentaria.net/que_son_las_etas.php. Calidad alimentaria. Consultado el 25 de febrero de 2011.
- 25- <http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/0480s03.pdf>. Pdf 25. Calderón G. 2005. Estudio de caso- Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador. Consultado el 25 de febrero de 2011.
- 26- <http://www.bvsops.org.uy/pdf/aureus.pdf>. ***Staphylococcus aureus***. Consultado el 27 de febrero de 2011.
- 27- <http://platea.pntic.mec.es/iali/personal/agua/agua/propieda.htm>. Propiedades físico-químicas del agua. Consultado el 27 de febrero de 2011.
- 28- http://www.elsalvador.com/mwedh/nota/nota_completa.asp?idCat=6375&idArt=5202380. Consultado el 15 febrero de 2011.
- 29- [http://www.google.com/sv/#hl=es419&source=hp&biw=1366&bih=545&q=Revista+Cubana+Aliment+Nutr+2007%3B17\(1\):2333++Escuela+de+Nutrici3n+y+Diet3tica.+Facultad+de+Salud.+Universidad+Industrial+de+Santander&aq=f&aql=&oq=&fp=6229b3ce2621fc](http://www.google.com/sv/#hl=es419&source=hp&biw=1366&bih=545&q=Revista+Cubana+Aliment+Nutr+2007%3B17(1):2333++Escuela+de+Nutrici3n+y+Diet3tica.+Facultad+de+Salud.+Universidad+Industrial+de+Santander&aq=f&aql=&oq=&fp=6229b3ce2621fc). Consultado el 6 de febrero de 2011.
- 30- http://www.defensoria.gob.sv/index.php?option=com_content&view=article&id=468:normas-salvadorenas-obligatorias-nso&catid=119. Consultado el 8 de mayo de 2011.
- 31- <http://www.scribd.com/doc/56032356/Normas-Digesa-Micro>. Consultado el 10 de mayo de 2011.

- 32-<http://www.google.com.sv/#hl=es419&q=Intoxicación+por+alimentos+en+guardería+infantil%2C+Santa+Rosa+de+Sampile%2C+Choluteca+Honduras>. Consultado el 12 de mayo de 2011.
- 33-<http://www.uees.edu.sv/investigacion/crea6/3brote.htm>. Consultado el 15 de mayo de 2011.
- 34-<http://www.laprensagrafica.com/el-salvador/departamentos/109924-alumnos-se-intoxican-en-san-antonio-pajonal.html>. Consultado el 15 de mayo de 2011.
- 35-http://www.google.com.sv/#hl=es419&q=google+art&oq=google+art&aq=0&aqi=g2gs1g7&aql=&gs_sm=e&gs_upl=9712l10161l0l3l0l0l0l0l325l85l2- . Consultado el 15 de mayo de 2011.
- 36- www.laprensagrafica.com. Casos de niños intoxicados (publicado el martes 1 de febrero de 2011). Consultado el 2 de febrero de 2011.
- 37-http://isna.elsalvadormultimedia.info/sitio_web_isna/. Consultado el 4 de junio de 2011.
- 38-http://terranoticias.terra.es/sociedad/articulo/intoxicacion_alimentaria_l_eve_afecta_ninos_2011304.htm . Consultado el 24 de agosto de 2011.
- 39-<http://www.elnortedecastilla.es/20100619/palencia/brote-salmonelosis-afecta-siete-20100619.html>. Consultado el 24 de agosto de 2011.
- 40-http://www.elsalvador.com/mwedh/nota/nota_completa.asp?idCat=6375&idArt=5202380. Consultado el 24 de agosto de 2011.

41-http://www.google.com/#sclient=psyab&hl=en&source=hp&q=e.+coli+&pbx=1&oq=e.+coli+&aq=f&aqi=g4&aql=&gs_sm=e&gs_upl=1444611444610152231111010101012191219121110&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.,cf.osb&fp=7c74e1c1e5281000&biw=1366&bih=546. Consultado el 03 de septiembre de 2011.

42-http://www.google.com/#pq=e.+coli+&hl=en&cp=12&gs_id=1p&xhr=t&q=pseudomona+aeruginosa&pf=p&sclient=psyab&source=hp&pbx=1&oq=pseudomina+a&aq=0l&aqi=gl4&aql=&gs_sm=&gs_upl=&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.,cf.osb&fp=7c74e1c1e5281000&biw=1366&bih=546. Consultado el 03 de septiembre de 2011.

43- wikipedia.org/wiki/Salmonella. Consultado el 5 de mayo de 2011.

44-http://www.google.com/#sclient=psyab&hl=en&site=&source=hp&q=R+eglamento+T%C3%A9cnico+Centroamericano+%28RTCA+11.03.42:07%29.Productos+Farmac%C3%A9uticos+Medicamentos+de+uso+humano.+Buenas+pr%C3%A1cticas+de+manufactura+para+la+Industria+Farmac%C3%A9utica&pbx=1&oq=Reglamento+T%C3%A9cnico+Centroamericano+%28RTCA+11.03.42:07%29.Productos+Farmac%C3%A9uticos+Medicamentos+de+uso+humano.+Buenas+pr%C3%A1cticas+de+manufactura+para+la+Industria+Farmac%C3%A9utica&aq=f&aqi=&aql=&gs_sm=e&gs_upl=282312823101373711101010101010101010&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.,cf.osb&fp=b12f5e501efbd0e5&biw=1366&bih=515. Consultado el 03 de septiembre de 2011.

ANEXOS

ANEXO N° 1

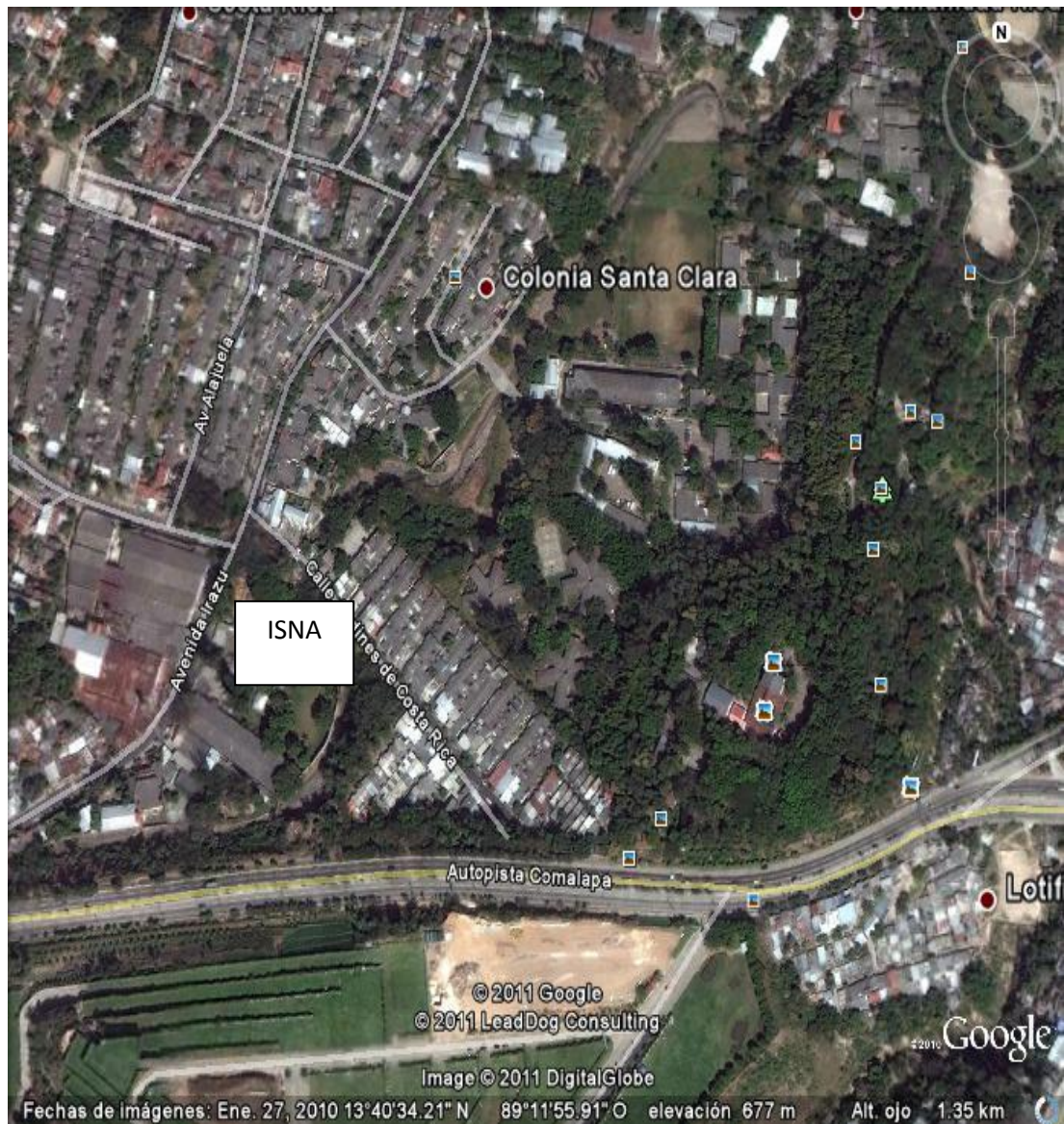


Figura N°32. Mapa de ubicación del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).



