

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



**ESTUDIO DE LA INOCUIDAD DE LOS SORBETES ARTESANALES
COMERCIALIZADOS EN LAS ZONAS DE SOYAPANGO, MEJICANOS Y
ZONA DEL CENTRO DE LA CIUDAD DE SAN SALVADOR.**

POR:

CARMEN DOLORES FLORES GONZÁLEZ

SAN SALVADOR, NOVIEMBRE DE 2010.

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



**ESTUDIO DE LA INOCUIDAD DE LOS SORBETES ARTESANALES
COMERCIALIZADOS EN LAS ZONAS DE SOYAPANGO, MEJICANOS Y
ZONA DEL CENTRO DE LA CIUDAD DE SAN SALVADOR.**

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SAN SALVADOR, NOVIEMBRE DE 2010.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

ING. AGR. Y MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO:

DR. E ING. AGR. REYNALDO ADALBERTO LÓPEZ LANDAVERDE

SECRETARIO:

ING. MSc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE VETERINARIA:

M. V. Oscar Luis Meléndez Calderón

DOCENTES DIRECTORES:

Lic. MSc. Amy Elieth Morán

M. V. Oscar Luis Meléndez

M. V. Guillermo Federico Ortiz

COORDINADOR DE PROCESOS DE GRADUACIÓN:

M. V. Orlando Alberto Silva Hernández

RESUMEN

En El Salvador, el mercado de los sorbetes es abarcado en su totalidad por productos fabricados a escala industrial; sin embargo, existen también fábricas semi-industriales y artesanales. La fabricación y salida de los mercados está regida en El Salvador por la Norma de helados y mezcla de helados NSO 67.01.11:95 bajo el comité técnico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), además de estas disposiciones legales existen regulaciones higiénicas dictadas por el Ministerio de Salud que concretan en la protección de la salud mediante la implantación de adecuados estándares higiénicos. Ambas disposiciones son acatadas actualmente a nivel de las fábricas industriales, mientras que a escala semi-industrial y artesanal se vuelve un poco difícil tanto el acceso a esta información así como el poner en práctica dichas directrices, por lo que generalmente las prescripciones mínimas por el Ministerio de Salud no son tomadas en cuenta, incurriendo de esta manera en malas prácticas higiénicas provocando una mala calidad del mismo.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la inocuidad de los sorbetes artesanales vendidos en la vía pública de las zonas de Soyapango (Mercado principal y alrededores), Mejicanos (Mercado principal y alrededores) y zona del Centro de la ciudad de San Salvador, y así de esta forma verificar si este producto es apto para el consumo de la población.

La investigación se llevó a cabo recolectando: 10 muestras correspondientes a los sorbetes de la zona de Soyapango; 10 muestras de Mejicanos y 10 de la zona del centro de San Salvador, este procedimiento se realizó en dos diferentes ocasiones, recolectando un total de 60 muestras para el estudio. Estas fueron debidamente identificadas y transportadas al Laboratorio de Microbiología de Alimentos de CENSALUD implementándose las normas básicas de conservación de muestras según el CONACYT.

El análisis microbiológico de las muestras consistió en:

- a) Recuento total de bacterias aeróbicas, que se realizó por el método de vertido en placa utilizando el medio Agar Plate Count.
- b) Recuento de coliformes totales, que se realizó por el método de vertido en placa con medio Agar Rojo Violeta Bilis (VRBA).
- c) Identificación de *Salmonella spp*, la cual se realizó por siembra de la

muestra previamente enriquecida en los medios de cultivo Tetraniotato y Rappaport, y luego sembrando sobre la superficie de agares selectivos como Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y Salmonella-Shigella (SS).

d) Identificación de *Staphylococcus aureus*, inoculando las muestras por el método de esparcido en agar Baird Parker;

e) Identificación de *Escherichia coli*, por siembra en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) a partir de las muestras con colonias identificadas como coliformes totales.

La identificación y el recuento de las bacterias antes mencionadas, se realizaron con base a los requerimientos microbiológicos que establece la Norma Salvadoreña Obligatoria de Helados y mezcla para helados (NSO 67.01.11:95).

La totalidad de las muestras presentaron recuentos totales de bacterias aeróbicas, coliformes totales y fecales mayores a los establecidos por la Norma. Además se encontró: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* Los resultados obtenidos fueron analizados mediante técnicas estadísticas específicas con el objeto de determinar homogeneidad o heterogeneidad en los datos para luego compararlos con los límites sugeridos con la Norma Salvadoreña de Helados y mezcla para helados.

En el último capítulo se propone un manual de Manipulación Higiénica de Alimentos con el fin de dar a conocer pasos fáciles para una buena higiene y desinfección durante el proceso.

Este estudio estuvo orientado y enmarcado a una de las políticas de investigación institucional basada en la inocuidad de alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial la colaboración y apoyo que prestaron las siguientes personas para la realización de este proyecto.

MSc AMY ELIETH MORÁN

M. V. OSCAR LUIS MELÉNDEZ

M. V. GUILLERMO FEDERICO ORTIZ

M. V. ORLANDO SILVA HERNÁNDEZ

Ing. Agr. MARIO BERMÚDEZ

Finalmente a CENSALUD, que puso a la orden sus instalaciones, equipos y medios para llevar a cabo esta investigación.

DEDICATORIA

A MI DIOS CREADOR: Por que fue Él dándome fuerzas para luchar y quien me ha abierto el camino para lograr cada meta de mi vida.

A MI MAMÁ: Por enseñarme el significado del verdadero amor, la lucha y la libertad. Aunque ya no está conmigo, usted sigue siendo la razón de mi felicidad. Este triunfo es especialmente suyo.

A MI PAPÁ: Por enseñarme con sabiduría a luchar sin ceder y empujarme hacia la finalización de cada meta. Por su amor y apoyo incondicional, gracias.

A MIS HERMANOS: Por estar ahí siempre.

A ROMÁN: Por tu amor incondicional, tu paciencia, comprensión y sacrificio para terminar conmigo esta dura etapa de mi vida.

A MI HIJO: Por su comprensión y su eterno y limpio amor.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS: Porque junto a ellos, los sacrificios, alegrías y tristezas son más fáciles de llevar.

A MIS MAESTROS: Por su entrega y dedicación, por compartir sus vastos conocimientos.

A MIS ASESORES: Por su infinita paciencia, su apoyo y consejos y por ser para mí cada uno de ellos un ejemplo de Profesional.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁG.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 GENERALIDADES SOBRE LA INDUSTRIA DEL HELADO	3
2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HELADOS	4
2.3 COMPONENTES DE LOS HELADOS Y SU IMPORTANCIA	7
2.3.1 La leche y productos lácteos	7
2.3.2 Azúcares y productos azucarados	8
2.3.3 Frutas y derivados	8
2.3.4 Otros aditivos sápidos	9
2.3.5 Grasas y proteínas vegetales	9
2.3.6 Los barquillos	9
2.3.7 Agua y aire	10
2.3.8 Emulsionantes y estabilizadores	10
2.3.9 Sustancias colorantes, aromatizantes y acidificantes	12
3. FUNDAMENTO TEÓRICO DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	12
3.1 GRUPOS IMPORTANTES DE MICROORGANISMOS	13
3.1.1 Microorganismos patógenos	13
3.1.2 Microorganismos responsables de la descomposición	13
3.1.3 Microorganismos indicadores	13
3.2 Coliformes totales	13
3.2.1 Hábitat de los coliformes	14
3.2.2 Técnica del medio sólido con VRBA	16
3.3 <i>Escherichia coli</i>	17
3.3.1 Hábitat de <i>Escherichia coli</i>	17
3.3.2 Prueba confirmativa con EMB	18
3.4 <i>Salmonella spp</i>	18
3.4.1 Hábitat de <i>Salmonella</i>	18
3.4.2 Epidemiología	19
3.4.3 Patogenia	20

3.4.4 Virulencia	21
3.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
3.5.1 Técnica en Agar Baird Parker	24
4. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	25
5. JUSTIFICACIÓN	27
6. HIPÓTESIS CIENTÍFICA DE LA INVESTIGACIÓN	29
7. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	30
7.1 Objetivo general	30
7.2 Objetivos específicos	30
8. MATERIALES Y MÉTODOS	31
8.1 Materiales y equipo para fase de campo	31
8.2 Materiales y equipo para la fase de laboratorio	31
8.3 Medios de cultivos y reactivos	32
8.4 Descripción del estudio	33
8.5 Metodología estadística	34
8.6 Muestreo	34
8.7 Metodología de laboratorio	36
8.7.1 Preparación de muestras	37
8.7.2 Recuento aeróbico en placa	38
8.7.3 Recuento de coliformes totales	40
8.7.4 Test confirmativo para <i>Escherichia coli</i>	43
8.7.5 Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
8.7.6 Detección de <i>Salmonella</i>	50
8.8 Análisis de datos	52
8.8.1 Recuento total de bacterias	53
8.8.2 Coliformes totales	54
8.8.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	55
8.8.4 <i>Escherichia coli</i>	56
8.8.5 <i>Salmonella</i>	58
9. Diseño estadístico	60
9.1 Desarrollo matemático del diseño estadístico	62
10. Conclusiones	67
11. Recomendaciones	68
12. Bibliografía	69

ANEXOS	71
Anexo I: Zona de Soyapango donde se tomaron 20 muestras de sorbetes artesanales	72
Anexo II: Zona de Mejicanos donde se tomaron 20 muestras de sorbetes artesanales	73
Anexo III: Zona del centro de San Salvador donde se tomaron 20 muestras de sorbetes artesanales.	74
Anexo IV: Características microbiológicas de los helados según la norma NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados	75
Anexo V: Manual de Manipulación Higiénica de Alimentos	76

ÍNDICE DE TABLAS.

CONTENIDO DE LA TABLA	PÁGINA
Tabla No 1: Géneros de Coliformes	15
Tabla No 2: Resultados generales de los análisis de laboratorio en Las 60 muestras de sorbetes artesanales.	52
Tabla No 3: Promedio del Recuento Total de Bacterias por zona de estudio representadas en UFC/g.	53
Tabla No 4: Promedio del Recuento de Coliformes Totales por zona de estudio representadas en UFC/g.	54
Tabla No 5: Promedio del Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> por zona de estudio representadas en UFC/g.	55
Tabla No 6: Promedio de la Presencia de <i>Escherichia coli</i> por zona de estudio representadas en UFC/g.	56
Tabla No 7: Promedio de la Presencia de <i>Salmonella</i> por zona de estudio representadas en UFC/g.	58

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

CONTENIDO DEL GRÁFICO	PÁGINA
Gráfico No 1: Promedio del Recuento Total de Bacterias de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.	53
Gráfico No 2: Promedio del Recuento de Coliformes Totales de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.	54
Gráfico No 3: Promedio del Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.	55
Gráfico No 4: Promedio de la presencia de <i>Escherichia coli</i> de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.	56
Gráfico No 5: Promedio de la presencia de <i>Salmonella</i> de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.	58

ÍNDICE DE FIGURAS.

CONTENIDO DE LA FIGURA	PÁGINA
Figura No 1: Preparación de muestras y sus diluciones.	37
Figura No 2: Técnica de vertido en placa.	38
Figura No 3: Vertido en placa de agar Plate Count.	38
Figura No 4: Placas de Plate Count en incubación a 35°C	39
Figura No 5: A. Contador de colonias, B. Crecimiento bacteriano en Placas de Plate Count.	39
Figura No 6: Agar Bilis Violeta Rojo a punto de ebullición.	40
Figura No 7: Preparación de muestras en diluciones decimales bajo la campana de flujo laminar.	40
Figura No 8: Placas con VRBA con crecimiento de Coliformes en proceso de enfriamiento y solidificación.	41
Figura No 9: Placa de VRBA con crecimiento de Coliformes vista a través del contador de colonias.	41
Figura No 10: Placa de VRBA con crecimiento de Coliformes a simple vista.	42
Figura No 11: A. Placa de VRBA con colonias sospechosas de ser <i>Escherichia coli</i> , B. Placas con EMB para siembra de colonias sospechosas de ser <i>Escherichia coli</i>	43
Figura No 12: Técnica de estriado sobre placa de EMB.	43
Figura No 13: Placa de EMB positiva a <i>Escherichia coli</i> .	44
Figura No 14: Agar Baird Parker sobre un hot plate en proceso de calor.	45
Figura No 15: Placa de Agar Baird Parker solidificado.	45
Figura No 16: Proceso de dilución de una de las muestras.	45
Figura No 17: Rastrillo o asa en forma de "L".	46
Figura No 18: Placas de agar Baird Parker con crecimiento de colonias.	47
Figura No 19: A. Selección de una colonia sospechosa de ser <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> crecida en agar Baird Parker, B. Siembra de colonia sospechosa en caldo Cerebro Corazón.	48
Figura No 20: A. Tubo con caldo Cerebro Corazón, B. Tubo con Plasma de Conejo.	48

CONTENIDO DE LA FIGURA	PÁGINA
Figura No 21: Tubos de caldo Cerebro Corazón listos para la incubación.	49
Figura No 22: A. Tubo positivo a Coagulasa, B. Tubo negativo a Coagulasa.	49
Figura No 23: A. Toma una alícuota de muestra diluida 10^{-1} , B. Siembra de la alícuota de muestra en caldo de Rappaport Vassiliadis. C. Siembra de la alícuota de muestra en caldo de Tetrionato.	50
Figura No 24: A. Tubos con caldo tetrionato en proceso de incubación, B. Tubos con caldo rappaport listos para la incubación.	50
Figura No 25: A. Introducción de asa estéril en caldo rappaport, para luego B. realizar la siembra en estrías sobre placas de agar Salmonella-Shigella.	51
Figura No 26: A. Crecimiento de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en placas de Salmonella-Shigella, B. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en placas de Salmonella-Shigella, C. Crecimiento de <i>Salmonella spp</i> en placas de Salmonella-Shigella, D. Crecimiento de <i>Proteus spp</i> en placas de Salmonella-Shigella, E. Crecimiento de <i>Pseudomona spp</i> en placas de Salmonella-Shigella.	51
Figura No 27: Zona comercial de Soyapango y sus alrededores en donde se Realizó toma de muestras de sorbete artesanal.	72
Figura No 28: A. Calle Roma, B. Escuela Amelia, C. Escuela 22 de Junio D. Escuela Japón, F. Mercado de Mejjicanos, G. Pollo Campero.	73
Figura No 29: Zona comercial de Soyapango y sus alrededores en donde se Realizó toma de muestras de sorbete artesanal.	74

1. INTRODUCCIÓN

La elaboración de sorbetes en El Salvador se inició aproximadamente hace 65 años, era producido de forma artesanal y comercializado en hieleras que eran cargadas en los hombros de las personas que lo comercializaban, diez años más tarde se inicia su elaboración de manera industrial, siendo los pioneros en este rubro dos fábricas nacionales (1).

El término **sorbete** se origina del anglicismo “Sherbet”, que es una variedad de helado que incluye una pequeña porción de leche, siendo este término con el que se conoce hasta el día de hoy. Sin embargo es amplia la clasificación de estos productos de acuerdo a sus componentes, los cuales en su mayoría pueden formar una mezcla óptima para el crecimiento bacteriano (1).

Estos productos están destinados al consumo humano y considerando que se demandan en todos los estratos de la población (ancianos, adultos, jóvenes y niños), es necesario tener un control estricto en cuanto a su calidad total.

