

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE FRUTAS
COMERCIALIZADAS EN EL INTERIOR Y ALREDEDORES DE LA
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

CANDIDA MIRIAN BENITEZ DE ALVARENGA
CLAUDIA MARINA BAUTISTA GUEVARA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

NOVIEMBRE 2010

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

Coordinadora General:

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

Asesoras de Área de Análisis de Alimentos, Microbiológico:

MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

Docente Directora:

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

AGRADECIMIENTOS

Primordialmente a Dios todo poderoso, por ser nuestra roca fuerte, por su protección, apoyo en los momentos difíciles, por estar a nuestro lado en cada paso que damos, por fortalecer nuestro corazón e iluminar nuestra mente.

De manera muy especial a nuestra docente directora MSc. Coralia González de Díaz, por asesorarnos a lo largo de esta tesis, por acompañarnos en este camino y llevarnos hasta el final, gracias por su dedicación, empeño, sabiduría, paciencia y por brindarnos su amistad.

Agradecemos el apoyo de todo el personal del Laboratorio de Microbiología de alimentos de CENSALUD y de la Universidad de El Salvador, ya que dentro de los ámbitos que a cada uno le competen nos han colaborado.

A nuestro honorable jurado: Licda. Odette Rauda, MSc. Amy Elieth Morán, MSc. Evelyn de Ramos, por sus sabios consejos y apoyo en todo momento.

A cada uno de los docentes, por compartir sus conocimientos desde el inicio hasta el final de nuestra carrera, les dedicamos esta tesis con mucho cariño.

En general agradecemos a todas y cada una de las personas que han vivido con nosotras la realización de esta tesis, que no necesitan ser nombradas porque ellas saben que desde lo más profundo de nuestro corazón les agradecemos el habernos brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo y sobre todo cariño y amistad.

“Te exaltaré mi Dios, mi Rey, y bendeciré tu nombre eternamente y para siempre” Salmos 145:1

Claudia Bautista y Candy de Alvarenga.

DEDICATORIAS

Primero, dar gracias a mi Dios bendito por estar conmigo siempre y no dejarme caer en ningún momento de mi vida, por su infinito amor, misericordia, por ser mi apoyo, mi fortaleza, alegría, mi fuente de inspiración y por permitirme terminar con éxito mi carrera profesional.

A mis amados padres, Irma Guevara y Manuel Bautista por ser el regalo más grande que Dios me dio, por su amor, paciencia, valiosos consejos, esfuerzos, por su apoyo en todo momento y confiar en mí, que Dios me los bendiga grandemente, los amo mucho.

A mi queridísimo hermano Giovanni, por todo su apoyo, amor, por creer en mí, y estar conmigo siempre; asimismo a mi cuñada y sobrinas, los quiero mucho.

A mí querida tía Gloria y primos: Erika, José y Oscar que los quiero como mis hermanos, por todas sus oraciones, por su amor y apoyo en toda mi carrera; igualmente a mi abuela Nilda y toda mi familia, que siempre estuvieron a mi lado.

A mis queridas amigas por su valiosa amistad, por su apoyo, comprensión, paciencia y por todos los momentos felices.

A mis queridos amigos: Albert, Fredy, Marcos y Rodny, por su amistad incondicional, por ser tan especiales, por su ayuda, comprensión y apoyo en todo momento, mil bendiciones.

A mi amiga y compañera de tesis: Candy, gracias por su paciencia, apoyo, perseverancia, consejos y por todos los momentos felices que pasamos juntas, mil gracias por su amistad, ¡la quiero mucho!

Claudia Bautista.

DEDICATORIAS

A Dios todo poderoso por su amor, misericordia, por ser mi roca fuerte en todo momento y aún más en los momentos difíciles, por llenar mi vida de dicha y múltiples bendiciones, gracias por darme todo lo que tengo y todo lo que soy.

A mis padres: Silverio Benítez y Paula Romero, que con gran amor, esfuerzo y entrega me han instruido durante toda mi vida. A toda mi familia, a mis hermanos: Imelda, Ana, Efraín, y Ricardo, de igual manera cuñados y sobrinos por su amor, sin duda cuento con ellos siempre, Sé que su mayor anhelo es ver coronada mi carrera, que Dios les bendiga y les de mucha salud.

A mi suegra: M^a Dominga de Alvarenga Q.D.D.G. por brindarme su amor, comprensión y apoyo, así mismo a mi suegro: David Alvarenga, a mis cuñados y sus familias, que Dios les bendiga en gran manera.

A ti Javier Arquímedes Alvarenga, por tú amor, confianza, y apoyo en todo momento, por ser un gran esposo y amigo, que Dios recompense tú esfuerzo y te bendiga siempre. A mi princesita: Miriam Lisbeth, por su amor, espera, y por creer en mí, eres mi tesoro y fuerza de inspiración. En todo momento los llevo conmigo.

A mis hermanos en la fe y amigos por brindarme su apoyo, confianza, lealtad y cariño, por compartir de sus alegrías y tristezas, que Dios les bendiga, “Son un valioso tesoro.”

A mi compañera de tesis y amiga sincera: Claudia, por compartir sus conocimientos, por su paciencia y entrega en esta tesis; de igual manera a toda su familia por su cariño sincero y por brindarme su apoyo siempre.

Candy de Alvarenga.

INDICE

	Pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xxii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	25
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	27
3.1 Concepto de frutas	27
3.1.2 La composición química de las frutas depende sobre todo del tipo de fruta y de su grado de maduración.	27
3.2 Principales frutas	31
3.3 Clasificación de la fruta	31
3.4 Microbiología de las frutas	33
3.4.1 Microflora de las frutas frescas	33
3.4.2. Protección natural de las frutas frente a los microorganismos	35
3.4.3 Los microorganismos como agentes de deterioro de alimentos	36
3.4.4 Los microorganismos como agentes patógenos transmitidos por alimentos.	38
3.5 Inocuidad de alimentos	41
3.6 Contaminación, conservación y alteración de las frutas	42

3.6.1 Contaminación	43
3.6.2 Conservación de las frutas	45
3.6.2.1 Asepsia	45
3.6.2.2 Eliminación de microorganismos	45
3.6.2.3 Refrigeración	46
3.6.3 Alteración de las frutas	47
3.7 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).	48
3.8 Buenas prácticas higiénicas	51
3.8.1 Normas para la higiene y adecuada manipulación de los alimentos	51
3.8.1.1 Cuidados que el manipulador de alimentos debe tener en cuenta	52
3.8.1.1.1 Higiene	52
3.8.1.1.2 Salud	55
3.8.1.1.3 Almacenamiento de los alimentos	55
3.9 Microorganismos indicadores de interés sanitario	57
3.9.1 Coliformes totales	57
3.9.1.1 Recuento de bacterias coliformes	58
3.9.2 Coliformes fecales	59
3.9.3 <i>Escherichia coli</i>	59
3.9.3.1 Enfermedades producidas	61
3.9.4 <i>Salmonella</i>	61

3.9.4.1 Enfermedad que produce	63
3.9.5 Pruebas Bioquímicas	64
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico	69
4.1 Tipo de estudio	69
4.1.1 Campo	69
4.1.2 Experimental	69
4.1.3 Transversal	69
4.2 Investigación bibliográfica	69
4.3 Investigación de campo	70
4.3.1 Universo	70
4.3.2 Muestra	70
4.3.3 Muestreo	70
4.3.4 Cálculos estadísticos para la determinación del número total de muestras a analizar	71
4.4 Parte experimental	74
4.4.1 Procedimiento para el muestreo	74
4.4.2 Preparación de la muestra	74
4.4.3 Prueba para coliformes totales	75
4.4.4 Prueba para coliformes fecales	75
4.4.5 Prueba para <i>Escherichia coli</i>	76
4.4.6 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	76

Capítulo V	
5.0 Resultados y discusión de resultados	82
5.1 Guía de observación	82
5.2 Determinación del pH de las 33 muestras de frutas	85
5.3 Recuento de bacterias coliformes totales	87
5.4 Recuento de bacterias coliformes fecales	89
5.5 Identificación de <i>Escherichia coli</i>	92
5.6 Identificación de <i>Salmonella spp</i>	94
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	101
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	105
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

ANEXOS N°

1. Mapa de los puntos de muestreo en la Universidad de El Salvador
2. Puntos de muestreo de frutas, en las instalaciones de la Universidad de El Salvador y alrededores
3. Guía de observación
4. Muestras de frutas utilizadas en el muestreo
5. Características para la identificación de las *Enterobacteriaceas* más comunes a través de las pruebas bioquímicas
6. Resultados de pruebas bioquímicas de las frutas analizadas
7. Tablas de pruebas bioquímicas
8. Límites máximos permitidos
9. Tabla de Numero Más Probable (NMP)
10. Esquemas de procedimiento de análisis
11. Materiales y equipo
12. Fotografías de los diferentes puntos de comercialización de frutas en el interior de la Universidad de El Salvador
13. Fotografías de los puntos de comercialización de frutas en los alrededores de la Universidad de El Salvador

14. Tríptico de Buenas Prácticas Higiénicas distribuido a los manipuladores de frutas
15. Carta enviada a Autoridades de Bienestar Universitario para dar a conocer los resultados del análisis.

INDICE DE CUADROS

CUADROS N°	Pág
1. Condiciones óptimas de almacenamiento y vida útil de las frutas	47
2. Cantidad de muestras en cada punto de venta de frutas	71
3. Resultados obtenidos a través de la guía de observación	82
4. Diferentes pH que presentan las frutas analizadas	85
5. Resultados obtenidos en el recuento de coliformes totales con caldo fluorogénico	87
6. Resultados obtenidos para coliformes fecales, con caldo EC	89
7. Resultados de Identificación de <i>Escherichia coli</i>	92
8. Características claves para identificación de <i>Salmonella spp</i> y resultados de pruebas bioquímicas.	94
9. Porcentaje de muestras de frutas analizadas que no cumplen, el RTCA 67.04 50:08 para frutas.	97
10. Cuadro resumen de todos los análisis incluyendo el pH de las 33 muestras de frutas.	98
11. Muestras de frutas utilizadas para realizar la parte experimental	
12. Resultados de pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de frutas	
13. Pruebas Bioquímicas para identificación de <i>Salmonella spp.</i>	
14. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08	

INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág.
1. Grafico de los resultados obtenidos en la guía de observación	83
2. Inadecuada manipulación de las frutas	85
3. Toma de pH con papel de rango corto	86
4. Recuento de Bacterias coliformes totales con caldo fluorogénico	89
5. Recuento de Bacterias coliformes fecales en caldo EC	91
6. Prueba preliminar para identificación de <i>Escherichia coli</i>	91
7. Identificación de <i>Escherichia coli</i> en placas con agar EMB	93
8. Prueba confirmativa con reactivo de Kovac para identificación de <i>Escherichia coli</i>	93
9. Tubos con caldo Rappaport y tubos con caldo Tetrionato, para el enriquecimiento de <i>Salmonella spp.</i>	95
10. Identificación de <i>Salmonella spp.</i> en placas con agar Rambach	95
11. Pruebas Bioquímicas obtenidas a partir de colonias sospechosas en medios específicos para <i>Salmonella spp</i>	96
12. Grafico del porcentaje de muestras de frutas analizadas que no cumplen el RTCA 67.04.50:08 para frutas.	97
13. Mapa de la Universidad de El Salvador	
14. Procedimiento para preparación de la muestra	

15. Procedimiento para la determinación de coliformes totales y coliformes fecales
16. Prueba presuntiva para identificación de ***Escherichia coli***
17. Procedimiento para la identificación de ***Escherichia coli***
18. Procedimiento para la identificación de ***Salmonella spp.***
19. Manipulación de las frutas
20. Instalaciones con las que cuentan los comerciantes de frutas
21. Manipulación inadecuada de las frutas, además de estar expuestas a contaminación vehicular
22. Basurero cerca de donde se manipulan y comercializan frutas
23. Tríptico informativo que fue entregado a los manipuladores de frutas
24. Carta entregada a autoridades de Bienestar Universitario

INDICE DE TABLAS

Tabla N°

1. Puntos de muestreo de frutas, en las instalaciones de la Universidad de El Salvador y alrededores
2. Guía de observación para cada uno de los puntos de ventas de frutas
3. Características para identificación de las ***Enterobacteriaceas*** más comunes a través de las pruebas bioquímicas
4. Número Más Probable (NMP) por g/mL de muestra, utilizando series de tres tubos con concentraciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} mL

ABREVIATURAS

A/A: Bisel amarillo / Fondo amarillo

BPA: Buenas Prácticas Agrícolas

BPH: Buenas Prácticas Higiénicas

BPM: Buenas Prácticas de Manipulación

CIT: Citrato

ETA's: Enfermedades transmitidas por los alimentos

IMVIC: Indol, Rojo de metilo, Voges proskahuer, Citrato

IND: Indol

K/A: Bisel rojo/ Fondo amarillo

MOV: Movilidad

NMP/mL: Numero más probable por cada 100 mL de muestra

OMS: Organización Mundial de la Salud

RM: Rojo de metilo

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano

TSI: Triple azúcar, hierro

VP: Voges proskahuer

RESUMEN

RESUMEN

En la presente investigación se realizó un análisis microbiológico de las frutas comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador, para evaluar la calidad de las frutas consumidas por la población universitaria.

Se desarrolló una guía de observación en la cual se evaluaron las condiciones higiénicas que los manipuladores de frutas toman en cuenta durante la preparación de las mismas; en la que se observó que los comerciantes no cumplen con las medidas de higiene en la manipulación de las frutas. Por lo que se realizó una prueba piloto para determinar el tamaño de la muestra a analizar, utilizando el método estadístico de muestreo aleatorio simple; se tomaron muestras al azar realizando tres muestreos, analizando 11 muestras por semana haciendo un total de 33 muestras, a las cuales se les midió el pH previo al análisis, lo cual fue necesario para interpretar los resultados, debido a que los microorganismos patógenos crecen a pH superiores a 4.0.

Para efectuar las determinaciones se utilizó el método de tubos múltiples para el caso de recuento de bacterias coliformes totales, bacterias coliformes fecales y para confirmar la presencia *Escherichia coli*, se realizó la prueba con reactivo de Kovac y se sembró en placas con agar EMB; para *Salmonella spp.* se identificó con agar Rambach y se confirmó la presencia a través de pruebas bioquímicas.

Los resultados obtenidos en el análisis, fueron comparados con las especificaciones del RTCA 67.04.60:08, para el grupo 4.0 de frutas y vegetales frescos; donde especifica que para bacterias coliformes totales y bacterias coliformes fecales el valor mínimo permitido es de 93 NMP/g, para ***Escherichia coli*** es <3 NMP/g y ***Salmonella spp.*** en 25 g. de muestra deben estar ausentes. En el recuento de bacterias coliformes totales se encontró que el 100% de las frutas resultaron contaminadas, el 81.82% con bacterias coliformes fecales e igual cantidad con ***E. coli***, y el 18.18% con presencia de ***Salmonella spp.*** obteniéndose valores superiores al permitido por el RTCA 67.04.50:08.

El análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), durante julio a noviembre del año 2010.

Debido a los resultados obtenidos, se llegó a la conclusión que los manipuladores de frutas no están cumpliendo con los parámetros de inocuidad establecidos por el RTCA 67.04.60:08, razón por la cual se recomienda que las instituciones competentes, realicen monitoreo periódicamente en los puestos de comercialización de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador y evalúen la calidad microbiológica de las frutas, con el objeto de garantizar que es adecuada para el consumo y que no se permita la comercialización de las frutas, si no se cumplen con las Buenas Prácticas de Higiene y Manipulación de alimentos.

CAPITULO I

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Uno de los factores que en gran medida afectan la salud pública, es la higiene de los alimentos, ya que cada vez es mayor el porcentaje de personas que realizan alguna comida fuera del hogar, por lo que con frecuencia padecen enfermedades gastrointestinales causadas posiblemente por el consumo de frutas contaminadas, debido a la deficiencia en el proceso de preparación, manipulación y conservación.

En la presente investigación se realizó un análisis microbiológico de las frutas comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador, para evaluar la calidad de las frutas consumidas por la población universitaria. Se utilizó una guía de observación para conocer las condiciones de manipulación, preparación y conservación de las frutas, además se determinaron bacterias coliformes totales, coliformes fecales, e identificación de microorganismos patógenos como: ***Escherichia coli*** y ***Salmonella spp.***, comparando los resultados obtenidos con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para el grupo 4.0 de frutas y vegetales frescos. Además se dieron a conocer los resultados de los análisis a Autoridades de Bienestar Universitario y se distribuyeron trípticos a los manipuladores de frutas, con el objetivo de proponer medidas higiénicas para mejorar las condiciones de manipulación y almacenamiento de las frutas.

Este análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), en el período de julio a noviembre del año 2010.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar la calidad microbiológica de frutas, comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Elaborar una guía de observación, para conocer las condiciones de manipulación y almacenamiento de frutas en los puntos de venta ubicados en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador.

2.2.2 Evaluar los parámetros microbiológicos de recuento de coliformes totales, coliformes fecales, detección de ***Salmonella spp.*** y ***Escherichia coli***; en las muestras de frutas seleccionadas.

2.2.3 Comparar los resultados obtenidos con los especificados en el RTCA 67.04.50:08, para grupo 4.0 “Frutas y Vegetales Frescos” y comprobar su calidad microbiológica.

2.2.4 Elaborar trípticos informativos sobre las Buenas Prácticas de Higiene, causas, efectos en la salud y distribuirlos en los puntos de ventas de frutas en el interior y alrededores la Universidad de El Salvador.

2.2.5 Dar a conocer los resultados obtenidos a las autoridades de Bienestar Universitario

CAPITULO III

MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 FRUTAS

Las frutas son un conjunto de alimentos vegetales que proceden del fruto de determinadas plantas, ya sean hierbas o árboles. Como alimento las frutas tienen propiedades de ser muy ricas en vitaminas y minerales, pocas calorías y un alto porcentaje de agua (entre 80 y 95%). Por ello la fruta suele tomarse como postre fresca o cocinada. (27)

3.1.2 La composición química de las frutas depende sobre todo del tipo de fruta y de su grado de maduración.

-Agua: Más del 80% y hasta el 90% de la composición de la fruta es agua. Debido a este alto porcentaje de agua y a los aromas de su composición, la fruta es muy refrescante. (27) (42)

-Glúcidos: Entre el 5% y el 18% de la fruta está formado por carbohidratos. El contenido puede variar desde un 20% en el plátano hasta un 5% en el melón, sandía y fresas. Las demás frutas tienen un valor medio de un 10%. El contenido en glúcidos puede variar según la especie y también según la época de recolección. Los carbohidratos son generalmente azúcares simples como fructosa, sacarosa y glucosa, de fácil digestión y rápida absorción.