ANEXO N° 3



FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

Cuadro N°20. Guía de observación

| N° | PREGUNTAS | CRITERIO A EVALUAR | SI | NO | OBSERVACIÓN |
|----|---|---|----|----|-------------|
| 1 | ¿La ubicación del lugar dónde se preparan los alimentos es la adecuada? | La ubicación del lugar preparación de alimentos tiene que encontrarse retirado de los servicios sanitarios, o cualquier otra fuente de contaminación externa. | | | |
| 2 | ¿Los equipos y utensilios utilizados para la preparación de alimentos se encuentran en condiciones adecuadas de almacenamiento? | El lugar de almacenamiento de utensilios debe ser cerrado, para proteger los del contacto directo de los contaminantes externos. | | | |
| 3 | ¿Se observa una apariencia limpia en las superficies dónde se preparan los alimentos? | Debe apreciarse visualmente una condición limpia y ordenada de las superficies de preparación de los alimentos y también debe apreciarse al contacto manual ningún tipo de suciedad como polvo o grasa. | | | |
| 4 | ¿Mantiene las uñas limpias y recortadas? | Debe mantener uñas limpias y recortadas. | | | |
| 5 | ¿Se lava las manos para manipular los alimentos? | Los manipuladores deben de lavarse las manos antes de iniciar la preparación de los alimentos, después de ir al baño y cuando interrumpa la preparación de estos | | | |
| 6 | ¿Utiliza ropa de trabajo limpia, cofia o reddecilla en el cabello para manipular los alimentos? | Se debe observar una cofia sobre la cabeza de los manipuladores puesta correctamente de manera de no dejar el cabello expuesto. | | | |

| | | | | | |
|----|--|--|--|--|--|
| 7 | ¿Usa guantes para preparar los alimentos? | Se debe observar en todo el momento de manipulación del alimento que el manipulador porte guantes. | | | |
| 8 | ¿Las tablas que utilizan para cortar los alimentos están limpias? | Se debe observar que las tablas de picar estén limpias, secas y almacenadas adecuadamente. | | | |
| 9 | ¿Cuentan con agua potable en las instalaciones? | Se debe observar un chorro de agua potable. | | | |
| 10 | ¿Los manipuladores platican en el momento de preparar los alimentos? | Al momento de la preparación de alimentos los manipuladores deben guardar silencio y hablar solo lo necesario. | | | |
| 11 | ¿Tienen los sanitarios a una distancia cercana al lugar dónde se preparan los alimentos? | Los sanitarios deben de encontrarse por lo menos 10 pasos alejados del sitio de preparación de los alimentos. | | | |
| 12 | ¿Se realiza exámenes de heces periódicamente? * | Se deben de realizar por los menos tres veces al año. | | | |

*Respuesta proporcionada por el Dr. De la Unidad de Salud del ISNA.

Anexo N° 4

Cuadro N°21: Parámetros microbiológicos que se realizaron por muestra

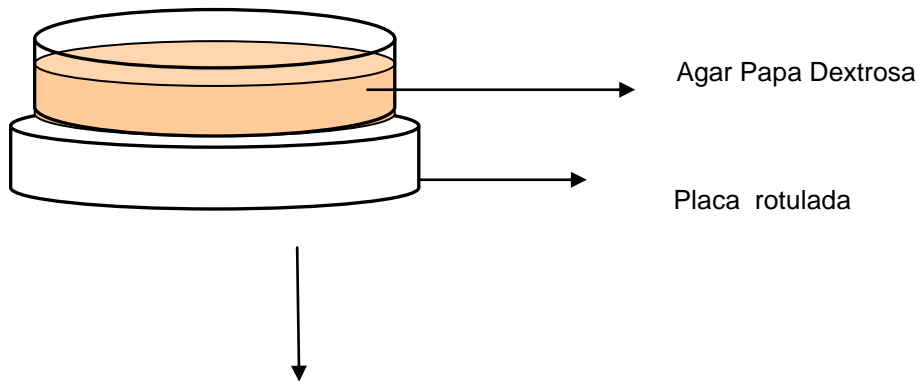
| Muestra | Coliformes totales | Coliformes fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Salmonella spp</i> | <i>Pseudomona aeruginosa</i> | Recuento de bacterias mesofilas aerobias | Recuento de mohos y levaduras |
|----------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|---|----------------------------------|---|---|--|
| Lácteo | | | | | | | | |
| Ensalada | | | | | | | | |
| Tortilla | | | | | | | | |
| Refresco | ✓ | ✓ | ✓ | | | ✓ | ✓ | ✓ |
| Embutido | | | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Pan dulce | | | ✓ | | | | | |
| Fruta | | | | | ✓ | | | |
| Carne | | | ✓ | | ✓ | | | |
| Agua | ✓ | ✓ | ✓ | | | ✓ | ✓ | |
| Ambiente | | | | | | | | ✓ |
| Manipuladores | ✓ | | ✓ | ✓ | | | | |
| Utensilios | ✓ | | ✓ | | | | | |

ANEXO N° 5

Cuadro N° 22. Etiqueta que se utilizó para identificar las muestras

| | | |
|---|--|---|
|  | <p>UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA</p> |  |
| FECHA _____ | TIPO DE MUESTRA _____ | |
| LUGAR DE MUESTREO _____ | HORA DE TOMA DE MUESTRA _____ | |
| N° DE MUESTRA _____ | NOMBRE DEL ANALISTA _____ | |

ANEXO N° 6



Exposición 4 horas



Incubaron las placas de 5-7 días a temperatura ambiente y luego se observaron si hubo algún crecimiento.

Figura N° 34 .Técnica para muestreo de ambiente

ANEXO N° 7

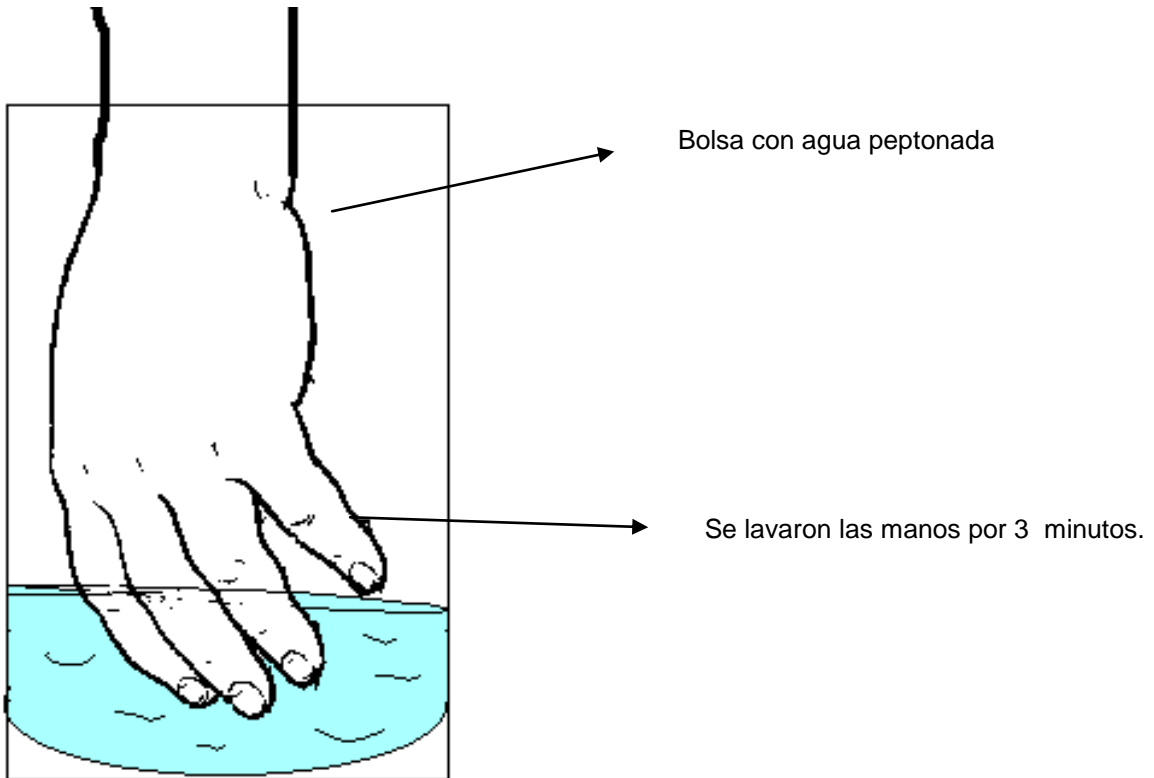


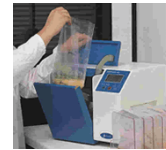
Figura N° 35. Técnica para toma de muestra de manipuladores.

ANEXO Nº 8

Se pesó asepticamente, en una bolsa 25g de muestra.



Añadió 225mL de agua Peptonada (AP) y se mezclará en el Stomacher a 260rpm por 3 minutos. Esta fue la dilución 10^{-1}



Pipeteó 10mL de la dilución anterior y se transfirió a un frasco de dilución que contenía 90mL de Solución Agua Peptonada (AP). Agitó y rotuló como dilución 10^{-2} .



http://images.google.com.sv/imgres?imgurl=http://ambientar.com.ar/res/img/ap/MLA/86/47975986_2789.jpg&imgrefurl=http://www.ambientar.com.ar/shop/hogar_y_muebles/cocina/bazar/recipientes_y_moldes/hermeticos&usq=Na8T7pRLRnwFYgOZ0gtUSQuQCPs=&h=250&w=250&sz=8&hl=es&start=17&tbnid=vE_D6shDfi_lyM:&tbnh=111&tbnw=111&prev=/images?q=frascos+de+vidrio&gbv=2&ndsp=18&hl=es&sa=N

Pipeteó 10mL de la dilución anterior y se transfirió a un frasco de dilución que contenía 90mL de Solución Agua Peptonada (AP). Agitó y rotuló como dilución 10^{-3} .

Figura N° 35. Técnica para alimentos.

ANEXO N° 9



Agitó 25 veces.



10.0 mL



Dilución 10^{-1}



90mL de
Solución
Agua
Peptonada
(AP)

10.0 mL



Dilución 10^{-2}



90mL de
Solución
Agua
Peptonada
(AP).