A nivel industrial, el Comité Técnico de Normalización del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT, rige la elaboración de estos productos mediante la norma aprobada como Norma Salvadoreña Obligatoria de Helados y mezcla de helados (NSO 67.01.11.95); sin embargo existe un número no determinado de productores artesanales que lo fabrican sin ningún control sanitario. Este producto elaborado artesanalmente y comercializado de manera ambulante, es demandado grandemente a nivel popular por contar con características propias: como el uso de frutas tropicales, ausencia de grasa vegetal, bajo contenido de grasa butírica y bajo precio.

Se conoce ampliamente que los productos alimenticios que se comercializan por medio de ventas ambulantes o a la intemperie están más propensos al deterioro y contaminación, lo cual influye en la salud del consumidor. Esta realidad plantea la necesidad de estudios técnicos que garanticen y favorezcan tanto al consumidor como al comerciante la calidad de dichos alimentos. En el presente trabajo se realiza un diagnóstico de la calidad del sorbete artesanal a base de coco elaborado artesanalmente mediante análisis bacteriológicos y a

partir de los resultados se elabora un manual conteniendo marchas para buenas prácticas de manufactura en la producción y comercialización.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES SOBRE LA INDUSTRIA DEL HELADO.

La fabricación industrial de helados tuvo lugar primero en los Estados Unidos de Norteamérica, desde donde se difundió ampliamente en poco tiempo. Ello dio origen a una evidente ventaja tecnológica de la producción americana de helados, absorbiendo poco a poco la oferta elaborados en forma artesanal, cuyo consumo se origina en China presumiblemente en el siglo XI A. de C. con el almacenamiento de hielo (nieve) para el verano en bodegas especiales, la cual mezclaban con vino o leche y zumo de fruta con miel (6).

El consumo de este producto ha aumentado notablemente en las últimas dos décadas. En este enorme aumento participan de manera muy destacada estos helados fabricados a escala industrial (los llamados helados de marca), mientras que el despacho de helados fabricados artesanalmente y su participación en comercio total retrocede, pues corre el peligro de ser absorbido por un mercado que garantiza calidad en la producción.

La mayor parte de helados consumidos en El Salvador como en otros países, son de fabricación industrial. La tecnología de la elaboración de helados, los métodos de tratar las materias primas para obtener la mezcla a congelar hasta la consecución del helado terminado, es por tanto una tecnología principalmente industrial. De esta manera la elaboración artesanal de helados, ocuparía por consiguiente un lugar relativamente pequeño dentro del mercado.

Es poca la información que se tiene acerca de los orígenes de la elaboración artesanal del sorbete en El Salvador. Los datos obtenidos por medio de los vendedores varían de uno a otro, pero puede decirse que aproximadamente hace unos 60 a 65 años se inició la elaboración de este producto (1) en El Salvador. Inicialmente comercializado sobre los hombros de los trabajadores, hoy se comercializa en carretones de madera, con el inconveniente desde sus inicios de no tener ningún control referente a buenas prácticas higiénico-sanitarias.

2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS HELADOS.

Los helados son los productos obtenidos a partir de la mezcla pasteurizada, homogeneizada, batida y refrigerada por medios manuales o mecánicos que tengan en su composición ingredientes principales como son: Leche, constituyentes lácteos y productos lácteos, pasteurizados, concentrados, deshidratados, fermentados, reconstituidos o combinados. Aceites comestibles y grasas comestibles no lácteas autorizadas, proteínas comestibles no lácteas. Edulcorantes como sacarosa, jarabe de maíz o glucosa, azúcar invertida, dextrosa, fructosa, lactosa o mezcla de ellas y edulcorantes artificiales, agua potable, huevos y productos derivados de los mismos libres de sabores y olores extraños. Frutas y productos derivados de las mismas. Otros productos alimenticios como café, cacao, miel de abejas, jengibre, almendras, nueces, licores. Los ingredientes empleados en la elaboración de helados y de mezclas para helados, deben ser limpios, sanos y libres de contaminación, además deben cumplir con las normas salvadoreñas correspondientes y en su defecto con las normas del Codex alimentarius de la FAO/OMS (9).

Características generales:

Los helados y mezclas para helados deben ser elaborados y envasados bajo estrictas condiciones higiénicas sanitarias y de inocuidad. Así como de cualquier alteración que pueda afectar la comestibilidad, la adecuada conservación y el buen aspecto del producto final (9).

Clasificación.

Según la Norma Salvadoreña para Helados y Mezcla de helados (NSO 67.01.11:95), CONACYT, los helados se clasifican de acuerdo a su composición y al origen de sus ingredientes en los siguientes tipos:

Helado o sorbete: es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogenizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales que tengan en su composición grasa butírica en forma de crema, mantequilla en polvo, proteína láctea en forma de sólidos de leche, edulcorantes tales como azúcar, glucosa, dextrosa en forma líquida o sólida, estabilizantes y emulsificantes alimenticios, saborizantes y colorantes naturales y artificiales y agua potable.

Helados o sorbete de leche: Es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogenizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales pero sin contener grasa vegetal y en su composición grasa butírica en un porcentaje igual o mayor al 7%.

Helado o sorbete de crema: Es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogenizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales, sin grasa vegetal y grasa butírica en un porcentaje igual o mayor al 8%.

Helado de grasa vegetal: Es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogenizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales conteniendo grasa vegetal en un porcentaje igual o inferior al 7%.

Helado de crema vegetal: Es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogenizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales conteniendo en un porcentaje igual o mayor al 8% de grasa vegetal igual.

Helados de agua: Es el producto obtenido por batido y congelamiento manual o mecánico de mezclas pasteurizadas que tengan en su composición agua potable, sustancias edulcorantes tales como azúcar, glucosa, dextrosa fructosa en forma líquida o sólida y edulcorantes artificiales, acidulantes, estabilizantes, colorantes y saborizantes naturales y/o artificiales, estos deben ser los permitidos por el Codex Alimentarius. Cuando su presentación sea empalillada su denominación es: "Paleta de..."

Nieves: Es el producto obtenido por batido y congelamiento manual o mecánico de mezclas pasteurizadas que tengan en su composición agua potable, sustancias edulcorantes tales como azúcar, glucosa, dextrosa fructosa en forma líquida o sólida y edulcorantes artificiales, acidulantes, estabilizantes, colorantes y saborizantes naturales y/o artificiales, estos deben ser los

permitidos por el Codex Alimentarius. Cuando su presentación sea empalillada su denominación es: "Paleta con fruta de..." (9).

Helado Sherbet: Es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogenizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales que tengan en su composición los ingredientes según se establece en la definición, con un porcentaje máximo de 1.5% de grasa butírica o vegetal y un porcentaje de sólidos no grasos a base de proteína láctea como sólidos de leche deshidrata no mayor de 3.5%.

Imitación de helado de leche o crema (Mellorine): Es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogeneizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales que tengan en su composición los ingredientes según se establece en la definición de mezclas para helados de leche o crema, a excepción de la grasa que es de origen vegetal y su porcentaje será de 4 al 10%.

Nótese que en la clasificación anterior no se encuentra referido el helado fabricado artesanalmente, sin embargo puede tomarse como referencia los requerimientos de la norma salvadoreña para su control (Norma Salvadoreña para Helados y Mezcla de helados NSO 67.01.11:95).

2.3 COMPONENTES DE LOS HELADOS Y SU IMPORTANCIA.

Las materias primas utilizadas en la fabricación de helados imparten en ellos características especiales, por esa razón son de mucha importancia en el proceso de producción de los helados, ya que a cada material le corresponde una función determinada.

2.3.1 Leche y productos lácteos.

La leche y los productos lácteos constituyen un grupo principal entre los componentes de los helados. La grasa de la leche es el más importante vehículo de aroma de los helados mantecados, por lo que influyen decisivamente en el sabor, asimismo participa en la constitución de la textura y en el helado batido forma un entramado estabilizador, facilitando el batido con el aire, da mayor viscosidad a la mezcla, una consistencia más suave y cremosa y la resistencia a la fusión es superior.

La **crema** tiene tradicional importancia en la elaboración del helado mantecado, pero conserva su interés en pastelería, mayormente para productos con altas especificaciones de calidad.

La **leche magra**, sobre todo en forma concentrada, es la materia prima más importante para aportar extracto seco lácteo desengrasado a los helados. En la industria se emplea preferentemente leche magra concentrada, con una tasa de extracto seco del 25-30%. Reducida a polvo, constituye un artículo valioso carente de cualquier efecto de sabor.

La **mantequilla** es una importante fuente de grasa láctea para helados. Tiene la ventaja de tener un precio relativamente atractivo, además que aguanta muy bien el almacenamiento, depositándose sometida a congelación profunda. Sólo sirve la mantequilla de sabor impecable; los defectos de aroma son muy perceptibles sensorialmente en el producto terminado.

2.3.2 Azúcares y productos azucarados.

Las materias primas descritas en este grupo se cuentan entre los componentes principales de los helados. Determinan el sabor “dulce”, influyen en el punto de congelación y por consiguiente en el comportamiento de los helados en lo que respecta a la fusión; de acuerdo a su clase ejercen su influencia sobre la consistencia y el batido.

La **sacarosa** es el componente más importante en la fabricación de helados. En la industria generalmente se utiliza el azúcar blanco como artículo ensacado. La sacarosa está contenida en aditivos encargados de prestar sabor a los helados, en el glaseado, con grasa de cacao, chocolate y granulados de azúcar.

Esta materia prima se utiliza en El Salvador, sin embargo en otros países suelen utilizarse también las siguientes: miel, jarabe de glucosa, d-dextrosa (glucosa azúcar de uva), azúcares-alcohol (sorbita).

2.3.3 Frutas y derivados.

Las frutas y sus productos prestan a los helados aroma y color; por añadidura, los ácidos de estos artículos desarrollan acción refrescante. Por lo tanto sirven mejor las frutas de aroma intenso, claramente perceptible inclusive a bajas temperaturas.

La fruta “clásica” de los helados es la **fresa**; como materia prima se pueden utilizar fresas objeto de congelación profunda, pues solo se dispone de ellas durante una época determinada del año. Sin embargo en nuestro país por tener un clima tropical y debido a que este tipo de fruta se oxida con bastante facilidad es usualmente procesada en estado fresco, aunque durante el presente estudio no se observó ningún comerciante que trabajara con esta fruta debido a su elevado costo, según dijeron, prefieren frutas más tropicales y accesibles en todas las épocas del año.

Los **pistachos** proporcionan helados de un intenso color verde. Se fragmentan en pedazos o se reducen a pasta ofreciendo al consumidor un marcado sabor a almendras.

De las **frutas tropicales** se utilizan en particular los cítricos como la naranja, el limón, piña, mango en las llamadas nieves (helados de agua); sin embargo a nivel artesanal suelen utilizarse una gran variedad dentro de las que se incluyen el arrayán, el coco, el tamarindo, marañón, mamey, piña, etc.

2.3.4 Otros aditivos sápidos:

Pueden distinguirse entre estos aditivos al cacao en polvo contenido en el helado de chocolate, pasta de revestimiento de los helados mantecados, laminillas de grasa de glaseados, mermeladas y jaleas y otros conocidos en la actualidad como “topping”.

Cabe también mencionar el alcohol y bebidas alcohólicas que dan un sabor y olor peculiar al helado, pero pueden influir grandemente en el punto de congelación, desnaturalización de proteínas, desestabilización de la emulsión, capacidad de batido y textura como es el caso del etanol que sólo puede estar contenido en pequeñas cantidades en helado mantecado. Para conseguir eficazmente un determinado sabor se recomienda las bebidas intensamente aromatizadas, como el ron, Grand marnier o Contreau.

2.3.5 Grasas y proteínas vegetales.

Son óptimas las grasas con punto de fusión comprendido entre 28 y 35°C. Se utilizan grasa de coco, de palma y mezclas de grasa de coco y cacahuete.

Las proteínas vegetales se han utilizado a nivel experimental, una de ellas es la proteína de soya, cuyo sabor es ligeramente amargo y herbáceo.

2.3.6 Los barquillos.

Se utilizan como añadido que acompaña al helado, ejercen una cierta función protectora del contenido. Tienen la desventaja de reblandecerse y hacerse pastosos cuando se almacenan por largo tiempo.

2.3.7 Agua y aire.

El helado debe su naturaleza al agua congelada. Por ello, ésta es el componente más peculiar. El agua es responsable del carácter refrescante del producto, es el medio disolvente de los ingredientes hidrosolubles (azúcares, proteínas, sales, ácidos, sustancias aromáticas) y determinan la consistencia del helado de acuerdo con cuál sea la porción congelada.

El agua se encuentra en el helado repartida en forma de cristales que además contiene agua líquida. El número y las dimensiones de los cristales de hielo determinan esencialmente la consistencia del helado.

El helado adquiere la consistencia cremosa-pastosa gracias al aire que contiene batido en su masa. El aire incrementa la viscosidad de la muestra. En la fusión y congelación de los helados demora la transmisión del calor. El aumento de volumen del helado debido a la inclusión del aire en el mismo mediante batido, referido al volumen de la mezcla que ha de constituir el helado, recibe el nombre de crecida.

La subida óptima de un producto depende de la composición de la mezcla principalmente de la tasa de grasa, así como de la clase y cantidad de estabilizador y emulsionante utilizados.

Es factor limitante una adecuada estabilidad del producto durante el almacenamiento. En ese tiempo el helado no puede retraerse (encogerse).

El aire debe estar finamente distribuido de manera que las burbujas no pueden advertirse a simple vista. Por ello, su diámetro debe ser inferior a 200 μm .

Para el batido se utiliza aire ambiental filtrado o bien aire filtrado a presión. Hay patentes basadas en utilizar nitrógeno por dióxido de carbono en lugar de aire, pero hasta el presente no han alcanzado importancia práctica estos gases.

2.3.8 Emulsionantes y estabilizadores.

Los emulsionantes son compuestos químicos con una parte de su molécula hidrófoba y otra hidrófila, que son capaces de repartirse en la superficie de la separación de dos fases y disminuyen la tensión superficial.

En la mezcla destinada a la fabricación del helado forman los emulsionantes un complejo con la grasa y la proteína, estabilizando así la emulsión. Al enfriar y

batir el helado en el congelador, se desestabiliza una parte de la grasa emulsionada y los glóbulos grasos se aglomeran para formar racimos. Este proceso resulta controlado por la clase y cantidad de emulsionante. Los emulsionantes influyen de esta manera sobre el entramado graso constituido y como consecuencia de ello, sobre la consistencia del helado. Como resultado de disminuir la tensión superficial, el aire puede distribuirse uniformemente en el helado, con lo que el batido se ve favorecido.

Tienen importancia práctica para los helados los mono- y diglicéridos de ácidos grasos comestibles y los polisorbatos, siendo los más utilizados para los helados los primeros.

Se admiten también para helados los mono- y diglicéridos de ácidos comestibles con ácido cítrico, que mejoran la capacidad de batido de la mezcla para helados.

Se prefieren los ésteres de los ácidos grasos con sacarosa para mejorar el batido de los sorbetes, pero pueden conferir a los helados de frutas un desagradable regusto amargo. A escala internacional además de los monoglicéridos corresponde importancia a los polisorbatos, que son emulsionantes de aceite en agua, desestabilizan la grasa en el congelador en la fabricación del helado más intensamente que los monoglicéridos y el producto adquiere consistencia más cremosa.

