

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



**ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE FORMULAS DE CRECIMIENTO EN  
POLVO PARA NIÑOS ENTRE 1 Y 3 AÑOS COMERCIALIZADAS EN LOS  
SUPERMERCADOS DE LA ZONA URBANA DE SANTA TECLA**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR  
TANIA MARCELA DE LA CRUZ ARGUELLO  
DEBORA RAQUEL HENRIQUEZ GUTIERREZ**

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

**SEPTIEMBRE, 2014**

**SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIA GENERAL**

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANA**

LIC. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

**SECRETARIO**

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

DIRECCION DE PROCESO DE GRADUACION

**DIRECTORA GENERAL**

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

TRIBUNAL CALIFICADOR

**COORDINADORA DE AREA DE MICROBIOLOGIA**

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

**COORDINADORA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS**

**FARMACEUTICOS Y COSMETICOS**

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

**DOCENTES ASESORAS**

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

Lic. María Elsa Romero de Zelaya

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios Todopoderoso que siempre a estado conmigo dándome sabiduría, fuerza, paciencia e inteligencia para salir día a día adelante, que me supo guiar y me ayudo a superar cada obstáculo y dificultad que se presento a lo largo de mi carrera y ahora me permite culminarla con éxito.

A nuestra madre María por cuidarme y darme fuerza y sabiduría en cada decisión tomada y por brindarme aliento en los momentos difíciles en mi vida.

A mis amados padres, les agradezco por el amor que me han brindado en toda mi vida, por su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera y la confianza que depositaron en mí al saber que culminaría mi carrera con éxito a pesar de lo difícil que se miraba llegar a esa gran meta.

A mi futuro esposo e hijos por su amor, cariño y apoyo en mis estudios, por la paciencia brindada a lo largo de mi carrea y por la confianza depositada.

A nuestras docentes asesoras: MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez Licda. María Elsa Romero de Zelaya, por apoyarnos, tenernos paciencia y brindarnos orientarnos en la realización de nuestra tesis.

A nuestra Directora General Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo, coordinadoras de área: MSc. Rocío Ruano de Sandoval, MSc. María Evelin Sánchez de Ramo, por guiarnos en el desarrollo de nuestra tesis

A mis amigos por apoyarme en todo momento, por brindarme esas palabras de ánimo y motivación, por confiar y creer en mí.

Tania Marcela De La Cruz Arguello

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi madre**, por apoyarme a lo largo de mis estudios y luchar tanto por mí y mis hermanas.

**A mi hermana Rebeca**, porque eres la mejor hermana que alguien puede tener, por ser mi apoyo y ayuda en nuestros momentos difíciles, sin ti no lo podría lograr.

**A mi amiga Karla Villalta**, gracias por ser mi amiga y por todo lo que haz hecho y haces por mí, todos deberían tener una amiga como tú. Le agradezco a Dios que te haya puesto en mi camino.

**A la Lic. Ana Cecilia Monterrosa Fernández** por todo su apoyo, gracias por ser una segunda madre para mi y una bendición en mi vida.

**Al Personal del Proceso de Graduación:** Directora General, Licda. Odette Rauda, a nuestras coordinadoras de área: MSc. Rocío Ruano de Sandoval y MSc. María Evelin Sánchez de Ramos y nuestras docentes asesoras: MSc. **Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez**; gracias de corazón por su paciencia, su tiempo, apoyo, comprensión e interés en todo momento por asesorarnos para poder culminar este proyecto y Lic. María Elsa Romero de Zelaya.

**A mis amigos y compañeros**, por todos los momentos inolvidables que compartimos en todo este tiempo.

**Y a mi compañera de Trabajo de Graduación**, gracias por ser mi compañera de estudios nocturna, ser paciente conmigo y por tu amistad.

Débora Raquel Henríquez Gutiérrez

## **DEDICATORIA**

### **A MI PADRE CELESTIAL Y A LA VIRGEN MARIA**

Por las bendiciones recibidas a lo largo de toda mi vida y por ser la luz, la fuerza, esperanza que me impulsa y me ayuda a superar todos los obstáculos.

### **MIS PADRES:**

María Mercedes Arguello Sibrian y Ezequiel De la Cruz Hernández, Porque con su amor, sacrificio y ejemplo me ayudaron a ser la persona que soy, motivándome a no rendirme nunca y por permitirme culminar mi carrea.

**A MI COMPAÑERO DE VIDA:** Edwin Antonio Colocho García, por su amor, apoyo incondicional, por estar a mi lado en todo momento.