En la fruta poco madura encontramos, almidón, sobre todo en el plátano que con la maduración se convierte en azúcares simples. (27)

-Fibra: Aproximadamente el 2% de la fruta es fibra dietética. Los componentes de la fibra vegetal que podemos encontrar en las frutas son principalmente pectinas y hemicelulosa. La piel de la fruta es la que posee mayor concentración de fibra, pero también es donde podemos encontrar con algunos contaminantes como restos de insecticidas, que son difíciles de eliminar si no es con el pelado de la fruta. (27)

La fibra soluble o gelificante como las pectinas forman con el agua mezclas viscosas. El grado de viscosidad depende de la fruta de la que proceda y del grado de maduración. Las pectinas desempeñan por lo tanto un papel muy importante en la consistencia de la fruta. (14)

-Vitaminas: Como los carotenos, vitamina C, vitaminas del grupo B. Según el contenido en vitaminas podemos hacer dos grandes grupos de frutas:

Ricas en vitamina C: contienen 50 mg/100. Entre estas frutas se encuentran los cítricos, también el melón, las fresas y el kiwi.

Ricas en vitamina A: Son ricas en carotenos, melocotón y ciruelas. (14)

-Sales minerales: Al igual que las verduras, las frutas son ricas en potasio, magnesio, hierro y calcio. Las sales minerales son siempre importantes pero sobre todo durante el crecimiento para la osificación.

El mineral más importante es el potasio. Las que son más ricas en potasio son las frutas de hueso como: cereza, ciruela, melocotón, etc. (27)

-Valor calórico: El valor calórico vendrá determinado por su concentración en azúcares, oscilando entre 30-80 Kcal/100g. Como excepción se tienen frutas como el aguacate que posee un 16% de lípidos y el coco que llega a tener hasta un 60%. El aguacate contiene ácido oleico que es un ácido graso monoinsaturado, pero el coco es rico en grasas saturadas como el ácido palmítico. Al tener un alto valor lipídico tienen un alto valor energético de hasta 200 Kilocalorías/100gramos. Pero la mayoría de las frutas son hipocalóricas con respecto a su peso. (14)

-Proteínas y grasas: Los compuestos nitrogenados como las proteínas y los lípidos son escasos en la parte comestible de las frutas, aunque son importantes en las semillas de algunas de ellas. Así el contenido de grasa puede oscilar entre 0,1 y 0,5%, mientras que las proteínas pueden estar entre 0,1 y 1,5%. (14) (42)

-Aromas y pigmentos: La fruta contiene ácidos y otras sustancias aromáticas que junto al gran contenido de agua de la fruta hace que ésta sea refrescante. El sabor de cada fruta vendrá determinado por su contenido en ácidos, azúcares y otras sustancias aromáticas. El ácido málico predomina en la manzana, el ácido cítrico en naranjas, limones y mandarinas y el ácido tartárico en la uva. Por lo tanto los colorantes, los aromas y los componentes fenólicos

astringentes aunque se encuentran en muy bajas concentraciones, influyen de manera crucial en la aceptación organoléptica de las frutas. (14)

Por su alto contenido en vitaminas (A y C) y sales minerales pertenece al grupo de alimentos reguladores. Las frutas se localizan en el segundo piso de la pirámide de alimentos, el contenido en hidratos de carbono es más elevado y ello las convierte en alimentos un poco más energéticos. Por lo tanto:

-Son alimentos de bajo valor calórico, ya que casi el 80% de su composición es agua, y se recomienda en las dietas para la obesidad.

-Contienen fibra dietética que aporta múltiples beneficios como por ejemplo contra el estreñimiento. (27)

-Contienen múltiples micronutrientes que actúan sinérgicamente como antioxidantes y parece que son sustancias protectoras contra el cáncer, demostrado en estudios epidemiológicos en el cáncer de próstata y cáncer de colon. (27)

La fruta no puede ser substituida por otros postres sin desequilibrar la alimentación. Es adecuado comer frutas después de las principales comidas, para una buena nutrición. (27)

3.2 PRINCIPALES FRUTAS

Las principales frutas son: aguacate, almendra, banano, cereza, frambuesa, fresa, guanábana, guayaba, lima, limón, mandarina, mamey, mango, manzana, marañón, melocotón, melón, mora, naranja, níspero, noni, nuez, papaya, pera, piña, plátano, tamarindo, sandía, uva y zapote. (15)

3.3 CLASIFICACION DE LA FRUTA

Hay diferentes formas de clasificar la fruta:

Según el tiempo desde su recolección hasta que es consumida

-Fruta fresca: Cuando el consumo se realiza inmediatamente o a los pocos días de su recolección, de forma directa, sin ningún tipo de preparación o cocinado.

-Fruta seca, desecada o pasa: Es la fruta que tras un proceso de desecación artificial se puede consumir meses, e incluso años, después de su recolección como las pasas. (27)

Según el proceso de maduración

En la maduración se lleva a cabo un proceso acelerado de respiración dependiente de oxígeno, que se denomina subida climatérica y sirve para clasificarlas:

-Frutas climatéricas: Entre las frutas climatéricas se tienen: manzana, pera, plátano, melocotón, melón. Estas frutas sufren una maduración brusca y grandes cambios de color, textura y composición. Normalmente se recolectan

en estado pre-climatérico, y se almacenan en condiciones controladas para que la maduración no tenga lugar hasta el momento de sacarlas al mercado. (14)

-Frutas no climatéricas: las que presentan una subida climatérica lentamente y de forma atenuada. Entre las no climatéricas se tienen: naranja, limón, mandarina, piña, uva y fresa. Estas frutas maduran de forma lenta y no tienen cambios bruscos en su aspecto y composición. Presentan mayor contenido de almidón. La recolección se hace después de la maduración porque si se hace cuando están verdes luego no maduran, solo se ponen blandas. (27) (42)

Hay además algunos grupos de frutas que se distinguen por tener ciertas características comunes:

-Fruta cítrica: Aquella que se da en grandes arbustos perennes (entre 5 y 15 mts.) Cuyos frutos, de la familia de las rutáceas, poseen un alto contenido en vitamina C y ácido cítrico, el cual les proporciona un sabor ácido muy característico. Las más conocidas son la naranja, el limón, la mandarina y la lima. (27)

-Fruta tropical: Aquella que se da de forma natural en las regiones tropicales, se aplica a las frutas que necesitan para su desarrollo unas temperaturas cálidas y alta humedad, como la banana, el coco, el kiwi y la piña. (14)

-Fruta del bosque: Un tipo de frutas pequeñas que tradicionalmente no se cultivaban sino que crecen en arbustos silvestres en los bosques, como la frambuesa, fresa, la mora. (27), (14)

3.4 MICROBIOLOGIA DE LAS FRUTAS

Es relativamente poco lo que se conoce sobre la microbiología de frutas, lo que contrasta con la gran cantidad de trabajos realizados sobre microbiología de los alimentos de origen animal. Ello se debe a que los microorganismos nocivos para la salud humana, como las especies patógenas del hombre y animales, son muchísimo más raros en las frutas que en los alimentos de origen animal. De ahí que la inspección higiénica alimentaria es pieza fundamental, para la calidad de las mismas. Otro factor que también juega un papel muy importante es la mayor capacidad adquisitiva del consumidor que demanda nuevos productos alimenticios y, por supuesto, la disponibilidad de frigoríficos caseros para la conservación doméstica. (15)

Cada vez son más las frutas que en estado fresco llegan al consumidor desde grandes distancias. Todos estos avances han creado nuevos problemas que han abierto nuevos horizontes a la microbiología de los alimentos vegetales. (15)

3.4.1 Microflora de las frutas frescas

Todos los vegetales poseen en sus superficies una microflora, más o menos típica, que es arrastrada a los lugares que puede multiplicarse a través del viento, agua, pájaros e insectos. Se conocen además numerosas bacterias, hongos y virus fitopatógenos que penetrando en los tejidos de las plantas sanas los dañan o destruyen. (15)

La flora natural superficial depende mucho del tipo de planta, además de su clima y ubicación, por ejemplo al aire libre o en invernadero. También depende del estado de desarrollo y en las frutas sobre todo del grado de maduración. (15)

Las frutas que crecen cerca del suelo, como por ejemplo las fresas, se contaminan fundamentalmente a partir de los microorganismos del suelo. El suelo arable superficial constituye el mayor depósito microbiano. Un gramo contiene hasta cinco mil millones de microbios; junto con las formas vegetativas se han encontrado micelios fúngicos y esporas. La mayoría de la población microbiana es saprófita, los patógenos son muy pocos. (10)

El viento puede llevar los microorganismos del suelo a las frutas que no contactan directamente con este. El polvo de la atmosfera, sobre todo en ausencia de humedad, es rico en microorganismos; en el aire contaminado de algunas ciudades pueden encontrarse varios miles de bacterias por cm^3 , por el contrario, el del mar posee muy pocos microbios. Puesto que el aire no constituye un medio apto para el desarrollo microbiano, su recuento varía mucho. Hay también una gran variedad de especies microbianas, si bien predominan los cocos sobre los bacilos, debido a su mayor resistencia frente a la desecación y la irradiación solar, ésta tiene un gran interés bajo el punto de vista de la cromogénesis microbiana. (15)

Además del aire, los insectos parásitos que al picar las frutas no solo contaminan sus tejidos, sino que las contagian con microbios fitopatógenos.

La microflora natural de las frutas y productos derivados está formada principalmente por levaduras, hongos y en menor grado por bacterias. Ello se debe a los bajos valores del pH de las frutas, como consecuencia de los ácidos que poseen ya que las bacterias prefieren un pH neutro.

La flora superficial tiene un gran interés durante el almacenamiento y procesado de las frutas, además de que muchos de sus miembros contribuyen a la alteración de las frutas. (15)

3.4.2. Protección natural de las frutas frente a los microorganismos.

Las plantas poseen un sistema defensivo natural frente a los microorganismos que, aunque no tan eficaz como en los primeros impide hasta cierto punto; el desarrollo y deterioro microbianos. Los microbios presentes en mayor o menor cantidad en las superficies vegetales no pueden penetrar en las capas tisulares profundas de frutas porque disponen de una estructura tisular cerrada que protege al resto de la fruta no solo del ataque microbiano, sino de ciertos agentes traumatizantes y de la desecación. Una variedad de tejido “protector” lo constituye la epidermis de las frutas. Las peras, manzanas y frutos en baya poseen una especie de membrana cutinizada (cutícula). (14)

Además en la superficie externa de la cutícula se depositan capas ceras, de color mate a gris claro, como puede apreciarse sobre todo en ciruelas, manzanas y uvas. (15)

Aparte de estas estructuras tisulares especiales, muchos vegetales poseen sustancias químicas defensivas, que abundan mucho más en las frutas verdes que en las maduras. Entre tales productos defensivos inespecíficos deben citarse los ácidos como el cítrico y el málico. (15)

Los ácidos actúan rebajando el pH del jugo celular, limitando de esta forma el número de especies capaces de multiplicarse en las frutas. Algunas, como el benzoico poseen un efecto antimicrobiano manifiesto por lo que se ha empleado como conservador. Arándanos rojos, como éster de glucosa del ácido benzoico, alcanza una concentración del 0,24%; también forma parte de los arándanos comunes, de ciruelas y de otras muchas frutas. En uvas, fresas y frambuesas existe una pequeña cantidad de ácido salicílico sustancia que se ha empleado como conservador de mermeladas y otros productos de las frutas. Los taninos que existen en muchas frutas, sobre todo verdes, son también tóxicos para microorganismos. (15)

3.4.3 Los microorganismos como agentes de deterioro de alimentos

Se considera alimento deteriorado aquel dañado por agentes microbianos, químicos o físicos de forma que es inaceptable para el consumo humano. El deterioro de alimentos es una causa de pérdidas económicas muy importante: aproximadamente el 20% de las frutas y verduras recolectadas se pierden por deterioro microbiano producido por alguna de las 250 enfermedades de mercado. (25), (16)

Los agentes causantes de deterioro pueden ser bacterias, mohos y levaduras; siendo bacterias y mohos los más importantes. De todos los microorganismos presentes en un alimento, sólo algunos son capaces de multiplicarse activamente sobre el alimento por lo que resultando seleccionados con el tiempo de forma que la población heterogénea inicial presente en el alimento va quedando reducida a poblaciones más homogéneas y finalmente, un solo tipo de microorganismos consiguen colonizar todo el alimento desplazando a los demás. (25)

Existen una serie de factores que determinan la resistencia a la colonización de un alimento. Estos factores son:

-Factores intrínsecos: Constituyen los derivados de la composición del alimento: actividad de agua (a_w), pH, potencial redox, nutrientes, estructura del alimento, agentes antimicrobianos presentes.

-Tratamientos tecnológicos: Factores que modifican flora inicial como consecuencia del procesado del alimento.

-Factores extrínsecos: Derivados de las condiciones físicas del ambiente en el que se almacena el alimento.

-Factores implícitos: Diferentes tipos de alimentos son atacables por microorganismos. (16)

Así cada tipo de alimento se deteriora por acción de un tipo de microorganismo concreto estableciéndose una asociación específica entre el microorganismo alterante y el producto alterado. (25)

3.4.4 Los microorganismos como agentes patógenos transmitidos por alimentos.

Ciertos microorganismos patógenos son potencialmente transmisibles a través de los alimentos. En estos casos, las patologías que se producen suelen ser de carácter gastrointestinal, aunque pueden dar lugar a cuadros más extendidos en el organismo e incluso, a septicemias. (25)

Las patologías asociadas a alimentos pueden aparecer como casos aislados, cuando el mal procesamiento del alimento se ha producido a nivel particular; pero suelen asociarse a brotes epidémicos más o menos extendidos en el territorio. (3)

Las patologías asociadas a transmisión alimentaria pueden ser de dos tipos: infecciones alimentarias producidas por la ingestión de microorganismos o intoxicaciones alimentarias producidas como consecuencia de la ingestión de toxinas bacterianas producidas por microorganismos presentes en los alimentos. En ciertos casos, pueden producirse alergias alimentarias causadas por la presencia de microorganismos. (5)

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

- Suficiente número para colonizar el intestino.
- Suficiente número para intoxicar el intestino.
- Cantidades de toxina significativas. (3)

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

Para que una bacteria pueda causar una infección, además de las condiciones anteriores es necesario que el microorganismo presente un rango de temperaturas de crecimiento compatible con la temperatura corporal de los organismos superiores (40°C). Esto es la causa de que patógenos vegetales no sean patógenos animales y que la mayoría de psicrófilos y psicrótrofos no sean de gran relevancia en patología. (3), (20)

La procedencia del microorganismo patógeno puede ser de dos tipos: microorganismos endógenos presentes en el interior del alimento, y microorganismos exógenos depositados en la superficie del alimento. Los primeros suelen estar asociados a alimentos animales ya que los patógenos de animales pueden serlo de humanos, mientras que los patógenos vegetales no pueden serlo debido a las diferencias entre ambos tipos de microorganismos. (6)

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

- Las fuentes de contaminación del alimento.
- Las rutas de infección del patógeno.
- La resistencia de los patógenos a condiciones adversas.
- Las necesidades de crecimiento de los patógenos.
- Minimizar la contaminación y el crecimiento de los microorganismos.
- Técnicas de detección y aislamiento.
- Método de muestreo proporcional al riesgo. (20)

Todo lo anterior obliga a la regulación legal de las características microbiológicas de cada alimento, lo que comprende la definición de cada alimento o producto alimentario y las regulaciones sobre la tolerancia del número de microorganismos permisibles. (Los llamados valores de referencia).

(25)

3.5 INOCUIDAD DE ALIMENTOS

Es la cualidad que poseen los alimentos de no causar daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso al que se destinan.

(4), (30)

La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que junto con las nutricionales, las organolépticas, y las comerciales componen la calidad de los alimentos. (4)

Es fundamental prevenir la contaminación de las frutas, todas las acciones para combatir la contaminación una vez que se produjo, pueden resultar riesgosas para el consumidor. (4), (30)

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

-Las BPM son una herramienta básica para la obtención de productos seguros para el consumo humano, que se centralizan en la higiene y forma de manipulación. Técnicamente la calidad de las materias primas, no debe comprometer el desarrollo de las Buenas Prácticas de Manufactura. (4)

-Las materias primas deben ser almacenadas en condiciones apropiadas que aseguren la protección contra contaminantes. El depósito debe estar alejado de los productos terminados para impedir la contaminación cruzada. Además, deben tenerse en cuenta las condiciones óptimas de almacenamiento como: temperatura, humedad, ventilación e iluminación.

-El transporte debe prepararse especialmente teniendo en cuenta los mismos principios higiénicos-sanitarios que se consideran para los establecimientos. (30),

(7)

Respecto de los establecimientos hay que tener en cuenta su Estructura e Higiene.

-Estructura: El establecimiento no tiene que estar ubicado en zonas inundables, que contengan olores objetables, humo, polvo, gases, luz, y radiación que puedan afectar la calidad del producto que elaboran. (29), (7)

-Las vías de tránsito interno deben tener una superficie pavimentada para permitir la circulación de camiones, transportes internos y contenedores.