Los estabilizadores se utilizan con el mismo fin que los aglutinantes, espesantes e hidrocoloides, son compuestos macromoleculares que se inhiben intensamente en agua y forman soluciones coloidales. Con la excepción de la gelatina y el caseinato sódico, se trata de polisacáridos de origen vegetal.

Los estabilizadores aumentan la viscosidad de la mezcla del helado, de esta manera se retrasa la separación de la emulsión en una fase rica en grasa y otra parte pobre en ésta y favorecen así la estabilidad de la emulsión. Demoran el crecimiento de los cristales de hielo y lactosa, mejorando con ello la estabilidad de los helados en el almacenado. En agua forman espuma con aire, acentúa con ello la capacidad de batido de la mezcla y rebajan la tendencia a la fusión del helado, algunos estabilizadores dependen de su acción del pH, otros reaccionan con la proteína.

2.3.9 Sustancias colorantes, aromatizantes y acidificantes.

En primer lugar deben mencionarse algunos alimentos coloreados con los que se tiñen los helados y materias primas de éstos: β - caroteno, para los tonos color amarillo y naranja.

Los aromatizantes naturales más importantes para helados son los aceites etéreos de los frutos cítricos. Para reforzar el aroma de los helados de fruta se utilizan esencias naturales de frambuesa, cereza, manzana o avellana. El costoso extracto de vainilla suele sustituirse por vainillina o esencias artificiales de vainilla. La vainilla es el más importante aromatizante idéntico a lo natural para las variedades de helados portadoras de leche.

3.0 FUNDAMENTO TEORICO DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

La fabricación y el almacenado de alimentos llevan siempre consigo riesgos higiénicos que pasa a afectar a círculos de consumidores mayores. Debido a los riesgos que son propios de la fabricación de helados. En primer lugar, los diversos alimentos utilizados en la elaboración de los helados pueden estar contaminados por microorganismos de toda clase. Particularmente los alimentos ricos en proteínas, como los huevos y la leche, ofrecen a los microorganismos con altas exigencias, entre los que se encuentran la mayoría de las bacterias patógenas, la oportunidad para que se multipliquen rápidamente. También los alimentos pobres en principios nutritivos, como es por ejemplo el agua, pueden verse muy contaminados por gérmenes. Las influencias microbianas procedentes de los alimentos utilizados en la fabricación del helado reciben el nombre de **riesgos higiénicos primarios**. A éstas se añaden las influencias que actúan perjudicialmente sobre la tasa de gérmenes de un alimento en diversos estados de su elaboración, llamados **riesgos higiénicos secundarios**.

3.1 GRUPOS IMPORTANTES DE MICROORGANISMOS

3.1.1 Microorganismos Patógenos: que pueden transmitirse utilizando los alimentos como vehículo y provocan una infección, o generar toxinas y otras sustancias perjudiciales, con lo que provocan daños en la salud.

3.1.2 Microorganismos Responsables de la Descomposición: que por desdoblamiento enzimático y mediante productos metabólicos pueden alterar prematuramente un alimento durante la fabricación y almacenado del mismo; los gérmenes participantes en estos procesos no se consideran patógenos.

3.1.3 Microorganismos Indicadores: a estos vienen a sumarse diversas especies de microorganismos y grupos de gérmenes que, como **organismos indicadores**, permiten sacar conclusiones si un alimento fue elaborado y manipulado en condiciones higiénicas; además indican con bastante aproximación si se cuenta con la presencia de determinados gérmenes patógenos en el alimento.

Dentro de los microorganismos indicadores se encuentran ampliamente difundidas las enterobacteriáceas llamadas **coliformes** (1).

3.2 Coliformes Totales.

La denominación genérica **coliformes** designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común que es la de formar gas a partir de la lactosa, e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos

Coliforme no es una clasificación taxonómica sino una definición de trabajo usadas para describir un grupo de bacterias gram-negativas, anaerobias facultativas en forma de barra que fermenta la lactosa para producir ácido láctico y gas en 48 h a 35°C.

3.2.1 Hábitat del grupo coliforme

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales.

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre.

En 1914, el Servicio Médico Público de los E.E.U.U. adoptó la enumeración de coliformes como un estándar más conveniente para la sanidad.

Aunque los coliformes eran fáciles de detectar, su asociación con la contaminación fecal era cuestionable porque algunos coliformes se encuentran naturalmente en muestras ambientales. Esto condujo a la introducción de los coliformes fecales como indicador de la contaminación. Coliforme fecal, su primera definición basada en los trabajos de Eijkman, es un subconjunto de coliformes totales que produce y fermenta la lactosa en incubación a temperatura elevada, por lo tanto se les llama coliformes termotolerantes. Los análisis de coliformes fecales se hacen a 45.5°C para el pruebas en alimento, excepto en agua; los análisis de agua de los crustáceos y de la cosecha de los crustáceos, se hacen a 44.5°C. El grupo de coliformes fecales consiste mayormente de *Escherichia coli* pero otros microorganismos entéricos como *Klebsiella spp* también pueden fermentar la lactosa en estas temperaturas y por lo tanto, se considera también como coliformes fecales. La inclusión de *Klebsiella spp* en la definición de trabajo de coliformes fecales disminuyeron la correlación de este grupo con la contaminación fecal. Consecuentemente, *Escherichia coli* ha reaparecido como indicador, facilitado en parte por la introducción de más nuevos métodos que pueden identificar rápidamente *E. coli* (FDA, 1998). Actualmente, se utilizan los 3 grupos como indicadores aunque en diversos usos.

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

COLIFORMES TOTALES	COLIFORMES FECALES
Escherichia coli	Escherichia coli
Klebsiella spp	
Enterobacter spp	
Citrobacter spp	

Tabla No 1: Géneros de coliformes

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

Esta determinación es usada como un indicador de prácticas higiénicas inadecuadas. El uso de los coliformes como indicador sanitario puede aplicarse para:

La detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y fabricación del producto.

La evaluación de la calidad microbiológica del producto en que su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario.

Evaluación de la eficiencia de prácticas sanitarias o higiénicas del equipo.

La calidad sanitaria del agua utilizada en las diferentes áreas del procesamiento del producto.

En el control higiénico tanto de los helados como de los productos lácteos, desempeña un importante papel desde hace largo tiempo el número de colonias aeróbicas mesófilas (antiguamente llamado “número total de gérmenes” o “recuento total de bacterias”). La magnitud del número de gérmenes no permite sacar conclusiones sobre una posible presencia de gérmenes patógenos.

Se cuentan con muchos otros datos que han comprobado que el entre el número de gérmenes y el contenido de *Escherichia coli* y coliformes por una parte y el contagio por *Salmonella spp*, *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus*, no se reconocen relaciones. Por ello ninguno de los tres indicadores puede garantizar el perfecto estado higiénico de un alimento. Por no encontrar relación entre dichos microorganismos, muchos autores consideran que basta con un único indicador, estimando al número de

gérmenes como especialmente eficaz para calificar la calidad microbiológica de los alimentos así como su estado higiénico, si bien el número de gérmenes debe interpretarse cautelosamente.

Existen también pruebas de la filtración de membrana para el coliformes y el coliformes fecales que mide la formación de aldehído debido a la fermentación de la lactosa.

Esta investigación se trabajó el método del medio sólido para la detección de n coliformes que utiliza el agar bilis rojo violeta, que contiene el indicador neutral del rojo pH, de modo que la fermentación de la lactosa dé lugar a la formación de colonias rosadas.

3.2.2 Técnica del medio sólido con Agar Bilis Rojo Violeta.

Es un medio utilizado para la detección y recuento de organismos coliformes en agua, leche y otros materiales de importancia sanitaria.

El Agar Bilis y Rojo Violeta es utilizado como uno de los procedimientos para llevar a cabo la detección, enumeración e identificación presuntiva de microorganismos coliformes. En este medio las colonias de coliformes presentan una morfología típica que permite su identificación presuntiva y que debe ser confirmada mediante reacciones bioquímicas.

Procedimiento:

1. Seguir las recomendaciones apropiadas para la toma y procesamiento de las muestras.
2. Colocar una alícuota de 1.0 ml de la muestra en una placa de Petri estéril.
3. Adicionar 10 ml del medio VRBA a una temperatura de 45-50°C y mezclar suavemente.
4. Dejar solidificar el medio e incubar a 35-37°C por 18 a 24 horas.
5. Examinar las colonias de color rojo a púrpura, de 0.5 mm de diámetro rodeadas por un halo con precipitado.

3.3 Escherichia coli

Originalmente conocido como la Bacteria coli común, fue identificada en 1885 por el pediatra alemán, Theodor Escherich. Von Escherich la bautizó como *bacterium coli* ("bacteria del intestino", del griego κολον, *kolon*, "intestino"). Con posterioridad, la microbiología sistemática nombraría el género *Escherichia* en honor a su descubridor. *E. coli* es un miembro de la familia de las enterobacteriáceas.

3.3.1 Hábitat de Escherichia coli:

Está distribuida extensamente en el intestino del humano y animales de sangre caliente. Es el anaerobio facultativo predominante en el intestino y es parte esencial de la flora intestinal normal del hospedero. Puede ser patógeno oportunista y causa infecciones en individuos inmunocomprometidos (7).

En 1892, Shardingner propuso el uso de *Escherichia coli* como indicador de la contaminación fecal. Esto fue basada en la premisa que *Escherichia coli* es abundante en heces humanas y animales y no es encontrada generalmente en otros lugares. El hallazgo comprobado de *Escherichia coli* señala la posibilidad de que estén presentes gérmenes intestinales patógenos, como las *Salmonellas* en el agua de bebida. En cambio no cabe establecer esta relación en alimentos. En estos puede la presencia de *Escherichia coli* informar sobre la falta de higiene en la fabricación, calentamiento insuficiente o almacenado en condiciones deficientes, pero no sobre la presencia simultánea de gérmenes intestinales patógenos.

Además, puesto que *Escherichia coli* se podría detectar fácilmente por su capacidad de fermentar la glucosa (cambia más adelante a lactosa), era más fácil aislar que otros patógenos gastrointestinales conocidos.

Casi todos los métodos usados para detectar *Escherichia coli*, coliformes totales o coliformes fecales son los métodos de enumeración que se basan en la fermentación de la lactosa. El método del Medio Sólido permite el crecimiento de bacterias coliformes y de *E. coli*, basado en el uso de sustratos específicos y la fermentación de la lactosa presente en el medio; y para la confirmación se utiliza el caldo EC o Agar EMB (7).

3.3.2 Prueba confirmativa con Eosina Azul de Metileno (EMB):

1. Siembra en estría en placas de EMB (medio selectivo y diferencial para coliformes) a partir de tubos o placas gas positivo.
2. Incubar a 37°C durante 24 h.

Resultados:

En este medio los microorganismos fermentadores de lactosa forman colonias características opacas y pigmentadas en rosa, azul o violeta con o sin brillo metálico (por ejemplo, *E. coli* forma colonias de color verde-violeta oscuro metálico características sobre este medio). La prueba es positiva si aparecen este tipo de colonias fermentadoras de lactosa.

3.4 Salmonella

Salmonella spp pertenece a la Familia Enterobacteriaceae. Es un bacilo gram (-) aerobio y anaerobio facultativo, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa y a partir de ella produce ácido por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa. Es un agente zoonótico de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar, también por vía sexual.

3.4.1 Hábitat de *Salmonella*

Para la bacteriología clínica, *Salmonella* spp es un bacilo patógeno primario (como *Shigella* spp, *Yersinia* spp y ciertas cepas de *Escherichia coli*), anaerobio facultativo, algunos móviles y no fermentan la lactosa. *Salmonella typhi* es la única serovariedad que no produce gas en la fermentación de los azúcares.

Clásicamente se distinguían tres únicas especies patógenas primarias: *Salmonella typhi*, *cholerae-suis* y *enteritidis*. A su vez, según la serotipificación de Kauffman y White, eran clasificadas en más de 2000 serotipos en base a los

antígenos flagelares H (proteicos) y antígenos somáticos O (fracción polisacárida del lipopolisacárido bacilar). *Salmonella typhi* posee además un antígeno de virulencia (Vi).

El tratamiento taxonómico actual de *Salmonella* ha simplificado el espectro, reagrupando todas las cepas (patógenas o no) en dos únicas especies: *Salmonella enterica* y *bongori*. Ésta última (previamente subespecie V) no es patógena para el ser humano.

La especie *Salmonella enterica* tiene seis subespecies (a veces presentadas como subgrupos bajo numeración romana):

I enterica

II salamae

IIIa arizonae

IIIb diarizonae

IV houtenae

V *S. bongori*, ya incluida en una especie distinta

VI indica

3.4.2 Epidemiología

La *Salmonella* recibe su nombre por un patólogo veterinario norteamericano, aunque fue su colega y contemporáneo Theobald Smith (conocido por su trabajo con anafilaxis) quien descubrió la bacteria por primera vez en 1885, aislándola de cerdos con cólera. La salmonela entérica causada por *Salmonella typhimurium*, con más de 2.000 cepas descritas, es de importancia en países en desarrollo, donde su incidencia está en aumento, y en algunos países, la enfermedad es endémica.

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

En el caso de la Salmonella, es necesaria una inoculación relativamente grande, entre 10 a 100 millones de organismos, para provocar los síntomas en humanos saludables, según estudios hechos con voluntarios, al ser estas bacterias muy poco resistentes a los medios ácidos. Sin embargo, un pH estomacal artificialmente elevado, poco ácido, reduce enormemente el número de organismos necesario para provocar síntomas (de 10 a 100 órdenes de magnitud).

La fiebre paratifoidea tiene ciertas similitudes con la fiebre tifoidea, pero tiene un curso más benigno. Las infecciones por *S. paratyphi* A son comunes en África, la paratifoidea B es más frecuente en Europa que se presenta como una gastroenteritis severa y la paratifoidea C es una infección rara, generalmente vista en el Extremo Oriente que se presenta como una septicemia. La salmonella habita normalmente en la superficie de los huevos, la piel de tomates y de aquellos frutos y verduras que tienen contacto con la tierra.

Los miembros del grupo Salmonella son gérmenes patógenos causantes de síntomas clínicos en humanos y en animales. No todos los serotipos son igualmente patógenos para humanos y animales por lo que desde el punto de vista de salud pública es importante su identificación final. El período de incubación de la enfermedad es de 6 hasta 48 hrs dependiendo de la dosis infectante, la que puede ser desde 15 a 20 UFC para algunos serotipos. Una de las fuentes principales son los alimentos contaminados con éste microorganismo especialmente los alimentos de origen animal y vegetal regados con aguas contaminadas.

3.4.3 Patogenia

Las salmonellas son bacterias invasoras y enterotoxigénicas. La infección se localiza principalmente en el íleo terminal y en el intestino grueso. Las salmonellas tíficas y paratíficas normalmente invaden la circulación, mientras que las otras están limitadas a la mucosa intestinal. Algunas como la *S.dublin* y *S.panamá* invaden la circulación. El mecanismo de producción de la diarrea, está relacionado más directamente con el de las diarreas de tipo secretorio, en el que la respuesta inflamatoria debida a la penetración de la salmonella

produce liberación de prostaglandinas, que a su vez estimulan la producción de AMP cíclico y como consecuencia, secreción activa de líquidos. El papel de las enterotoxinas es aún discutible.