**A MIS HIJOS:** Edwin Anderson Colocho De la Cruz, Jefferson Ezequiel Colocho De la Cruz y Daniel Alessandro Colocho De la Cruz, por ser el motor de mi vida, la luz de mi camino y por el amor y cariño que me brindan.

**A MIS HERMANOS:** Boris Ezequiel De la Cruz Arguelo y Marilady De la Cruz Arguello por su cariño y compañía a lo largo de m vida.

**A MI COMPAÑERA:** Raquel Gutiérrez por toda su dedicación, paciencia, comprensión y esmero para poder llevar a cabo este nuevo triunfo.

**A MIS AMIGOS:** Heisy Arteaga, Fátima De León, Karla Villalta y Luis Guido, por el apoyo incondicional a lo largo de mi carrera, por brindarme consejos y palabras de animo en los momentos mas difíciles.

Tania Marcela De la Cruz Arguello

## **DEDICATORIA**

**A DIOS, MI PADRE EN LA TIERRA Y EN EL CIELO**, el autor de este logro en mi vida, por concederme este regalo y demostrarme que El es mi padre proveedor, que El conoce los deseos de mi corazón y suple cada necesidad en mi vida; por consolarme y guiarme en momentos de angustia. Solo a Ti Señor te dedico este momento de mi vida porque tú lo hiciste posible y me demostraste que Tú eres capaz de traerme hasta aquí,

Te alabo Señor.

**A MI MADRE, DELMY DEL CARMEN GUTIERREZ**, por ser la mejor madre que se puede tener, por no cortarme las alas y luchar hasta el final a mi lado, este logro es también tuyo mamá. Gracias por estar orgullosa de mi y amarme a mi y a mis hermanas dando todo por nosotras hoy y siempre.

**A MI TIO, ROLANDO GUTIERREZ**, por ser un gran apoyo para mí durante estos años, gracias porque sé que me ama y su ayuda a sido incondicional en esta meta.

## **ABREVIATURAS**

**CALMA:** Centro de Apoyo de Lactancia Materna

**CENSALUD:** Centro de Investigación y Desarrollo en Salud

**FDA:** Food and Drug Administration

**NSO:** Norma Salvadoreña Obligatoria

**OSARTEC:** Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica

**TSI:** Agar Triple Azúcar y Hierro

**TSA:** Agar Triticasa Soya

**UES:** Universidad de El Salvador

**UFC/g:** Unidad Formadora de Colonia por Gramo

**USAM:** Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer

**RTCA:** Reglamento Técnico Centroamericano

## INDICE

	Pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xxiii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco teórico	
3.1 Definición de Lactante y Niño de Corta edad	28
3.2 Desarrollo físico, cognitivo, emocional y lingüístico del niño de corta edad	28
3.2.1 Desarrollo físico	28
3.2.2 Desarrollo cognitivo	29
3.2.3 Desarrollo emocional	29
3.2.4 Desarrollo lingüístico	30
3.3 Requerimientos nutricionales	30
3.3.1 Macronutrientes	32
3.3.2 Minerales	33
3.3.3 Vitaminas	34
3.3.4 Energía y Aporte Calórico	35
3.4 Importancia de la Leche en los niños	35
3.4.1 Lactancia Materna	35
3.4.2 Lactancia Artificial	37
3.5 Leche	38

3.5.1	Definición de Leche	38
3.5.2	Naturaleza de la Leche	38
3.5.3	Características Organolépticas	38
3.5.4	Propiedades Físicas de la Leche	40
3.5.5	Composición de la Leche	41
3.5.6	Clasificación de la Leche	44
3.5.6.1	Según su proceso térmico	44
3.5.6.2	Según su contenido de grasa	45
3.5.7	Proceso de Pasteurización o Ultrapasteurización	46
3.5.8	Fuentes de Contaminación de la Leche	46
3.6	Fórmulas Lácteas Infantiles	48
3.6.1	Definición de Fórmula Láctea Infantil	49
3.6.2	Clasificación de Fórmulas Lácteas	49
3.6.2.1	Fórmulas de Inicio	49
3.6.2.2	Fórmulas de Continuación	52
3.6.2.3	Fórmulas de Crecimiento	55
3.6.2.4	Fórmulas Especiales	58
3.6.3	Tipos de Fórmulas Lácteas Infantiles	61
3.6.3.1	En polvo	61
3.6.3.2	Líquida lista para tomar	63
3.7	Contaminantes en Fórmulas en polvo	63
3.7.1	Posibles focos de contaminación en el Proceso de elaboración de Formulas Infantiles en polvo	64
3.7.2	Contaminación por <i>Salmonella spp</i> y por <i>Staphylococcus aureus</i>	65
3.8	Requisitos microbiológicos en las Fórmulas Lácteas Infantiles	66
3.9	Microorganismos patógenos en leche	67
3.9.1	<i>Salmonella spp</i>	67
3.9.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	69