10.0 mL



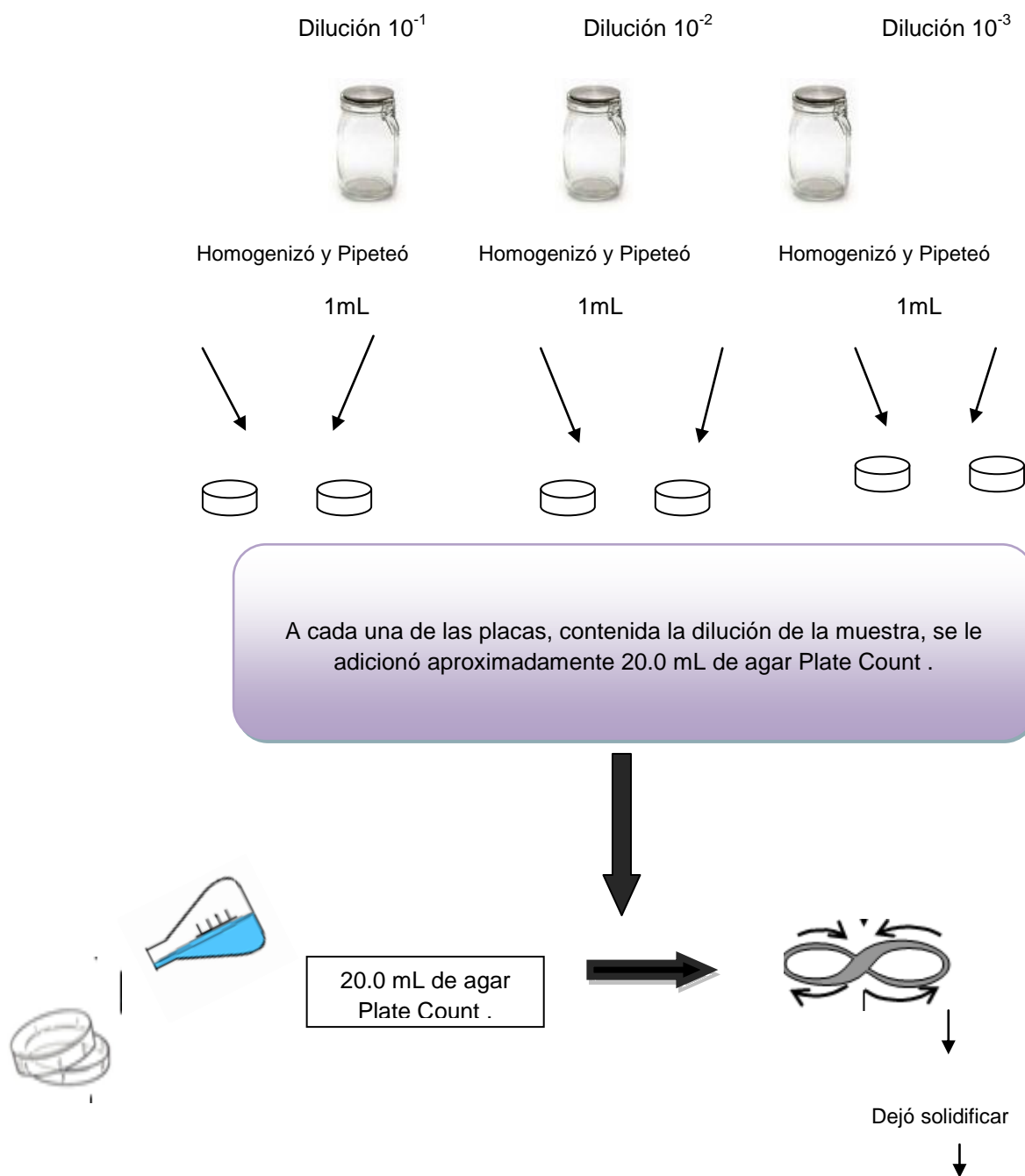
Dilución 10^{-3}



90mL de
Solución
Agua
Peptonada
(AP)

Figura N° 36. Técnica para refrescos

ANEXO N° 10

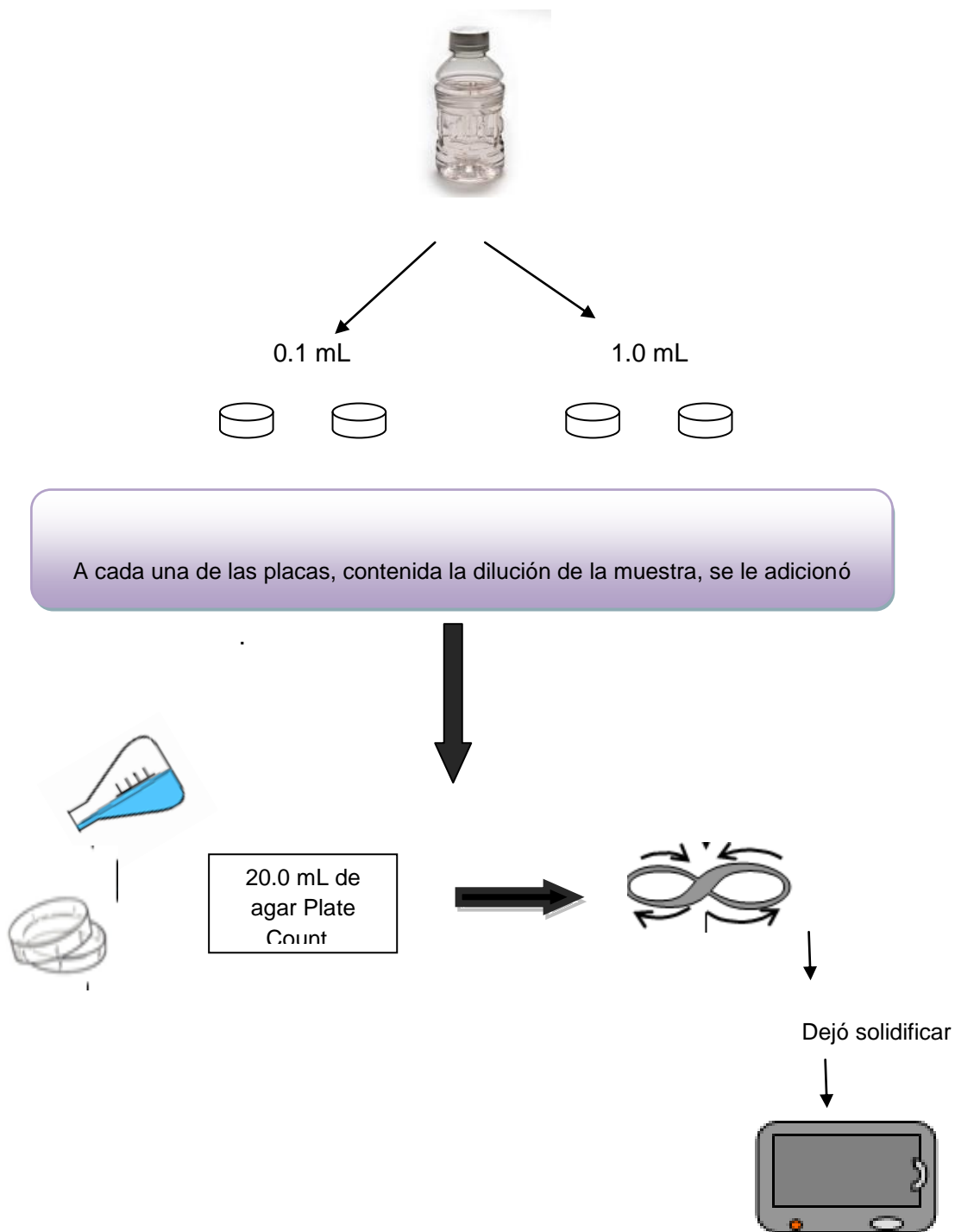


Realizó el conteo



Figura N° 37. Determinación y recuento de bacteria mesófilas aerobias para refresco.

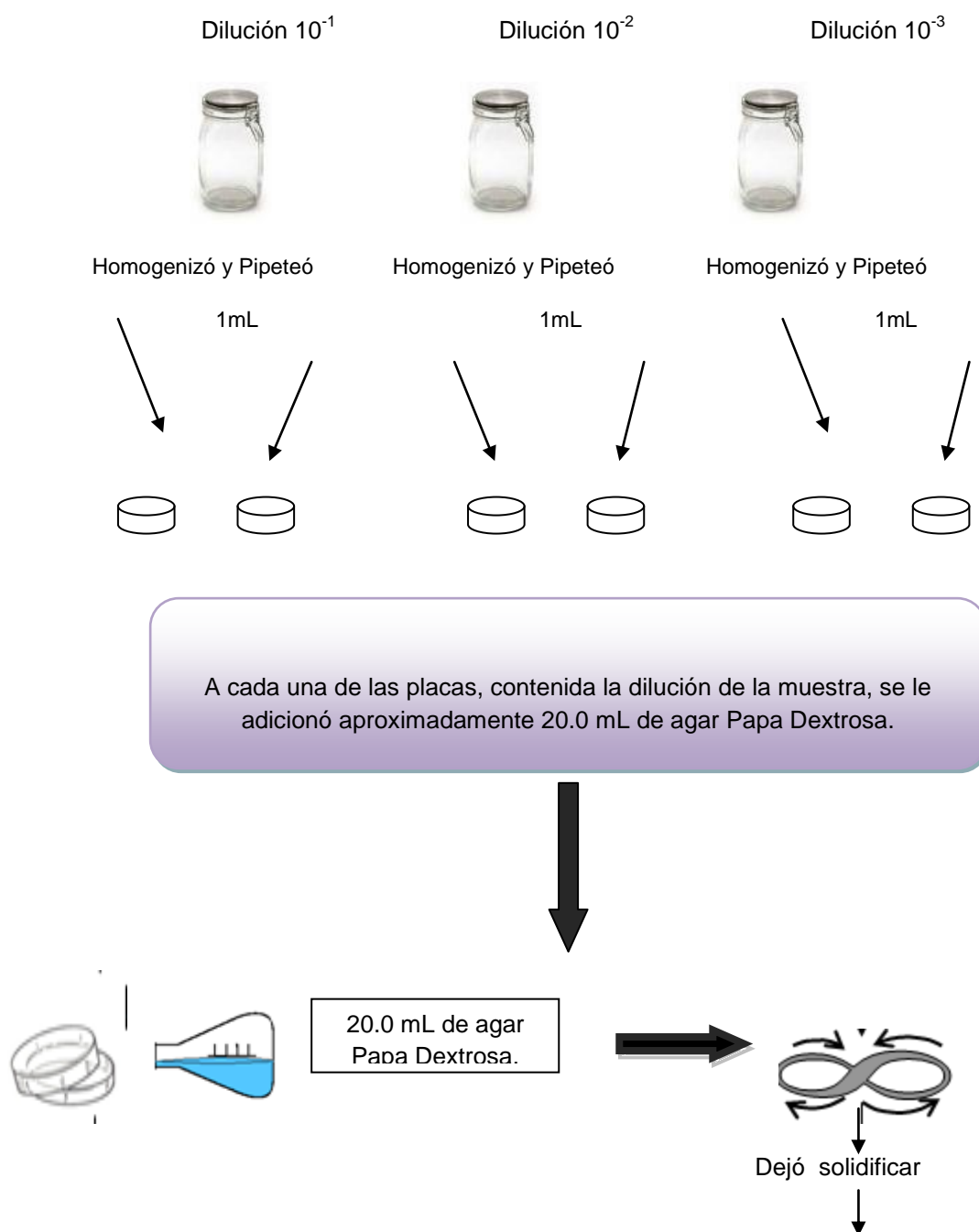
ANEXO N° 11



Realizó el conteo ←

Figura N° 39. Determinación y recuento de bacterias mesófilas aerobia para ε

ANEXO N° 12



Realizó el conteo ← T° ambiente por un tiempo de 5 – 7 días.

Figura N° 39. Determinación y recuento de mohos y levaduras para refresco.