3.6 CONTAMINACIÓN, CONSERVACIÓN Y ALTERACIÓN DE LAS FRUTAS

Las frutas frescas se suelen alterar durante su almacenamiento, transporte y mientras son sometidas a tratamiento. La respiración resultante de estos alimentos y el proceso normal de su maduración, complican el estudio separado de su alteración microbiana. (4)

Muchos de los problemas de alteración microbiana que se estudian son en realidad enfermedades causadas por los alimentos que se comercializan, y de aquí que se estudien en los tratados de patología vegetal. (4)

3.6.1 Contaminación

Durante su recolección, se colocan en cajas, canastos, cestas o carretillas y están expuestas a la contaminación mutua y a la procedencia de los envases, a no ser que estos hayan sido limpiados y desinfectados adecuadamente. Durante su transporte al mercado, las lesiones por causas mecánicas que experimentan pueden aumentar las posibilidades de que se pudran y es posible que en las mismas crezcan microorganismos. La refrigeración previa de estos alimentos y la refrigeración durante su transporte retardarán el crecimiento de los microorganismos. (10)

El lavado de las frutas puede suponer un remojo previo o se puede conseguir por agitación en un baño de agua, o, preferentemente mediante un tratamiento de rociado con agua. Tanto el remojo como el lavado por agitación tienden a transmitir los microorganismos responsables de las alteraciones, desde los alimentos dañados a los sanos. El agua que se vuelve a utilizar es probable que añada microorganismos. (4) (29)

El lavado con soluciones de detergente o de agentes de germicidas reducirá el número de microorganismos de la superficie de estos alimentos. (4)

La separación de las frutas alteradas o el expurgo de las porciones deterioradas eliminan los microorganismos, aunque su mayor manipulación puede dar lugar a lesiones de origen mecánico y, por consiguiente, aumentar la posibilidad que se pudran. Cuando estos alimentos se venden en el comercio al por menor sin

tratar, normalmente no están expuestos a una excesiva contaminación posterior, excepto por lo que se refiere a su almacenamiento en el comercio en recipientes sucios, a su posible contacto con alimentos en putrefacción, a su manoseo por los vendedores y clientes, y tal vez al hecho de rociarlos con agua o de colocar hielo triturado en los envases. (24)

La exudación de estos alimentos durante su manipulación incrementa el número de microorganismos. Tratamientos tales como el expurgo, la abrasión o el pelado mecánico, el troceado, el deshuesado y la eliminación de los corazones así como los distintos procedimientos de trituración pueden añadir microorganismos contaminantes procedentes del equipo utilizado. De hecho, cualquier parte del equipo que entre en contacto con el alimento puede ser un importante origen de microorganismos, a no ser que aquel haya sido convenientemente limpiado y desinfectado; el equipo metálico que actualmente se fabrica, provisto de superficies lisas, sin hendiduras, ni ángulos muertos, etc. Sirve para facilitar estos tratamientos. (25)

Las superficies de madera son difíciles de limpiar y desinfectar, por consiguiente, es probable que sean las fuentes de contaminación más importantes. (24)

Los alimentos contaminados no necesariamente tienen mal aspecto o mal olor, así que siempre actúe con prudencia. (16)

3.6.2 Conservación de las frutas

La superficie de las frutas sanas contiene la flora propia, además de microorganismos contaminantes que proceden del suelo y el agua; tienen una flora superficial en la cual predominan las levaduras y los mohos. Además algunas frutas contendrán microorganismos patógenos para las plantas o microorganismos saprófitos causantes de alteraciones que se pueden posibles que se multipliquen una vez recolectadas. (5)

Estas frutas que presentan defectos deben ser separadas y se deben poder expurgar las partes alteradas. A veces, en el interior de las frutas sanas existen algunos microorganismos. (4) (7)

3.6.2.1 Asepsia

Las frutas, durante el tiempo que media entre su recolección y el momento de ser sometidas a algún tipo de tratamiento, están expuestas a ser contaminadas por los envases y por frutas alteradas, por lo que se debe tener el máximo cuidado para evitar este tipo de contaminación. Antes de su recolección, las frutas suelen estar expuestas a los insecticidas y fungicidas y es posible que su flora microbiana sea alterada por estos tratamientos. (7)

3.6.2.2 Eliminación de microorganismos

El lavado total de las frutas sirve para eliminar no solo la suciedad, y por consiguiente la contaminación de microorganismos, sino también los restos de

aerosoles tóxicos. De igual manera lavar completamente y desinfectar las tablas que se utilizan para evitar la contaminación. El lavado puede llevarse a cabo con agua, con soluciones de detergentes, o incluso con soluciones bactericidas, como por ejemplo con agua clorada. (5)

3.6.2.3 Refrigeración

Cada fruta tiene su propia temperatura y humedad relativa óptimas de almacenamiento bajo refrigeración; incluso las distintas variedades de una misma fruta se pueden diferenciar en cuanto a sus exigencias. (3), (4)

El resultado de la conservación de las frutas depende de lo siguiente:

En la conservación temporal de las frutas es importante conocer la temperatura mínima tolerada, la temperatura crítica y el punto de congelación. (Ver cuadro N°1) (3)

-Temperatura mínima tolerada: Es la temperatura a la cual no se daña el producto.

-Temperatura crítica: Es aquella en la cual las frutas sufren alteraciones.

-Punto de congelación: Este punto se encuentra debajo de la temperatura crítica.

Las frutas que se conserven a temperatura mínima tolerada deben sujetarse a una maduración complementaria antes de su refrigeración. (12), (3)

Cuadro N° 1 Condiciones óptimas de almacenamiento y vida útil de las frutas ⁽¹⁵⁾

Clase de frutas	Condiciones óptimas de almacenamiento		Duración del almacenamiento
	Temperatura en °C	Humedad relativa del aire en %	
Manzanas	-0,5-4,0	90-95	17 a 34 semanas o más
Plátanos	12-15	Sin madurar 90 madurados 80	3 semanas
Peras	-1,0-0	90	8-30 semanas
Fresas	0-0,5	85-90	5-10 días
Arándanos	-1,0-0	90	2-3 días
Frambuesas	-1,0-0	85-90	1-2 días
Grosellas blancas y rojas	-1,0-0	90	6-8 días
Naranjas	4,5	90	13-17 semanas
Melocotones	-1,0-0	85-90	4-6 días
Ciruelas	-1,0-0	900	4-8 días
Guindas	-1,0-0	90	4-6 días
Uvas	-2,0-0	85	3-6 días
Limonos maduros	2,0	85-90	3-5 días

3.6.3 Alteración de las frutas

El deterioro de post cosecha producido por bacterias en el producto fresco causa daño físico, aumenta la pérdida de agua y la respiración.

Las bacterias proliferan mediante una rápida multiplicación celular y se introducen en el producto principalmente a través de cortes en la superficie. La contaminación del producto por bacterias se produce más comúnmente por contacto con agua infectada o contacto con bacterias del suelo. La contaminación por hongos puede originarse a través de cortes en la superficie.

(9) (42)

Las frutas procesadas en fresco constituyen un sector de rápido crecimiento en la industria de los alimentos, el que se ha visto favorecido por las ventajas prácticas que su uso representa para el consumidor. (14)

Un alimento no mejorará su calidad si es cosechado, recolectado o elaborado en una condición de alteración. (14)

3.7 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETAS).

Las enfermedades de origen alimentario, incluidas las intoxicaciones e infecciones, son patologías producidas por la ingestión accidental, incidental o intencional de alimentos o agua, contaminados en cantidades suficientes con agentes químicos o microbiológicos, debido a la deficiencia en el proceso de elaboración, manipulación, conservación, transporte, distribución o comercialización de los alimentos y agua. (21)

Es importante diferenciar las infecciones alimentarias de las intoxicaciones alimentarias:

-Infecciones alimentarias: Son las ETA's producidas por la ingestión de alimentos o agua contaminados con agentes infecciosos específicos tales como bacterias, virus, hongos, parásitos. (21)

-Intoxicaciones alimentarias: Son las ETA's producidas por la ingestión de alimentos o agua contaminados con cantidades suficientes de toxinas elaboradas por proliferación bacteriana o con agentes químicos que se incorporan a ellos, en cualquier momento desde su producción hasta su consumo. (30), (41)

-Generalmente ocurre dentro de las primeras 1-36 horas tras la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos o sustancias tóxicas. (30)

-Los síntomas de las enfermedades transmitidas por alimentos se desarrollan durante 1-7 días, y pueden variar desde un dolor de estómago leve hasta retortijones, vómito, diarrea, escalofríos o fiebres además de otras complicaciones que pueden generar incluso la muerte. (26), (30)

La intoxicación alimentaria por causa bacteriana es la más frecuente de todas ellas y puede causar la muerte.

La verdadera causa de toda intoxicación alimentaria es la ignorancia o la negligencia, y por ello se acepta que solo se puede conseguir una reducción en

su incidencia por medio de la formación higiénica de los manipuladores de alimentos. (41)

Causas principales de intoxicación alimentaria:

Cuando a las bacterias se les proporciona las condiciones de temperatura, humedad y nutrientes durante el tiempo suficiente, crecerán y se multiplicarán hasta el número necesario para producir un brote de intoxicación alimentaria.

(30), (38)

-Alimentos preparados anticipadamente y conservados fuera de refrigeración

-El empleo de alimentos contaminados con bacterias patógenas

-Manipuladores de alimentos infectados

-Contaminación cruzada debida a la ignorancia y a la falta de cuidado en los procesos de limpieza. (8) (38)

-Alimentos de mayor riesgo en salud pública. Son aquellos que por sus características de composición, especialmente en sus contenidos de nutrientes, actividad acuosa y pH, favorecen el crecimiento microbiano, por consiguiente, cualquier deficiencia en su proceso. (38)

Algunas bacterias: ***E. coli***, ***Campylobacter***, ***Shigella*** y ***Salmonella***, invaden el revestimiento mucoso intestinal. Estas bacterias dañan las células subyacentes, provocando ligeras ulceraciones que sangran y condicionan una pérdida considerable de líquido rico en proteínas, electrólitos y agua. (39)

3.8 BUENAS PRÁCTICAS HIGIENICAS

Se puede definir como higiene alimentaria:

-La destrucción de todas y cada una de las bacterias perjudiciales del alimento por medio de prácticas de procesado.

-La protección del alimento frente a la contaminación: incluyendo a bacterias perjudiciales, cuerpos extraños y tóxicos. (26) (30)

-La prevención de la multiplicación de las bacterias perjudiciales por debajo del umbral en el que producen enfermedad en el consumidor, y el control de la alteración prematura del alimento.

Para obtener alimentos realmente higiénicos, todo el personal involucrado en la producción y comercialización deberá guardar unas buenas prácticas higiénicas. (30)

3.8.1 NORMAS PARA LA HIGIENE Y ADECUADA MANIPULACIÓN DE LOS ALIMENTOS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que las enfermedades causadas por alimentos contaminados constituyen uno de los problemas sanitarios más difundidos en el mundo de hoy. Aplicando prácticas adecuadas durante la manipulación de los alimentos, reducirá considerablemente el riesgo que conllevan las enfermedades de origen alimentario. (30) (33)

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

3.8.1.1.1 Higiene

- La importancia de buena higiene

Todo el personal debe entender el efecto de la falta de la higiene personal y las prácticas no sanitarias en la seguridad alimentaria. La higiene no solo protege al trabajador de enfermedades, sino que reduce la posibilidad de contaminar las frutas y vegetales con lo que podría causar un gran número de enfermedades si estas se consumen. (26) (38)

-La importancia de lavarse las manos

Es muy importante lavarse las manos antes de comenzar a trabajar con frutas y vegetales, y después de ir al baño. Muchas de las enfermedades que se transmiten por los alimentos pueden estar presentes en el intestino del empleado y ser eliminadas en las heces. Si las manos están contaminadas pueden transmitir enfermedades infecciosas. (26)

-La importancia de usar técnicas apropiadas para lavarse las manos

No hay que pensar que los manipuladores de alimentos saben lavarse las manos debidamente, sino que se les debe enseñar las técnicas apropiadas para ello, como son las siguientes:

Limpieza corporal general:

-Limpieza y cuidado de manos: Deberá lavárselas con abundante agua y jabón (preferentemente líquido) y secar con toalla de un solo uso, caso contrario la misma deberá estar siempre en perfecto estado de limpieza.

El lavado se realizará:

-Antes de comenzar a trabajar y cada vez que se interrumpe por algún motivo.

-Antes y después de manipular alimentos crudos. (38)

-Cuando: Se manipule dinero; se utilice el pañuelo para toser, estornudar o limpiarse la nariz, al manipular basura, al hacer uso del baño, si ha estado en contacto con animales o insectos, si ha utilizado insecticidas. (38)

Las uñas:

-Deben estar siempre cortas y limpias para ello utilizar cepillo adecuado y jabón.

(38)

-La importancia de usar el sanitario

Debe enseñarse a todos los manipuladores de alimentos la importancia de usar sanitarios conectados a un sistema de evacuación, un pozo séptico, o sanitarios debidamente contruidos, para reducir la posibilidad de contaminar los campos, las frutas y vegetales, o el suministro de agua. (38)

-Los sanitarios deben ser de fácil acceso

Mientras más accesibles sean las instalaciones, mayor probabilidad habrá que los utilicen.

El desagüe procedente de sanitarios mal contruidos o indebidamente ubicados puede contaminar el suelo, las fuentes de agua, las frutas, vegetales, y los manipuladores. (26)

Los sanitarios y lugares para lavarse las manos tienen que estar bien abastecidos.

Proporcionen suficiente papel higiénico; los lugares para lavarse las manos deben tener un lavamanos, agua, jabón líquido, dispositivos sanitarios para secarse las manos (como papel secante desechable) y una papelería. (26)

-Las instalaciones deben mantenerse limpias

Los sanitarios y los lugares para lavarse las manos tienen que limpiarse periódicamente, ya sea que compartan el mismo espacio o se encuentren próximos entre sí. Los recipientes que se usen para transportar o guardar el agua de lavarse las manos tienen que vaciarse y limpiarse, así como desinfectarse y volverse a llenar con agua potable con regularidad. (26)

Mantener el equipo que entra en contacto con las frutas y vegetales tan limpio como sea posible. (26)

Todo equipo que entre en contacto con las frutas pueden servir de medio de contaminación microbiana. Se debe limpiar diariamente los restos que queden en el mismo después del procesamiento. Los cuchillos, cuchillas, guantes, batas y delantales deben llevarse e inspeccionarse periódicamente para ver si

tienen defectos que impidan lavarlos bien, y se reemplazarán cuando sea necesario. (19), (26), (37)

3.8.1.1.2 Salud

El manipulador de alimentos debe estar atento ante toxiinfecciones alimentarias de quienes convivan con él y tomar las precauciones necesarias para evitar contagio. (30)

3.8.1.1.3 Almacenamiento de los alimentos

-Los alimentos que no necesitan frío se deben almacenar en lugares limpios, secos, ventilados y protegidos de la luz solar y la humedad, siendo estos quienes favorecen la reproducción de bacterias y hongos.

-Los alimentos que por sus características sean favorables al crecimiento bacteriano hay que conservarlos en régimen frío.

-Los alimentos deben colocarse en estanterías de fácil acceso a la limpieza, nunca en el suelo ni en contacto con las paredes.

-No sobrepasar la capacidad de almacenamiento de las instalaciones.

-No barrer en seco (en ninguna instalación donde se conserven y/o manipulen alimentos). (29)

Preparación de alimentos:

-Los utensilios utilizados para la preparación deben estar siempre en perfecto estado de limpieza. Lavarlos con detergente correctamente diluido y agua caliente, procurando siempre que no queden restos de comida. (31)

-Evitar mantener los alimentos a temperaturas entre 10 y 60°C en las cuales se produce la multiplicación rápida y progresiva de los microorganismos.

-Evitar la contaminación cruzada (la utilización de la misma superficie sin previa limpieza y/o utensilios de cocina).

-No cortar la cadena de frío de los alimentos (congelados, refrigerados).

-Utilizar gorra o redecilla en la cabeza (imprescindible porque impide que eventuales suciedades del cabello puedan contaminar los alimentos) y guantes descartables en manos. (29), (31)

-Debe abstenerse de fumar, comer, probar los alimentos con el dedo y/o masticar chicle, durante la preparación de los alimentos.

-No estornudar ni toser sobre los alimentos, para ello cubrirse la boca con pañuelo. (29), (31)

Cómo evitar la contaminación cruzada:

-Limpiar con agua potable todas las superficies, después que hayan estado en contacto con los alimentos crudos.

-Limpiar con abundante agua caliente y detergente los utensilios después de haberlos utilizado con alimentos crudos.

- Lavarse las manos después de manipular alimentos crudos aunque haya utilizado guantes. (31), (33)
- Si las frutas se van a servir con cascara deben lavarse con un poco de detergente y abundante agua, esto ayuda a remover de la epidermis cerosa: tierra, microorganismos y restos de insecticidas tóxicos; desechar las áreas próximas al tallo ya que esas son difíciles de limpiar completamente. (7)
- Es conveniente usar un cuchillo con hoja de longitud de 4 a 5 pulgadas, un movimiento de cierra para cortar y rebanar permite que la hoja se mueva a través de la fruta sin dañarla y con una pérdida mínima de su jugo. (7)
- Tablas de corte: Deben ser de poliuretano o de otro material que se pudiera limpiar y desinfectar fácilmente. (31)
- La existencia de un equipo difícil de limpiar supone la acumulación gradual de residuos orgánicos que serán asiento de bacterias, que probablemente darán lugar a contaminación cruzada. (31), (33)

3.9 MICROORGANISMOS INDICADORES DE INTERES SANITARIO

3.9.1 Coliformes totales

Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos gram negativos de pequeña longitud, anaerobios facultativos, su temperatura óptima de desarrollo es 37°C y transforman los azúcares en ácido láctico, anhídrido carbónico e hidrógeno, con producción de gas dentro de 48 horas de incubación desprendiendo un olor y sabor desagradables. (9), (18)

Coliformes totales son bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. La mayoría de ellos se encuentran en materia en descomposición, estiércol, suelo, aguas fecales, plantas contaminadas, a excepción del género *Escherichia*, que solo vive en organismos, como el hombre y animales de sangre caliente. (10), (16)

Los coliformes son el grupo indicador asociado a la contaminación fecal en el agua, y en aquellos alimentos que han recibido un tratamiento y han estado en contacto con materiales sucios; por ello es de vital importancia su presencia en los alimentos, para conocer la calidad de los mismos. De ser encontrados luego de un tratamiento de desinfección indica que el tratamiento realizado no fue efectivo, o contaminación posterior al tratamiento. (9), (16)

Se desarrollan en medios de cultivo ordinarios; facultad que se presenta en muchos alimentos y dentro de ciertos límites: pH entre 4.0 y 8.5, temperatura entre 4 y 46°C, actividad de agua menor de 0.935. (10), (16)

3.9.1.1 Recuento de bacterias coliformes

El recuento se realiza por NMP (numero más probable) el cual es un método muy sensible, este se determina consultando tablas diseñadas en las que se indica la concentración estimada de coliformes por 100 mL de muestra. (6), (32)

3.9.2 Coliformes fecales

Son todos aquellos que fermentan la lactosa a 44.5-45.5°C, o de 44 a 45°C, a estas temperaturas se puede descartar la **Enterobacter**, ya que esta no crece a dichas temperaturas. Crecerán principalmente en el medio de cultivo la **Escherichia coli** (90%) y algunas bacterias de los géneros **Klebsiella** y **Citrobacter**. La prueba de coliformes fecales positiva indica un 90% de probabilidad que el coliforme aislado sea **Escherichia coli**.

Los coliformes fecales al igual que los coliformes totales nos sirven como indicadores, siendo estos últimos más confiables, ya que un porcentaje mayor de coliformes aislados de materia fecal humana y de animales de sangre caliente fermentan la lactosa a estas temperaturas, con respecto a los no fecales. Su presencia en frutas nos da indicios que puede existir la presencia de otros microorganismos, como es la **Salmonella** y otros. (11), (16)

3.9.3 Escherichia coli

Es una bacteria gram negativa que pertenece a la familia **Enterobacteriaceae**, la cual fue aislada por primera vez por Teodoro Escherich.