## Capítulo IV

4.0	Diseño Metodológico	73
4.1	Tipo de Estudio	73
4.2	Investigación bibliográfica	73
4.3	Investigación de Campo	74
4.3.1	Universo y Muestra	75
4.3.1.1	Universo	75
4.3.1.2	Muestra	75
4.3.2	Codificación de Supermercados y Muestras	75
4.3.3	Tipo de Muestreo	75
4.3.3.1	Tamaño de la Muestra	79
4.4	Toma de Muestra	80
4.5	Parte Experimental	81
4.5.1	Análisis Microbiológico	81
4.5.1.1	Determinación de <i>Salmonella spp</i>	81
4.5.1.2	Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	88

## Capítulo V

5.0	Resultados y Discusión de Resultados	92
-----	--------------------------------------	----

## Capítulo VI

6.0	Conclusiones	114
-----	--------------	-----

## Capítulo VII

7.0	Recomendaciones	117
-----	-----------------	-----

Bibliografía

Glosario

Anexos

## **INDICE DE ANEXOS**

### **ANEXO N°**

- 1.** Mapa de Identificación de la Zona Urbana de Santa Tecla
- 2.** Formato de Encuesta: “Criterio de Aceptación de Formulas de Crecimiento en polvo para niños entre 1 Y 3 años comercializadas en los principales Supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla”
- 3.** Resultados de Encuesta
- 4.** Requisitos Microbiológicos según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para Fórmulas Lácteas Infantiles.
- 5.** Lista de Chequeo de Verificación de Condiciones de Almacenamiento
- 6.** Formato de Hoja control para muestra de formulas de crecimiento en polvo
- 7.** Fórmulas de crecimiento en polvo comercializadas en los principales supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla.
- 8.** Decodificación de Supermercados a muestrear en la Zona Urbana de Santa Tecla.
- 9.** Material y Equipo
- 10.** Medios de Cultivo y Reactivos
- 11.** Marcha Analítica para la Determinación de *Salmonella spp*

- 12.** Marcha Analítica para la Determinación de *Staphylococcus aureus*
- 13.** Fotos de Lugar de Almacenamiento de Fórmulas de Crecimiento en polvo en los supermercados muestreados.
- 14.** Muestras de Formulas de Crecimiento en polvo en Caldo Lactosado
- 15.** Siembra de muestras en Caldo Tetrionato y Caldo Rapaport Vassiliadis.
- 16.** Incubación de muestras en Agar Bismuto Sulfito y Agar Salmonella Shiguella
- 17.** Placas de Agar Bismuto Sulfito y Agar Salmonella-Shiguella y posterior a incubación sin crecimiento
- 18.** Preparación de Dilución de muestras y Siembra en Agar Baird Parker de muestras de Formulas de Crecimiento.
- 19.** Carta de Resultados obtenidos presentada al Centro de Apoyo de Lactancia Materna (CALMA) y el Ministerio de Salud (MINSAL).

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro N°</b>	<b>Página</b>
1. Valores promedios de la composición de la leche	42
2. Supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla	74
3. Estratos, supermercados y número de supermercados.	75
4. Porcentaje de cada cadena comercial de Supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla	77
5. Número de supermercados a muestrear por Estrato.	79
6. Sucursales a muestrear por cada cadena comercial.	79
7. Número de muestras recolectadas por cada estrato	80
8. Interpretación teórica de resultados para Agar Triple Azúcar y Hierro (TSI)	84
9. Especificaciones de pruebas bioquímicas características de <i>Salmonella spp</i>	88

## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA N°</b>	<b>Página</b>
1. Ingestas Dietéticas de Referencia (DRI): Estimación Dietética e Ingestas adecuadas. Agua Total y Macronutrientes	31
2. Ingestas Dietéticas de Referencia (DRI): Estimación Dietética e Ingestas adecuadas. Vitaminas	31
3. Composición recomendada para Leches de Inicio según la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en 2005. Energía y Macronutrientes	50
4. Composición recomendada para Leches de Inicio según la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en 2005. Vitaminas y Minerales	50
5. Composición para Leches de Continuación según la recomendación de la Comisión Europea en 2003	53
6. Composición recomendada para Leches de Continuación según la Comisión Europea en 2003. Vitaminas y Minerales	54
7. Comparación entre Leche de Continuación y Leche de Crecimiento con Ingesta Dietética de Referencia	56
8. Requisitos Microbiológicos para Fórmulas de Crecimiento en polvo según RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos”	66

<b>9.</b> Control de datos de las muestras analizadas de marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo	92
<b>10.</b> Resultados obtenidos durante la inspección de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de crecimiento en polvo Marca A-3 de venta de los supermercados muestreados.	95
<b>11.</b> Resultados obtenidos durante la inspección de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de crecimiento en polvo Marca B-3 de venta de los supermercados muestreados.	96
<b>12.</b> Resultados obtenidos durante la inspección de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de crecimiento en polvo Marca D-3 de venta de los supermercados muestreados.	98
<b>13.</b> Resultados de la determinación de <i>Salmonella spp</i> realizados la Fórmula de Crecimiento de la Marca A-3	100
<b>14.</b> Resultados de la determinación de <i>Salmonella spp</i> realizados la Fórmula de Crecimiento de la Marca B-3	102
<b>15.</b> Resultados de la determinación de <i>Salmonella spp</i> realizados la Fórmula de Crecimiento de la Marca D-3	102
<b>16.</b> Resultados de los parámetros microbiológicos realizados a las marcas de Fórmulas de Crecimiento A-3, B-3 y D-3 para <i>Salmonella spp</i> comparado con el RTCA 67.04.50:08.	104

<b>17.</b> Resultados de la cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> realizados a las Fórmulas de Crecimiento de la marca A-3.	105
<b>18.</b> Resultados de la cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> realizados a las Fórmulas de Crecimiento de la marca B-3.	106
<b>19.</b> Resultados de la cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> realizados a las Fórmulas de Crecimiento de la marca D-3.	108
<b>20.</b> Resultados de los parámetros microbiológicos realizados a las marcas de Fórmulas de Crecimiento A-3, B-3 y D-3 para <i>Staphylococcus aureus</i> comparado con el RTCA 67.04.50:08.	109
<b>21.</b> Porcentaje de marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para <i>Salmonella spp.</i>	110
<b>22.</b> Porcentaje de marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para <i>Staphylococcus aureus</i>	111

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Página
1. Imagen del lugar de almacenamiento de las marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo A-3 y B-3 en la Despensa de Don Juan Holanda.	97
2. Foto del lugar de almacenamiento de las marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo A-3 y B-3 en Super Selectos Novocentro de Don Juan Holanda.	97
3. Foto de muestras de la marca A-3 en Caldo Tetrionato y Rappaport - Vassiliadis	99
4 Gráfico de las marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con la especificación para Salmonella spp según indica el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.	110
5 Gráfico de las marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con la especificación para <i>Staphylococcus aureus</i> según indica el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.	111

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis microbiológico a Fórmulas de Crecimiento en polvo para niños entre 1 y 3 años comercializadas en los principales supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla. Para esto se aplicó un muestreo estratificado donde se obtuvieron tres supermercados de la zona seleccionada los cuales comercializaban siete marcas de Fórmulas de Crecimiento en polvo y en los que se realizó una encuesta que determinó la preferencia entre las marcas comerciales; obteniendo así 3 marcas las cuales fueron codificadas como A-3, B-3 y D-3.

Se analizaron 36 muestras (12 muestras por marca comercial) y se trasladaron al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD); en donde se realizaron la Determinación de *Salmonella spp* y Determinación de *Staphylococcus aureus* por el Método de Recuento en placa siguiendo la metodología establecida por el Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de Estados Unidos. Además se realizó una inspección en los supermercados donde se muestreo utilizando una lista de chequeo para identificar las condiciones en las que se encuentran las Fórmulas de Crecimiento en polvo en los centro de venta.

Los resultados obtenidos señalan que el 100% de las muestras A-3, B-3 y D-3 declaran ausencia de *Salmonella spp* y una concentración de < 10 UFC/g para *Staphylococcus aureus* y por lo tanto cumplen dos de los parámetros establecidos por el RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos” en su Apartado para “Formulas Lácteas y No Lácteas para lactantes y niños pequeños” por lo que se consideran aptas para consumo humano y para futuras investigaciones se recomienda realizar análisis microbiológicos a las Fórmulas de Crecimiento en polvo siguiendo el parámetro:

Determinación de la presencia/ausencia de *Cronobacter sakazakii* establecido por la normativa y así poder declarar su inocuidad microbiológica.