ANEXO N° 13

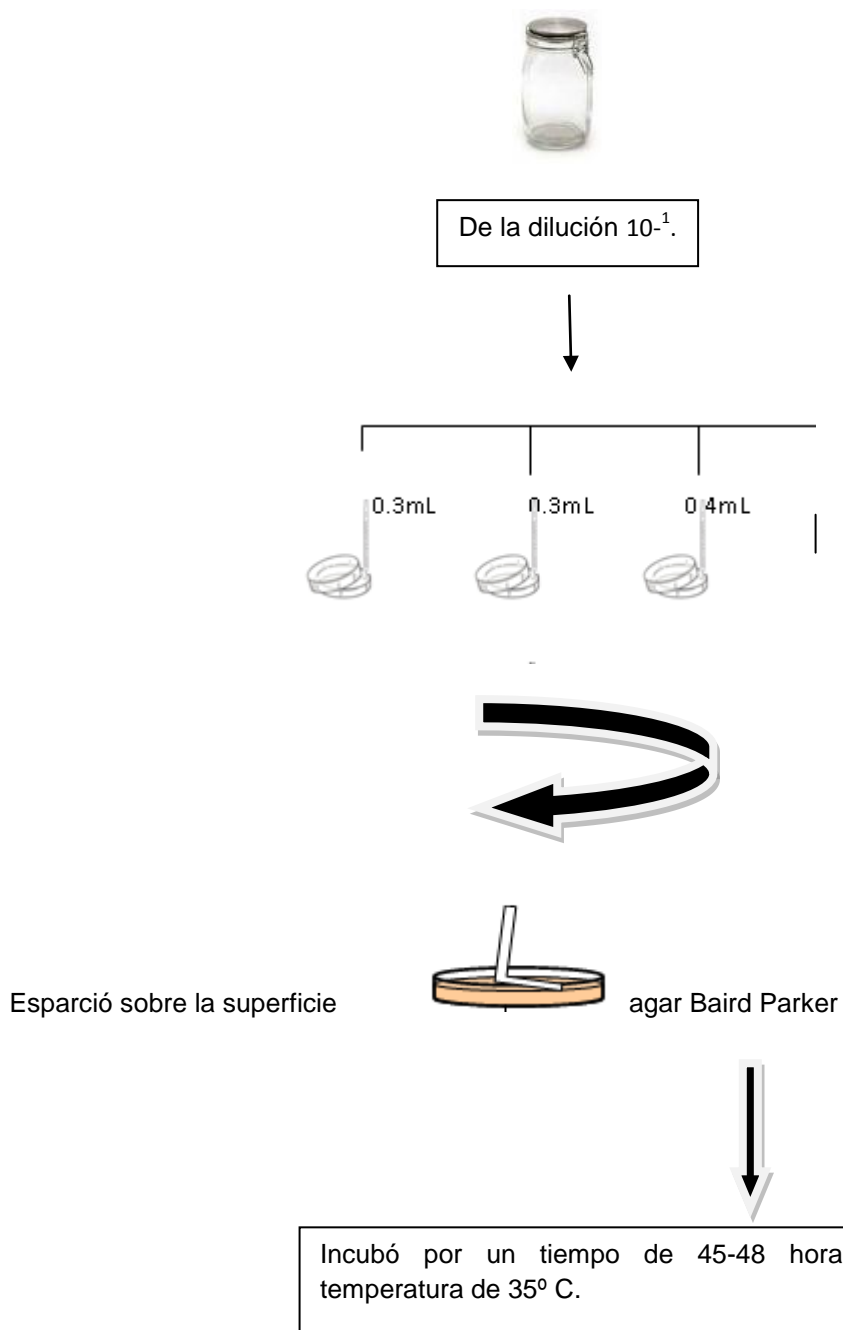
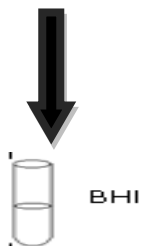


Figura N ° 40. Aislamiento de *Staphylococcus aureus*

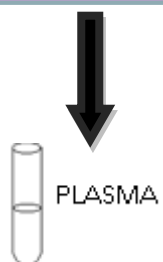
ANEXO N° 14

Se seleccionaron las placas que contenían colonias con apariencia típica de *Staphylococcus aureus*.

Tomó una colonia con asa bacteriológica.



Incubó a una temperatura de 35-37°C por un tiempo de 24-48 horas.



Incubó a una temperatura de 35-37°C por un tiempo de 24-48 horas.

Coagulo



Coagulasa

(+)

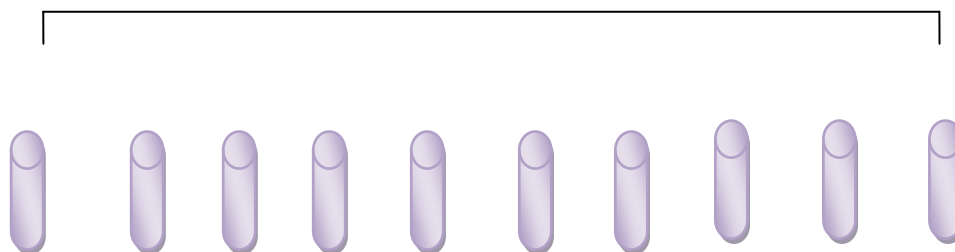
Figura N°41. Recuento de placas de *Staphylococcus aureus*

ANEXO N° 15



Adicionó 10.0 mL de agua y de refresco a cada uno de los tubos que contenían caldo fluorogénico (LMX).

10.0 mL



Caldo fluorogénico (LMX).

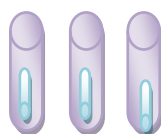
Incubó por 24-48 horas a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, luego se observó su coloración.



Figura N° 42. Prueba para coliformes totales (prueba para muestras de agua potable y refrescos)

ANEXO N° 16

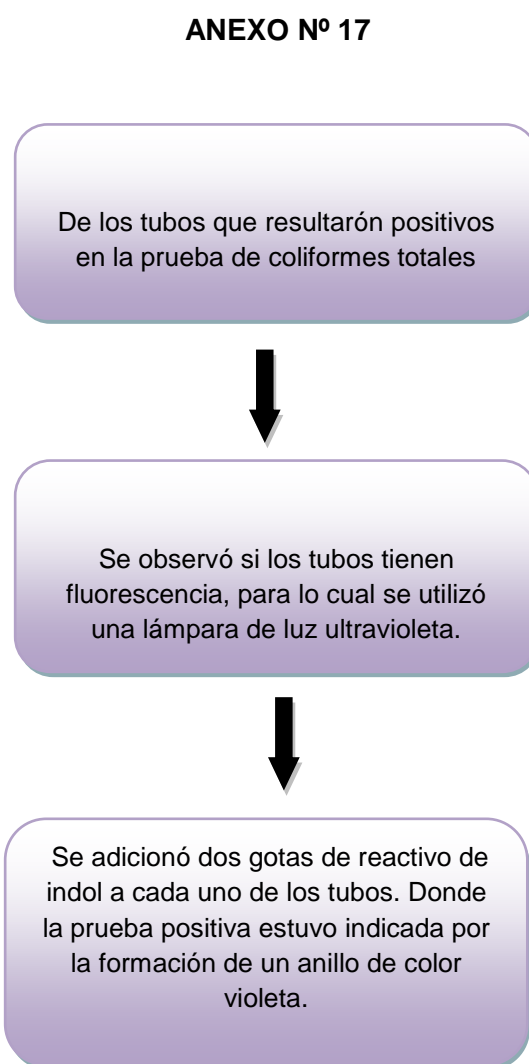
De los tubos positivos con caldo fluorogénico (LMX) que dan positivo para coliformes totales y que presentaron fluorescencia, se tomó una asada y se sembró en Caldo EC con campana de Durham



Incubó los tubos por 24 a 48 horas a 44.5 ± 0.5 °C en baño maría.

La presencia de turbidez y gas dentro de la campana de Durham indicó prueba positiva para coliformes fecales.

Figura N° 43. Procedimiento para la determinación de coliformes fecales.

Figura N° 44. Prueba para *Escherichia coli*

ANEXO Nº 18

De los tubos con caldo Fluorogénico (LMX) utilizados para coliformes totales, se incubaron y se observaron con luz U.V. y se registraron como positivos aquellos tubos que produjeron pigmento verde.



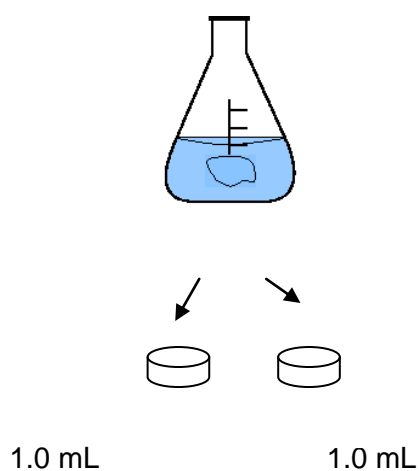
Con la ayuda de una asa bacteriológica se sembró por el método de estrías el contenido de los tubos positivos en agar Cetrimide, incubaron a 41.5°C durante 24-48 horas.



Se seleccionaron las colonias típicas (verdes azuladas y fluorescentes a luz U.V., las colonias seleccionada se transfirieron a (T.S.A.) y se incubaron a 35° C por 24 horas.

Figura N° 45. Prueba para *Pseudomonas aeruginosa* en agua.

ANEXO N° 19



A cada una de las placas, contenida la muestra, se le adicionó aproximadamente 20.0 mL de agar Chromocult.