Esta bacteria es parte de la flora intestinal del hombre, coloniza el intestino dentro de las primeras horas de vida y se convierte en un residente permanente, manteniendo una relación de mutuo beneficio con el hospedero, no obstante, algunas cepas provocan enfermedades en el hombre,

principalmente: infecciones gastrointestinales, urinario y del sistema nervioso central.(10), (16)

Escherichia coli, es un bacilo no esporulado, puede poseer flagelos peritricos o ser inmóvil y es anaerobio facultativo. La temperatura mínima para su crecimiento es de 2.5°C y la máxima de 45°C, puede sobrevivir a temperaturas de refrigeración y de congelación. El rango de pH en el cual crece es de 4.4-9.0 y la actividad mínima de agua para su desarrollo es de 0.95. (11), (18)

La ***Escherichia coli*** tiene capacidad para utilizar azúcares simples como fuente de carbono, además de fermentar la glucosa y otros carbohidratos con producción de piruvato.

Cuatro características bioquímicas importantes para su identificación son: producción de indol a partir del metabolismo del aminoácido triptófano, la producción de ácidos por la vía de fermentación ácido mixta sin producción de acetilmetilcarbinol y no usar el citrato como su única fuente de carbono. Estas características se utilizan como conjunto de pruebas diferenciales denominado IMViC; un 95% de las cepas de ***Escherichia coli*** tiene el patrón IMViC (++++)
(18)

La identificación de la ***Escherichia coli*** se realiza mediante un recuento de coliformes totales en caldo Fluorogénico, al dar como resultado un color verde azulado, el cual nos indica prueba positiva para coliformes totales.

En los tubos que presenten coliformes positivas se le realiza la fluorescencia con lámparas UV, la presencia de esta nos indica ***Escherichia coli*** positiva y su confirmación se realiza con el reactivo de kovac que es prueba positiva si se forma un anillo violeta. (5), (18)

3.9.3.1 Enfermedades producidas

La ***Escherichia coli*** forma parte de la flora intestinal y solo unas cepas específicas de transmisión feco-oral son las causantes de brotes infecciosos. El periodo de incubación promedio de EHEC (***Escherichia coli*** entero hemorrágica) es de tres a cuatro días; la enfermedad tiene una duración de dos a nueve días; al inicio el cuadro se caracteriza por dolor abdominal repentino, vómito, fiebre ligera o ausente y desarrollo de diarrea sin presencia de sangre. (5), (9)

Dentro de las próximas 24 horas se presenta diarrea acuosa profusamente sanguinolenta y dolor abdominal sumamente intenso, a tal grado que pueden ser más agudos que el de un cuadro de apendicitis, este segundo período tiene una duración de cuatro a diez días y se conoce como colitis hemorrágica. (9)

3.9.4 *Salmonella spp.*

Pertenece a la familia de las ***Enterobacteriaceae***. Son bacilos cortos (1-2 μm), gram negativos, no esporulados y generalmente móviles con flagelos peritricos (excepto ***S. gallinarum***), anaerobios facultativos caracterizados

bioquímicamente por su capacidad de fermentar la glucosa con producción de ácido y gas (anhídrido carbónico) y por su capacidad de hidrolizar la lactosa y la sacarosa. Su temperatura óptima de crecimiento, como la de la mayoría de las bacterias causantes de toxiinfecciones alimentarias esta próxima a los 38°C; se destruyen a 60°C en unos 15-20 minutos, siendo incapaces de crecer por debajo de los 7 u 8°C. (10), (5), (42)

Salmonella spp., está ampliamente distribuida en la naturaleza, y se encuentra como comensal y patógeno en el tracto gastrointestinal, de humanos, mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves, insectos y roedores, causando un amplio espectro de enfermedades en el hombre y en los animales. Este microorganismo es uno de los géneros bacterianos que se encuentra asociado a brotes de enfermedades de origen hídrico, ya que puede ser aislado de agua fresca, agua dulce y agua salada, además de ciertos alimentos. Esta bacteria es capaz de sobrevivir en gran variedad condiciones de estrés por largos períodos de tiempo, pueden resistir la deshidratación, sobrevivir en el suelo y en el agua, así como en salmuera hasta con un 20% de sal posiblemente en respuesta a las condiciones de estrés sufre cambios en la expresión de sus genes, pudiendo además ocurrir recombinaciones que producen nuevos tipos de ***Salmonella spp.***, más resistentes y por ende más virulentos.

3.9.4.1 Enfermedad que produce:

Salmonellosis, es el nombre genérico empleado para designar a las infecciones humanas y animales originadas por miembros del género ***Salmonella***; la *Salmonellosis*, puede dividirse en dos síndromes: “La fiebre entérica” (causada por ***S. typhi***) y “la fiebre paratifoidea” (causada por ***S. paratyphi A***, ***S. paratyphi B*** ó ***S. paratyphi C***); la cual provoca la enfermedad cuando muere, después de multiplicarse en el intestino de su hospedador y sufrir la lisis subsiguiente que libera una potente endotoxina. (28), (42)

En las personas en el periodo de incubación (es decir, el tiempo transcurrido desde la ingestión del alimento contaminado y la aparición de los síntomas) varía considerablemente, pero generalmente está comprendido entre 12 y 36 horas. Los principales síntomas de la salmonellosis son: náuseas, dolor abdominal, somnolencia, diarrea y fiebre moderada; puede producirse deshidratación que da lugar a una gran sed. Las heces son acuosas de color verdoso, de olor muy repugnante y a veces teñidas de sangre. (10), (16), (28)

La enfermedad dura corrientemente hasta siete días pero algunos de los síntomas pueden persistir semanas incluso meses.

Manejo de los alimentos

Puede ser transmitida por las manos; por lo tanto es muy importante siempre lavarse las manos muy bien después de usar el baño y antes de preparar alimentos.

Las personas infectadas que manipulan comida pueden propagar grandes cantidades de bacterias de *Salmonella spp.* No deben manipular ni servir comida hasta que se haya detenido la diarrea. (29)

3.9.5 Pruebas Bioquímicas:

-Indol

El indol es uno de los productos de degradación metabólica del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. La producción de indol es una característica importante para la identificación de muchas especies de microorganismos. La prueba de indol está basada en la formación de un complejo rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo de los reactivos de Kovacs y Ehrlich. El medio de cultivo utilizado debe ser rico en triptófano. (18), (42)

-Rojo Metilo

Una de las características taxonómicas que se utilizan para identificar los diferentes géneros de enterobacterias lo constituyen el tipo y la proporción de productos de fermentación que se originan por la fermentación de la glucosa. Se conocen 2 tipos generales: La fermentación ácido-mixta y la fermentación del 2,3 butanodiol. En la fermentación ácido mixta se forman fundamentalmente láctico, acético y succínico, además de etanol, H₂ y CO₂. En la vía del butanodiol se forman cantidades menores de ácido (acetato y succinato) y los principales productos son el butanodiol, etanol, H₂ y CO₂. El rojo de metilo es un indicador de pH con un intervalo entre 6,0 (amarillo) y 4,4 (rojo), que se utiliza para visualizar la producción de ácidos por la vía de fermentación ácido mixta. (18), (42)

-Voges Proskahuer

En la prueba de Voges-Proskahuer se determina la vía de fermentación del butanodiol descrita en la prueba de rojo de metilo. El acetilmetilcarbinol (o acetoína) es un producto intermediario en la producción de butanodiol. En medio alcalino y en presencia de oxígeno la acetoína es oxidada a diacetilo. Este se revela en presencia de alfa-naftol dando un color rojo-fucsia. (18), (42)

- Agar Citrato

La utilización de citrato como única fuente de carbono es una prueba útil en la identificación de enterobacterias. La utilización de citrato como única fuente de carbono se detecta en un medio de cultivo con citrato como única fuente de carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. Este aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a pH 7,6.

(18), (42)

-Prueba de Movilidad

Esta prueba bioquímica permite identificar bacterias de acuerdo a su movilidad a la reacción de Indol a la descarboxilación de la ornitina.

-Prueba TSI (Triple Sugar Iron ó Triple Azúcar Hierro)

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio. También permite la identificación de la producción de H₂S. (18), (42)

Esta es una prueba específica para la identificación a nivel de género en la familia *Enterobacteriaceae*, con objetivo de diferenciar entre:

- bacterias fermentadoras de la glucosa
- bacterias fermentadoras de la lactosa
- bacterias fermentadoras de sacarosa

-bacterias aerogénicas

-bacterias productoras de H_2S a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre.

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio: Campo, experimental y transversal.

4.1.1 Campo: recolección de muestras, además de utilizar una lista de chequeo, para conocer las condiciones de manipulación y almacenamiento que tienen en los puntos de venta de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador.

4.1.2 Experimental: Determinación de coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, que se desarrolló en el laboratorio de microbiología de alimentos en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

4.1.3 Transversal: Investigación para medir la prevalencia de exposición de las frutas frente a microorganismos patógenos, en un período de un mes.

4.2 Investigación bibliográfica: La investigación bibliográfica se realizó en las bibliotecas de: - Central de la Universidad de El Salvador

- Escuela Nacional de Agricultura (ENA)
- Facultad de Química y Farmacia Dr. Benjamín Orozco
- Facultad de las Ingenierías de la Universidad de El Salvador
- Universidad Alberto Masferrer (USAM)
- Universidad Dr. José Matías Delgado
- Internet

4.3 Investigación de campo:

4.3.1 Universo: Todos los puntos de ventas de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador.

4.3.2 Muestra: Los 11 puestos de frutas ubicados en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador, entre las frutas comercializadas están: mango, piña, sandía, fresa, jocote, melón, papaya, y otras. (Ver cuadro N° 3 y anexo N° 5)

4.3.3 Muestreo: Se llevó a cabo un muestreo aleatorio simple para lo cual se tomaron muestras al azar en 11 puntos diferentes, donde comercializan frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador (ver Anexo N° 1 y N° 5)

Para determinar el número de muestras se efectuó en primer lugar una prueba piloto, en la cual se tomaron muestras como: mango, piña, sandía, fresa, jocote, mamey, melón o papaya de cada puesto por tres semanas, haciendo un total de 33 muestras, analizando en la primera semana 11 muestras repitiendo el procedimiento la segunda y tercera semana.

Cuadro N° 2 Cantidad de muestras en cada punto de venta de frutas.

N°	PUESTOS	Cantidad de frutas comercializadas
1	Portón de Facultad de Química y Farmacia	6
2	Facultad de Ingeniería	3
3	Portón de Facultad de Ingeniería	4
4	Departamento de Seguridad	3
5	Portón de Facultad de Ciencias y Humanidades	3
6	Facultad de Economía	4
7	Facultad de Economía	3
8	Portón de Facultad de Economía	2
9	Entrada principal (Minerva)	4
10	Entrada principal (Minerva)	6
11	Facultad de Medicina	4

4.3.4 Cálculos estadísticos para la determinación del número total de muestras a analizar:

Tamaño de población finito ⁽¹⁷⁾

$$n = \frac{z^2 pq}{d^2}$$

n = Tamaño muestral

Z = Valor correspondiente a la distribución de Gauss 1,96

p = Prevalencia esperada del parámetro a evaluar. En caso de desconocerse, aplicar la opción más desfavorable ($p=0,5$), que hace mayor el tamaño muestral.

$q = 1-p$ ($p= 0.5, q=0.5$)

d = Error que se prevé cometer, para un error del 10%, introduciremos en la fórmula valor 0,1.

El resultado de la prueba piloto servirá como un antecedente para investigaciones posteriores; además se utilizará para aplicar la fórmula y encontrar el número total de muestras a analizar.

Datos obtenidos a partir de la prueba piloto

$Z = 1.96$ (valor obtenido a través de tablas de áreas bajo la curva normal)

Pq = desviación estándar

p = muestras que dieron positiva la prueba = 33 muestras \approx 100% (muestras a las cuales se les determinó que no cumplen con las normas de higiene alimentaria)

q = muestras que dieron negativa la prueba = 0 muestras \approx 0% (muestras a las cuales se les determinó que si cumplen con las normas de higiene alimentaria)

$d = 0.1$ (porcentaje de error que se permite en el estudio)

Sustituyendo en la fórmula:

$$n = \frac{z^2 pq}{d^2}$$

$$n = \frac{1.96^2 (33) (0)}{0.1}$$

$$0.1$$

$$n = 0 \text{ muestras}$$

Interpretación de resultados:

Con los resultados obtenidos en la prueba piloto, y al sustituir estos valores en la fórmula, se demuestra que la representatividad de las muestras analizadas en la prueba piloto son las necesarias para la determinación de la calidad microbiológica de las frutas, ya que al obtener un 100.0% de pruebas positivas y un 0.0% de muestras negativas, se obtiene un resultado de 0.0 en la resolución de la fórmula que da el número de muestras necesarias a analizar, según el estudio y la herramienta estadística.

Debido a que la prueba piloto el 100% de las muestras se encontraron contaminadas con uno o más de los microorganismos en estudio, no será necesario realizar un análisis de muestra posterior a la prueba piloto, ya que así lo indica el método estadístico.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

4.4.1 Procedimiento para el muestreo:

Las muestras fueron tomadas de los 11 puntos de ventas en el interior y alrededores de La Universidad de El Salvador, se colocaron cada una en bolsas tipo ziploc, debidamente identificadas con el número de puesto, y se llevaron en una hielera desinfectada al laboratorio de microbiología de alimentos, en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

Esta metodología se ha tomado de la AOAC. (1)

4.4.2 Preparación de la muestra:

-A cada una de las muestras se les tomó el pH con tiras de papel pH de rango corto. (Ver figura 3)

-Se preparó la dilución 10^{-1} , pesando 25 g de muestra de forma aséptica en una bolsa plástica, luego se le adicionó 225 mL de agua peptonada bufferada (diluyente) y éstas se transfirieron al Stomacher, en el cual se agitó por 2 minutos a 260 rpm, después se colocó en un frasco y esta fue la dilución 10^{-1} . (Ver anexo N° 10)

-La dilución 10^{-2} se realizó tomando 10 mL de la dilución 10^{-1} , con una pipeta estéril (agitar previamente el frasco), luego estos 10 mL se le adicionaron a un frasco de dilución que contenía 90 mL de agua peptonada bufferada estéril (diluyente). (1), (34)

-De igual forma se realizó la dilución 10^{-3} . (Ver anexo N° 10)

4.4.3 Prueba para Coliformes totales. (1), (32), (35)

-A partir de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , se tomó 1 mL para cada uno de 3 tubos (un total de 9 tubos, 3 por dilución) que contenían caldo Fluorogénico (Rapid Hicoliform, marca Himedia).

-Se incubaron los tubos a 35 ± 1 °C por 24 horas.

-Se realizó la lectura, y se observó la presencia de coloración verde azulada, lo cual indicó prueba positiva para coliformes totales. (6) (Ver figura 15)

-De acuerdo al número de tubos positivos se compararon con tablas de NMP.

-Valor máximo permisible para coliformes totales: 93 NMP/g. según el RTCA 67.04.50:08 (22) (Ver anexo N° 8 y 10)

4.4.4 Prueba para Coliformes fecales. (1), (32)

-De los tubos con caldo Fluorogénico (Rapid Hicoliform, marca Himedia) que resultaron positivos, se tomaron 3 asadas con asa de platino, se inoculó en tubos que contenían caldo EC con campanas de Durham.

-Se incubaron estos tubos a 44.5° C por 24 horas en baño de agua.

-La formación de gas en los tubos, indicaba que la prueba fue positiva. (Ver figura 15)

-De acuerdo al número de tubos positivos se compararon con tablas de NMP.

-Valor máximo permisible para Coliformes fecales 93 NMP/g. según el RTCA 67.04.50:08 ⁽²²⁾ (Ver anexo N° 8 y 10)

4.4.5 Prueba para *Escherichia coli*. ^{(1), (6), (32)}

-Los tubos con caldo Fluorogénico, que dieron positiva la prueba para coliformes totales, se les observó la posible presencia de fluorescencia por medio de una lámpara de luz ultravioleta.

-De los tubos que dieron fluorescencia positiva: Se tomó una asada y se sembró en placas con agar EMB, las colonias que dieron brillo metálico indicó prueba positiva para ***E.coli***

-Se les agregó dos gotas de reactivo de kovac, y se observó formación de anillo color violeta. (Ver figura N°17)

-De acuerdo al número de tubos positivos se compararon con tablas de NMP.

-Valor máximo permisible para ***Escherichia coli*** es <3 NMP/g. según RTCA 67.04.50:08 ⁽²²⁾

4.4.6 Determinación de *Salmonella spp*: ⁽³⁶⁾

-A partir de la dilución 10^{-1} de la preparación de la muestra, se tomó 1 mL y colocó en un tubo con caldo de Tetrionato y 0.1 mL en otro tubo conteniendo caldo Rappaport, se incubaron dichos tubos a 35° C por 24 horas. Este fue el enriquecimiento para ***Salmonella spp***.

-De los tubos con caldo Tetrionato y caldo Rappaport, se sembraron en placas con Agar Rambach; además se llevó una placa control para observar las

colonias de ***Salmonella spp.***, las cuales poseen un color rojo en su morfología y así se descartó aquellas colonias que no fueron sospechosas.

-Se incubaron a 35°C por 24 horas. (Se realizó por duplicado). (Ver anexo N° 8 y 10)

-Se seleccionaron las colonias resultantes; que fueron rojas en agar Rambach y se les realizó pruebas bioquímicas:

-Indol

Procedimiento:

Inocular el caldo triptófano con el organismo en estudio e incubar a 35°C durante 18 a 24 horas. Al finalizar este período, añadir 5 gotas de reactivo de Kovacs por la pared interior del tubo.

Resultado:

El desarrollo de un vivo color rojo fucsia en la interfase del reactivo y el caldo, segundos después de añadir el reactivo indica la presencia de indol y una prueba positiva. (11) (28)

-Rojo Metilo

Procedimiento:

Inocular el caldo Rojo Metilo con un cultivo puro de no más de 24 horas del microorganismo en estudio. Incubar a 35°C durante 48 horas. Luego de finalizado el tiempo de incubación agregar unas gotas del reactivo de rojo de metilo.

Resultado:

La prueba es positiva si se desarrolla de un color rojo estable. Esto indica que la producción de ácido es suficiente para producir el viraje del indicador y el microorganismo fermentó la glucosa por la vía de ácido mixta. Un color anaranjado, intermedio entre el rojo y el amarillo no es considerado como positivo. (11) (28)

-Voges Proskauer**Procedimiento:**

Inocular el caldo RMVP con un cultivo puro de no más de 24 horas del microorganismo en estudio. Incubar a 35°C durante 24 horas. Luego de finalizado el tiempo de incubación transferir 1 ml del caldo RMVP a un tubo limpio y agregar 0,6 ml de alfa-naftol al 5% y 0,2 ml de KOH al 40%. Agitar el tubo cuidadosamente para exponer el medio al oxígeno atmosférico y dejarlo reposar durante 10 a 15 minutos.