La puerta de entrada es la vía digestiva. El bacilo debe sobrepasar la barrera defensiva representada por la acidez gástrica. Son más susceptibles los individuos con aclorhidria y aquellos que ingieren antiácidos. El agente que consigue sobrevivir las primeras 24 a 72 horas en el intestino, penetra el epitelio donde se multiplica y produce alteraciones histopatológicas. En el caso de la fiebre tifoidea los bacilos buscan un hábitat intracelular, lo que corresponde a la llamada fase mesentérica en la cual los gérmenes penetran a los ganglios y continúan multiplicándose para posteriormente pasar a la circulación sanguínea y a las placas de Peyer, órganos linfoides del intestino.

3.4.4 Virulencia

Salmonella al igual que otras bacteria gram negativas usan un sistema secretor especializado (denominado tipo III) para inyectar dentro de células eucariotas ciertas proteínas efectoras que manipulan las vías de señalización celular y de la bacteria. Se ha observado la entrega de la proteína *SipA* a células que debilitan la maquinaria intracelular del huésped y promueven la virulencia en mamíferos en aproximadamente 10 minutos, dejando la bacteria virtualmente desprovista de *SipA*, efectivamente estableciendo un nicho para la multiplicación intracelular de la bacteria.

Los alimentos se analizan para buscar Salmonella por las siguientes razones:

- +Confirmar que este microorganismo fue el agente causal de la intoxicación alimentaria y
- +Determinar qué alimentos o ingredientes de alimentos son fuente de contaminación de Salmonella.

Los métodos para su detección en alimentos están basados fundamentalmente en que generalmente su presencia está en un menor número que el de la flora acompañante que es muy diversa.

En el laboratorio, los métodos convencionales para su recuperación consideran todos estos factores permitiendo recuperar Salmonella mediante procesos de:

Enriquecimiento:

Transferir 1ml del cultivo original a un tubo con 10 ml de caldo Rapaport Vassiliadis.

De igual forma se transfiere 1ml del cultivo anterior a un tubo con 10 ml de caldo Tetrionato.

Medio de cultivo utilizado para el enriquecimiento selectivo de Salmonella spp. a partir de heces, orina, alimentos y otros materiales de importancia sanitaria. El medio de cultivo contiene peptona que provee los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, y carbonato de sodio que neutraliza y absorbe metabolitos tóxicos.

La selectividad está dada por la presencia de tiosulfato de sodio, tetrionato (generado en el medio por el agregado de la solución iodo-iodurada) y sales biliares, los cuales permiten el desarrollo de bacterias que contienen la enzima tetrionato reductasa, como ser la Salmonella spp. e inhiben el desarrollo de la flora acompañante.

Aislamiento:

Sembrar por estría simple, a partir de los caldos rappaport y tetrionato, dos placas de agar XLD Y SS. Incubar 24 h a 37 ° C.

Agar XLD: Medio específico para Salmonella y Shigella. La degradación de Xilosa, lactosa y sacarosa a ácido causa que el rojo fenol vire a amarillo. La producción del H₂S se evidencia por el precipitado negro de las colonias.

Agar Salmonella-Shigella:

Es un medio de cultivo selectivo y diferencial. La selectividad, está dada por la sales biliares y el verde brillante, que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas, de la mayoría de los coliformes y el desarrollo invasor del desarrollo

Invasor del *Proteus* spp.

La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro.

3.5 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus es una bacteria esférica (cocos) la cual aparece en pares en el examen microscópico, en cadenas cortas, o como racimo de uvas. Estos organismos son gram-positivos. Algunas especies de estafilococos son capaces de producir una toxina proteica altamente termoestable que causa enfermedad en humanos. Es capaz de producir un cuadro de intoxicación alimentaria, sin embargo su presencia en el alimento también puede servir como indicador de contaminación de los alimentos por los manipuladores (boca, nariz, heridas) o de equipos y utensilios mal lavados.

Su ingesta provoca síntomas en un plazo de 2 – 4 horas, entre los que se encuentran: náuseas, vómitos, contracciones abdominales (normalmente bastante fuertes), diarrea, sudoración, cefalea, postración y algunas veces descenso de la temperatura corporal. En general. Los síntomas duran de 24 a 48 horas y la mortalidad es muy baja o nula.

Intoxicación por alimento con estafilocos (estafiloenterotoxicosis; estafiloenterotoxemia) es el nombre de la condición causada por las enterotoxinas las cuales son producidas por algunas especies de *Staphylococcus aureus*. Los alimentos que con frecuencia están involucrados con la estafiloenterotoxicosis incluyen: carne y productos cárnicos; huevos y subproductos; ensaladas que incluyen huevos, atún, pollo, papa, y macarrones; productos de panadería como pasteles, rellenos de crema, y volteados de chocolate; sándwich rellenos; leche y productos lácteos. Los alimentos que requieren manejo cuidadoso durante su preparación y que se mantienen a temperaturas levemente elevadas después de su preparación, están frecuentemente involucrados con estafiloenterotoxicosis (7).

Su evaluación se justifica por:

- Confirmar la presencia de este microorganismo como agente causal de una enfermedad de origen alimentario.
- Determinar si un producto es fuente potencial de este microorganismo enterotoxigénico.
- Demostrar la contaminación post-proceso la cual es usualmente debida a contacto humano o con superficies inadecuadamente sanitizadas.
- Para detectar la cantidad de trazas de enterotoxinas estafilocócicas en alimentos sospechosos en intoxicación por alimentos, la toxina debe ser separada de los otros componentes del alimento y utilizando la técnica de siembra en placas de agar Baird Parker para la etapa presuntiva y realizando la Prueba de Coagulasa para la etapa confirmativa (7).

3.5.1 Técnica en Agar Baird Parker

Este medio contiene piruvato y glicina que estimulan el crecimiento selectivo de estafilococos, y además cloruro de litio y telurito para inhibir el crecimiento de flora microbiana acompañante.

Procedimiento

- Se diluye la muestra y se propaga una capa delgada en la superficie de la placa.
Se incuba durante 24-48 horas a 35 ° C aeróbicamente.
- Las colonias de estafilococo demuestran dos particulares características al crecer en este medio opaco (opacas, por su contenido de yema de huevo):

A) las zonas características y los anillos se forman como resultado de lipólisis y proteólisis,

B) la reducción de telurito para telurio produce una coloración negra.

La reacción de yema de huevo y la reducción de telurito son usualmente encontradas al aparecer conjuntamente con una reacción positiva de coagulasa y así sirven como índice.

4. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

Las personas consumidoras de sorbete artesanal, compran este producto sin darle importancia a su procedencia o condiciones higiénicas de elaboración. Lo mismo sucede con los artesanos sorbeteros, que lo elaboran sin prestar atención e importancia a medidas sanitarias para la producción de alimentos.

Al transitar por las calles en diferentes zonas de San Salvador, pueden observarse los carretones ambulantes. Como se sabe, en el ambiente pueden encontrarse diferentes contaminantes: polvo, tierra, humo, microorganismos procedentes del entorno. Posiblemente estos contaminantes son absorbidos por dicho alimento y también por el vendedor quien a su vez lo manipula.

El riesgo de la venta ambulante es muy grande en términos de volumen de venta y cantidad de consumidores.

En referencia a la eliminación de aguas servidas, muchos de los puestos carecen de esta facilidad. Es más, muchos hasta carecen de acceso a agua o en algunos el agua no es potable. La movilidad y su carácter itinerante complican la situación sanitaria de los puestos ambulantes. Otra situación que puede agravar la contaminación es la referente a las temperaturas en las que son conservados los sorbetes. Si bien en muchos de vendedores cuentan con facilidades para conservar la temperatura, gran parte de los que los venden desconocen las temperaturas adecuadas a las que deben estar estos productos para resultar inocuos. Los peligros de la manipulación incorrecta de alimentos pueden ocasionar muchas y graves complicaciones para la salud humana.

La contaminación en la mayoría de los casos no cambia el aspecto ni otras características del alimento, por lo que la alteración no puede reconocerse a simple vista. Los microorganismos que contaminan un alimento se transmiten:

-Directamente: al hablar, toser o estornudar sobre los alimentos eliminamos gotas de saliva y secreciones cargadas de gérmenes que pueden caer en los alimentos expuestos.

-A través del aire que permite que los gérmenes sobrevivan por un tiempo variable.

A través de las manos y de las uñas, los gérmenes pueden contaminar los alimentos. Después del uso de los sanitarios, las manos contienen muchos microbios, por eso es especialmente importante el lavado de manos.

-A través del agua contaminada utilizada para cocinar o para lavar los utensilios que entran en contacto con ellos.

-A través de recipientes y utensilios mal higienizados.

Todo esto sin contar con la posible contaminación inicial de este producto desde su fabricación provocada por el mal manejo de materias primas, higiene personal, del lugar de elaboración y finalmente de la hora de recibir el pago por la venta del sorbete que incluye la manipulación de dinero y posterior manipulación del sorbete.

Además de ser elaborados con jarabes que pueden contener colorantes no autorizados, comúnmente se preparan con hielo contaminado y suelen ser manipulados y almacenados de forma inadecuada durante el proceso de transporte y venta.

5. JUSTIFICACIÓN

Los agentes etiológicos que originan las enfermedades transmisibles por alimentos y los alimentos involucrados en las mismas son muy diversos. El helado elaborado con leche es considerado uno de los derivados lácteos de mayor consumo, pero al mismo tiempo puede actuar como medio para la proliferación de microorganismos, incluyendo agentes patógenos cuando se expone a condiciones higiénicas inadecuadas tanto en la materia prima como en su elaboración. Para evaluar la inocuidad de los sorbetes artesanales, se han considerado los microorganismos que con frecuencia son agentes etiológicos de enfermedades gastrointestinales tanto en seres humanos sanos como inmunocomprometidos, tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*, pues a falta de pasteurización, los productores de helados artesanales, no aplican normas de calidad del producto, siendo los de este rubro los de más considerable riesgo, pues los elaboradores carecen de los mínimos conocimientos de medidas de higiene en procesos de fabricación. Se añade a esto la falta de vigilancia por parte de las autoridades competentes quienes no fomentan la aplicación de normas básicas de higiene, ni monitorean los procesos de fabricación, almacenamiento y comercialización de estos productos.

Hay reportes de personas que presentan patologías que se han debido al consumo de estos productos de comercialización ambulante, lo cual significa un costo en concepto de gastos médicos tanto para el consumidor, para el fabricante, así también para el gobierno.

A pesar de que este producto tiene alta demanda en todos los estratos poblacionales por ser de bajo costo, es mayor la tasa de consumo en la población infantil, quienes a su vez tienden a ser más susceptibles.

El objetivo de la manipulación higiénica de alimentos es la aplicación de normas básicas de seguridad e higiene para la preparación de sorbetes. Por una parte el consumidor debe quedar protegido de los trastornos de salud que pudieran sobrevenirle por ingerir alimentos contaminados, por otra parte, los alimentos deben conservarse adecuadamente.

El presente trabajo está dirigido a conocer la calidad higiénico sanitarias de los sorbetes artesanales a través de la determinación cuantitativa y cualitativa de bacterias aeróbicas y coliformes totales; así como la determinación cualitativa de bacterias patógenas como: *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*, siendo dicha investigación de gran importancia social, pues es necesario tomar en consideración que la ingestión de alimentos no inocuos puede generar brotes de enfermedades que afectan a la población tanto en su salud, como en su economía.

Al finalizar el estudio, los resultados obtenidos se darán a conocer al CONACYT con el objetivo de comunicarles el diagnóstico realizado en esta investigación.

6. HIPÓTESIS CIENTÍFICA DE LA INVESTIGACIÓN.

Los sorbetes artesanales que se expenden en las zonas de Soyapango, Mejicanos y Centro de la Ciudad de San Salvador presentan contaminación de bacterias aeróbicas, Coliformes, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* que sobrepasan los rangos permitidos por la NSO 67.01.11:95 Helados y mezcla de helados.

7. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

7.1 Objetivo General:

Estudiar la inocuidad de los sorbetes artesanales que se comercializan en las zonas de Soyapango, Mejicanos, y centro de la ciudad de San Salvador, con el propósito de establecer si estos cumplen con la norma establecida NSO 67.01.11.95 Helados y mezcla de helados, para garantizar de esta manera la salud de los consumidores.

7.2 Objetivos específicos:

- a) Determinar la presencia o ausencia de las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* en las muestras de sorbetes artesanales para garantizar la inocuidad de estos productos.
- b) Realizar el recuento de bacterias aeróbicas y coliformes totales presentes en las muestras de sorbetes artesanales.
- c) Comparar los resultados obtenidos en el análisis de las muestras con la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados (NSO 67.01.11:95) y establecer si éstas cumplen o no con dicha norma.
- d) Elaborar un manual de Manipulación Higiénica de Alimentos para la industria artesanal de sorbetes, con el fin de describir y sugerir a los fabricantes y vendedores la aplicación de estas prácticas.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Materiales y equipos de fase de campo.

- Hielera
- Bolsas resellables Ziploc
- Bolsas de Cryopak (pingüinos)
- Termómetro
- Guantes

8.2 Materiales y equipos de la fase de laboratorio

- Estufa
- Autoclave
- Balanzas
- Baño maría
- Incubadora a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Hot plate
- Campana de flujo laminar
- Esterilizador de asas
- Pipeteadores
- Pipetas estériles graduadas de 1.0, 5.0 y 10.0 ml.
- Placas Petri estériles de 100 mm de diámetro
- Asa de 3 mm de diámetro
- Espátulas estériles
- Erlenmeyer estériles de 250, 500, 1000 y 2000 ml
- Agitadores magnéticos
- Frascos de dilución de 100 ml

8.3 Medios de cultivo y reactivos

- Agua peptonada 0,1%
- Agar Bilis Violeta Rojo VRBA
- Agar Plate Count
- Agar Baird Parker
- Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)
- Caldo Tetracionato
- Caldo Rapaport
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)
- Agar Salmonella-Shigella (SS)
- Agar Plasma de conejo,
- Caldo Brain-heart Infusion (BHI).

8.4 Descripción del estudio.

Para realizar la recopilación de información sobre la inocuidad de los sorbetes artesanales comercializados en las zonas de recolección de Mejicanos, Soyapango y centro de San Salvador, tomando en cuenta los microorganismos de mayor prevalencia en diversas regiones del mundo y los que han emergido o re-emergido como patógenos importantes en los últimos años: *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* se realizó un muestreo, en el que se siguieron los siguientes pasos:

La investigación se llevó a cabo tomando 30 muestras de sorbete: 10 muestras correspondientes a los sorbetes de la zona de Soyapango; 10 muestras de Mejicanos y 10 de la zona del centro de San Salvador, este procedimiento se realizó en dos diferentes ocasiones, recolectando un total de 60 muestras para el estudio.

Las dificultades encontradas al recolectar los datos fueron: relacionar al investigador de este estudio como miembro de la industria sorbetera a gran escala (lo cual según los productores artesanales, han querido sacarlos del mercado en numerosas ocasiones, plagiándoles sus recetas y conocimientos), agentes del Ministerio de Salud o la alcaldía, por lo que fue necesario explicarles detenidamente el objetivo de esta fuente de información y así poder obtener las muestras necesarias e información confiable.

8.5 Metodología estadística.

Este estudio es de tipo transversal y No experimental.