Así también se realizaron las inspecciones respectivas en los supermercados para verificar las condiciones en las cuales están siendo almacenados y comercializados estos productos.

Los resultados obtenidos se dieron a conocer al Ministerio de Salud y al Centro de Apoyo de Lactancia Materna.

**CAPITULO I  
INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

En la actualidad las madres optan por utilizar Fórmulas Lácteas Infantiles para alimentar a sus hijos en sustitución total o parcial de la leche materna que es el alimento ideal para los lactantes y niños pequeños. De acuerdo a la edad del infante estas se clasifican en cuatro tipos distintos: Fórmulas de Inicio, Fórmulas de continuación, Fórmulas Especiales y Fórmulas de Crecimiento. Las Fórmulas de Crecimiento son preparados a base de leche de vaca que complementan la nutrición de los niños pequeños (1 – 3 años) ya que aportan energía, nutrientes e ingredientes funcionales que favorecen su salud y desarrollo. Estas a nivel mundial se encuentran en tres tipos: En polvo, lista para tomar y líquida concentrada, pero en el país únicamente se comercializan las presentaciones en polvo y líquidas listas para tomar; siendo la presentación en polvo la más conocida y utilizada por la mayoría de la población.

En El Salvador se desconocen estudios que determinen la calidad microbiológica de las Fórmulas Infantiles en polvo que consumen los niños pequeños; y se ha encontrado que entre las enfermedades transmitidas por alimentos existen contaminantes microbiológicos que pueden estar presentes en las Fórmulas infantiles en polvo como *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* los cuales pueden adquirirse principalmente en el proceso industrial de fabricación y constituyen un enorme riesgo para la salud; es por ello que se realizó una investigación en la cual se analizaron microbiológicamente Fórmulas de Crecimiento en polvo comercializadas en el país, por lo que se realizaron dos visitas de campo a los supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla; la primera para identificar las marcas de Fórmulas de Crecimiento en polvo que se comercializan en cada supermercado y una segunda para determinar cuáles de ellas tienen mayor preferencia entre la población mediante una encuesta (Ver Anexo N° 2) realizada a 25 clientes, encontrándose tres marcas comerciales codificadas como A-3, B-3 y D-3 (Ver Anexo N° 7) a las cuales se

les realizaron los respectivos análisis tomando cuatro muestras de cada marca comercial para un total de 12 muestras por supermercado y un total general de 36 muestras las cuales se analizaron siguiendo dos de los parámetros que exige el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos” para Fórmulas Lácteas Infantiles: Determinación de la presencia/ausencia de *Salmonella spp* y la cuantificación de *Staphylococcus aureus* utilizando el Método Recuento en Placa.

La parte experimental de este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador durante el periodo de Mayo a Junio del año 2014.

Los resultados obtenidos se compararon con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos” y se notificaron al Ministerio de Salud y al Centro de Apoyo de Lactancia Materna.

**CAPITULO II**  
**OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Analizar microbiológicamente Fórmulas de Crecimiento en polvo para niños entre 1 y 3 años comercializadas en los supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 2.2.1** Verificar mediante una lista de chequeo las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de Crecimiento en polvo comercializadas en tres supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla.
- 2.2.2** Determinar la presencia/ausencia de *Salmonella spp.* en las muestras a analizar según criterio establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.
- 2.2.3** Cuantificar el microorganismo *Staphylococcus aureus* utilizando el Método de Recuento en Placa en las muestras a analizar según criterio establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.
- 2.2.4** Comparar los resultados de los microorganismos obtenidos en las muestras de Fórmula de Crecimiento en polvo con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.
- 2.2.5** Dar a conocer los resultados obtenidos al Ministerio de Salud y al Centro de Apoyo de Lactancia Materna.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

## **3.0 MARCO TEORICO**

### **3.1 Definición de Lactante y Niño de corta edad <sup>(5)</sup>**

Por lactante se entiende una persona de menos de 12 meses de edad.

Por niño de corta edad se entiende una persona de más de 12 meses y hasta tres años de edad (36 meses).