Dejó solidificar



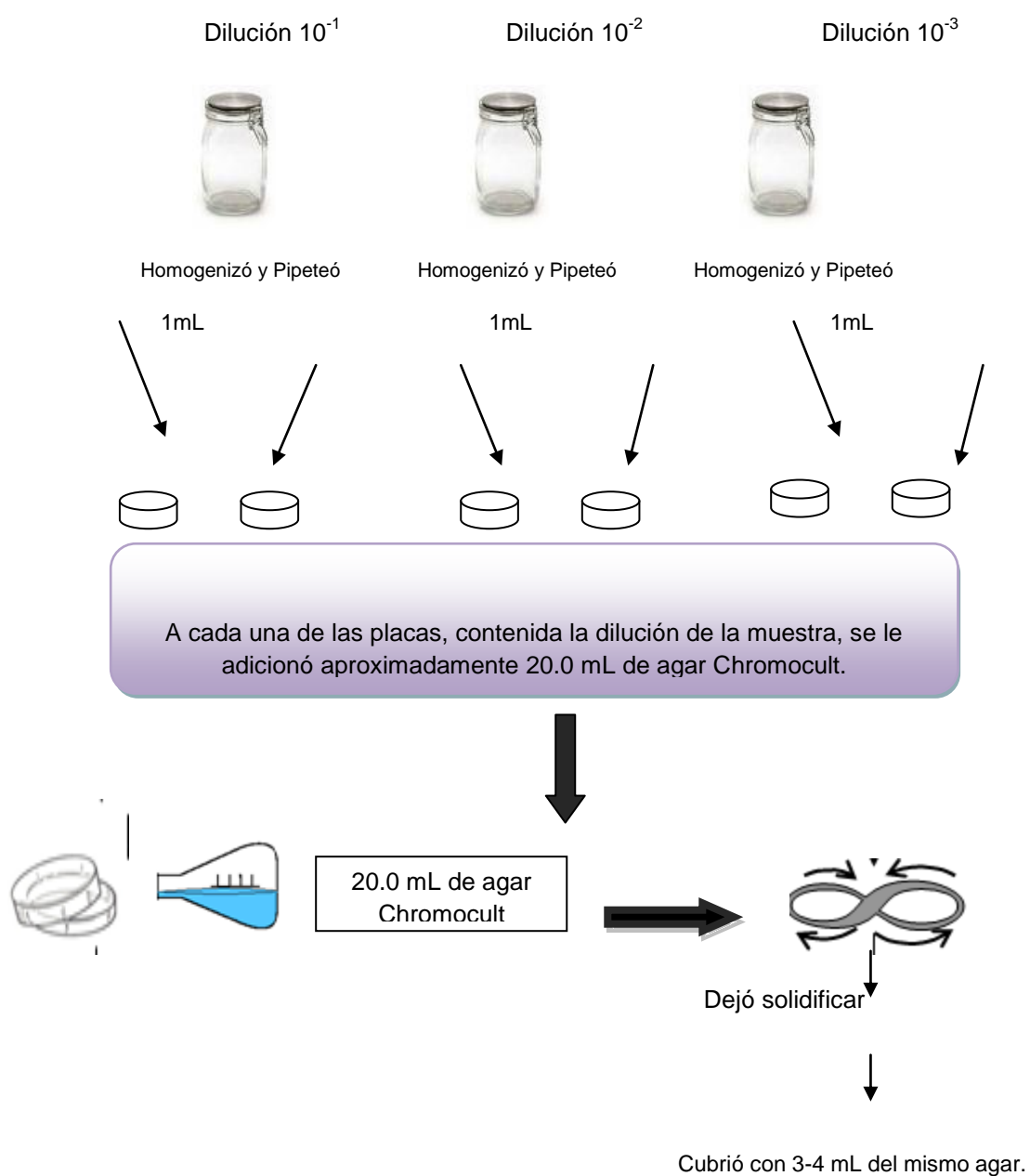
Incubó por un tiempo de 18-24 horas a una temperatura de $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$



Realizó el conteo

Figura N° 46 .Técnica para muestras de utensilio.

ANEXO N° 20



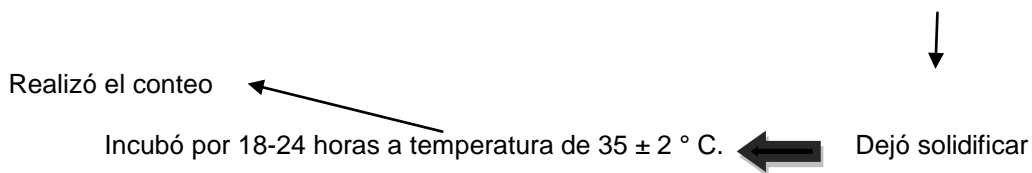
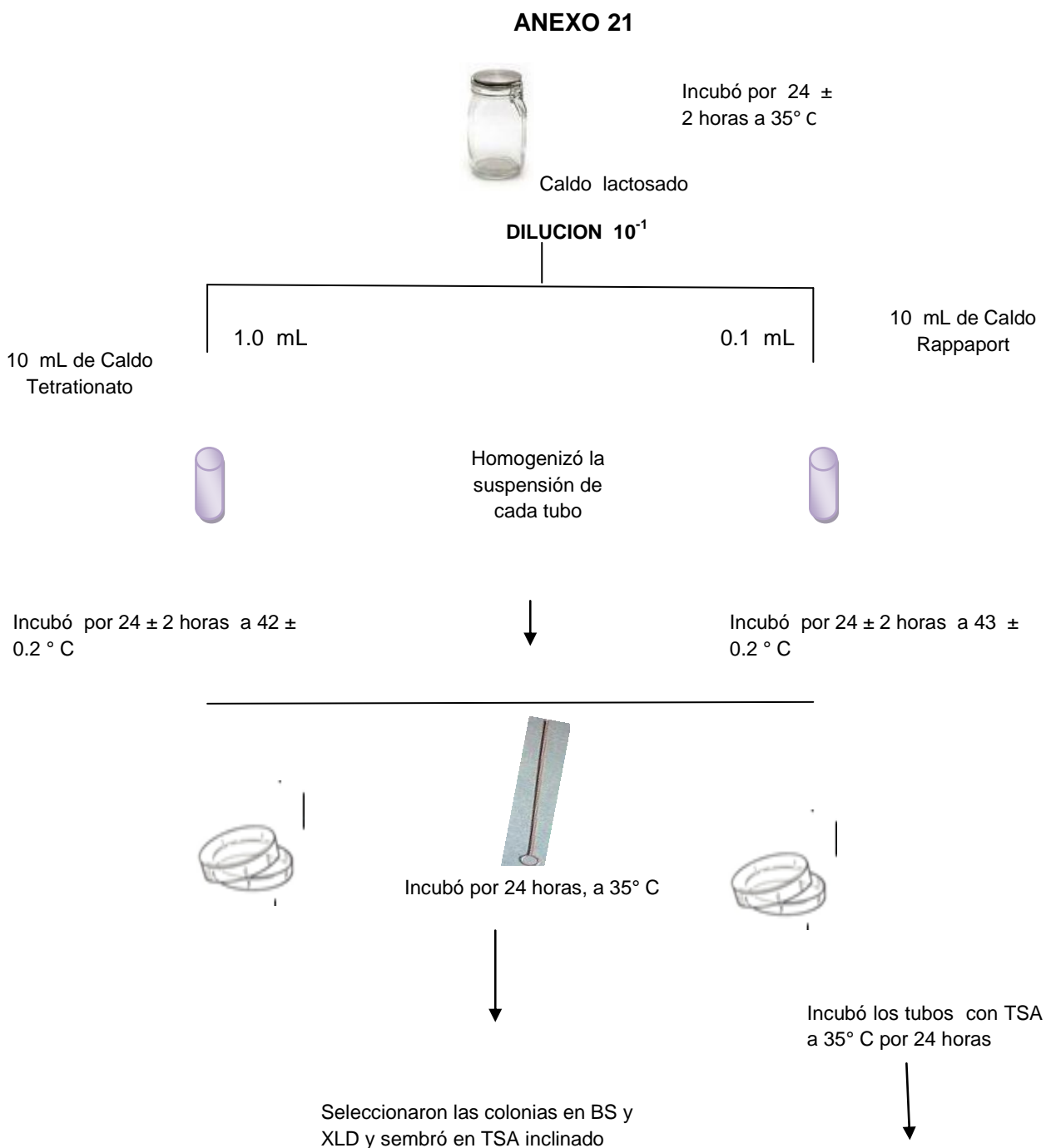


Figura N° 47. Prueba para la determinación y recuento de *Escherichia coli* en alimentos.





Realizaron pruebas bioquímicas convencionales para confirmación.

Figura N° 48 .Prueba para la determinación de *Salmonella spp* en lácteo, fruta, ensalada fresca, embutido, y carne.

ANEXO N° 22

AGAR TSI



Se inculó la colonia en prueba, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del medio. Se incubó 35-37°C durante 24 horas.

REACCION DE INDOL



Se inculó la colonia en prueba. Se incubó durante 24 horas a 37 ± 1 °C. Luego se agregó 5 gotas de reactivo de Kovac la formación de anillo rojo-violeta fue reacción positiva.

ROJO DE METILO



Se inculó la colonia en prueba. Se incubó durante 24 horas a 37 ± 1 °C. Luego agregó 1-2 gotas de reactivo rojo de metilo la aparición de un color rojo fue reacción positiva.

PRUEBA DE MOTILIDAD



Se inculó la colonia típica, se incubó durante 24 horas a 37 °C. La difuminación de la bacteria hacia los lados y aparición de un precipitado negro por la producción de H₂S, indicó prueba positiva.

VOGES PROSKAHUER



Se inculó la colonia en prueba y se incubó durante 24 horas a 37 °C. Agregó 2 gotas de solución alcohólica de alfa naftol y luego 2 gotas de solución de KOH. La formación de un color rosado desarrollado dentro de los 15 minutos fue reacción positiva.

CITRATO



A partir de un cultivo puro de 18-24 horas, se sembró en superficie un inculo ligero, usando una asa sin arrastrar el agar. Incubó a 35-37 °C, durante 24-48 horas.



A partir de un cultivo puro de 18-24 horas, se sembró la colonia en prueba caldo urea. Luego se incubó a 35-37° C, durante 24-28 horas.

UREA

Figura N° 49. Pruebas bioquímicas convencionales para *Salmonella spp* y *Pseudomona aeruginosa*.

ANEXO N° 23

TABLA DE VALORES MÁXIMOS ADMISIBLES EN CADA UNA DE LAS DETERMINACIONES

Tabla N° 1: Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. ⁽¹⁸⁾

| | | |
|---|------------------------------|--------------------------------|
| 1.0 Grupo de Alimento: Leche y productos lácteos. Incluye todo tipo de productos lácteos derivados de la leche de cualquier animal que suele ser ordeñado (vaca, oveja, cabra, búfala). En esta categoría, un producto simple ¹ es uno que no contiene ningún saborizante, ni contiene frutas, verduras u otros ingredientes no lácteos; tampoco se ha mezclado con otros ingredientes no lácteos, salvo lo permitido por las normas correspondientes. Similares son productos en los cuales la grasa láctea ha sido reemplazada parcial o totalmente por grasas o aceites vegetales | | |
| | Parámetro | Límite máximo permitido |
| 1.5 Subgrupo del alimento : Crema dulce, crema acida (natilla), crema batida | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 1.8 Subgrupo del alimento: Quesos madurados y procesados. | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 1.9 Subgrupo del alimento: Quesos frescos, no madurados y requesón. | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 4.0 Grupo de Alimento: Frutas y hortalizas. Esta categoría principal se divide en dos categorías: frutas y hortalizas frescas y frutas y hortalizas procesadas (incluidos raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y áloe vera), hongos comestibles y setas, algas | | |

| | | |
|---------------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| marinas, nueces y semillas. | | |
| 4.1 subgrupo del alimento: | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| Frutas y hortalizas frescas | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 4.2 subgrupo del alimento: | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| Frutas y hortalizas procesadas | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 4.2.1 frutas y hortalizas congeladas. | | |