Transversal porque la investigación se desarrolló en un tiempo determinado y permitió estudiar el problema de la inocuidad en este tipo de alimento en ese momento.

No Experimental, ya que las normas ya están establecidas, solamente se hará análisis y comparación.

Además se aplicó el diseño estadístico de Chi Cuadrado para evaluar los resultados obtenidos de cada uno de los microorganismos incluidos en el estudio para determinar su nivel de contaminación.

Universo: sorbetes producidos artesanalmente y que se comercializan en el área metropolitana de San Salvador, Mejicanos y Soyapango. La población a estudiar fue toda aquella que realiza la elaboración de sorbete de manera artesanal, reconociéndose así todas aquellas personas que utilizan para su fabricación utensilios rústicos de uso manual, lugar de elaboración casas particulares, calles o aceras y lo comercializan de forma ambulante mediante un carretón de madera.

8.6 Muestreo.

El muestreo a realizar fue estratificado y dirigido.

Estratificado, ya que se seleccionaron tres municipios diferentes del departamento de San Salvador. Dirigido, debido a que se seleccionaron específicamente las zonas de Soyapango (Anexo 1), Mejicanos (Anexo 2) y la zona del centro de San Salvador (Anexo 3), ya que presentan los índices demográficos más elevados del departamento de San Salvador, según la Dirección General de Estadísticas y Censos (4).

Cada una de las zonas de estudio forma un lote, con una cantidad de muestras que sea representativa. Siendo las zonas: Soyapango, Mejicanos y el centro de la ciudad de San Salvador, por cada una de las tres zonas se identificó a 10 sorbeteros, es decir, que se contó con treinta sorbeteros para la obtención de las muestras. A cada uno de ellos se le tomó una muestra de su producto, este procedimiento se hizo en dos ocasiones diferentes: el primer muestreo se hizo

la primera semana de septiembre y el segundo muestreo se realizó (de los mismos sorbeteros) la tercer semana del mismo mes del presente año; el muestreo se hizo de manera multitemporal con el fin de verificar que los datos obtenidos tengan credibilidad, recolectando para el estudio un total de 60 muestras. Dichas muestras se almacenaron en recipientes que se pueden cerrar herméticamente, se transportaron hacia el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador en hieleras para evitar cualquier cambio de temperatura que alterara la muestra y se almacenaron en recipientes separados para así impedir la contaminación cruzada; en general, se manipularon de acuerdo a las normas establecidas con respecto al manejo de muestras que establece el CONACYT.

Se anexa al final de este documento la hoja de toma de datos.

8.7 Metodología de laboratorio.

Las determinaciones microbiológicas que son especificadas en la Norma Salvadoreña para Helados y Mezcla de helados (NSO 67.01.11:95) son las siguientes:

1. Recuento de bacterias aeróbicas.
2. Recuento de coliformes totales.
3. Detección de *Escherichia coli*.
4. Detección de *Staphylococcus aureus*.
5. Detección de *Salmonella spp.*

En este estudio se realizaron las cinco determinaciones citadas en cada muestra.

8.7.1 Preparación de las muestras.

Ya tomadas las muestras, identificadas, almacenadas de manera estéril, se transportaron rápidamente al laboratorio. Dicho procedimiento de preparación es uniforme para todos los análisis que se desarrollaron.

Se mantuvo cada una de las muestras, chequeando su temperatura de 0-4° C hasta llegar al laboratorio, con el cuidado de no descongelarlas sino hasta el momento de su análisis.

1. De cada muestra se tomó una porción de 25 g
2. Se mezcló con 225 ml de diluyente en una relación de 1:9 (7).
3. Usando pipetas estériles por separado para medir, se preparan diluciones decimales de 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ (y otras diluciones como sea apropiado),
4. Del alimento ya homogenizado se transfiere 10 ml de dilución anterior a 90 ml de diluyente (todo esto sin formar espuma en el muestreo).
5. Se agitan todas las diluciones 25 veces en forma de arco de 30 centímetros (1 pie) en 7 segundos.

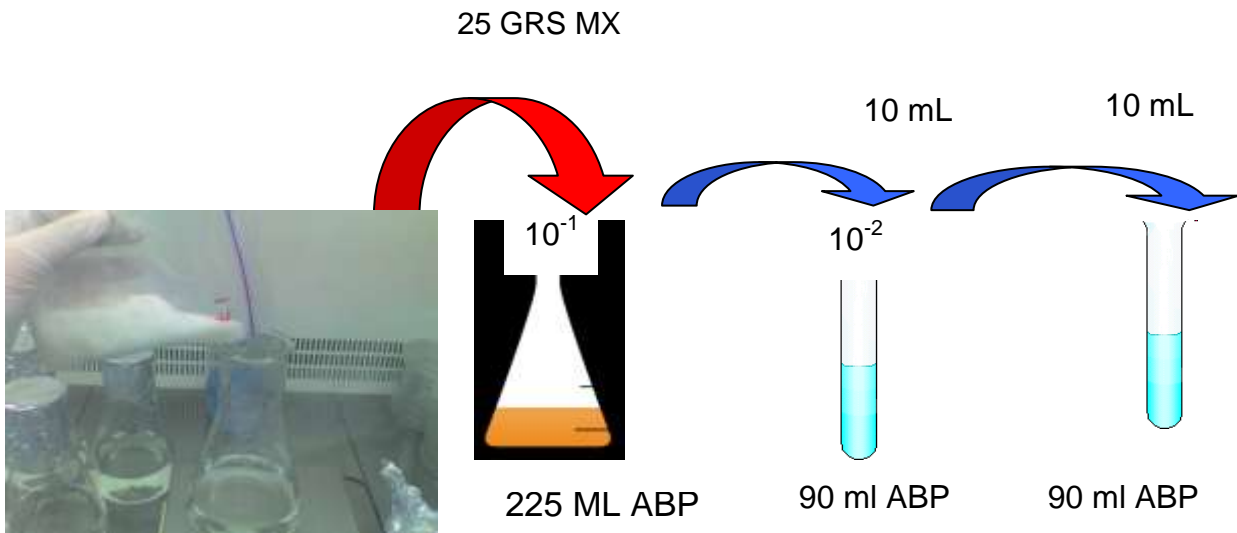


Figura No 1: Preparación de muestras y sus diluciones.

8.7.2 Recuento Aeróbico en Placa.

1. De cada una de la diluciones preparadas (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) se mide con una pipeta de 1.0 ml y se coloca en una caja petri estéril (y en su duplicado) rotulados apropiadamente



Fig No 2: Técnica de vertido en placa.

2. Se agrega 15 ml de agar Plate Count (fundido y mantenido a $45 \pm 1^\circ\text{C}$) a cada placa en el plazo de 15 minutos.



Fig No 3: Vertido en placa de agar Plate Count.

3. Se deja solidificar el agar. Se invierten los platos de petri solidificados, e incuban puntualmente por 48 h a 35°C .



Fig No 4: Placas de Plate Count en incubación a 35°C .

4. Efectuar el recuento en las placas que tienen entre 30-300 colonias. Expresar el resultado como UFC/g (7).



Fig No 5: A. Contador de colonias, B. Crecimiento bacteriano en placa de Plate Count

8.7.3 Recuento de Coliformes totales.

Método del medio sólido.

Desarrollo.

1. Se prepara el Agar Bilis Violeta Rojo de acuerdo a las instrucciones del fabricante.



Fig. No 6: Agar Bilis Violeta Rojo a punto de ebullición.

2. Se enfría a 48° C antes de su uso.
3. Se debe preparar, homogenizar y diluir las muestras en diluciones decimales



Fig. No 7: Preparación de muestras en diluciones decimales bajo la campana de flujo laminar.

4. Se transfiere dos alícuotas de 1 ml de cada dilución en cajas petri estériles y se realiza el método de Vertido en placa dependiendo de si hay células sospechosas presentes.

5. Luego se cubre con una capa de 8 a 10 ml de VRBA, se enfría y se deja que solidifique.



Fig. No 8: Placas con VRBA en proceso en enfriamiento y solidificación.

6. Se invierten las placas con el sólido y se incuba de 18 a 24 h a 35° C.
7. Se examinan las placas con luz y lente magnificador.

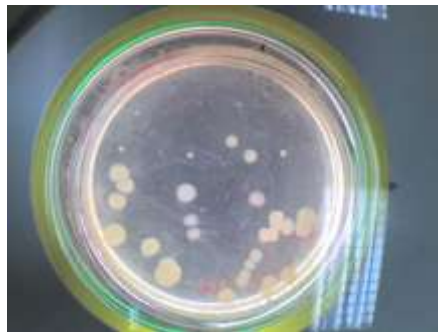


Fig. No 9: Placa de VRBA con crecimiento de coliformes vista a través del contador de colonias.

8. Se cuentan las colonias morado-rojas que tienen 0.5 mm de largo o diámetro y rodeadas por zonas de precipitado bilis de ácido. Las placas deberán tener de 25 a 250 colonias.



Fig. No 10: Placa de VRBA con crecimiento de coliformes a simple vista.

8.7.4 Test confirmativo para *E. coli*

1. Seleccionar por lo menos 10 colonias sospechosas e inocular en caldo EMB contenido en placas petri pequeñas.

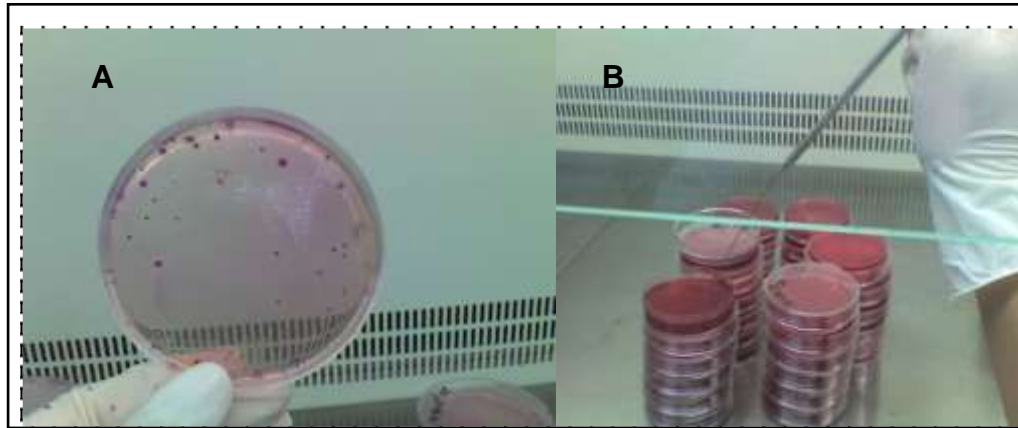


Fig. No 11: A. Placa de VRBA con colonias sospechosas de ser *Escherichia coli*,
Placas con EMB para siembra de colonias sospechosas de ser *E.coli*

2. Incubar las placas EMB a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 h.

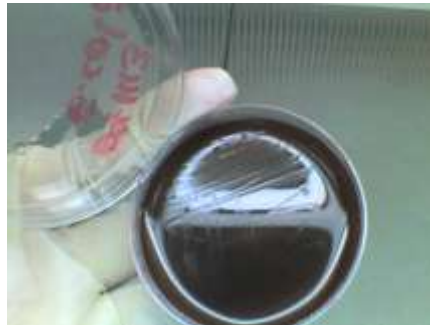


Fig. No 12: Técnica de estriado sobre placa de EMB.

3. Examinar las placas para encontrar colonias.
4. Registrar como positivo aquellas placas que presenten colonias de coloración verde con brillo metálico.

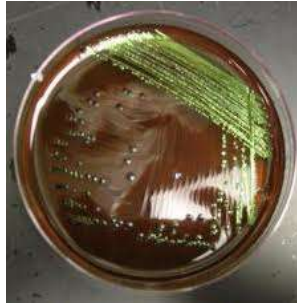


Fig. No 13: Placa de EMB positivo a *Escherichia coli*.

5. Se considera positivo cuando al menos una de las dos placas por muestra presenta el color característico y como negativo cuando en ninguna de las placas se observa el brillo verde metálico (7).

EXPRESION DE RESULTADOS

Los resultados de la etapa confirmativa de *Escherichia coli* se expresan en esta investigación de manera cualitativa por muestra.

8.7.5 Recuento de *Staphylococcus aureus*.

-MÉTODO DIRECTO DE SIEMBRA EN PLACA:

1. Se prepara el agar Baird Parker según las instrucciones del fabricante



Fig. No 14: Agar Baird Parker sobre un hot plate en proceso de calor.

2. Se distribuye de 10-15 ml en placas petri estériles



Fig. No 15: Placa de agar Baird Parker solidificado.

3. Se deja que la superficie seque completamente, este proceso se hace bajo la campana de flujo laminar.
4. Se homogeniza la dilución 10-1 de cada muestra



Fig. No 16: Proceso de dilución de una de las muestras.

5. Se debe distribuir un ml de esta dilución en tres placas (Ej.: 0.3 ml, 0.3 ml, 0.4 ml).
6. Se debe esparcir la muestra con rastrillo e incubar a 35-37 °C 24/48 horas.

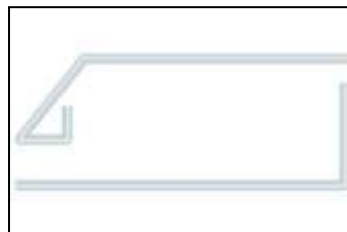


Fig. No 17: Rastrillo o asa en forma de L.

7. Finalmente, observar las características de las colonias.

-Recuento de *Staphylococcus aureus* presuntivo.

Se deben elegir las placas que presenten entre 25 y 250 colonias y contar las colonias sospechosas:

- a) Negras brillantes de bordes lisos.
- b) Negras brillantes con halo precipitado.
- c) Gris oscuras con bordes irregulares con o sin halo y precipitado.

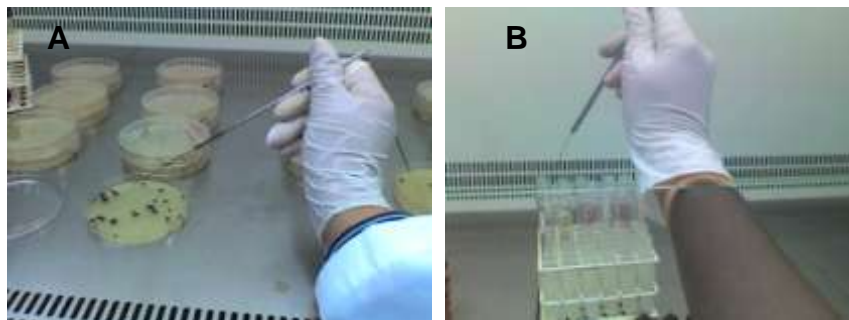
Se deben contar el total de colonias sospechosas y un número inferior a cinco se someterá a la prueba de coagulasa para la confirmación.



Fig. No 18: Placa de agar Baird Parker con crecimiento de colonias.

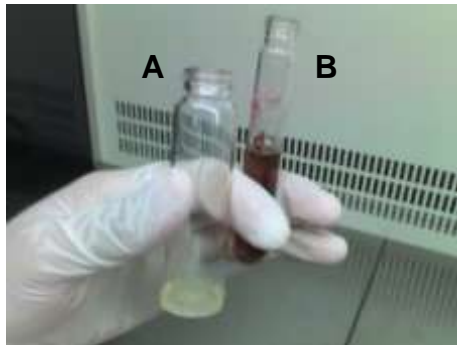
- PRUEBA DE COAGULASA.