### **3.2 Desarrollo físico, cognitivo, emocional y lingüístico del niño de corta edad**

#### **- Desarrollo Físico <sup>(2)</sup>**

Durante estos años se produce una disminución en la velocidad de crecimiento con respecto a la que tuvo el niño durante el primer año de vida y a la que tendrá posteriormente durante la adolescencia. En contraste con la triplicación del peso al nacer que ocurre en los primeros 12 meses, transcurre otro año antes de que se cuadruplica dicho peso. Asimismo, la longitud desde el nacimiento aumenta en un 50% durante el primer año, pero no se duplica hasta los 4 años de edad aproximadamente. En este periodo, el peso medio pasa de 9,5 a 14 kilos (es decir, un aumento del 50% prácticamente); y la talla media, de 74 a 96 centímetros.

Entre los 12 y los 18 meses se reduce el apetito y la mayoría de niños empiezan a caminar de forma independiente cerca del primer año aunque algunos no lo hacen hasta los quince meses, pero es el perfeccionamiento subsiguiente el que proporciona mayor estabilidad y menor consumo de energía en el niño. A partir de los 18 meses en adelante el desarrollo motor progresa y mejoran el equilibrio y la agilidad, la adquisición de carrera y subida de escaleras. Hacia el final del segundo año se frena el crecimiento somático y

encefálico con las correspondientes disminuciones de las necesidades nutricionales y el apetito. Al alcanzar los tres años suben escaleras alternando los pies, pedalean en un solo pie, copia un círculo, se viste y desviste, come bien solo y comparte sus juguetes.

- **Desarrollo Cognitivo** <sup>(2)</sup>

Entre los 12 y los 18 meses la exploración del medio ambiente aumenta en paralelo con una mayor destreza (alcance, sujeción y suelta) y movilidad. Los niños que comienzan a andar manipulan los objetos de formas nuevas para crear efectos interesantes, como el apilamiento de bloques o la introducción de los mismos en la ranura del reproductor de discos del ordenador. También es probable que use determinados objetos para su finalidad aprendida (peine para el pelo, vaso para beber). A partir de los 18 meses se producen varios cambios cognitivos que marcan la conclusión del periodo sensitivo - motor, estos cambios pueden observarse durante el juego autoiniciado.

- **Desarrollo emocional** <sup>(2)</sup>

Entre los 12 y 18 meses cuando se está aproximando a dar sus primeros pasos puede mostrarse irritable. Una vez que comienza a caminar se muestra un cambio marcado de humor predominante. Este niño parece “intoxicado” o “ido” con su nueva capacidad y el poder de controlar la distancia entre el mismo y sus padres. El niño explorador gira alrededor de los padres, se aleja y luego vuelve al contacto tranquilizador y se aleja de nuevo. Un niño con un apego seguro usara al progenitor como base segura a partir de la cual explorar de forma independiente. El niño que empieza a andar que es excesivamente controlado y se le quita la intención de la exploración activa sentirá dudas, vergüenza, ira e inseguridad. Todos los niños tendrán rabietas, lo cual refleja su incapacidad para posponer su satisfacción, suprimir o desplazar la ira o comunicar verbalmente sus estados emocionales. En

muchos niños, la independencia relativa del periodo precedente da paso al aumento de la dependencia hacia los 18 meses – 24 meses. Esta fase descrita como “acercamiento” puede ser una reacción al conocimiento creciente de la posibilidad de separación.

#### - **Desarrollo lingüístico** <sup>(2)</sup>

Entre los 12 y 18 meses el lenguaje receptivo precede al expresivo. El lactante que se aproxima a los 12 meses ya responde de manera adecuada a varias expresiones simples como “no”, “adiós” y “dame”. Hacia los 15 meses el niño normal señala las principales partes del cuerpo y usa cuatro o seis palabras de forma espontánea y correcta, entre ellas nombres propios. Entre los 18 y 24 meses los avances más espectaculares de este periodo quizás sean los lingüísticos. Tras darse cuenta de que las palabras corresponden a las cosas, el vocabulario aumenta de 10 a 15 palabras a los 18 meses a 50 y 100 palabras a los dos años. Tras adquirir un vocabulario con alrededor de 50 palabras, los niños comienzan a combinarlas para construir frases simples, el comienzo de la gramática. La emergencia del lenguaje verbal marca el final del periodo sensitivo - motor.