Continuación de la tabla 1

| | | |
|---|---|--------------------------------|
| 7.0 Grupo de Alimento: Pan y productos de panadería y pastelería. Incluye las categorías relativas al pan y los productos de panadería ordinaria y mezclas en polvo. Frescos o congelados y los productos de panadería fina dulces, salados y aromatizados. | | |
| | Parámetro | Límite máximo permitido |
| 7.1 Subgrupo del alimento: Pan, productos de panadería ordinaria y mezclas en polvo. Frescos o congelados. | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| 7.2 Subgrupo del alimento: Panadería fina con o sin relleno (galletas, queque, pasteles, tortas) otros productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas. Incluye otros productos de panadería fina, como donas, panecillos dulces y muffins, frescos o congelados. | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> (productos rellenos de derivado lácteo) | 10 ² UFC /g |
| | <i>Salmonella spp/25g(productos rellenos de derivados lacteos cacao y carne)</i> | Ausencia |

| | | |
|--|-------------------------------------|--------------------------------|
| 8.0 Grupo de Alimento: Carnes y productos cárnicos. Esta categoría incluye todos los tipos de productos cárnicos, de aves de corral y caza, en piezas y cortados o picados, frescos y procesados, carnes congeladas, incluyendo empanizados y rebosados y carnes enlatadas | | |
| | Parámetro | Límite máximo permitido |
| 8.1 Subgrupo del alimento: Productos cárnicos crudos (empacados). No incluidas materias primas. | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC/g |
| 8.1.1 Subgrupo del Alimento: Productos cárnicos crudos diferentes al pollo | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 8.2 Subgrupo del alimento: Productos cárnicos cocidos | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Escherichia coli</i> | < 10 UFC/g |

| | | |
|--|------------------------------|-----------------------|
| y curados (embutidos) | Salmonella spp/25g | Ausencia |
| 8.3 Subgrupo del alimento: Carnes curadas crudas (chorizo) | Staphylococcus aureus | 10 ² UFC/g |
| | Escherichia coli | < 3 NMP/g |
| | Salmonella spp/25g | Ausencia |
| 18. Categoría de Alimentos: Alimentos Autóctonos | | |
| 18.2 Subgrupo del alimento: Tortillas (trigo, maíz) | Escherichia coli | < 3 NMP/g |

ANEXO N° 24

Símbolos y abreviaturas

NMP= Numero más probable

UFC= Unidades formadoras de colonias

Tabla N° 2: Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Norma Salvadoreña de Conacyt: NSO 13.07.04:00 y NSO 67.18.01:01. ⁽³⁰⁾

| | | |
|---|---|------------------|
| Agua Potable NSO 13.07.01:08 | Coliformes fecales | < 1,1 NMP/100 mL |
| | Coliformes Totales | < 1,1 NMP/100 mL |
| | Escherichia coli | < 1,1 NMP/100 mL |
| | Conteo de Bacterias Heterótrofas aerobias y Mesófilas | 100 UFC/mL |
| | Patógenas | Ausencia |
| Productos alimenticios. Bebidas no carbonatadas sin alcohol. Especificaciones NSO 67.18.01:01. | Recuento de microorganismos mesófilos aerobios | < 1000 UFC/ mL |
| | Recuento de Hongos y Levaduras | < 20 UFC/ mL |
| | Coliformes totales | < 1,1 NMP/100 mL |
| | Bacterias patógenas | Ausencia |

Tabla N° 3: Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú. Método Esponja. ⁽³¹⁾

| METODO ESPONJA | SUPERFICIE IRREGULAR |
|--------------------|---------------------------------------|
| Ensayo | Limite de detección del método |
| Coliformes Totales | < 25 UFC/ superficie muestreada (**) |
| Patógenos | Ausencia / superficie muestreada (**) |

(**) Para 4 utensilios

Tabla N° 4: Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú. Método Enjuague. ⁽³¹⁾

| METODO ENJUAGUE | SUPERFICIES VIVAS |
|-------------------------------------|---------------------------------------|
| Ensayo | Limite de detección del método |
| Coliformes Totales | < 100 UFC/ manos |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | < 100 UFC/ manos |
| Patógenos | Ausencia / manos |

Aunque la normativa mencione otros parámetros, este estudio solo se determinará la presencia de ***Staphylococcus aureus*** en las manos de los manipuladores de alimentos del ISNA.

Tabla N° 5: Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente Según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso

humano. Buenas prácticas de manufactura para la Industria Farmacéutica. ⁽⁴⁴⁾

| GRADO | Máximo número de microorganismos viables permitidos | | | |
|-------|---|--|---|--|
| | Muestra de aire Ufc/m ³ | Placas de sedimentación (diámetro 90 mm) ufc/4 horas | Placas de contacto (diámetro 55 mm) ufc/placa | Impresión de guantes de 5 dedos Ufc/guante |
| A | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 |
| B | 10 | 5 | 5 | 5 |
| C | 100 | 50 | 25 | - |
| D | 200 | 100 | 50 | - |

Tabla N° 6: Operaciones que deben realizarse en los diversos grados. Según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano. Buenas prácticas de manufactura para la Industria Farmacéutica. ⁽⁴⁴⁾


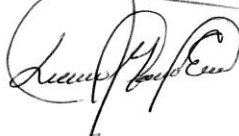



| GRADO | OPERACIONES |
|----------|---|
| A | Llenado de productos con alto riesgo de contaminación. Preparación y llenado de productos asépticos. |
| B | Entorno del Grado A para productos asépticos. |
| C | Preparación y llenado de productos con esterilización final por filtración y proceso de filtración con sistemas cerrados. |
| D | Preparación de materiales no estériles. |

Anexo N° 25

LISTA DE ASISTENCIA

20 OCT 2011

Hoja de asistencia

| Nombre | Firma |
|--------------------------|---|
| Maria Epifania Chavez |  |
| Loida Melida Cortez |  |
| Francisca Cisneros |  |
| Guadalupe Rosario Garcia |  |
| Carmen Dinora Ponce |  |

Anexo N° 26

CHARLA INFORMÁTICA A LOS MANIPULADORES DEL ISNA SOBRE BUENAS PRÁCTICAS DE HIGIENE ALIMENTARIA Y CARTA DE RECEPCION DE MUESTRAS

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



PRACTICAS DE HIGIENE Y SANIDAD EN LA PREPARACION DE LOS ALIMENTOS

PROPOSITO

Llevar a cabo todas las actividades necesarias para garantizar que los alimentos, no se deterioren o contaminen, provocando enfermedades a los consumidores.

Qué es la calidad en alimentos para los consumidores?

La calidad en alimentos es dar satisfacción a los 5 sentidos en el siguiente orden:

Ver –Tocar- Oler- Saborear –Oír

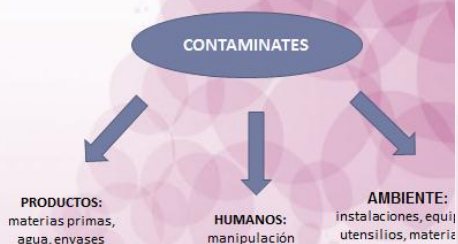
Además de tener en cuenta razones intangibles en la elección del consumidor:

Naturaleza- Salud- Nutrición

TIPOS DE ALIMENTOS

| TIPOS DE ALIMENTOS | CONCEPTO |
|----------------------|---|
| ALIMENTO SEGURO | Se tiene conocimiento de que posee calidad y no afecta a la salud. |
| ALIMENTO ALTERADO | Sufrió deterioro en sus características (nutricionales, sabor, olor y otros) que lo hacen inadecuado para el consumo humano. |
| ALIMENTO ADULTERADO | Fue privado total o parcialmente de sus elementos útiles para sustituirlos por otros que ocultan alteraciones. |
| ALIMENTO CONTAMINADO | Contiene organismos vivos, sustancias |

INGRESO DE LOS CONTAMINANTES



REGLAS DE ORO DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS)



- Elegir los alimentos
- Cocinar bien los alimentos
- Consumir rápidos los alimentos que consumimos
- Guardar cuidadosamente los alimentos cocidos
- Evitar el contacto de alimento crudos con cocidos

- Lavar bien
- Mantener
- Mantener
- Usar agua

FÍSICOS

- Astillas de madera de tablas de pizar
- Pedacitos de vidrio por alguna rotura de frasco de vidrio
- Metales
- Cabellos o pelos
- Botones
- Otros

**QUÍMICOS**

- Pesticidas
- Residuos de detergentes
- Venenos guardados en la cocina
- Productos de limpieza

**BIOLÓGICOS**

➤ Microorganismos: bacterias, hongos, virus, parásitos; en el suelo, aire, agua y otros.

➤ Insectos, roedores, aves....

**ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (ETA'S)**

Son un conjunto d enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos y/o agua contaminada en cantidades suficientes para dañar la salud del consumidor.



SÍNTOMAS

Se desarrolla de 1-7 días

Dolor abdominal



Nauseas

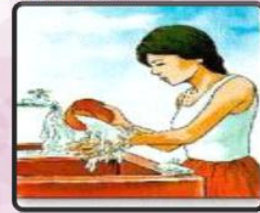
Dolor de cabeza

Dolor de cabeza

Diarreas

HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

Todas las medidas necesarias para garantizar la inocuidad del alimento en todas las fases, desde su cultivo, producción hasta que las personas lo consumen.



MANIPULACIÓN DE LOS ALIMENTOS



Durante su preparación, los alimentos que requieren refrigeración o congelación, deben exponerse el menor tiempo posible a la temperatura ambiente.

LAVADO Y DESINFECCIÓN DE VEGETALES

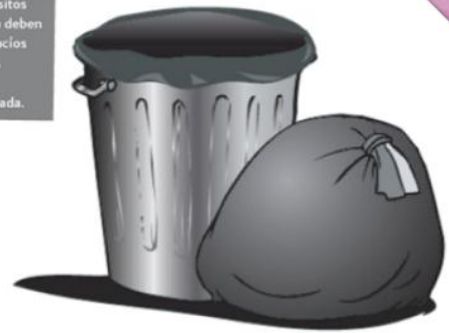


- ❖ Lavar con agua potable
- ❖ Sumergirlas en agua con cloro (4 gotas por litro de agua) durante 20 minutos
- ❖ Enjuagar con agua potable



Los trapos para la limpieza y superficies de trabajo, deben encontrarse limpios, lavarse y desinfectarse después de cada uso. En el área de preparación de alimentos es necesario distribuir depósitos de basura con bolsas de plástico, los cuales deben vaciarse tantas veces como sea necesario para evitar la acumulación excesiva de basura y desperdicios.

Los depósitos de basura deben quedar vacíos y limpios al final de la jornada.