1. Se deben sembrar las colonias sospechosas en forma separada en tubos con caldo cerebro corazón (BHI).



**Fig. No 19: A. Selección de una colonia de *St. aureus* con asa estéril.
B. Siembra de colonia de *St. aureus* en caldo Cerebro Corazón.**

2. Se deben incubar a 35°C por 24 horas
3. Luego traspasar 0.1 ml de cada cultivo a tubos pequeños estériles,



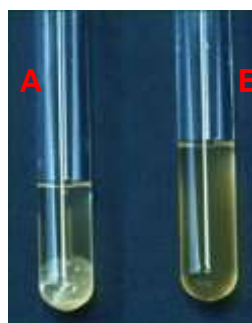
**Fig. No 20: A. Tubo con caldo Cerebro Corazón.
B. Tubo con plasma de conejo.**

4. Agregar 3 ml de plasma de conejo, incubar a 35° C durante 6/24 horas chequeando los tubos cada cierto tiempo.



**Fig. No 21: Tubos de caldo Cerebro Corazón
Listos para la incubación.**

5. Observar la coagulación del plasma de conejo total o parcial en los tubos.



**Fig. 22: A. Tubo positivo a coagulasa,
B. Tubo negativo a coagulasa.**

-Reporte de resultados para *Staphylococcus aureus*.

Se debe sumar el número de colonias sospechosas confirmadas como coagulasa positiva de las tres placas e informar el resultado en la potencia de 10 correspondiente expresado en UFC/g.

8.7.6 Detección de *Salmonella*.

TÉCNICA DE SIEMBRA:

1. Enriquecimiento selectivo.

- Transferir a partir del caldo de preenriquecimiento 10 ml de caldo Rapaport y 10 ml de caldo tetracionato respectivamente.

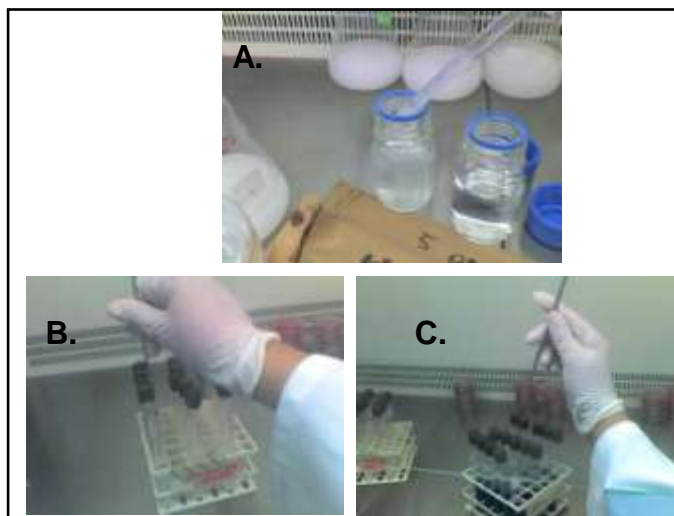
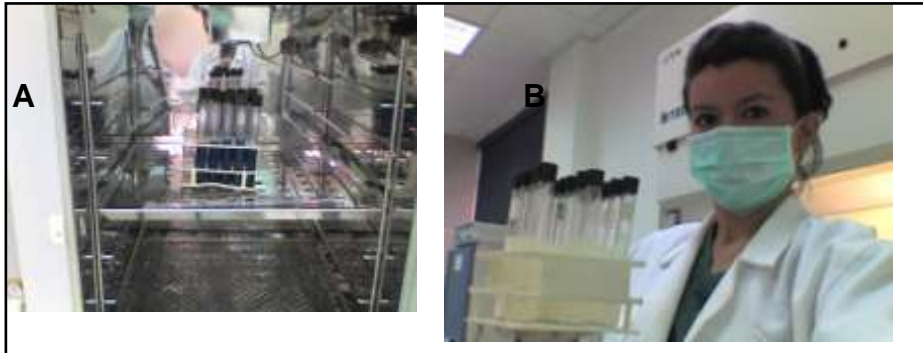


Fig. No 23: A. Toma de muestra con dilución 10-1. B. Siembra de 1 ml de muestra diluida en caldo Rappaport vassiliadis. Siembra de 1 ml de muestra diluida en caldo Tetracionato.

- Luego debe incubarse el caldo rappaport a 43 °C y el caldo tetratonato a 35 °C.



**Fig. No 24: A. Tubos con caldo tetratonato en proceso de incubación.
B. Tubos de caldo rappaport preparados para la incubación.**

2. Aislamiento selectivo.

Sembrar a partir de los caldos rappaport y tetratonato en forma de estrías, sobre placas con agar SS y XLD.



Fig. No 25: A. Introducción de asa estéril en caldo rappaport, para luego B. realizar la siembra en estrías sobre placas con agar Salmonella-Shigella.

Incubar las placas a 35-37 °C durante 24/48 horas observando las colonias sospechosas:

- a) Agar SS: blancas o transparentes.
- b) XLD: rosadas brillantes con o sin centro negro (FDA, 1998).

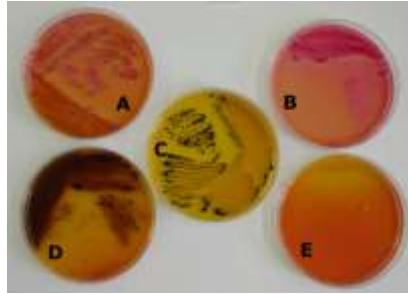


Fig. No 26: A. Crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* en placa con agar SS
B. Crecimiento de *Escherichia coli* en placa con agar SS
C. Crecimiento de *Salmonella spp* en placa con agar SS
D. Crecimiento de *Proteus mirabilis* en placa con agar SS
E. Crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en placa con agar SS

8.8 ANÁLISIS DE DATOS

Tabla N° 2: Resultados generales de los análisis de laboratorio en las 60 muestras de sorbetes de elaboración artesanal.

Mz	APC			CT			E. COLI			St. aureus			Salmonella		
	1ER Mz	2DO Mz	PROM	1ER Mz	2DO Mz	PROM	1ER Mz	2DO Mz	PROM	1ER Mz	2DO Mz	PROM	1ER Mz	2DO Mz	PROM
MEJICANOS															
1	20800	45500	33150	15500	30994	27297	-	-	-	4	14	9	+	+	+
2	17480	36710	27095	12850	7492	10171	-	-	-	10	20	15	+	-	+
3	55983	42608	49300	12700	19630	16165	+	+	+	8	8	8	+	-	+
4	14367	44125	29246	19200	21567	20384	-	+	+	24	25	25	+	-	+
5	20200	21593	20897	14075	12643	13359	-	-	-	10	20	15	+	+	+
6	19850	21276	20563	13253	7537	10395	-	+	+	1	11	6	+	+	+
7	12583	17350	14967	19750	2413	11082	-	+	+	5	14	10	+	+	+
8	11260	15983	13622	8907	12558	10733	+	+	+	6	286	146	+	+	+
9	12707	19437	16072	19300	6513	12907	-	-	-	7	13	10	+	+	+
10	15243	33530	24387	12933	4105	8519	+	+	+	30	20	25	+	-	+
SOYAPANGO															
11	12933	27463	20198	16320	2793	9557	-	-	-	31	375	203	+	+	+
12	14513	24047	19280	16125	6932	11529	-	-	-	5	34	20	+	+	+
13	16753	25602	21178	7842	7630	7736	-	-	-	3	14	9	+	+	+
14	14053	81000	47527	8465	9313	8889	+	+	+	0	849	426	+	-	+
15	17567	51300	34434	6365	6072	6219	-	-	-	61	422	242	+	+	+
16	22533	35625	29079	89900	43920	66910	-	-	-	50	60	55	+	+	+
17	47740	39985	43663	24180	8102	16141	-	-	-	73	94	84	+	+	+
18	48000	42828	45414	57080	18403	37742	-	-	-	20	31	26	+	+	+
19	26317	33933	30125	7430	21378	14404	-	+	+	48	72	60	-	-	-
20	26410	29703	28057	12783	12933	12858	-	-	-	61	98	80	+	+	+
SAN SALVADOR															
21	31475	28063	29769	16500000	8267	16500000	-	-	-	78	98	88	+	+	+
22	25333	26777	26055	84333	2400	43367	-	+	+	76	244	160	+	+	+
23	35113	37110	36112	59612	12817	36215	-	+	+	94	105	100	+	+	+
24	31060	31407	31234	54150	6098	30124	+	-	+	79	93	86	+	+	+
25	39097	35137	37117	37390	5040	21215	-	-	-	100	154	127	-	-	-
26	21150	21900	21525	23085	2657	12871	-	-	-	117	311	214	+	+	+
27	27267	24568	25918	249000	7878	16389	-	-	-	76	89	83	+	+	+
28	29333	42300	35817	54950	8140	31545	-	-	-	116	632	374	-	-	-
29	28757	26490	27624	77750	8645	43198	-	+	+	83	85	84	+	+	+
30	46750	91000	68875	61000	6800	33900	+	-	+	64	290	177	+	+	+

8.8.1 Recuento Total De Bacterias

	NSO 67.01.11.97	MEJICANOS	SOYAPANGO	CENTRO DE S.S.
MEDIA	50000	24930	31915.5	34004.6
DESVEST		10677.12	10611.3	13266.57

Tabla No 3: Promedio del recuento total de bacterias por zona de estudio representadas en UFC/g.

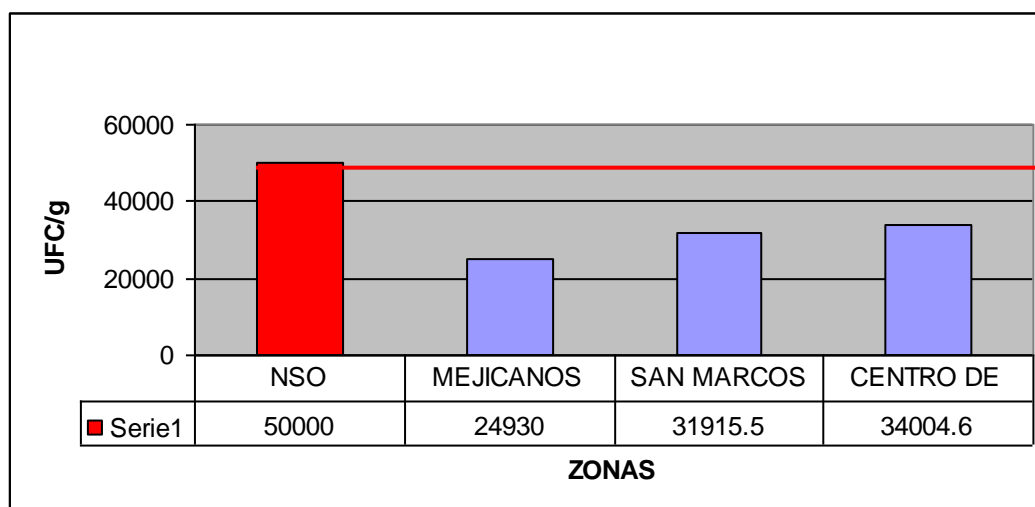


Gráfico No 1: Promedio del Recuento Total de Bacterias de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.

Para el Recuento Total de Bacterias Mesófilas de las muestras de sorbete de fabricación artesanal comercializadas en los municipios de Mejicanos, Soyapango y zona del centro de San Salvador se encontraron valores promedios de 24,930, 31,916 y 34,005 de unidades formadoras de colonias por gramo, respectivamente, los cuales se encuentran entre los valores permitidos por la Norma Salvadoreña Obligatoria para helados y mezcla de helados; además estos resultados se ajustan a lo señalado por las normas internacionales.

8.8.2 Coliformes Totales

	NSO 67.01.11.95	MEJICANOS	SOYAPANGO	CENTRO DE S.S.
MEDIA	100	14101.2	19198.5	26882.4
DESVEST		5779.68	19005	14014.86

Tabla No 4: Promedio del recuento Coliformes Totales por zona de estudio representadas en UFC/g.

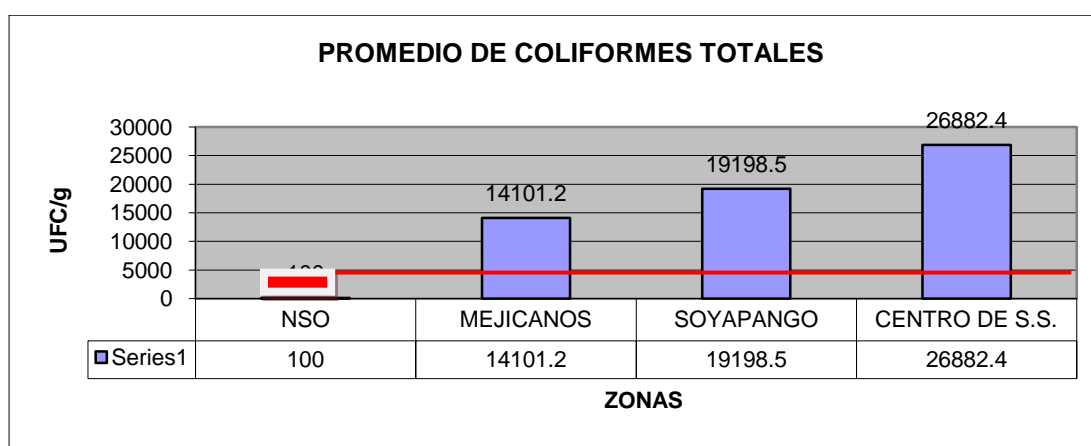


Gráfico No 2: Promedio del Recuento de Coliformes Totales de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.

Para el recuento de Coliformes Totales de las muestras de sorbetes artesanal comercializados en los municipios de Mejicanos, Soyapango y el Centro de San Salvador, se encontraron valores promedios de 14,101, 19,199 y 26,882 de unidades formadoras de colonias/g los cuales se encuentran fuera los valores permitidos, de hecho sobrepasa en mucho el valor límite permisible por la norma salvadoreña obligatoria para helados y mezcla de helados.

Estos resultados se ajustan a lo señalado por los diferentes organismos encargados de velar por la salud humana quienes manifiestan que de no realizarse los procedimientos de fabricación y de comercialización adecuados: Limpieza y desinfección de recipientes y utensilios, utilización de agua potable, limpieza de las manos frecuentemente, etc. muy difícilmente se garantizará la inocuidad de estos productos.

8.8.3 *Staphylococcus aureus*

	NSO 67.01.11.95	MEJICANOS	SOYAPANGO	CENTRO DE S.S.
MEDIA	10	27	121	149
DESVEST		42.38	132.2	91.23

Tabla No 5: Promedio del recuento de *Staphylococcus aureus* por zona de estudio representadas en UFC/g.