### **3.3 Requerimientos nutricionales** <sup>(4)</sup>

El cálculo de las necesidades energéticas y de la ingesta de nutrientes se fundamenta en las necesidades metabólicas basales, el ritmo de crecimiento y la actividad física del niño. Pero este cálculo es difícil de establecer, porque no se dispone de unos patrones de referencia adecuados para muchos de los nutrientes. Por ello se aconseja no dar normas rígidas, sino acomodar la dieta a las particularidades fisiológicas, adaptarla e individualizarla ajustándola a la propia constitución y al estilo del niño. Sin embargo, las Ingestas Dietéticas de Referencia (DRI) del Instituto de Medicina de Estados Unidos (IOM) establecen

las Estimaciones de la Necesidad Promedio (EAR) para los niños entre 1 y 3 años.

**Tabla 1. Ingestas Dietéticas de Referencia (DRI): Estimación Dietética Recomendada e Ingestas adecuadas. Agua Total y Macronutrientes** <sup>(16)</sup>

EDAD (AÑOS)	AGUA TOTAL (g/L)	CARBOHIDRATOS (g/d)	GRASAS (g/d)	FIBRA TOTAL (g/d)	ACIDO LINOLEICO (g/d)	PROTEÍNAS (g/d)
<b>1 – 3</b>	1.3	<b>130</b>	19	ND*	7	13

**NOTA:** Esta tabla representa en **negrita** los valores de Estimación Dietética Recomendada y con un asterisco (\*) los valores de Ingestas adecuadas. **ND:** No determinado. **g/d:** gramo/día

**Tabla 2. Ingestas Dietéticas de Referencia (DRIs): Estimación Dietética Recomienda e Ingestas adecuadas. Vitaminas.** <sup>(16)</sup>

VITAMINAS	UNIDADES	VALOR REQUERIDO
<b>VITAMINA A</b>	µg/d	<b>300</b>
<b>VITAMINA C</b>	mg/d	<b>15</b>
<b>VITAMINA D</b>	µg/d	<b>15</b>
<b>VITAMINA E</b>	mg/d	<b>6</b>
<b>VITAMINA K</b>	µg/d	30*
<b>RIBOFLAVINA</b>	mg/d	<b>0.5</b>
<b>TIAMINA</b>	mg/d	<b>0.5</b>
<b>NIACINA</b>	mg/d	<b>6</b>
<b>VITAMINA B<sub>12</sub></b>	µg/d	<b>0.9</b>
<b>VITAMINA B<sub>6</sub></b>	mg/d	<b>0.5</b>
<b>FOLATO</b>	µg/d	<b>150</b>
<b>ACIDO PANTOTENICO</b>	mg/d	2*

**NOTA:** Esta tabla representa en **negrita** los valores de Estimación Dietética Recomendada y con un asterisco (\*) los valores de Ingestas adecuadas.

### 3.3.1 Macronutrientes <sup>(4)</sup>

En la **Tabla 1** se presentan las Ingestas dietéticas recomendadas y la Ingesta adecuada.

#### - **Proteínas**

El consumo diario es de 13 g/día; pero, teniendo en cuenta las variaciones del peso con la edad, las necesidades proteicas durante este periodo aumentarán en función de éste. Es conveniente que sus fuentes alimentarias sean de origen animal y vegetal al 50%, para con ello aportar los mg/g de aminoácidos indispensables recomendados.

#### - **Lípidos**

No se especifican ni las Estimaciones Dietéticas de Referencia, ni la Ingesta Adecuada diaria para estas edades. El rango aceptable de ingesta se sitúa entre 30 y 40 g/día. Se recomienda administrar un 28,5% de la grasa en forma de grasa saturada, un 43% de monoinsaturada y el 28,5% restante de poliinsaturada. Las ingestas adecuadas de ácidos grasos esenciales se han estimado en 7 g/día para ácido linoleico. El rango aceptable de ingesta es de 5-10 g/día para linoleico.

#### - **Hidratos de Carbono**

Las Ingestas Dietéticas de Referencia establecen su consumo en 130 g/día. Sólo el 10% de los azúcares consumidos (nivel máximo del 25%) deberán ser en forma de azúcares simples. El 90% restante serán hidratos de carbono complejos.

### 3.3.2 Minerales <sup>(4)</sup>

Al igual que sucede con el resto de los nutrientes, las recomendaciones dietéticas recientes han modificado los niveles de ingesta. Aun así no se han referenciado ni la ingesta recomendada, ni los requerimientos, ni el máximo nivel de ingesta para algunos minerales, tales como Arsénico, Sílice y Vanadio, mientras que para Boro y Niquel se indica un nivel máximo de ingesta de 3 mg/día y 0,2 mg/día, respectivamente.