Resultado:

El desarrollo de un color rojo-fucsia luego de 15 minutos indica la presencia de diacetilo, producto de oxidación de la acetoína y por lo tanto una prueba VP positiva. (11) (28)

- Agar Citrato**Procedimiento:**

Se inocula el agar inclinado en una sola estría en el pico. Utilizar un cultivo de 24 horas en un medio sólido y cuidando no arrastrar medio de cultivo, ya que se pueden producir falsos positivos por crecimiento a partir del medio de cultivo del inóculo. Incubar a 35°C durante 4 días.

Resultado:

El ensayo es positivo cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría, acompañado o no de un viraje del indicador al azul. (11) (28)

-Prueba de Movilidad**Procedimiento:**

Inocular en picada las cepas de microorganismos en el medio de cultivo e incubar por 24 horas a 37°C.

Interpretación y Resultados:

Enturbiamiento del agar: Hay movilidad

Agar transparente desarrollo solo en picada: No hay movilidad (11) (28)

-Prueba TSI (Triple Sugar Iron ó Triple Azúcar Hierro)**Procedimiento:**

Inocular los tubos de TSI con punta. Para ello introducir la punta hasta 3 a 5 mm. del fondo del tubo. Tras retirar el asa del fondo, estriar el pico con un

movimiento hacia uno y otro lado. Incubar a 35° durante 24 horas. Posteriormente se debe medir el pH de los cultivos. (11) (28)

Resultados:

-Pico alcalino/fondo alcalino: No hay fermentación de azúcares. Característica de bacterias no fermentadoras como: ***Pseudomonas spp.***

-Pico alcalino/fondo ácido: Glucosa fermentada, lactosa ni sacarosa fermentadas. ***Shigella spp.***

-Pico alcalino/fondo negro: Glucosa fermentada, ni lactosa ni sacarosa fermentadas, producción de ácido sulfhídrico. ***Salmonella spp.***

-Pico ácido/fondo ácido: Glucosa y lactosa y/o sacarosa fermentadas. Puede producirse H₂S o no. ***Escherichia coli.***

En la determinación de ***Salmonella spp.*** para 25g. de muestra, debe estar ausente; según el RTCA 67.04.50:08 para grupo 4 de “frutas y vegetales frescos”.

CAPITULO V

RESULTADOS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 GUÍA DE OBSERVACIÓN

Se efectuó una guía de observación la cual demuestra si los manipuladores de frutas aplican o no las Buenas Prácticas de Higiene durante la preparación y manipulación de las mismas.

Cuadro Nº 3: Resultados obtenidos a través de la guía de observación.

Nº	Preguntas	% que Cumplen BPH	% que no cumplen BPH
1	¿Protegen las frutas de la contaminación externa antes y después de prepararlas?	27,27%	72,73%
2	¿Se lavan las manos antes de manipular las frutas?	18,18%	81,82%
3	¿Utiliza redecillas para el cabello al preparar las frutas?	9,09%	90,91%
4	¿Usa guantes para preparar las frutas?	0,00%	100,00%
5	¿Lava las frutas antes de prepararlas?	90,91%	9,09%
6	¿Utiliza agua limpia para lavar las frutas?	18,18%	81,82%
7	¿Desinfecta las frutas con solución antibacteriana?	0,00%	100,00%
8	¿Hace uso de tablas para cortar las frutas?	18,18%	81,82%
9	¿Las tablas de cortar están adecuadamente limpias?	18.18%	81.82%
10	¿El lugar de trabajo está limpio?	72,73%	27,27%
11	¿Mantienen limpias las canastas y depósitos para almacenar las frutas ya preparadas?	36,36%	63,64%
12	¿Hace uso del refrigerador para conservar las frutas?	0,00%	100,00%
13	¿Maneja dinero al manipular las frutas?	0,00%	100,00%
14	¿Tienen los sanitarios a una distancia cercana de los puestos de venta?	18,18%	81,82%
15	¿Cuentan agua potable cerca de los puestos de venta?	27,27%	72,73%

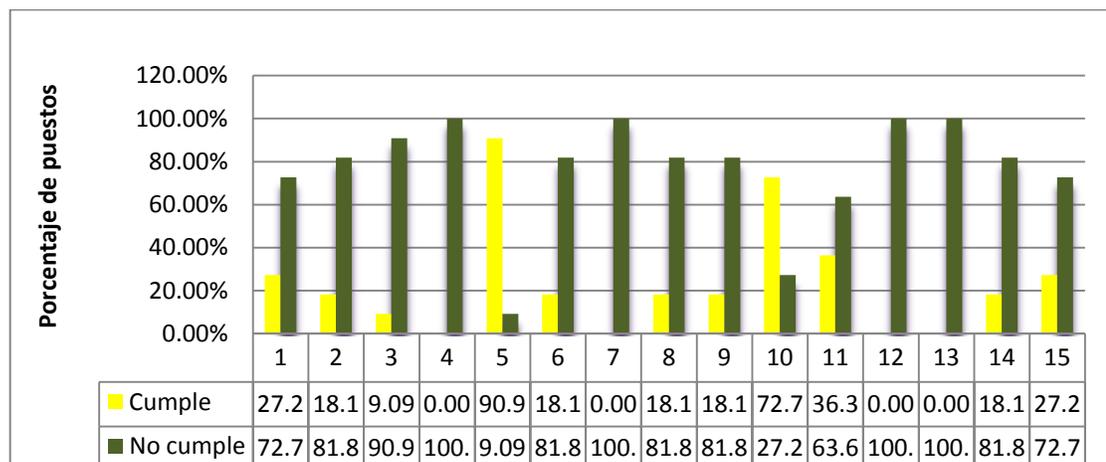


Figura N°1. Grafico de los resultados obtenidos en las guía de observación.

La figura N° 1, Indica que la mayor cantidad de manipuladores de frutas en cada puesto de venta, no cumplen con las Buenas Prácticas Higiénicas para la manipulación de alimentos.

De acuerdo a las observaciones realizadas, se obtuvieron los siguientes resultados:

-El 100% de los manipuladores, no utilizaban guantes para manipular las frutas, no desinfectaban las mismas con solución antibacterial antes de prepararlas, además manipulaban dinero y tenían contacto con la fruta, y no utilizaban refrigerador para conservar las frutas a temperaturas adecuadas.

-El 90.91% lavaban las frutas antes de prepararlas y no utilizaban redecillas en el cabello cuando preparaban las frutas; mientras que un 9.09% utilizaban las redecillas y únicamente una vez a la semana se observó que no hacían uso de éstas.

-El 81.82% de los manipuladores, no se lavaban las manos al manipular las frutas, no utilizaban agua limpia para lavarlas, mientras que un 18.18% si utilizaba agua limpia; además no utilizaban tablas para cortar las frutas y aquellos que las utilizaban no estaban adecuadamente limpias; sólo un pequeño porcentaje (18.18%) estaba cerca de sanitarios inadecuadamente aseados.

-El 72.73%, no protegían las frutas de la contaminación externa antes y después de prepararlas, las áreas de trabajo se encontraban limpias, no contaban con agua potable cerca de los puestos de venta, por tanto muchos de ellos debían almacenarlas en recipientes por varios días; solo un 27.27% si protegían las frutas y contaban con agua potable, pero su área de trabajo no era limpia.

-El 63.64% de los puestos de venta, mantenían limpios los canastos y depósitos donde se almacenaban las frutas preparadas; mientras que un 36.36% no los mantenían limpios.

Por lo tanto según los resultados obtenidos en la guía de observación se puede mencionar que los manipuladores de frutas toman en cuenta ciertas medidas de higiene, pero no cumplen con las buenas prácticas higiénicas y de manipulación en su totalidad.



Figura N° 2. Inadecuada manipulación de las frutas.

5.2 DETERMINACIÓN DEL pH DE LAS 33 MUESTRAS DE FRUTAS.

Se midió el pH de las 33 muestras de frutas, utilizando papel pH de rango corto.

A continuación se presenta los resultados obtenidos para cada una de ellas:

Cuadro N° 4: Diferentes pH que presentan las frutas analizadas

Nº de Muestra	Tipo de muestra	pH
01	Papaya	5
02	Sandía	5
03	Melón	7
04	Sandía	5
05	Piña	3
06	Fresa	5
07	Mango	4
08	Sandía	5
09	Mango	5
10	Papaya	5
11	Tutifruti	5
12	Piña	4
13	Papaya	5
14	Melón	7
15	Mamey	4
16	Arrayan	1

Cuadro N° 4 (Continuación)

N° de Muestra	Tipo de muestra	pH
17	Mango	4
18	Jocote	4
19	Sandía	4
20	Papaya	5
21	Melón	7
22	Tutifruti	5
23	Mamey	4
24	Sandía	5
25	Manzana	5
26	Papaya	4
27	Nance	5
28	Melón	7
29	Sandía	5
30	Tutifruti	4
31	Mango	4
32	Mango	5
33	Jocote	4

En el cuadro N° 4 se puede observar que la mayoría de las frutas tenían un pH igual o superior a 4, solo dos de ellas (muestra 5 y 16, piña y arrayán respectivamente) tenían un pH inferior a 4.0, por lo que no presentaron crecimiento de microorganismos patógenos; según reporta la bibliografía. (43)



Figura N° 3. Toma de pH con papel de rango corto.

La mayoría de las bacterias patógenas crecen generalmente, en los alimentos que poseen un pH mayor de 4.5; en el análisis se observó que en las frutas que

tenían pH de inferior a 4.0 no se registró crecimiento de microorganismos patógenos, mientras que a pH superior a 4.0 sí se observó crecimiento.

Cabe recalcar que el pH fue tomado con papel de rango corto el cual no marca un pH tan exacto.

5.3 RECUENTO DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES

Se realizó recuento de coliformes totales utilizando caldo fluorogénico (Rapid Hicoliform, marca Himedia), obteniéndose los siguientes resultados:

Cuadro Nº 5: Resultados obtenidos en el recuento de coliformes totales con caldo fluorogénico.

Limite Microbiológico establecido por el RTCA 67.04.50.08			93 NMP/100mL
Nº de Muestra	Tipo de muestra	NMP/100mL	Resultados
01	Papaya	>1100 NMP/mL	No conforme
02	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme
03	Melón	>1100 NMP/mL	No conforme
04	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme
05	Piña	150 NMP/mL	No conforme
06	Fresa	>1100 NMP/mL	No conforme
07	Mango	460 NMP/mL	No conforme
08	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme
09	Mango	210 NMP/mL	No conforme
10	Papaya	>1100 NMP/mL	No conforme
11	Tutifruti	>1100 NMP/mL	No conforme
12	Piña	460 NMP/mL	No conforme
13	Papaya	>1100 NMP/mL	No conforme
14	Melón	240 NMP/mL	No conforme
15	Mamey	240 NMP/mL	No conforme
16	Arrayan	150 NMP/mL	No conforme
17	Mango	>1100 NMP/mL	No conforme
18	Jocote	1100 NMP/mL	No conforme
19	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme
20	Papaya	>1100 NMP/mL	No conforme
21	Melón	>1100 NMP/mL	No conforme
22	Tutifruti	>1100 NMP/mL	No conforme
23	Mamey	1100 NMP/mL	No conforme
24	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme

Cuadro N° 5 (Continuación)

N° de Muestra	Tipo de muestra	NMP/100mL	Resultados
25	Manzana	460 NMP/mL	No conforme
26	Papaya	>1100 NMP/mL	No conforme
27	Nance	>1100 NMP/mL	No conforme
28	Melón	>1100 NMP/mL	No conforme
29	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme
30	Tutifruti	>1100 NMP/mL	No conforme
31	Mango	>1100 NMP/mL	No conforme
32	Mango	>1100 NMP/mL	No conforme
33	Jocote	>1100 NMP/mL	No conforme

Para todas las muestras analizadas, los resultados obtenidos en el caso de coliformes totales fueron positivos, obteniéndose valores de 150 a >1100 NMP/mL para cada una de las muestras, el RTCA 67.04.50:08, especifica que las muestras deben dar resultados menores o iguales a 93 NMP/100mL. El crecimiento de coliformes totales en las frutas indica que han sido expuestas a contaminación cuya procedencia puede ser de origen fecal, ya sea del lugar donde son cultivadas, el agua que utilizan para el riego, o el agua que utilizan los manipuladores para preparar las frutas, los recipientes que son utilizados y no son adecuadamente desinfectados; pero también pueden proceder del suelo y en algunos casos por la presencia de basureros y sanitarios cerca de los puestos de trabajo. (Ver anexo N° 13)



Figura N° 4: Recuento de Bacterias Coliformes Totales con caldo fluorogénico.

En la Identificación de Coliformes Totales se utilizó caldo fluorogénico (Rapid Hicoliform), el cual posee una alta calidad nutritiva y produce un viraje de color del caldo que originalmente fue de color amarillo pero que al crecer bacterias coliformes totales cambia a color verde.

5.4 RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES FECALES

Se les realizó recuento de coliformes fecales a las 33 muestras de frutas, utilizando caldo EC con campanas de Durham, obteniéndose los siguientes resultados:

Cuadro N° 6: Resultados obtenidos para coliformes fecales, con caldo EC.

Limite Microbiológico establecido por el RTCA 67.04 50:08			93 NMP/100mL
N° de Muestra	Tipo de muestra	NMP/100mL	Resultados
01	Papaya	150 NMP/mL	No Conforme
02	Sandía	150 NMP/mL	No Conforme
03	Melón	210 NMP/mL	No conforme

Cuadro N° 6 (Continuación)

N° de Muestra	Tipo de muestra	NMP/100mL	Resultados
04	Sandía	150 NMP/mL	No Conforme
05	Piña	<3 NMP/mL	Conforme
06	Fresa	210 NMP/mL	No Conforme
07	Mango	460 NMP/mL	No conforme
08	Sandía	210 NMP/mL	No conforme
09	Mango	210 NMP/mL	No conforme
10	Papaya	460 NMP/mL	No conforme
11	Tutifruti	>1100 NMP/mL	No conforme
12	Piña	210 NMP/mL	No conforme
13	Papaya	1100 NMP/mL	No conforme
14	Melón	240 NMP/mL	No conforme
15	Mamey	240 NMP/mL	No conforme
16	Arrayan	<3 NMP/mL	conforme
17	Mango	150 NMP/mL	No conforme
18	Jocote	460 NMP/mL	No conforme
19	Sandía	>1100 NMP/mL	No conforme
20	Papaya	1100 NMP/mL	No conforme
21	Melón	1100 NMP/mL	No conforme
22	Tutifruti	>1100 NMP/mL	No conforme
23	Mamey	150 NMP/mL	No conforme
24	Sandía	210 NMP/mL	No conforme
25	Manzana	150 NMP/mL	No conforme
26	Papaya	>1100 NMP/mL	No conforme
27	Nance	>1100 NMP/mL	No conforme
28	Melón	1100 NMP/mL	No conforme
29	Sandía	1100 NMP/mL	No conforme
30	Tutifruti	460 NMP/mL	No conforme
31	Mango	460 NMP/mL	No conforme
32	Mango	1100 NMP/mL	No conforme
33	Jocote	150 NMP/mL	No conforme

En el cuadro N° 6 se observan los resultados para coliformes fecales, en el cual se obtuvieron valores mayores de 93 NMP/100mL; estos se encuentran fuera de los límites establecidos por la norma RTCA 67.04.50:08, que deben ser menores o iguales a 93 NMP/100mL; los que confirman que la contaminación fecal es de origen humano o animal, la cual puede deberse a la contaminación que podría existir desde el cultivo de las mismas a través del agua de riego y abono empleado; ya que los agricultores no toman en cuenta el riesgo

ocasionado a la salud al no cumplir con las buenas prácticas agrícolas, además de una inadecuada higiene por parte de los manipuladores luego de utilizar los sanitarios, mesas de trabajo contaminadas o de manipular dinero y la utilización de agua contaminada con la que se lavan las frutas.



Figura N° 5: Recuento de Bacterias coliformes fecales en caldo EC.

En la figura N° 5, se observa la formación de gas en la campana de Durham, este resultado indica prueba positiva para bacterias coliformes fecales.



Figura N° 6: Prueba preliminar para identificación de *E. coli*.

En la figura N° 6. Se observa la fluorescencia utilizando la lámpara de luz UV para los tubos que dieron prueba positiva con caldo fluorogénico, lo cual indica posible presencia de *E. coli*

5.5 IDENTIFICACION DE *Escherichia coli*.

Se identificó la presencia de *Escherichia coli*, utilizando placas con agar EMB.

A continuación se presentan los resultados obtenidos:

Cuadro Nº 7: Resultados de Identificación de *Escherichia coli*.

Identificación de <i>E. coli</i>	Criterio microbiológico RTCA 67.04. 50:08 <3NMP/g			
	Nº de Muestra	Tipo de muestra	Determinación de <i>E. coli</i>	Resultados
01	Papaya		150 NMP/mL	No conforme
02	Sandía		150 NMP/mL	No conforme
03	Melón		210 NMP/mL	No conforme
04	Sandía		150 NMP/mL	No conforme
05	Piña		<3 NMP/mL	conforme
06	Fresa		210 NMP/mL	No conforme
07	Mango		460 NMP/mL	No conforme
08	Sandía		210 NMP/mL	No conforme
09	Mango		210 NMP/mL	No conforme
10	Papaya		460 NMP/mL	No conforme
11	Tutifruti		>1100 NMP/mL	No conforme
12	Piña		210 NMP/mL	No conforme
13	Papaya		1100 NMP/mL	No conforme
14	Melón		240 NMP/mL	No conforme
15	Mamey		240 NMP/mL	No conforme
16	Arrayan		<3 NMP/mL	Conforme
17	Mango		150 NMP/mL	No conforme
18	Jocote		460 NMP/mL	No conforme
19	Sandía		>1100 NMP/mL	No conforme
20	Papaya		1100 NMP/mL	No conforme
21	Melón		1100 NMP/mL	No conforme
22	Tutifruti		>1100 NMP/mL	No conforme
23	Mamey		150 NMP/mL	No conforme
24	Sandía		210 NMP/mL	No conforme
25	Manzana		150 NMP/mL	No conforme
26	Papaya		210 NMP/mL	No conforme
27	Nance		1100 NMP/mL	No conforme
28	Melón		1100 NMP/mL	No conforme
29	Sandía		460 NMP/mL	No conforme
30	Tutifruti		460 NMP/mL	No conforme
31	Mango		1100 NMP/mL	No conforme
32	Mango		150 NMP/mL	No conforme
33	Jocote		150 NMP/mL	No conforme

En el cuadro N° 7, se observa que en la mayoría de las frutas se identificó presencia de *E.coli*, a excepción de la muestra N° 5 de piña y la muestra N° 16 de arrayán en las cuales no se encontró *E.coli*, debido al pH ácido (inferior a 4.0) que las muestras presentaban. (Ver cuadro N° 4)



Figura N° 7: Identificación de *E. coli* en placas con agar EMB.

En la figura N° 7. Se observa resultado positivo en la mayoría de las muestras de frutas dando colonias con brillo metálico las cuales son características para *E. coli*.