PERSONAL



La presentación del personal debe ser de limpieza y pulcritud; bañado, afeitado, con el pelo corto o cubierto; con las uñas cortas, limpias y sin barniz, evitando el uso de joyería en manos, cuello y orejas.



El personal que padezca enfermedades respiratorias, gastrointestinales, parasitosis o cualquier enfermedad transmisible o que tenga heridas o abscesos, lo debe laborar en el área de almacén o preparación de alimentos.

INSTALACIONES FÍSICAS Y SANITARIAS

No se debe fumar, comer o beber en el área de preparación de alimentos, a excepción de cuando se prueba el sazón de los productos preparados, utilizando para esto, platos y cubiertos específicos.

Los sanitarios no se deben de usar como bodegas y deben ubicarse fuera de las áreas de preparación de alimentos, mantenerse limpios y desinfectados y contar con agua corriente, jabón, papel sanitario y toallas desechables o secadores de aire, depósitos de basura con bolsa de plástico; tapa oscilante o de pedal, puertas preferentemente sin picaporte y con cierre automático.



CONTAMINACIÓN CRUZADA

Directa

Transferencia de contaminantes de alimento a alimento

Indirecta

Transferencia de contaminantes de manos, utensilios a alimentos..

LIMPIEZA

Eliminación de la suciedad



DESINFECCIÓN

Reducción de microorganismos que pueden contaminar los alimentos

POR LO TANTO.....

Orden

Limpeza



**ALIMENTO
SEGURO**

Higiene

Agua
potable

Buenas Prácticas
Higiénicas

**LA RESPONSABILIDAD
DE ELABORAR
ALIMENTOS **INCUOS**
ESTÁ EN NUESTRAS
MANOS''**



San Salvador, 11 de Octubre de 2011

Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia

Presente,

Por este medio damos como prueba la recepción del informe de resultados de análisis microbiológicos obtenidos en el trabajo de investigación realizado en los servicios de alimentación de nuestra institución por los estudiantes de Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, Karla Maricela Acosta Reyes y Roberto Carlos Zepeda Quinteros, extendemos la presente para el uso que ellos consideren pertinente.

Atentamente,



Licda. Estela Guardado
Jefa del Departamento de Nutrición
Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA)

Anexo N° 27



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



San Salvador, 26 de octubre de 2011.
Licda. Estela Guardado
Jefa del Departamento de Nutrición
Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA)
Presente

Reciba un cordial saludo deseándole éxitos en su labor diaria.

El motivo de la presente es para dar a conocer a usted los resultados del análisis microbiológico realizado en su institución, el cual se desarrolló en un periodo comprendido de junio a septiembre de 2001, este se desglosó en tres visitas en donde en total se tomaron 48 muestras que incluyen alimentos, manos de manipuladores, utensilios y ambiente proveniente de la cocina general. Con el objeto de realizar nuestro trabajo de graduación para optar al grado de Licenciados en Química y Farmacia el cual tiene como título: **‘Evaluación microbiológica de las condiciones higiénico sanitarias de los servicios de alimentación en el Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA)’** planteado en uno de nuestros objetivos proporcionar los resultados obtenidos de la investigación a las autoridades correspondientes, en este caso el Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA). Esto con la finalidad de que esta institución tenga conocimiento de la calidad microbiológica de los alimentos proporcionados a los niños a su responsabilidad y saber si esta cumple con los parámetros establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50 y otras normas oficiales.

Cabe mencionar que anexo a los resultados se incluirán las especificaciones según la Norma RTCA 67.04.50:08, con la Guía Técnica para el análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú, Productos Alimenticios. Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol NSO 67.18.01:01, Agua potable NSO 13.07.01:08 y Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano, los cuales se han tomado como parámetro para comparar los resultados de la investigación.

Agradeciendo de antemano su atención, en espera de una respuesta favorable a nuestra petición.

Atentamente

Karla Maricela Acosta Reyes

F. _____

Roberto Carlos Zepeda Quinteros

F. _____

Estudiantes egresados de la Facultad de Química y Farmacia.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



**INFORME DE RESULTADOS DE LA EVALUACION MICROBIOLOGICA DE
LAS CONDICIONES HIGIENICO SANITARIAS DE LOS SERVICIOS DE
ALIMENTACION EN EL INSTITUTO SALVADOREÑO PARA EL DESARROLLO
INTEGRAL DE LA NIÑEZ Y ADOLESCENCIA (ISNA).**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

KARLA MARICELA ACOSTA REYES

ROBERTO CARLOS ZEPEDA QUINTEROS

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

Resumen

En el presente estudio se determinó la evaluación microbiológica de las condiciones higiénico sanitarias de los servicios de alimentación del Instituto Salvadoreño para el Desarrollo Integral de la Niñez y Adolescencia (ISNA).

Se realizaron análisis microbiológicos en muestras de alimentos, agua, ambiente, manos de manipuladores y utensilios, basados en la metodología del Manual Analítico Bacteriológico (BAM) , durante el período de agosto a septiembre del año 2011, en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), en la Universidad de El Salvador.

Para evaluar la calidad microbiológica de las condiciones higiénico sanitarias de los servicios de alimentación del (ISNA), se realizaron determinaciones con el fin de detectar la presencia de coliformes totales y coliformes fecales, hongos y levaduras, bacterias mesófilas aeróbicas y microorganismos patógenos como ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** en dichas muestras. Y para la confirmación de estos microorganismos se realizaron las siguientes pruebas :

Para ***Escherichia coli*** se observó el crecimiento de colonias con brillo metálico, para ***Staphylococcus aureus*** la prueba de la coagulasa, para ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa*** el set de pruebas bioquímicas convencionales. Se confirmó la presencia de coliformes totales por el crecimiento de colonias rosadas y coliformes fecales por el crecimiento de colonias moradas.

Los resultados obtenidos en los analisis fueron comparados con los parámetros microbiológicos según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08, con la Guía Técnica para el análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú, Productos Alimenticios.

Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol, NSO 67.18.01:01, Agua potable NSO 13.07.01:08 y Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07).
Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano.

Por lo tanto, se recomienda a los manipuladores de alimento que tomen conciencia de la importancia que reviste el empleo de la indumentaria y utensilios limpios y sobre todo la aplicación de las buenas prácticas higiénicas alimentarias, para asegurar la inocuidad de dichos alimentos y de esta manera ofrecer al consumidor un alimento que cumpla con las condiciones higiénico sanitarias.

Además se recomienda realizar monitoreos para verificar las condiciones en que se preparan dichos alimentos y poder ofrecer al consumidor un alimento inocuo.

INTRODUCCION

Los comedores colectivos son establecimientos cuya finalidad es la de facilitar comidas que se consumen los mismos locales. En estos casos, la mayoría de alimentos consumidos, se ven expuestos a contaminación por las condiciones ambientales de los establecimientos y por ser preparados por personas que carecen en su mayoría de la capacitación adecuada para preparar y manipular alimentos y que sin saberlo pueden ser portadores de microorganismos de alto riesgo de para la salud de los consumidores. Esto representa un riesgo para los consumidores, principalmente cuando existen microorganismos patógenos que pueden causar enfermedad de tipo gastrointestinal.

En el muestreo realizado se evaluó microbiológicamente las condiciones higiénico sanitario de los servicios de alimentación en el ISNA. Los resultados ponen de manifiesto los riesgos que pueden ocasionar por el incumplimiento de los requerimientos mínimos, como la aplicación de buenas prácticas de manufactura y de higiene por parte de los manipuladores de alimentos.

Los microorganismos identificados en dicho estudio fueron: coliformes totales y fecales, mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias, detección de ***Escherichia coli*** , ***Staphylococcus aureus***, ***Salmonella spp*** y ***Pseudomona aeruginosa***.

RESUMEN DE LOS MICROORGANISMOS

Coliformes: Son buenos indicadores de un proceso o de un estado sanitario poco satisfactorio.

Coliformes fecales: Son indicadores de limpieza y desinfección inadecuada o de una preparación incorrecta de alimentos, favoreciendo la multiplicación de microorganismos patógenos.

Mohos y levaduras: Los mohos y levaduras se pueden encontrar como parte de un alimento o como agentes contaminantes. Se encuentran en el ambiente en forma de esporas, las cuales resisten el calor, contaminan los equipos y utensilios lavados inadecuadamente; provocando el deterioro fisicoquímico de las materias primas.

Bacterias mesofilas aerobias: Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer entre 15 y 45 °C, con un rango óptimo de 35°C.

Son contaminantes de alimentos y posibles causantes de enfermedades intestinales, en la industria de alimento es considerado como el grupo indicador más grave que existe. El recuento elevado indica la posible presencia de patógenos y predicen la posibilidad de que el alimento este próximo a descomponerse.

Escherichia coli: Es una bacteria que se encuentra habitualmente formando parte de la flora normal de los intestinos de los seres humanos.

Periodo de incubación: 24 - 48 horas.

Síntomas principales: Nauseas, vómitos, diarreas y cólicos.

Tipo de alimento: Embutidos, ensaladas frescas, agua, lácteos.

Otras formas de transmisión: Persona que prepara alimentos sin lavarse las manos después de ir al baño o por agua contaminada con heces de humanos.

Staphylococcus aureus: Su presencia en alimentos se interpreta como indicador de contaminación en partes de la piel, boca y fosas nasales de los manipuladores de alimentos, así como la falta de higiene en materiales y equipos.

Periodo de incubación: 2-6 horas ó 1-11 horas

Síntomas principales: Nauseas, vómitos, diarreas y cólicos.

Tipo de alimento: Embutidos, carnes, pastelería rellena de crema, productos lácteos, budines, mayonesa, ensaladas de papas.

Otras formas de transmisión: Persona que prepara alimentos con resfrío, dolor de garganta, cortaduras infectadas, rebanadoras de carne.

Género *Salmonella spp*: La bacteria de este género sobreviven a la congelación en el agua durante períodos prolongados, pueden producir dos tipos de enfermedades: fiebres entéricas (fiebre tifoidea y fiebre paratifoidea) y gastroenteritis.

Periodo de incubación: 7 - 21 días ó 3 - 38 días.

Síntomas principales: Diarrea, dolores abdominales, escalofríos, fiebres, vómitos, deshidratación.

Tipo de alimento: Huevos crudos o mal cocidos, leche en polvo, carne y pollo crudos o mal cocidos, hortalizas crudas, mariscos, pescado.

Otras formas de transmisión: Alimento infectados de origen animal, agua contaminada, roedores e insectos en contacto con un portador.

Pseudomona aeruginosa: Puede causar diversos tipos de infecciones pero rara vez causa enfermedades graves en personas sanas sin algún factor predisponente. Coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos. Desde estos lugares puede invadir el organismo y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis.