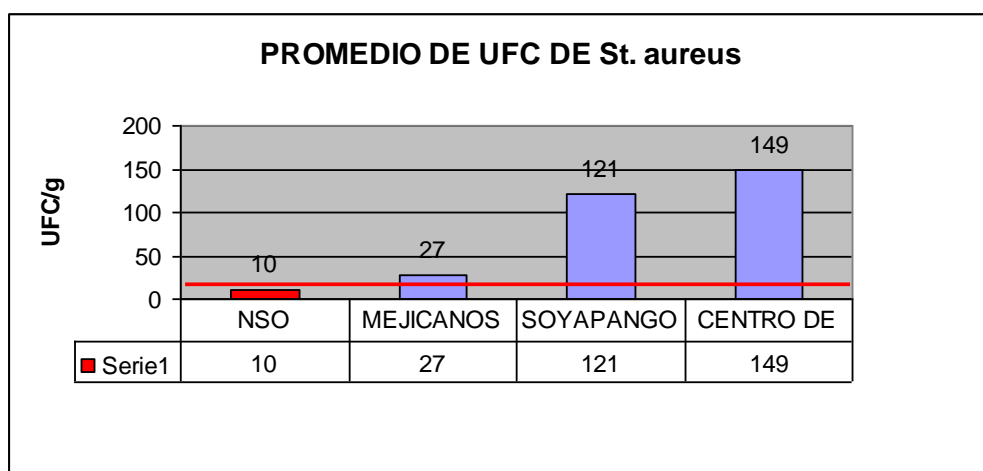


Gráfico No 3: Promedio del Recuento de *Staphylococcus aureus* de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.

Para la variable de recuento de *Staphylococcus aureus* se verificó que de las 10 muestras de sorbete artesanal y su repetición recolectadas en el municipio de Mejicanos, 5 de ellas evidenciaron un promedio de 27 UFC/g de *Staphylococcus aureus* sobrepasando el límite establecido por la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados de 10 UFC/g, es decir que un 50% de las muestras no son aptas para el consumo humano. A pesar de esto es la zona que no presenta valores tan altos.

De las 10 muestras de sorbete artesanal y su repetición, recolectadas en el municipio de Soyapango, una de ellas evidenció 121 UFC/g de *Staphylococcus aureus*, promedio mayor al establecido por la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados, que es de 10 UFC/g, es decir que un 10% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

De las 10 muestras de sorbete artesanal recolectadas en la zona del centro de San Salvador, 10 de ellas evidenciaron un promedio de 149 UFC/g de *Staphylococcus aureus*, contrastando con el límite de 10 UFC/g establecido por la norma salvadoreña obligatoria para helados y mezcla de helados, es decir que un 100% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

Los resultados en estos municipios podrían deberse a presencia de alguna alteración o patología nasofaríngea, infección de piel o absceso o incluso, gastroenteritis debida a estafilococos en alguno de los fabricantes y/o vendedores de las muestras de sorbete, quienes rara vez toman alguna medida higiénica o mucho menos algún tratamiento farmacológico.

8.8.4 *Escherichia coli*.

	NSO 65.01.11.95	MEJICANO S	SOYAPANG O	CENTRO DE S.S.
# MUESTRAS	CERO	6	3	5

Tabla No 6: Promedio de la presencia de *Escherichia coli* por zona de estudio representadas en UFC/g.

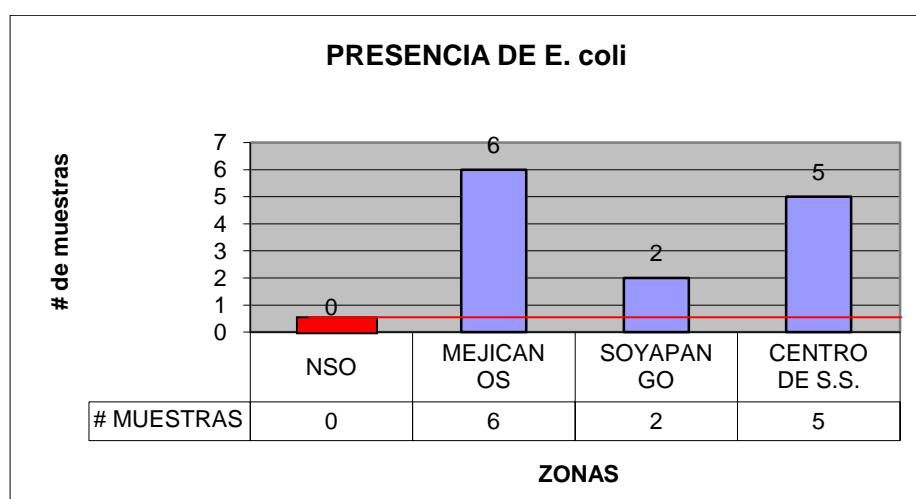


Gráfico No 4: Promedio de la presencia de *Escherichia coli* en las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.

De las 10 muestras de sorbete artesanal y su repetición recolectadas en el municipio de Mejicanos 6 de ellas evidenciaron presencia de *Escherichia coli*, contrastando con el requisito de ausencia establecido por la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados, es decir que un 60% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

De las 10 muestras de sorbete artesanal y su repetición recolectadas en el municipio de Soyapango 2 de ellas evidenciaron presencia de *Escherichia coli*, contrastando con el requisito de ausencia establecido por la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados, es decir que un 20% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

De las 10 muestras de sorbete artesanal y su repetición recolectadas en la zona del centro de San Salvador 5 de ellas evidenciaron presencia de *Escherichia coli*, contrastando con el requisito de ausencia establecido por la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados, es decir que un 50% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

Estos resultados evidencian falta de higiene básica en la fabricación y/o comercialización de estos sorbetes ya que esta bacteria normalmente está presente en el tracto gastrointestinal, eliminándose por medio de las heces y orina, por lo que se infectaron al tener contacto con dichos desechos del organismo, lo que indica que estas personas no lavan ni desinfectan sus manos después de orinar y/o defecar y aun así manipulan el producto a comercializar.

También existe la posibilidad de que a falta de inodoros (por su recorrido ambulatorio), eliminen estos desechos cerca de donde almacenan, manipulan y/o comercializan el sorbete.

8.8.5 Salmonella.

	NSO 67.01.11.95	MEJICANOS	SOYAPANGO	CENTRO DE S.S.
# de muestras (+)	CERO	10	9	8

Tabla No 7: Promedio de la presencia de *Salmonella spp* por zona de estudio representadas en UFC/g.

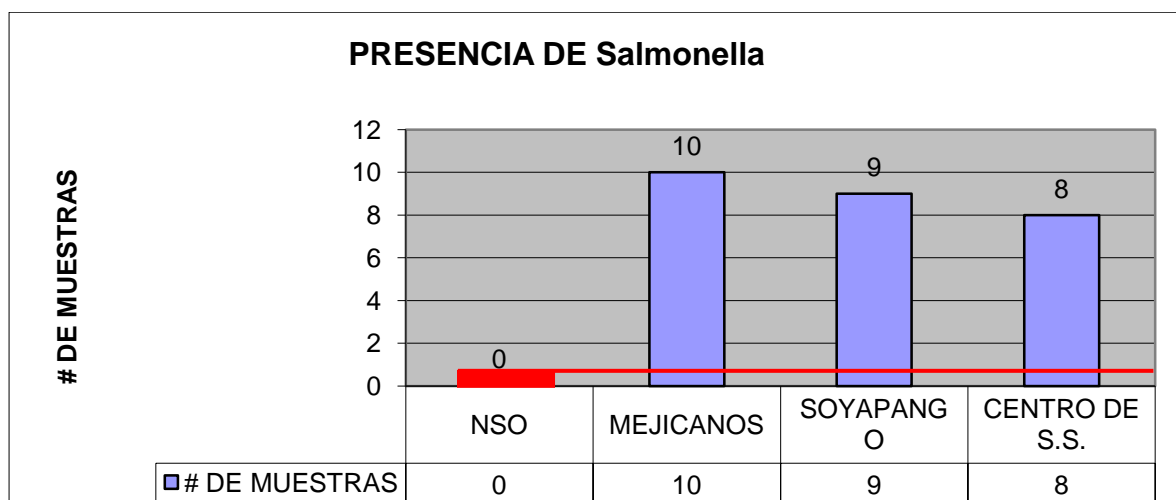


Gráfico No 5: Promedio de la presencia de *Salmonella spp* de las zonas en estudio, comparado a lo establecido por la NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla para helados.

De las 10 muestras de sorbete artesanal recolectadas en el municipio de Mejicanos (y confirmándose con su repetición), 10 de ellas contenían *Salmonella* es decir que un 100% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

De las 10 muestras de sorbete artesanal recolectadas en el municipio de Soyapango (y confirmándose con su repetición), 9 de ellas contenían *Salmonella* es decir que un 90% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

De las 10 muestras de sorbete artesanal recolectadas en el centro de San Salvador (y confirmándose con su repetición), 8 de ellas contenían *Salmonella* es decir que un 80% de las muestras no son aptas para el consumo humano.

El hábitat natural de esta bacteria es el tracto intestinal de animales como aves, reptiles, animales de granja, insectos y personas, que a veces son portadoras de la salmonella sin presentar ningún síntoma. Los microorganismos son excretados en las heces desde donde pueden ser transmitidos a insectos y otros seres vivos. También se puede encontrar en el agua. Por los resultados obtenidos en esta determinación se evidencia la utilización de agua no potable para la elaboración del sorbete y una calidad deficiente de higiene en el de elaboración y/o manipulación-almacenamiento del producto.

9. Diseño estadístico.

En las áreas de recolección de muestras se realizó un Muestreo Azarizado, con combinación de métodos probabilísticos: Muestreo Aleatorio Simple para que la población sea representativa; y métodos no probabilísticos: Muestreo dirigido, porque las zonas se han escogido por su alta tasa poblacional.

Se compararon los resultados de cada muestra con la norma del CONACYT y la Norma Salvadoreña Obligatoria y de ahí se obtuvieron los porcentajes de las muestras las cuales muestran que cumplen o no con los parámetros establecidos con la norma. Y se reflejan dichos resultados utilizando gráficas y medidas de Tendencia Central.

DISTRIBUCIÓN DE CHI CUADRADO.

Definición

Esta prueba puede utilizarse con datos medibles en una escala nominal.

Es decir, que sus valores representan categorías o grupos en una variable.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}.$$

Lo que se hace al aplicar la fórmula de chi cuadrada es restar al número de frecuencias observadas, el número de frecuencias esperadas; elevar esta diferencia al cuadrado, lo que hace que todos los valores asuman un valor positivo, y luego se divide el cuadrado obtenido entre el las frecuencias esperadas. Esto se hace de manera independiente para cada una de las categorías. Una vez terminado este paso, se suman los resultados obtenidos en cada categoría y ese valor resultante de la suma es el valor Chi cuadrada observado, el cual deberá ser comparado con el valor Chi cuadrada crítico según el nivel alfa de significatividad escogido y los grados de libertad correspondientes.

Si el valor Chi cuadrada (χ^2) obtenido es mayor que el valor crítico, se desacredita la hipótesis nula que afirma que no existe diferencia significativa entre las frecuencias observadas y se concluye que la diferencia es significativa. Esto

quiere decir que en menos de 5 casos de cada cien, una diferencia como la del valor igual o mayor al observado de Chi cuadrado, puede ser atribuida a la selección de la muestra (azar).

9.1 DESARROLLO MATEMÁTICO DEL DISEÑO ESTADÍSTICO EN EL ANÁLISIS DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LAS MUESTRAS DE SORBETE ARTESANAL.

VARIABLES: A) Recuento Total de Bacterias
 B) Recuento de Coliformes Totales
 C) Presencia de *Escherichia coli*
 D) Recuento de *St. Aureus*
 E) Presencia de *Salmonella*

A) CALCULO DE CHI CUADRADO PARA EL RECUESTO TOTAL DE BACT. PARA LAS 3 ZONAS

ZONAS	PRESENCIA	AUSENCIA	TOTAL
MEJICANOS	0(0)	10(10)	10
SOYAPANGO	0(0)	10(10)	10
CENTRO S.S.	0(0)	10(10)	10
TOTAL	0	30	30

$$X_{cal} = \frac{\sum(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

$$X_{cal}=0$$

$$X_{tab}= 11.34 \quad \text{SIGNIFICATIVO}$$

Para la variable Recuento Total de Bacterias para las zonas de Mejicanos, Soyapango y centro de San Salvador los resultados afirman que las poblaciones son homogéneas en cuanto al nivel de contaminación independientemente de la zona en que se hayan recolectado, las muestras están contaminadas con un número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) dentro del límite establecido por la norma NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla de helados.

B) CALCULO DE CHI CUADRADO PARA EL REC. DE COLIFORMES TOTALES PARA LAS 3 ZONAS

ZONAS	PRESENCIA	AUSENCIA	TOTAL
MEJICANOS	10(10)	0	10
SOYAPANGO	10(10)	0	10
CENTRO S.S.	10(10)	0	10
TOTAL	30	0	30

$$X_{cal} = \frac{\sum (F_o - F_e)^2}{F_e}$$

$$X_{cal}=0$$

$$X_{tab}= 11.34 \quad \text{SIGNIFICATIVO}$$

En el análisis estadístico de la variable Recuento de Coliformes Totales para las zonas de Mejicanos, Soyapango y centro de San salvador, los resultados afirman que las poblaciones son homogéneas en cuanto al nivel de contaminación independientemente de la zona en que se hayan recolectado, las muestras están contaminadas con un número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por encima del límite establecido por la norma NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla de helados.

C) CALCULO DE CHI CUADRADO PARA LA BACTERIA *Escherichia coli* PARA LAS 3 ZONAS

ZONAS	PRESENCIA	AUSENCIA	TOTAL
MEJICANOS	6(4.33)	4(5.66)	10
SOYAPANGO	2(4.33)	8(5.66)	10
CENTRO S.S.	5(4.33)	5(5.66)	10
TOTAL	13	17	30

$$X_{cal} = \frac{\sum(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

$$X_{cal} = 2.82$$

$$X_{tab} = 11.34$$

En el análisis estadístico de la variable Presencia de *Escherichia coli* para las zonas de Mejicanos, Soyapango y centro de San salvador, los resultados afirman que las poblaciones son homogéneas en cuanto al nivel de contaminación independientemente de la zona en que se hayan recolectado, las muestras están contaminadas con un número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por encima del límite establecido por la norma NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla de helados.

D) CALCULO DE CHI CUADRADO PARA LA BACTERIA *Staphylococcus aureus* PARA LAS 3 ZONAS

ZONAS	PRESENCIA	AUSENCIA	TOTAL
MEJICANOS	5(8)	5(2)	10
SOYAPANGO	9(8)	1(2)	10
CENTRO S.S.	10(8)	0(2)	10
TOTAL	24	6	30

$$X_{cal} = \frac{\sum(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

$$F_{cal} = 8.75$$

$$F_{tab} = 11.34 \quad \text{SIGNIFICATIVO}$$

En el análisis estadístico de la variable Recuento de *Staphylococcus aureus* para las zonas de Mejicanos, Soyapango y centro de San salvador, los resultados afirman que las poblaciones son homogéneas en cuanto al nivel de contaminación independientemente de la zona en que se hayan recolectado, las muestras están contaminadas con un número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por encima del límite establecido por la norma NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla de helados.

E) CALCULO DE CHI CUADRADO PARA LA BACTERIA *Salmonella* PARA LAS 3 ZONAS

ZONAS	PRESENCIA	AUSENCIA	TOTAL
MEJICANOS	10(9)	0(1)	10
SOYAPANGO	9(9)	1(1)	10
CENTRO S.S.	8(9)	2(1)	10
TOTAL	27	3	30

$$X_{cal} = \sum \frac{(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

$$F_{cal} = 2.22$$

$$F_{tab} = 11.34 \quad \text{SIGNIFICATIVO}$$

En el análisis estadístico de la variable Presencia de *Salmonella spp* para las zonas de Mejicanos, Soyapango y centro de San salvador, los resultados afirman que las poblaciones son homogéneas en cuanto al nivel de contaminación independientemente de la zona en que se hayan recolectado, las muestras están contaminadas con un número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) mayor al límite establecido por la norma NSO 67.01.11.95 de helados y mezcla de helados.