Figura N° 8: Prueba confirmativa con reactivo de Kovac para identificación de *E. coli*.

En la figura N° 8. Se observa la formación de un anillo color violeta, que indica prueba positiva para *E. coli*.

5.6 IDENTIFICACION DE *Salmonella spp.*

Se identificó la presencia de *Salmonella spp.* en dos muestras de frutas.

A continuación se muestran los resultados obtenidos:

Cuadro N° 8. Características claves para identificación de *Salmonella spp.* y resultados de pruebas bioquímicas.

Características claves para la identificación de <i>Salmonella spp.</i>									
M.O	TSI	GAS	H ₂ S	RM	VP	IND	CIT	MOV	
<i>Salmonella spp.</i>	K/A	+	+	+	-	-	+	+	
Resultados de pruebas bioquímicas para identificación de <i>Salmonella spp.</i>									
Nº de puesto	Muestra	TSI	GAS	H ₂ S	RM	VP	IND	CIT	MOV
6	Tutifruiti	K/A	+	+	+	-	-	+	+
10	Papaya	K/A	+	+	+	-	-	+	+

En el cuadro N° 8 Se observan las característica claves para la identificación de *Salmonella spp.* Además se encuentra plasmado el resultado de las muestras 10 y 11 (papaya y tutifruiti respectivamente) que resultaron positivos para *Salmonella spp.* En la investigación de *Enterobactereaceas* a través de pruebas bioquímicas, lo cual indica que las frutas han sido contaminadas por el uso de aguas contaminadas con heces de animales o humanos, una inadecuada higiene por parte de los manipuladores luego de utilizar los sanitarios, mesas de trabajo contaminadas o de manipular dinero; por tanto no cumplen con los parámetros de inocuidad microbiológica, ya que en 25 gramos de muestra de frutas debe estar ausente. (Ver anexo 8)

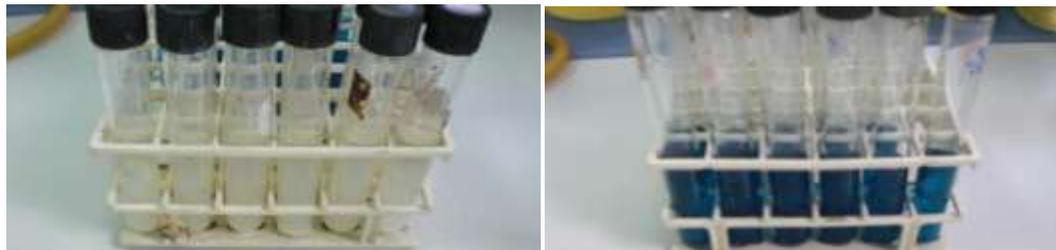


Figura N° 9: Tubos con caldo Rappaport (izquierda) y tubos con caldo tetratonato (derecha), para el enriquecimiento de *Salmonella spp.*

Para el enriquecimiento se utilizó caldo Rappaport y caldo Tetratonato, los cuales favorecieron el crecimiento óptimo de todos los serotipos de *Salmonella spp.*, el objeto de utilizar éstos dos medios es permitir su recuperación, debido a que éste microorganismo se encuentra en bajas concentraciones. A partir del enriquecimiento en los medios mencionados anteriormente, se sembró cada muestra en placas con agar Rambach.



Figura N° 10: Identificación de *Salmonella spp.* en placas con agar Rambach.
 a) Colonias rojas: *Salmonella spp.* b) Colonias verdes: *Citrobacter spp.* o *Klebsiella spp.* c) Colonias moradas: Bacterias coliformes

Se realizó la identificación de las colonias encontradas en cada medio, teniendo en cuenta las características de *Salmonella spp.* colonias que serían utilizadas para la identificación bioquímica. (Ver anexo 6 y 7)

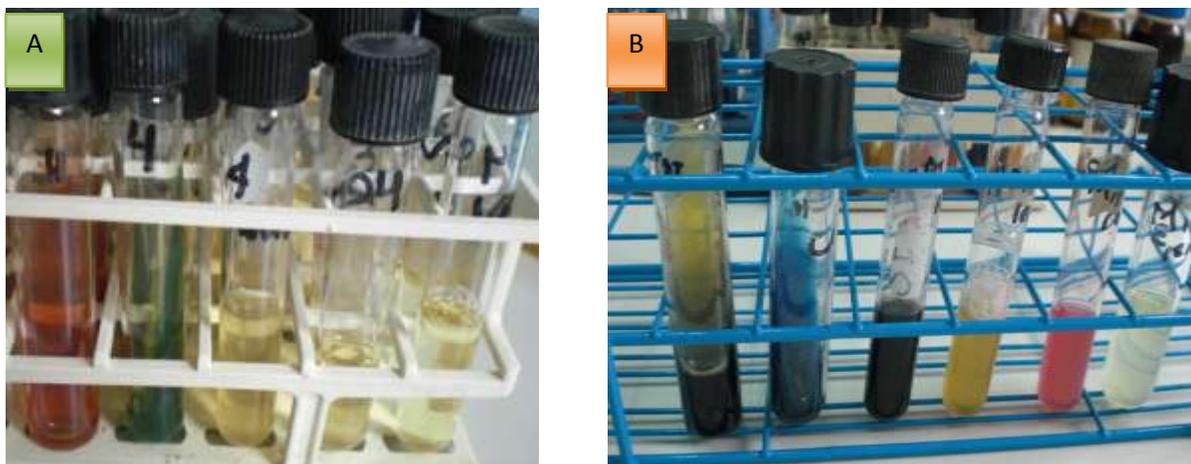


Figura N° 11. Pruebas Bioquímicas: a) Antes de inocular las colonias sospechosas de *Salmonella spp.* b) Resultados obtenidos a partir de colonias de *Salmonella spp.*

En la figura N° 11(B). Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*, en la cual se muestra de izquierda a derecha: TSI: K/A, gas positivo, H₂S positivo; citrato: positivo, movilidad: positiva, voges proskahuer: negativo, rojo de metilo: positivo, Indol: negativo.

Cuadro N° 9. Porcentaje de muestras de frutas analizadas que no cumplen el RTCA 67.04 50:08 para frutas.

MUESTRAS DE FRUTAS SELECCIONADAS	PORCENTAJE
Muestras que cumplen	0.00%
Muestras que no cumplen	100.00%

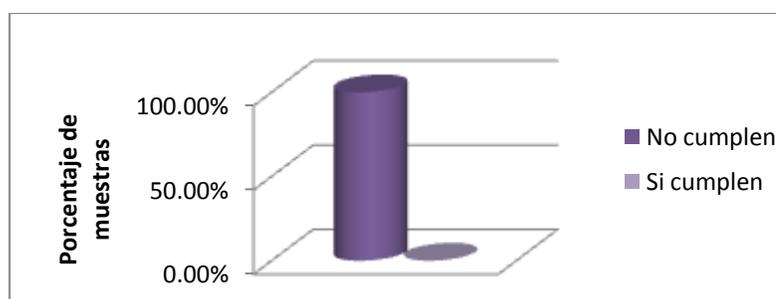


Figura N° 12. Grafico del porcentaje de muestras de frutas analizadas que no cumplen con el RTCA 67.04 50:08 para frutas.

En la figura N° 12, se muestra que el 100% de las frutas analizadas no cumplen con la calidad microbiológica establecidas por el RTCA 67.04 50:08 para frutas; por tanto el consumo de ellas podría causar patologías gastrointestinales para los consumidores.

Cuadro N° 10. Cuadro resumen de todos los análisis incluyendo el pH de las 33 muestras de frutas.

Nº de Muestra	Tipo de muestra	pH	Coliformes totales NMP/ 100mL	Coliformes fecales NMP/ 100mL	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>
01	Papaya	5	>1100	150	150	Ausencia
02	Sandía	5	>1100	150	150	Ausencia
03	Melón	7	>1100	210	210	Ausencia
04	Sandía	5	>1100	150	150	Ausencia
05	Piña	3	150	<3	<3	Ausencia
06	Fresa	5	>1100	210	210	Ausencia
07	Mango	4	460	460	460	Ausencia
08	Sandía	5	>1100	210	210	Ausencia
09	Mango	5	210	210	210	Ausencia
10	Papaya	5	>1100	460	460	Presencia
11	Tutifruti	5	>1100	>1100	>1100	Presencia
12	Piña	4	460	210	210	Ausencia
13	Papaya	5	>1100	1100	1100	Ausencia
14	Melón	7	240	240	240	Ausencia
15	Mamey	4	240	240	240	Ausencia
16	Arrayan	1	150	<3	<3	Ausencia
17	Mango	4	>1100	150	150	Ausencia
18	Jocote	4	1100	460	460	Ausencia
19	Sandía	4	>1100	>1100	>1100	Ausencia
20	Papaya	5	>1100	1100	1100	Ausencia
21	Melón	7	>1100	1100	1100	Ausencia
22	Tutifruti	5	>1100	>1100	>1100	Ausencia
23	Mamey	4	1100	150	150	Ausencia
24	Sandía	5	>1100	210	210	Ausencia
25	Manzana	5	460	150	150	Ausencia
26	Papaya	4	>1100	>1100	>1100	Ausencia
27	Nance	5	>1100	>1100	>1100	Ausencia
28	Melón	7	>1100	1100	1100	Ausencia
29	Sandía	5	>1100	1100	1100	Ausencia
30	Tutifruti	4	>1100	460	460	Ausencia
31	Mango	4	>1100	460	460	Ausencia
32	Mango	5	>1100	1100	1100	Ausencia
33	Jocote	4	>1100	150	150	Ausencia

En el cuadro N° 10 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en el análisis de diferentes frutas, comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador; en el que se puede observar que en la mayoría de las muestras se obtuvieron valores >93 NMP/mL para coliformes totales y

coliformes fecales, también se identificó la presencia ***E.coli***, y solo en la muestra N° 10 y N° 11 (papaya y tutifruti), se identificó ***Salmonella spp.*** los cuales están fuera del límite establecido por el RTCA 68.04.50:08 para el grupo 4.0 de frutas y vegetales frescos; únicamente en la muestra N° 5 y N° 16 (piña y arrayan, respectivamente) no hubo crecimiento de microorganismos patógenos, debido al pH ácido (inferior a 4.0), que éstas presentaban.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. De acuerdo con los resultados obtenidos en la guía de observación se demuestra que los manipuladores no cumplen con las condiciones higiénicas para la venta de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador.
2. Las frutas que se comercializan son expuestas a condiciones inadecuadas, ya que no se mantienen en refrigeración de esta manera sufren cambios bruscos de temperatura, lo que acelera el proceso de descomposición generando reproducción bacteriana.
3. En algunas muestras de frutas no hubo desarrollo de microorganismos patógenos, debido al pH inferior a 4.0 que presentaron; y generalmente en los alimentos que muestran pH menores de 4.5 no hay crecimiento de estos.
4. La alta concentración de coliformes totales, muestra que las frutas comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador, sufren contaminación al ser lavadas con agua reutilizada, retenida en recipientes contaminados con heces de origen humano o animal, uso de utensilios no desinfectados y focos de contaminación cercanos al lugar de su manipulación.

5. Las frutas pudieron haber sido contaminadas desde su cultivo, con el agua de riego, abono de origen orgánico utilizado o por polvo contaminado con heces de animales o humanos que llegan a las frutas directamente o a través del aire; también durante su transporte o almacenamiento.
6. De las muestras analizadas, el 18.18% se encontró presente la ***Salmonella spp.***, microorganismo patógeno que debe estar ausente, ya que se encuentra presente en heces humanas y animales; por lo que las frutas contaminadas con esta bacteria puede producir brotes de salmonelosis, siendo éste un riesgo para la salud de los consumidores.
7. La cantidad de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y ***E. coli*** obtenida en cada uno de los análisis de las frutas seleccionadas; no se encuentran dentro de los parámetros de calidad establecidos por el RTCA 67.04 50:08 para frutas, por lo tanto no son aptas para el consumo humano.
8. Los resultados obtenidos con la guía de observación demostraron que los manipuladores de frutas, no realizan prácticas higiénicas tanto personales como para la desinfección de las frutas, lo cual se ve reflejado en los resultados obtenidos en el análisis microbiológico, por lo tanto se pone en riesgo la salud de los consumidores.

9. Los resultados de los análisis realizados a partir de las muestras de frutas comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador, indica que pueden ser consideradas como fuentes de contaminación, causando serios daños a la salud en la población universitaria.

10. El grado de aceptación del tríptico informativo resulto un 100% aceptable por los manipuladores debido a que muchos de ellos dijeron desconocer algunas prácticas de higiene que estaban plasmadas en él.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. A las instituciones competentes, que realicen monitoreo periódicamente en los puestos de comercialización de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador y evalúen la calidad microbiológica de las frutas, con el objeto de garantizar que no exista un riesgo de contaminación por parte de los manipuladores y por presencia de focos de contaminación cercanos a los puestos donde son comercializadas.
2. A las autoridades de Bienestar Universitario, que a través de proyección social de estudiantes y docentes de la Facultad de Química y Farmacia impartan capacitaciones sobre las buenas prácticas higiénicas que deben realizar los manipuladores de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador; para garantizar alimentos con alta calidad.
3. A las autoridades de Bienestar Universitario que evalúen la posibilidad de implementar programas dirigidos a los manipuladores de frutas, para capacitarlos y proporcionarles material educativo de manera que hagan uso correcto de las Buenas Prácticas Higiénicas y de Manipulación; además concientizarlos de los riesgos a los que son expuestos los consumidores al no tomar las medidas adecuadas.

4. A las autoridades de la Universidad de El Salvador que gestionen con la alcaldía o unidad de salud correspondiente para que inspeccionen las condiciones en las que se encuentran los puestos de comercialización de frutas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador, y autoricen a aquellos que cumplan con las Buenas Prácticas Higiénicas.
5. A las autoridades correspondientes, vigilar que los puestos de comercialización de frutas autorizados, cumplan constantemente las Buenas Prácticas Higiénicas y de Manipulación de alimentos.
6. A los catedráticos y estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia, que realicen seguimiento en estas investigaciones para llevar un registro de control sanitario de las frutas comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador.

8.0 BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. (Official methods of analysis of the association of official analytical chemists). 1998. Food and Drug Administration Bacteriological Analytical (BAM). 8 ed. Estados Unidos de América.
2. Castellón K. y otros. 2009. Determinación de la inocuidad microbiológica de refrescos artesanales a base de frutas comercializados en los diferentes mercados del centro histórico de San Salvador. Trabajo de Graduación Lic. En Química y Farmacia. El Salvador. Universidad de El Salvador. 16p.
3. Desrosier N. 2,000. Conservación de alimentos. 2 ed. México. Editorial continental. 93p.
4. Forsythe S. y otros. 2002. Higiene de los alimentos Microbiología y HACCP. Zaragoza España. Editorial acribia. 23-28, 62-64, 133-135, 165-175 p.
5. Frazier W. C. 2003. Microbiología de alimentos. 4 ed. Zaragoza España. Editorial Acribia, S.A. 259-286p.
6. García, M^a. 2000. Microorganismos de los alimentos; Técnicas de laboratorio microbiológico. v.1; 2 ed. Zaragoza España. Editorial Acribia.
7. Gómez P. y otros. 2005. Revista de tecnología e higiene de los alimentos, ISSN 0300-5755, N° 335: 69-74.
8. Helen C. 1987, Tecnología de los alimentos, 1ed. México, Editorial Limusa, 637, 648-649, 661, 666p.

9. Jawetz y otros. 1992. Microbiología Médica. 14 ed. México. Editorial el manual moderno. 229p.
10. Jay M. 2002. Microbiología moderna de los alimentos. 4 ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 123-132p.
11. Konem E.W, y otros. 2003. Diagnostico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana, Madrid España. 197p.
12. Madrid A. y otros. 2001. Nuevo Manual de Industria alimentaria. 6 ed. Madrid, España. Editorial AMV. 72, 80-83, 88p.
13. Manual DIFCO. Medios de cultivo deshidratados y reactivos para microbiología. 1984. 10ª Edición. United States of America. 108p
14. Manuales para educación agropecuaria. Elaboración de frutas y hortalizas. 2007. 3ª edición, editorial Trillas, México. 15, 29-30p.
15. Muller G. 1981. Microbiología de los alimentos vegetales, Zaragoza España Editorial Acribia. 3-6p.
16. Pelczar y otros. 1982. Microbiología. 4 ed. México D.F. Editorial Mc Graw-Hill. 525-528p.
17. Stevenson W. 1981. Estadística para Administración y Economía, conceptos y aplicaciones. México. Avelar editores. 186-191p.
18. Talaro K. y otros. 1992. Microbiology. 2 ed. United States of America. 615, 834p.
19. Arzú O. y otros. Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del

Nordeste Argentino. Consultado el 5 de febrero de 2010. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/04-Veterinarias/V-063.pdf>.

20. Ávila G. y otros. 2004. Programa Estatal de Inocuidad en Frutas y Hortalizas. Consultado el 22 de Enero de 2010. Disponible en: <http://www.ciad.mx/boletin/Sepoct04/progrestatal.pdf>.
21. Calderón G. 2005. Estudio de caso – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador. Consultado el 16 de Enero de 2010. Disponible en: <http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s03.pdf>.
22. COMIECO (Consejo de Ministros de Integración Económica). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Consultado el 4 de Abril de 2010. Disponible en: <http://www.reglatec.go.cr/descargas/RTCAcriteriosmicrobiologicosSV02-08.pdf>.
23. Esiekpe Mk. y otros. 2009. Evaluación bacteriológica de frutas pre-cortadas vendidas en Kano Metropolis, estado de Kano, Nigeria. Consultado el 8 de marzo de 2010. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20000065>
24. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y alimentación). 2004. Mejoramiento de la calidad e inocuidad de las frutas y hortalizas frescas: un enfoque práctico. Consultado el 6 Marzo de 2010. Disponible en: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/meetings/2004/bolivia_report.pdf.
25. FDA (Food and Drug Administration). 1998. Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, en el caso de frutas y vegetales frescos.

Consultado el 19 de Marzo de 2010. Disponible en: <http://www.infoagro.net/shared/docs/a5/Cfryyh6.pdf>.

26. Harrison J. y otros. 2003. Prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Consultado el 27 de Enero de 2010. Disponible en: <http://www.fcs.uga.edu/pubs/pdf/fdns-e-sp-4.pdf>

27. Instituto Colombiano Agropecuario. 2004. Consultado el 17 de febrero de 2010. Disponible en: <http://www.gobant.gov.co/organismos/agricultura/papa/cadena%20papa/proyecto%20de%20inocuidad.pdf>

28. NSW Health. 2008. La Salmonelosis. Consultado el 5 de abril de 2010. Disponible en: http://www.health.nsw.gov.au/mhcs/publication_pdfs/7190/DOH-7190-SPA-pdf.

29. OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria). 2002. Manual técnico sobre inocuidad de frutas y hortalizas frescas. Consultado el 20 de Enero de 2010. Disponible en: <http://ns1.oirsa.org.sv/aplicaciones/subidoarchivos/bibliotecavirtual/manual>

30. OMS-OPS (Organización Mundial de la Salud - Organización Panamericana de la Salud). Sistema de información regional para la vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (sirve-eta). 1995. Consultado el 10 de marzo de 2010. Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/listasvsp/protocolos/protocolos%vigilancia%20vigilancia%20en%20Salud%20P%C3%BAblica/enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.pdf>.

31. Sardoy G. Normas para la higiene y adecuada manipulación de los alimentos. Consultado el 23 de Marzo de 2010. Disponible en: <http://www.nutrisalud.com.ar/articulos/manipulaciondealimentos.php>
32. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial Mexicana. 1987. México. Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-42-1987. Calidad del agua determinación de Numero Más Probable (NMP) de Coliformes totales, fecales (termotolerantes) y ***Escherichia coli*** presuntiva. Consultada el 5 de Abril de 2010. Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/normasmexicanasvigentes/NMX-A-042-1987.pdf>.
33. Secretaria de salud Mexicana. 1994. México. Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994. Practicas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Consultada el 9 de abril de 2010. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>.
34. Secretaria de salud Mexicana. 1994. México. Norma Oficial Mexicana. NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Consultada el 9 de abril de 2010. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>.
35. Secretaria de salud Mexicana. 1994. México. Norma Oficial Mexicana. NOM-112-SSA1-1994. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. Consultada el 9 de abril de 2010. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/112ssa14.html>.

36. Secretaría de salud Mexicana. 1994. México. Norma Oficial Mexicana. NOM-114-SSA1-1994. Método para la determinación de **Salmonella** en alimentos. Consultada el 9 de abril de 2010. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html>.
37. Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 1994. Protocolo de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos. Consultado el 23 de febrero de 2010. Disponible en: www.saludcapital.gov.co/.../Protocolos%20Vigilancia%20en%20Salud%20Pública/.Sepoct04/progrestatal.pdf.
38. Texas Department of State Health Services. Enfermedades transmitidas por alimentos. Consultado el 4 de febrero de 2010. Disponible en: http://www.dshs.state.tx.us/preparedness/foodborne_illness-spanish.pdf.
39. Universidad de Navarra. Consultado el 19 de febrero de 2010. Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/000introduccion%20micro%20alimentos.htm>
40. Viñas I. y otros. 2002. Evaluación de los posibles riesgos químicos y microbiológicos durante la producción y el procesado de manzanas “Golden Delicious” de la zona de Lleida. Consultado el 23 de febrero de 2010. Disponible en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/66/965/66965.pdf>.
41. http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA53/ResWHA53/s15.pdf. Asamblea mundial de la salud. Inocuidad de Alimentos. Consultado el 16 de Abril de 2010.
42. <http://es.wikipedia.org/wiki/Fruta>. Consultado el 16 de Enero de 2010.

43. <http://www.calidadalimentaria.net/bacterias.php>. Consultado el 20 de julio de 2010.

GLOSARIO ⁽⁴⁾ (30) (42)

- **Acido cítrico:** Es un ácido orgánico tricarboxílico que está presente en la mayoría de las frutas, sobre todo en cítricos como el limón y la naranja. Su fórmula química es $C_6H_8O_7$. Es un buen conservante y antioxidante natural que se añade industrialmente como aditivo en el envasado de muchos alimentos como las conservas de vegetales enlatadas.
- **Acido málico:** El malato ($C_4H_6O_5$) en su forma ionizada, (del latín *Malus domestica* que significa manzana) es uno de los ácidos más abundantes de la naturaleza y es fácilmente metabolizable por los microorganismos.
- **Antioxidante:** Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante.
- **Buenas prácticas de Manipulación:** Son los procedimientos mínimos exigidos en el mercado nacional e internacional en cuanto a higiene y manipulación de alimentos, para garantizar la calidad de estos.
- **Calidad:** Conjunto de propiedades y características de un producto, que satisfacen las necesidades específicas de los consumidores.

- **Contaminación cruzada:** proceso por el cual los microorganismos son trasladados -mediante personas, equipos y materiales- de una zona sucia a una limpia, posibilitando la contaminación de los alimentos.
- **Desinfección:** Eliminación o reducción del número de microorganismos a un nivel que no propicie la contaminación nociva del alimento, mediante el uso de agentes químicos o métodos físicos higiénicamente satisfactorios, sin menoscabo de la calidad del alimento.
- **ETA's:** enfermedades transmitidas por los alimentos o aguas contaminadas, productos adulterados que afectan la salud de los consumidores.
- **Fitopatógenos:** microorganismo, que causa enfermedades en las plantas por medio de disturbios en el metabolismo celular causado por la secreción de enzimas, toxinas, fitoreguladores y otras sustancias y, además, por la absorción de nutrientes de la célula para su propio crecimiento.
- **Higiene:** Todas las medidas necesarias para asegurar la inocuidad y salubridad del alimento en todas las fases, desde la recepción, producción o manufactura, hasta su consumo final.

- **Limpieza:** Eliminación de tierra, residuos de alimentos, polvo, grasa u otra materia objetable.

- **Manipulador de alimentos:** toda persona que manipule directamente los alimentos, equipos, utensilios o superficies que entren en contacto con los mismos.

De estas personas se espera, por tanto, cumplan con los requerimientos de higiene para los alimentos.

- **Microorganismos patógenos:** microorganismos capaces de producir enfermedades.

- **Saprophyte:** Dependencia que muchos organismos tienen para su nutrición de los residuos procedentes de otros organismos.



ANEXOS

ANEXO Nº 1

Mapa de los puntos de muestreo de la Universidad de El Salvador

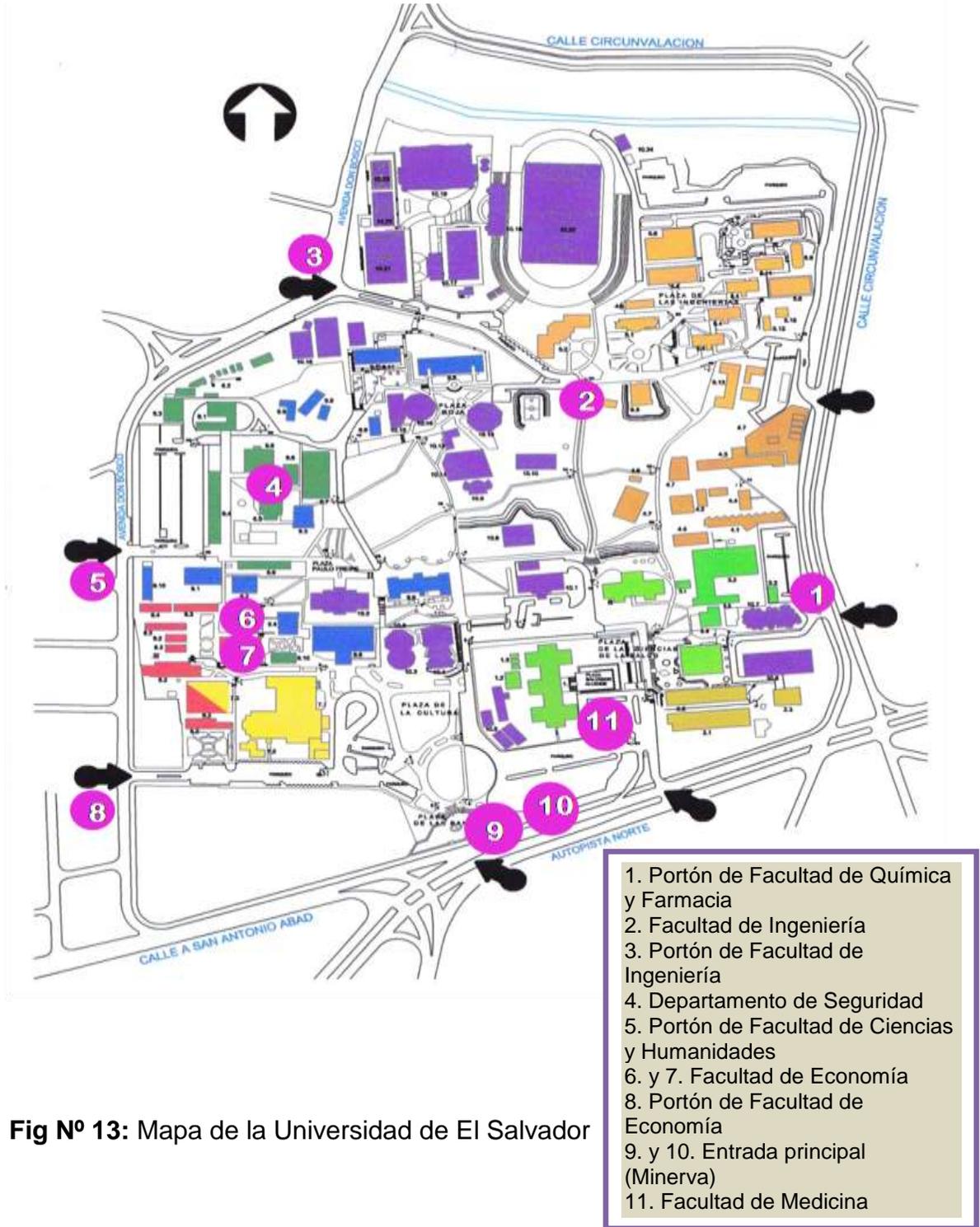


Fig Nº 13: Mapa de la Universidad de El Salvador

ANEXO N° 2

TABLA N° 1. Puntos de muestreo de frutas, en las instalaciones de la Universidad de El Salvador y alrededores.

N° DE PUESTOS	PUNTOS DE MUESTREO	TIPO DE MUESTRAS
1	Portón de Facultad de Química y Farmacia	Piña, melón, mango, jocote, sandía, mamey, tutifruti.
2	Facultad de Ingeniería	Jocote, papaya, fresas, arrayán, mango.
3	Portón de Facultad de Ingeniería	Jocote, piña, sandía, mango, papaya.
4	Departamento de Seguridad	Jocote, sandía y papaya.
5	Portón de Facultad de Ciencias y Humanidades	Piña, papaya, sandía, mango, melón.
6	Facultad de Economía	Mango, papaya, melón, sandía, tutifruti, nance.
7	Facultad de Economía	Sandia, papaya, mango, tutifruti, manzana.
8	Portón de Facultad de Economía	Mango, jocote, sandia.
9	Entrada principal (Minerva)	Sandía, mango, jocote, papaya y melón.
10	Entrada principal (Minerva)	Piña, mango, jocote, papaya, sandía, jícama.
11	Facultad de Medicina	Papaya, melón, mamey, mango, piña.

ANEXO N° 3

GUIA DE OBSERVACION



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



TABLA N° 2 Guía de observación para cada uno de los puntos de ventas de frutas.

N°	Preguntas	SI	NO
1	¿Protegen las frutas de la contaminación externa antes y después de prepararlas?		
2	¿Se lavan las manos antes de manipular las frutas?		
3	¿Utiliza redecillas para el cabello al preparar las frutas?		
4	¿Usa guantes para preparar las frutas?		
5	¿Lava las frutas antes de prepararlas?		
6	¿Utiliza agua limpia para lavar las frutas?		
7	¿Desinfecta las frutas con solución antibacteriana?		
8	¿Hace uso de tablas para cortar las frutas?		
9	¿Las tablas de cortar están adecuadamente limpias?		
10	¿El lugar de trabajo está limpio?		
11	¿Mantienen limpias las canastas y depósitos para almacenar las frutas ya preparadas?		
12	¿Hace uso del refrigerador para conservar las frutas?		
13	¿Maneja dinero al manipular las frutas?		
14	¿Tienen los sanitarios a una distancia cercana de los puestos de venta?		
15	¿Cuentan agua potable cerca de los puestos de venta?		

Observaciones: _____

ANEXO N° 4

Cuadro N° 11. Muestras de frutas utilizadas para realizar la parte experimental.

N° de puestos	Puntos de muestreo	Muestras utilizadas
1	Portón de Facultad de Química y Farmacia	Piña, mamey, tutifruiti
2	Facultad de Ingeniería	Fresas, Arrayán, mango
3	Portón de Facultad de Ingeniería	Sandía, jocote, papaya
4	Departamento de Seguridad	Mango, papaya, melón
5	Portón de Facultad de Ciencias y Humanidades	Papaya, melón, mango
6	Facultad de Economía	Sandía, tutifruiti, nance
7	Facultad de Economía	Tutifruiti, sandía, manzana
8	Portón de Facultad de Economía	Sandía, mango, jocote
9	Entrada principal de Minerva	Sandía, melón, mango
10	Entrada principal de Minerva	mango, papaya, sandía
11	Facultad de Medicina	Papaya, piña, mamey

ANEXO N° 5

Tabla N° 3. Características para identificación de las *Enterobacteriaceae* más comunes a través de las pruebas bioquímicas (11)

Características claves para la identificación de las <i>Enterobacteriaceae</i> más comunes								
M.O	TSI	GAS	H ₂ S	RM	VP	IND	CIT	MOV
<i>E. coli</i>	A/A	+	-	+	-	+	-	+
<i>Shigella A.B.C</i>	K/A	-	-	+	-	-/+	-	-
<i>S. sonnei</i>	K/A	-	+	-	-	-	+	+
<i>Edwardsiella</i>	K/A	+	+	+	-	+	-	+
<i>Salmonella</i>	K/A	+	+	+	-	-	+	+
<i>C. freundii</i>	A/A	+	+	+	-	-	+	+
<i>C. koseri</i>	K/A	+	-	+	-	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	-
<i>K. axytoca</i>	A/A	++	-	-	+	+	+	-
<i>E. aerogenes</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	+
<i>E. cloacae</i>	A/A	++	-	-	+	-	+	+
<i>P. agglomerans</i>	K/A	-/+	-	-/+	+/-	-/+	+/-	+
<i>S. marcescens</i>	K/A	+	-	-/+	+	-	+	+
<i>P. vulgaris</i>	K/A	+/-	+	+	-	+	-/+	+
<i>P. mirabilis</i>	K/A	+	+	+	+/-	-	+/-	+
<i>Y. enterocolitica</i>	K/A	-	-	+	-	+/-	-	-

ANEXO N° 6

Cuadro N° 12. Resultados de pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de frutas.

N° de Muestra	TSI	Gas	H ₂ S	Indol	R.M	V.P	Citrato	SIM	M.O
01	K/A	+	+	+	+	-	+	+	<i>Proteus spp.</i>
02	A/A			-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
03	A/A	+	-	+	-	+	-	-	<i>Escherichia spp.</i>
04	A/A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
05	A/A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
06	A/A	+	-	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
07	K/A	+	+	+	+	-	+	+	<i>Proteus spp.</i>
08	A/A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
09	A/A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
10	K/A	+	+	-	+	-	+	-	<i>Salmonella spp</i>
11	K/A	+	+	-	+	-	+	-	<i>Salmonella spp</i>
12	K/A	+	+	-	+	+	+	+	<i>Proteus spp.</i>
13	A/A	+	-	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp.</i>
14	K/A	+	+	+	+	-	-	+	<i>Proteus spp.</i>
15	A/A	+	-	-	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp.</i>
16	A/A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
17	A/A	+	-	+	+	+	+	-	<i>Klebsiella spp.</i>
18	A/A	+	-	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp.</i>
19	K/A	+	+	+	-	+	-	+	<i>Enterobacter spp.</i>
20	K/A	+	-	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
21	A/A	+	-	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp.</i>
22	K/A	+	+	+	+	-	+	+	<i>Proteus spp.</i>
23	K/A	+	-	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
24	K/A	+	-	+	+	-	+	+	<i>Citrobacter spp</i>
25	K/A	-	-	-	+	-	+	-	<i>Enterobacter spp.</i>
26	K/A	-	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp.</i>
27	A/A	+	-	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp.</i>
28	A/A	+	-	+	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
29	A/A	+	-	-	-	+	+	-	<i>Klebsiella spp</i>
30	K/A	+	+	-	+	+	+	+	<i>Proteus spp</i>
31	A/A	+	-	-	-	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>
32	A/A	+	+	-	-	+	+	+	<i>Proteus spp</i>
33	K/A	+	-	-	+	+	+	+	<i>Enterobacter spp</i>

ANEXO N° 7

Cuadro N° 13. Pruebas Bioquímicas para identificación de *Salmonella spp*₍₁₈₎

Pruebas Bioquímicas	Resultado
TSI	(+) Precipitado negro en el fondo : producción de H ₂ S
Indol	(-) no hay cambio de color o hay un color amarillo en la interfase
Citrato	(+) Coloración azul
Voges Proskahuer	(-) No hay desarrollo de color
Rojo de metilo	(+) Coloración roja
Movilidad	(+)

ANEXO N° 8

Límites máximos permitidos para frutas

Cuadro N° 14. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04. 50:08 ⁽²²⁾

4.0 Grupos de alimentos: Frutas y Vegetales. (Incluidos hongos, raíces, y tubérculos, legumbres y leguminosas, y aloe vera). Algas marinas y nueces y semillas. Esta categoría principal se divide en dos categorías: 04.1 (Frutas) Cada una de estas categorías se divide a su vez en subgrupos para productos frescos y elaborados.