Periodo de incubación: 2-4 días

Síntomas principales: Dolores abdominales, fiebres, problemas respiratorios.

Tipo de alimento: Agua.

Se recolectaron en total 48 muestras, divididas así: 18 muestras de alimentos (lácteo, ensalada fresca, tortilla, refresco, embutido, carne, pan dulce, fruta fresca, y agua proveniente de la fuente de suministro), 16 muestras de ambiente (2 de comedor, 2 de preparación de alimentos de la cocina de lactantes, 2 de bodega de alimentos y 2 de preparación de alimentos de la cocina general), 6 muestras de manipuladores (manos) y 8 muestras de utensilios: (tabla de picar, licuadora, rayador, cuchillo).

De las cuales solo el agua, refresco, pan dulce, tortilla y fruta cumplen con los parámetros microbiológicos que se tomaron como referencia para dichos análisis

Cuadro N° 14: Resultados obtenidos a las muestras analizadas

| Muestra | Coliformes totales | Coliformes fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Salmonella spp</i> | <i>Pseudomona aeruginosa</i> | Recuento de bacterias mesofilas aerobias | Recuento de mohos y levaduras | Resultado final |
|---------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|--|-------------------------------|-----------------|
| Lácteo | | | 10 UFC/g | DNPC | Ausencia | | | | No cumple |
| Ensalada | | | 150 UFC /g | | Ausencia | | | | No cumple |
| Tortilla | | | < 3 UFC/g | | | | | | Cumple |
| Refresco | <1,1NMP/100 mL | <1,1NMP/100 mL | Ausencia | | | Ausencia | 15 UFC/mL | 70 UFC/ mL | Cumple |
| Embutido | | | 15 UFC/g | DNPC | Ausencia | | | | No cumple |
| Pan dulce | | | <10 ² UFC /g | | | | | | Cumple |
| Fruta | | | <10 ² UFC /g | | Ausencia | | | | Cumple |
| Carne | | | 10 ² UFC /g | | Ausencia | | | | Cumple |
| Agua | <1,1NMP/100 mL | <1,1NMP/100 mL | Ausencia | | | Ausencia | <100 UFC/mL | | Cumple |
| Ambiente | | | | | | | | 230 UFC/ 4 horas | No cumple |
| Manipuladores | 150 UFC/ manos | | Presencia | DNPC | | | | | No cumple |
| Utensilios | 250 UFC/superficie muestreada | | Presencia | | | | | | No cumple |

En el cuadro N° 14, se muestran los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados a las 48 muestras seleccionadas.

En los datos obtenidos, se puede observar que de las muestras analizadas solo cumplen con los criterios microbiológicos las muestras de agua, refresco, tortilla, pan dulce, fruta y la carne indicando que estas son aptas para el consumo humano.

TABLA DE VALORES MÁXIMOS ADMISIBLES EN CADA UNA DE LAS DETERMINACIONES

Tabla N° 1: Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. ⁽¹⁸⁾

| | | |
|---|-------------------------------------|--------------------------------|
| 1.0 Grupo de Alimento: Leche y productos lácteos. Incluye todo tipo de productos lácteos derivados de la leche de cualquier animal que suele ser ordeñado (vaca, oveja, cabra, búfala). En esta categoría, un producto simple ¹ es uno que no contiene ningún saborizante, ni contiene frutas, verduras u otros ingredientes no lácteos; tampoco se ha mezclado con otros ingredientes no lácteos, salvo lo permitido por las normas correspondientes. Similares son productos en los cuales la grasa láctea ha sido reemplazada parcial o totalmente por grasas o aceites vegetales | | |
| | Parámetro | Límite máximo permitido |
| 1.5 Subgrupo del alimento : Crema dulce, crema acida (natilla), crema batida | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 1.8 Subgrupo del alimento: Quesos madurados y procesados. | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 1.9 Subgrupo del alimento: Quesos frescos, no madurados y requesón. | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 4.0 Grupo de Alimento: Frutas y hortalizas. Esta categoría principal se divide en dos categorías: frutas y hortalizas frescas y frutas y hortalizas procesadas (incluidos raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y áloe vera), hongos comestibles y setas, algas marinas, nueces y semillas. | | |
| 4.1 subgrupo del alimento: Frutas y hortalizas frescas | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 4.2 subgrupo del alimento: Frutas y hortalizas procesadas | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 4.2.1 frutas y hortalizas congeladas. | | |

Continuación de la tabla 1

| | | |
|---|---|--------------------------------|
| 7.0 Grupo de Alimento: Pan y productos de panadería y pastelería. Incluye las categorías relativas al pan y los productos de panadería ordinaria y mezclas en polvo. Frescos o congelados y los productos de panadería fina dulces, salados y aromatizados. | | |
| | Parámetro | Límite máximo permitido |
| 7.1 Subgrupo del alimento: Pan, productos de panadería ordinaria y mezclas en polvo. Frescos o congelados. | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| 7.2 Subgrupo del alimento: Panadería fina con o sin relleno (galletas, queque, pasteles, tortas) otros productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas. Incluye otros productos de panadería fina, como donas, panecillos dulces y muffins, frescos o congelados. | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC /g |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> (productos rellenos de derivado lácteo) | 10 ² UFC /g |
| | <i>Salmonella spp/25g(productos rellenos de derivados lacteos cacao y carne)</i> | Ausencia |

| | | |
|--|-------------------------------------|--------------------------------|
| 8.0 Grupo de Alimento: Carnes y productos cárnicos. Esta categoría incluye todos los tipos de productos cárnicos, de aves de corral y caza, en piezas y cortados o picados, frescos y procesados, carnes congeladas, incluyendo empanizados y rebosados y carnes enlatadas | | |
| | Parámetro | Límite máximo permitido |
| 8.1 Subgrupo del alimento: Productos cárnicos crudos (empacados). No incluidas materias primas. 8.1.1 Subgrupo del Alimento: Productos cárnicos crudos diferentes al pollo | <i>Escherichia coli</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 8.2 Subgrupo del alimento: Productos cárnicos cocidos y curados (embutidos) | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Escherichia coli</i> | < 10 UFC/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 8.3 Subgrupo del alimento: Carnes curadas crudas (chorizo) | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 ² UFC/g |
| | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |
| | <i>Salmonella spp/25g</i> | Ausencia |
| 18. Categoría de Alimentos: Alimentos Autóctonos | | |
| 18.2 Subgrupo del alimento: Tortillas (trigo, maíz) | <i>Escherichia coli</i> | < 3 NMP/g |

Símbolos y abreviaturas

NMP= Numero más probable

UFC= Unidades formadoras de colonia

Tabla N° 2: Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Norma Salvadoreña de Conacyt: NSO 13.07.04:00 y NSO 67.18.01:01. ⁽³⁰⁾

| | | |
|---|---|------------------|
| Agua Potable NSO 13.07.01:08 | Coliformes fecales | < 1,1 NMP/100 MI |
| | Coliformes Totales | < 1,1 NMP/100 mL |
| | <i>Escherichia coli</i> | < 1,1 NMP/100 mL |
| | Conteo de Bacterias Heterótrofas aerobias y Mesófilas | 100 UFC/mL |
| | Patógenas | Ausencia |
| Productos alimenticios. Bebidas no carbonatadas sin alcohol. Especificaciones NSO 67.18.01:01. | Recuento de microorganismos mesófilos aerobios | < 1000 UFC/ mL |
| | Recuento de Hongos y Levaduras | < 20 UFC/ mL |
| | Coliformes totales | < 1,1 NMP/100 mL |
| | Bacterias patógenas | Ausencia |

Tabla N° 3: Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú. Método Esponja. ⁽³¹⁾

| METODO ESPONJA | SUPERFICIE IRREGULAR |
|--------------------|---------------------------------------|
| Ensayo | Limite de detección del método |
| Coliformes Totales | < 25 UFC/ superficie muestreada (**) |
| Patógenos | Ausencia / superficie muestreada (**) |

(**) Para 4 utensilios

Tabla N° 4: Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Según Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas, provenientes de las Normas Legales de Perú. Método Enjuague. ⁽³¹⁾

| METODO ENJUAGUE | SUPERFICIE VIVAS |
|-------------------------------------|---------------------------------------|
| Ensayo | Limite de detección del método |
| Coliformes Totales | < 100 UFC/ manos |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | < 100 UFC/ manos |
| Patógenos | Ausencia / manos |

Aunque la normativa mencione otros parámetros, este estudio solo se determinará la presencia de ***Staphylococcus aureus*** en las manos de los manipuladores de alimentos del ISNA.

Tabla N° 5: Límites permitidos para el monitoreo microbiológico en ambiente Según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano. Buenas prácticas de manufactura para la Industria Farmacéutica. ⁽⁴⁴⁾

| GRADO | Máximo número de microorganismos viables permitidos | | | |
|-------|---|--|---|--|
| | Muestra de aire Ufc/m ³ | Placas de sedimentación (diámetro 90 mm) ufc/4 horas | Placas de contacto (diámetro 55 mm) ufc/placa | Impresión de guantes de 5 dedos Ufc/guante |
| A | < 3 | < 3 | < 3 | < 3 |
| B | 10 | 5 | 5 | 5 |
| C | 100 | 50 | 25 | - |
| D | 200 | 100 | 50 | - |

Tabla N° 6: Operaciones que deben realizarse en los diversos grados. Según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.42:07). Productos Farmacéuticos Medicamentos de uso humano. Buenas prácticas de manufactura para la Industria Farmacéutica. ⁽⁴⁴⁾

| GRADO | OPERACIONES |
|----------|---|
| A | Llenado de productos con alto riesgo de contaminación. Preparación y llenado de productos asépticos. |
| B | Entorno del Grado A para productos asépticos. |
| C | Preparación y llenado de productos con esterilización final por filtración y proceso de filtración con sistemas cerrados. |
| D | Preparación de materiales no estériles. |

Recomendaciones

- 1.** A los manipuladores de alimentos tener buenos hábitos higiénicos, tales como: cabello corto, uñas limpias y cortas, manos limpias, no toser ni estornudar sobre los alimentos, no manipularlos cuando se tienen lesiones o infecciones en la piel, ya que estos hábitos permiten ofrecer al consumidor alimentos preparados y servidos en las mejores condiciones respecto al higiene del local y almacenamiento de alimentos
- 2.** A las autoridades del ISNA, exigir a los manipuladores de alimentos la realización de exámenes de salud periódicamente y pedir constancia de dichos exámenes para comprobar el buen estado de salud.
- 3.** Supervisar y controlar las actividades relacionadas a la compra de materia prima de calidad, almacenamiento de la misma, elaboración de alimentos en condiciones sanitarias, utensilios limpios para garantizar la inocuidad de los alimentos.