10. CONCLUSIONES

- a) De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, se determinó la presencia de las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* en las muestras de sorbetes artesanales, por lo que no son aptos para el consumo humano.
- b) Con respecto al recuento de Bacterias Aeróbicas, las muestras analizadas, resultaron con un número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) que está dentro de los rangos permitidos por la NSO 67.01.11.95 para helados y mezcla para helados, que es: (2.5×10^4) .
- c) Al realizar una comparación de los resultados obtenidos en el análisis de las muestras con la NSO 67.01.11.95 para helados y mezcla para helados, se estableció que ninguna de las muestras cumplió con esta norma.
- d) Los resultados obtenidos reflejan que las condiciones higiénicas son deficientes que caracterizan la elaboración y comercialización de la industria artesanal de estos productos, pudiendo mencionarse: lugar de almacenamiento inadecuado, falta de higiene básica como lavado de las manos del vendedor en el momento de la manipulación del producto, etc. En consecuencia se producen sorbetes de mala calidad y con riesgos importantes para la salud.
- e) De los resultados obtenidos en esta investigación, se deduce que en las zonas en donde se realizó el estudio, factores como una mayor concentración de personas, afluencia vehicular (humo), ambiente contaminada, hábitos higiénicos de las personas y mala disposición de la basura, influyen sobre el nivel de contaminación microbiológica de los sorbetes.

11. RECOMENDACIONES.

- a) El Ministerio de Salud debe prestar mayor atención a la pequeña industria de producción de sorbete artesanal, con el fin de instruirlos en el manejo de productos perecederos y la aplicación de buenas prácticas de manufactura para la obtención final de un alimento inocuo para consumo humano.
- b) Aplicar métodos de limpieza y desinfección en las materias primas a utilizar para la elaboración de este producto.
- c) Es importante que todas las personas que manipulan alimentos reciban capacitación adecuada y continua en materia de manipulación higiénica de los alimentos e higiene personal.
- d) Crear conciencia en el productor-vendedor y consumidor sobre las condiciones sanitarias que deben cumplir estos productos para ser aptos para el consumo humano.
- e) Realizar investigaciones posteriores que se orienten al análisis de materias primas y al proceso de elaboración de este producto.
- f) Implementar en la industria artesanal de sorbetes el Manual Manipulación Higiénica de Alimentos en anexo V de este documento.

12. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Aguirre Urrutia, Mauricio Alberto, 1998, Diagnóstico de calidad del sorbete artesanal y propuesta para la aplicación de buenas prácticas en su manufactura y comercialización. Universidad de El Salvador, El Salvador.
2. Almeida, R, 1996, Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en América Latina. Consejo de Investigación. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta, República Argentina.
3. Álvarez, Rodríguez Pacas, 1995, Norma Salvadoreña. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Helados y mezclas de helados. Especificaciones. San Salvador, El Salvador.
4. Arbuckle, W. S. 1972. "Ice Cream". 2ª Edición Wesport, Corn. Estados Unidos de Norteamérica.
5. Bender, A. E. 1994, Diccionario de Nutrición y Tecnología de los alimentos. Editorial ACRIBIA, Zaragoza, España.
6. CENAP, 1990 Centro Nacional de Productividad. "Seminario Control Higiénico y Sanitario en Plantas procesadoras de Alimentos. San Salvador.
7. Cruz Trujillo, 1989, Microbiología de los Alimentos, Editorial Pueblo y Educación. La Habana Cuba.
8. Dirección General de Estadísticas y Censos (DIGESTYC), 2006. San Salvador, El Salvador.
9. Fritz T. 1989, Fabricación de Helados, Editorial Acribia, Zaragoza, España.

10. FUSADES 1997. Laboratorio de Control Integral. "Seminario Taller Riesgos Microbiológicos en la Sanitización e Higiene de Plantas Procesadoras de Alimentos. San Salvador.
11. ICAITI 1997. Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial. "Seminario Buenas Prácticas de Manufactura". El Salvador.
12. US Food and Drug Administration, 1998, Bacteriological Analytical manual, 8ª. Edición, revisión, Estados Unidos de América. Cap. 1, 3, 4, 5 y 12.
13. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 1989. San Salvador, El Salvador.
14. Norma Salvadoreña para Helados y Mezcla de helados (NSO 67.01.11:95), 1995, CONACYT, San Salvador, El Salvador.
15. Rosales, Díaz. 2006, Evaluación de la calidad microbiológica de helados caseros en Mérida /Venezuela. Mérida, Venezuela.
16. TCP Reliable Company 1990. Cryopak Industries. Estados Unidos de América. Consultado 23 marzo 2009. Disponible en :
<http://www.cryopak.com/>
17. Instituto de Salud Pública de Chile. Sección Microbiología de Alimentos. Procedimiento Recuento de Coliformes en medio Sólido, Consultado 16 de abril /09. Disponible en
http://www.ispch.cl/lab_amb/doc/microbiologia_alimentos/PRT-008.pdf

ANEXOS

ANEXO I

Zona de Soyapango de donde se tomaron 20 muestras de sorbetes artesanales entre la primera semana del mes Noviembre de 2009 y tercera semana del mismo mes.

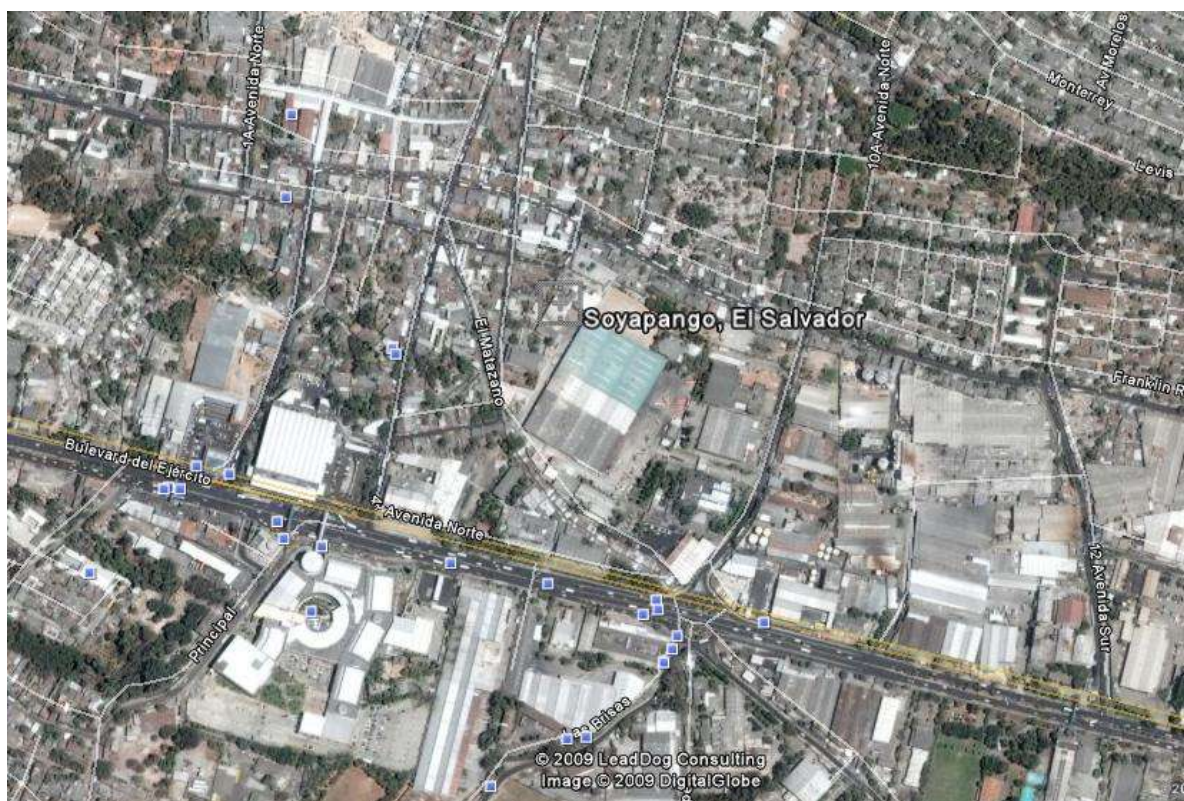


Fig No 27: Zona comercial de Soyapango y sus alrededores en donde se realizó toma de muestras de sorbete artesanal.

ANEXO II

Zona de Mejicanos de donde se tomaran 20 muestras de sorbetes artesanales entre la primera semana del mes de Noviembre de 2009 y tercera semana del mismo mes.

A



B



C



D



E



F



G



Fig. No 28: A: Calle Roma, B:Escuela Amelia, C: Escuela 22 de junio, D: Escuela Japón, E: Escuela Jesus Romero, F: Mercado De Mejicanos, G: Pollo Campero.

ANEXO III

Zona del centro de San Salvador de donde se tomaran 20 muestras de sorbetes artesanales entre la primera semana del mes de Noviembre de 2009 y tercera semana del mismo mes.



Fig No 29: Zona del centro de San Salvador y sus alrededores en donde se realizó toma de muestras de sorbete artesanal.

ANEXO IV

Características microbiológicas de los helados según la norma NSO 67.01.11.95 Helados y mezcla de helados.

MICROORGANISMOS	Sugerido UFC	Aceptado UFC
Recuento total por gramo	2.5×10^4	5×10^4
Coliformes por gramo	10	10^2
<i>Salmonella</i> en 25 gramos	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> por gramo	0	10^2
<i>Escherichia coli</i> por gramo	0	0

ANEXO V

Manual de Manipulación Higiénica de Alimentos.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



Manual de Manipulación Higiénica de Alimentos.

PARA EL LUGAR DE ELABORACIÓN SIGA LAS RECOMENDACIONES SIGUIENTES:

Evite todo tipo de suciedad y agua estancada en los alrededores.



Procure alejar el área de preparación de alimentos de los sanitarios.



Ponga trampas o veneno para evitar presencia de roedores.



Mantenga la basura alejada del lugar de elaboración y tápela para evitar moscas y otros animales.









Evita la presencia de toda clase de animales cerca del lugar de elaboración (1).



RECOMENDACIONES A LOS MANIPULADORES DE ALIMENTOS

SIEMPRE QUE MANIPULE ALIMENTOS SIGA LAS SIGUIENTES INSTRUCCIONES:

<p>1. Use gabacha, gorro o redecilla bien limpios.</p>	<p>2. Evite usar joyas y Tocar dinero.</p>
	
<p>3. Lávese las manos cada vez que se las ensucie.</p>	<p>4. Use toalla limpia o desechable para secarse.</p>
	
<p>5. Use utensilios bien lavados y desinfectados.</p>	<p>6. No prueba los Alimentos Usando los Cubiertos de servir.</p>
	

7. No tosa ni estornude sobre los alimentos.
masticar



8. Evite rascarse, fumar,

Chicle o peinarse.



9. Si tiene heridas en las manos no manipule los alimentos.





10. NO olvide sus exámenes de salud cada
año.







PARA LA LIMPIEZA DE LAS FRUTAS SIGA LOS SIGUIENTES PASOS:

Prepare una solución desinfectante, para garantizar la higiene de las frutas a utilizar.

LA SOLUCIÓN MADRE ES LEJÍA COMERCIAL. A CONTINUACIÓN SE MUESTRAN LAS CANTIDADES A USAR DEPENDIENDO DE LO NECESARIO:

	13 Gotas de solución madre		en: 1 litro de agua
--	----------------------------	--	---------------------

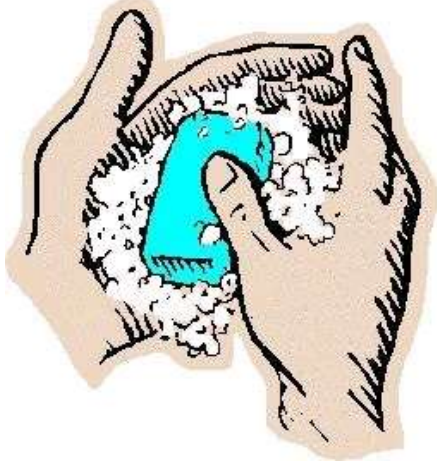
	Media cucharadita de solución madre en:		1 galón de agua
---	---	--	-----------------

	4 cucharaditas de solución madre en:		1 cántaro con
agua			Agua de 20 botellas

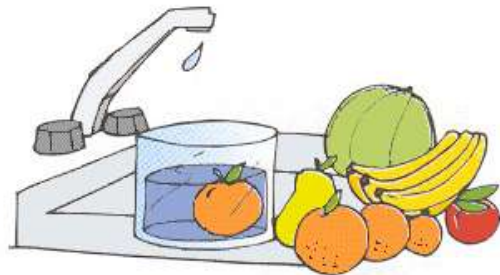
	Taza de solución madre en:		1 barril de 200 Litros de agua
---	----------------------------	--	--------------------------------

2. Lávese bien las manos con agua y jabón:

- Antes de preparar los alimentos.
- Después de usar el inodoro.



3. Lave las frutas con agua hervida o solución desinfectante antes de utilizarlas.



4. Luego de lavadas las frutas guárdelas en un lugar apropiado y tape adecuadamente. De preferencia en congelación.



5. Todas las materias primas secas, como azúcar, leche y sal deben almacenarse en un lugar apropiado y sin humedad.



PARA DESINFECTAR EL COCO HAGA LO SIGUIENTE:

1. Prepare agua potable en un guacal limpio. Con agua suficiente para cubrir el coco.

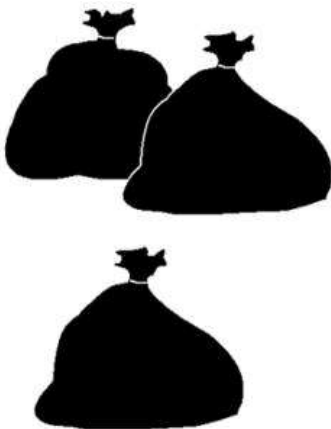


2. Lave el coco con el agua potable hasta eliminar la suciedad.



3. Prepare la solución desinfectante según se muestra en el numeral 1 del apartado III. Luego sumerja el coco lavado en esta solución durante 20 minutos.

4. Escurra el coco y guárdelo en una bolsa limpia y ciérrela.



5. Almacene en congelación hasta el día en que lo utilice.



OTRAS RECOMENDACIONES.

1. Todos los utensilios deben lavarse con agua y jabón, de ser posible deben desinfectarse con la solución desinfectante lejía.



2. Utilice siempre agua potable para la preparación del sorbete, aguas estancadas podrían estar contaminadas. Hiérvala o desinfectela agregando 2 gotas de lejía por litro de agua.

3. Durante la venta procure lavarse las manos constantemente si toca dinero, evite usar esponjas o toallas sucias (De preferencia usar unas 3 para el día).



4. El porcionador de sorbete debe lavarse frecuentemente, si usa agua en un depósito para el lavado y no puede lavarla constantemente, agregue al depósito de agua gotas de limón o solución madre desinfectante.