4.1 Subgrupo del Alimento: Frutas y vegetales frescos

Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Salmonella spp/25g</i>	10	C	Ausencia
Coliformes fecales	5		93 NMP/g
<i>Escherichia coli</i>	10		<3 NMP/g

ANEXO N° 9

Tabla N° 4. Número Más Probable (NMP) por g/mL de muestra, utilizando series de tres tubos con concentraciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} mL (35)

NMP (Número más probable)			
Con los intervalos de confianza del 95 por 100, entre los cuales pueden variar para diversas combinaciones de resultados positivos y negativos.			
Número de tubos que dan reacción positiva entre			Índice
3 tubos de 10 ml	3 tubos de 1 ml	3 tubos de 0,1 ml	NMP/100ml
0	0	1	<3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>1100

ANEXO Nº 10

ESQUEMAS DE PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

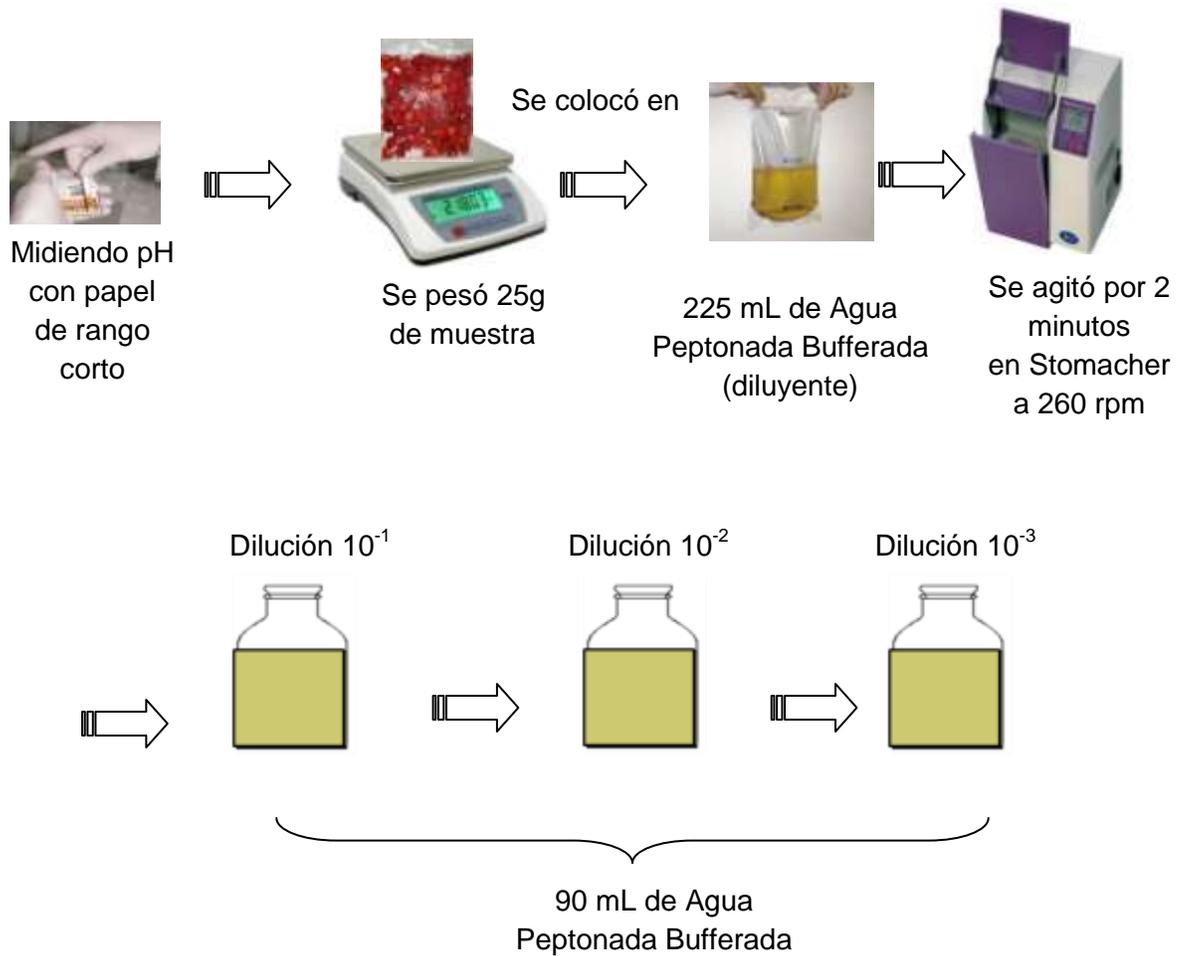
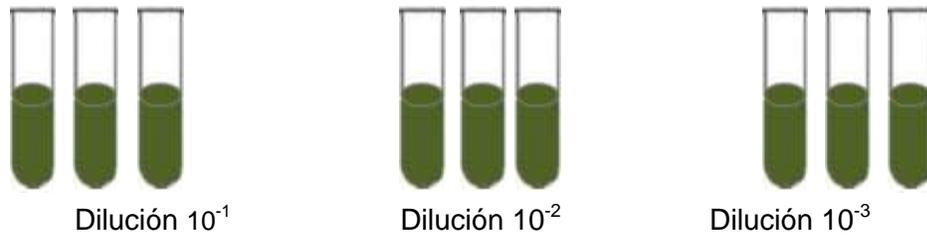


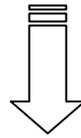
Fig. Nº 14: Procedimiento para preparación de la muestra (1) (34)

Determinación de Coliformes Totales

Se tomó 1 mL de cada dilución y se agregó a 10 mL de caldo Fluorogénico.

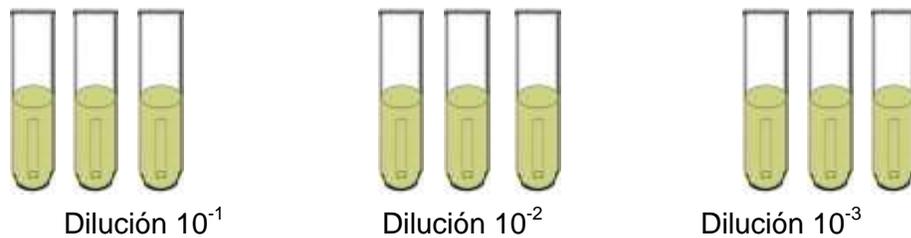


Se Incubó a 35 ± 1 °C por 24 horas
Se observó color verde-azul (positivo para coliformes totales)



Determinación de Coliformes Fecales

Se tomaron 3 asadas para cada uno de los tubos de caldo EC
(Con campanas de Durham)



Se incubó a 44.5°C por 24 horas
Prueba positiva si hay formación de gas

Figura N° 15 Procedimiento para la determinación de coliformes totales y coliformes fecales.(1), (32), (35)

PRUEBA PRELIMINAR PARA IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*.

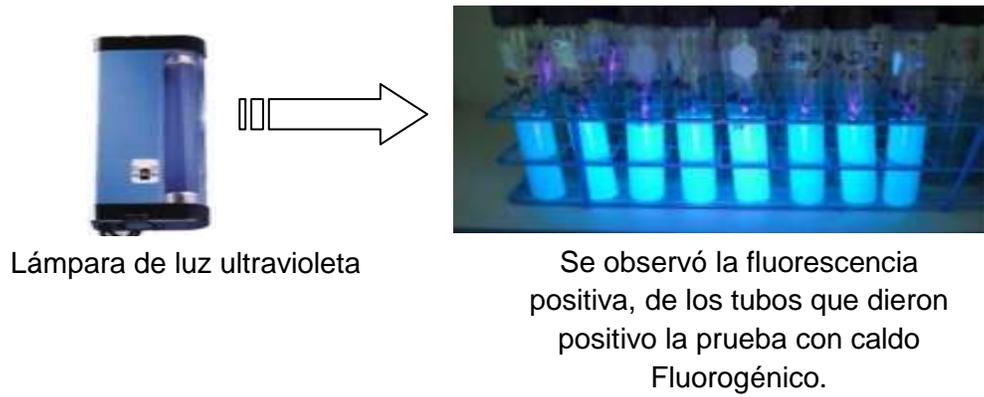


Figura Nº 16 Prueba presuntiva para identificación de *E. coli*. (1), (32)

PRUEBA PARA IDENTIFICACION DE *Escherichia coli*

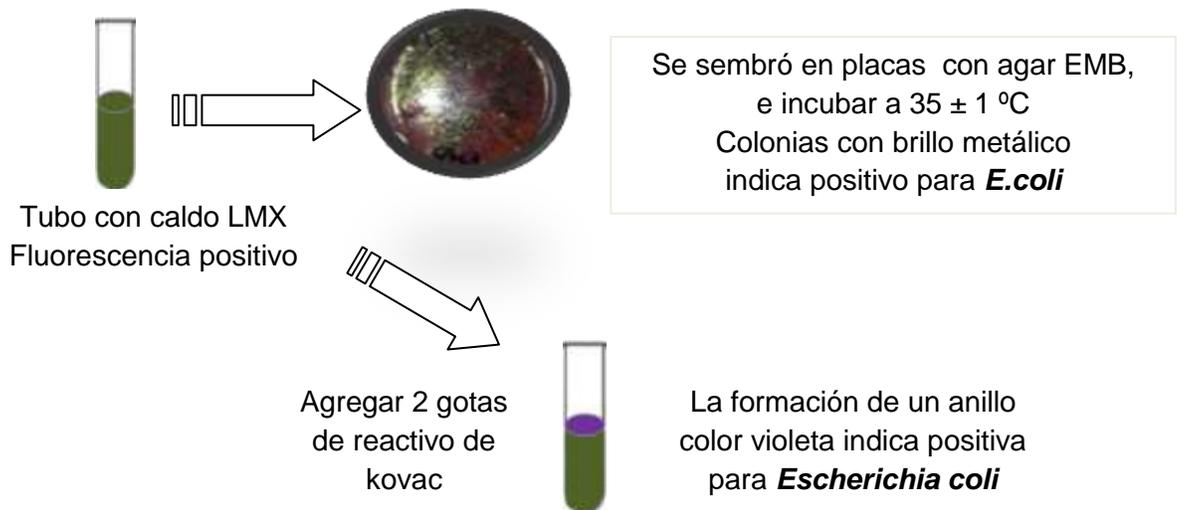


Figura Nº 17 Procedimiento para la identificación de *E.coli*. (6) (32)

PRUEBA PARA INVESTIGACIÓN DE *Salmonella spp*

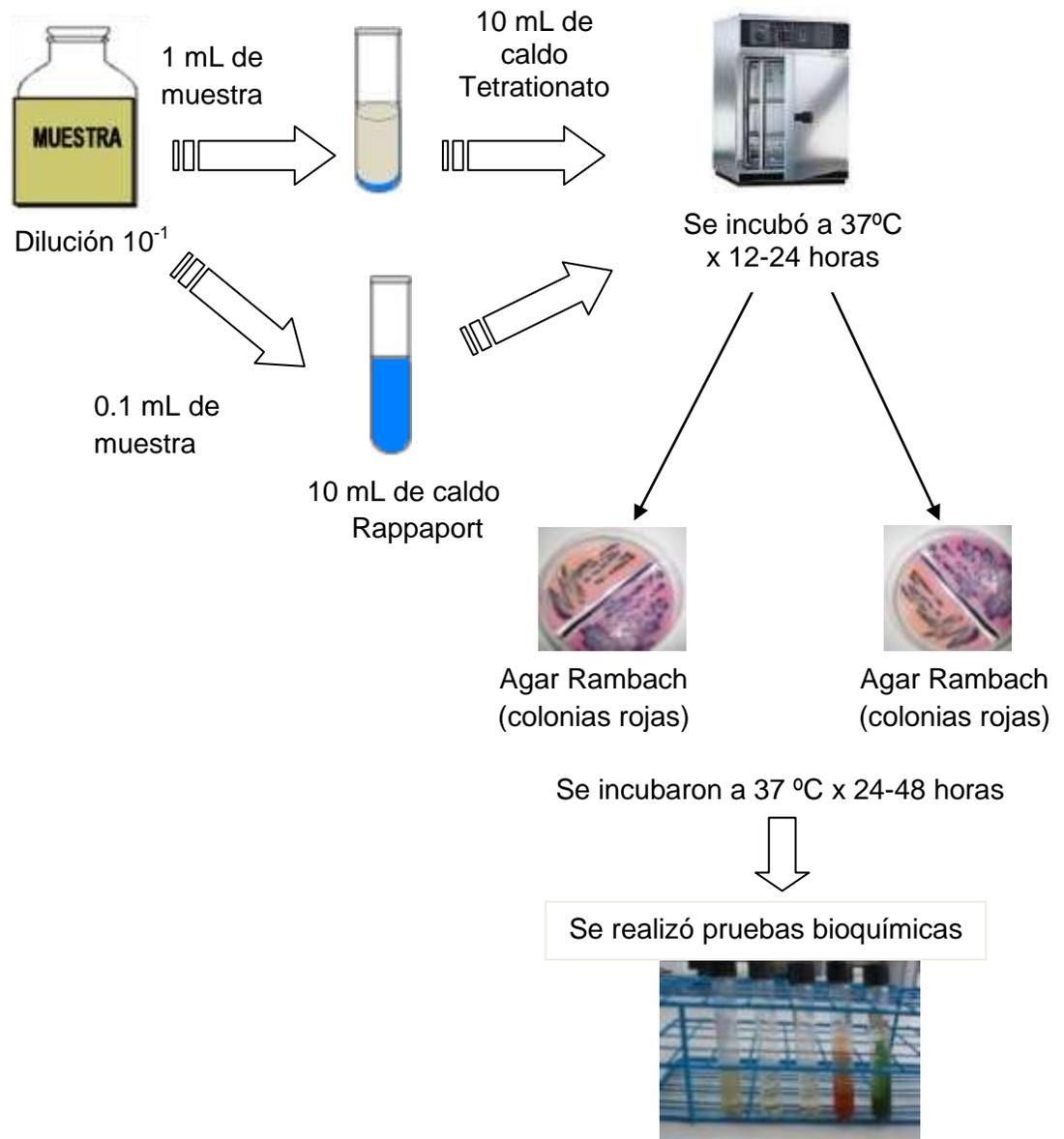


Fig. N° 18 Procedimiento para la identificación de *Salmonella spp.*⁽³⁶⁾

ANEXO Nº 11
MATERIALES Y EQUIPO

Cristalería

- Tubos con tapón de rosca
- Placas de petri
- Pipetas de mohr de 1 mL
- Tubos pequeños con rosca
- Frascos de vidrio para dilución
- Gradillas para tubos
- Bolsas de polipropileno
- Campanas de Durham

Equipo

- Incubadora
- Estufa
- Stomacher
- Campana de flujo laminar
- Pipeteadores
- Balanza semi-analítica

- Esterilizador de asas

- Asas de platino con punta y sin punta

Reactivos

- kovac
- Rojo de metilo
- KOH
- Alfa naftol

Medios de cultivo ⁽¹³⁾

- Caldo Fluorogénico (Rapid Hicoliform, marca Himedia)
- Caldo EC
- Agua peptonada bufferada
- Caldo tetrionato
- Caldo Rappaport
- Agar Rambach

ANEXO Nº 12

Fotografías de los diferentes puestos de ventas de frutas en el interior de la Universidad de El Salvador.



Fig. Nº 19 Manipulación de las frutas.



Fig. Nº 20 Instalaciones con las que cuentan los comerciantes de frutas.

ANEXO N° 13

Fotografías de los puestos de comercialización de frutas en los alrededores de la Universidad de El Salvador



Fig. N° 21 Manipulación inadecuada de las frutas, además de estar expuestas a contaminación vehicular.



Fig. N° 22 Basurero cerca de donde se manipulan y comercializan las frutas.

ANEXO Nº 14
TRÍPTICO DE BUENAS PRÁCTICAS HIGIÉNICAS, PROPORCIONADO
A LOS MANIPULADORES DE FRUTAS.

Anexo N° 14 Tríptico de Buenas Prácticas Higiénicas, proporcionado a los manipuladores de frutas.

-De preferencia mantener las frutas en refrigeración, ya que a temperaturas altas, estas tienden a descomponerse.



-Los recipientes para basura deben estar lejos del área de preparación, y siempre deben estar tapados.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Manejo seguro de frutas



El consumo de frutas es beneficioso para la salud, ya que contiene una gran cantidad de nutrientes necesarios para nuestro organismo.

Se debe tener cuidado que las frutas no se contaminen con bacterias nocivas. Una de cada cuatro personas puede ser afectada por enfermedades gastrointestinales transmitidas por alimentos.

Trabajo de graduación, año 2010.

Lávate las manos:

- con agua y jabón antes y después de preparar las frutas.
- Al tener contacto con dinero
- Después de utilizar el sanitario.

Las uñas:

- Deben estar siempre cortas y limpias para ello utilizar cepillo adecuado y jabón.



- Utilizar gorra o redecilla en la cabeza (evitar que suciedades del cabello puedan contaminar los alimentos)
- Hacer uso de guantes descartables.
- No estornudar ni toser sobre los alimentos, para ello cubrirse la boca con pañuelo



Preparación de frutas:

- Desinfección de utensilios:
- Los utensilios utilizados para la preparación deben estar siempre limpios y desinfectados adecuadamente, haciendo uso de agua clorada.



- Para mayor seguridad, use tablas para cortar y desinfecte las superficies de preparación de alimentos.
- Desinfecte el cepillo de limpieza sumergiendolo en agua hirviendo por 20 segundos, o use cloro.



- Use una solución de 1 cucharadita de cloro diluida en 4 tazas de agua para enjuagar las superficies de preparación de frutas.

Desinfección de frutas:

- Lave las frutas restregando la cáscara con un cepillo de limpieza bajo el chorro de agua.




- Finalmente lavar con agua clorada antes de cortarlas o pelarlas. Así se eliminan las bacterias y se evita esparcirlas con el cuchillo cuando las corte.




Fig. Nº 23 Tríptico informativo que fue entregado a los manipuladores de frutas.

ANEXO N° 15. Carta enviada a autoridades de Bienestar Universitario para dar a conocer los resultados.



FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



San Salvador, 08 de Septiembre de 2010

Dr. Carlos Alexander Ortega Pérez
Director de Bienestar Universitario
Universidad de El Salvador
Presente.

Reciba un cordial saludo deseándole éxitos en sus labores diarias.
Por medio de la presente nosotras, Cándida Mirian de Alvarenga y Claudia Marina Bautista, estudiantes egresadas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, hacemos de su conocimiento los resultados obtenidos en el trabajo de graduación que lleva por título: "Determinación de la calidad microbiológica de frutas comercializadas en el interior y alrededores de la Universidad de El Salvador".

A continuación se presenta la tabla resumen con los porcentajes de muestra no conformes por criterios microbiológicos, comparados con los límites establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano para frutas frescas, del grupo 4, RTCA 67.04.50:08.

Informe de resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de frutas, realizados durante el mes de agosto de 2010.

Determinación	Porcentaje de muestras no conformes	Límite máximo permitido
<i>Salmonella spp/25g</i>	18.18%	Ausencia
Coliformes fecales	81.82%	93 NMP/g
<i>Escherichia coli</i>	81.82%	<3 NMP/g

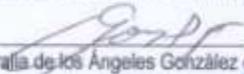
Debido a que todas las muestras no cumplen con al menos un parámetro de los criterios microbiológicos establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano para frutas frescas RTCA 67.04.50:08, del grupo 4, ninguna muestra es apta para el consumo humano.

Agradeciendo su colaboración, esperando que los resultados anteriores le sean de utilidad, nos suscribimos de usted.

Atentamente,

F. 
Cándida Mirian Benitez de Alvarenga
Estudiantes egresadas de la Facultad de Química y Farmacia.

F. 
Claudia Marina Bautista
Estudiantes egresadas de la Facultad de Química y Farmacia.

F. 
Licda. Coralia de los Angeles González de Cifuentes
Docente Director



Hora: 9:18 am
Nombre: marisa



Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador, C.A. Apdo. Postal 3026.
Telefax: (503) 2225-1645, Teléfonos: (503) 2225-4967, (503) 2225-2326, (503) 2225-1500 Extensiones 4900 y 4902.

Fig. N° 24 Carta entregada a autoridades de Bienestar Universitario.