#### - **Calcio**

Dadas las variaciones existentes, resulta muy difícil fijar las necesidades reales. Por esta razón, en lugar de requerimientos promedios y recomendaciones se han propuesto ingestas adecuadas, que son ligeramente torno a los 500 mg/día considerándose el máximo nivel de ingesta en 2.500 mg/día.

#### - **Hierro**

Mientras que los requerimientos aconsejan un aporte de 3 mg/día, las recomendaciones de ingesta son de 7 mg/día, una cifra que se alcanza fácilmente con una dieta variada que contenga carne, hígado y pescado, pero que es difícil de conseguir con dietas vegetarianas. La cantidad máxima admisible es de 40 mg/día.

#### - **Zinc**

En este oligoelemento se han mantenido para estas edades unos niveles de necesidades y requerimientos muy similares a los consensuados anteriormente, fijándose en 3 mg/día las RDA y en 2,5 mg/día los EAR, con un aporte máximo tolerado de 7 mg/día.

### - Flúor

Teniendo en cuenta el contenido de flúor en el agua de beber, se ha establecido que la ingesta adecuada para reducir la incidencia de caries y evitar el riesgo de fluorosis es de 0,7 mg/día. Para que no exista ningún riesgo de efectos adversos no deben tomarse más de 1,3 mg/día.

### - Magnesio

Se aportarán 80 mg/día estimándose los requerimientos medios en 65 mg/día. El máximo nivel de ingesta en agentes farmacológicos, sin incluir alimentos y agua, es de 65 mg/día.

### 3.3.3 Vitaminas

Se han establecido los requerimientos promedios diarios para las vitaminas A, E, C, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>

#### 3.3.3.1 Vitaminas liposolubles(A, D, E y K) <sup>(4)</sup>

Las necesidades de este tipo de vitaminas se detallan en la **Tabla 2**. Los requerimientos medios estimados no se especifican para la vitamina K, para la que tampoco se establecen niveles máximos de ingesta.

#### 3.3.3.2 Vitaminas hidrosolubles <sup>(4)</sup>

En este grupo no se han instaurado Ingestas máximas en las vitaminas B<sub>12</sub>, Tiamina, Acido Pantoténico, Riboflavina y Biotina.

### **3.3.4 Energía y Aporte calórico <sup>(4)</sup>**

Las necesidades de energía se sitúan en torno a las 102 kcal/kg de peso y día, lo que hace aproximadamente 1.300-1.500 kcal/día. El equilibrio nutricional aconsejado no varía en mucho del que se recomienda para los adultos, es decir, ingerir el aporte calórico en un 12-15% en forma de proteínas, en un 30-35% con lípidos y en un 50-58% con glúcidos.

### **3.4 Importancia de la Leche en los niños <sup>(4)</sup>**

Durante la etapa de 1 a 3 años, los productos lácteos continúan siendo un componente básico en la alimentación. Se aconseja consumir 500-600 mL de leche al día, cantidad que se puede sustituir en parte por productos lácteos como queso o yogur, para cubrir el 30% de las necesidades energéticas.

Existen solo dos formas de satisfacer las necesidades nutricionales de leche en los niños:

#### **3.4.1 Lactancia Materna <sup>(4,23)</sup>**

La leche materna es el alimento óptimo para recién nacidos, lactantes y niños de corta edad, y así lo reconocen todos los organismos y sociedades científicas nacionales e internacionales.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda iniciar la lactancia materna en la primera hora de vida, y mantenerla como única forma de alimentación durante los 6 meses siguientes; a partir de entonces se recomienda seguir con la lactancia materna hasta los 2 años, como mínimo, complementada adecuadamente con otros alimentos inocuos.

## - **Ventajas de la Lactancia Materna**

La leche materna es el alimento ideal ya que entre muchos componentes contiene caseínas que son un grupo de proteínas con baja solubilidad en medio ácido. El suero permanece en solución después de precipitación ácida. La lactoalbúmina, que representa cerca del 40% de las proteínas del suero se absorbe, es metabolizada y participa en la síntesis de lactosa. La lactoferrina, que equivale alrededor del 25% del suero favorece la absorción de hierro y tiene una función en la defensa del huésped particularmente contra bacterias. Las gammaglobulinas equivalen a cerca del 25% del suero y proporcionan inmunidad intestinal. Casi la mitad del suero aparentemente no se absorbe y no se puede utilizar para síntesis de proteínas, aunque si participa en la defensa local del huésped y proporciona factores de crecimiento, por lo que la cantidad de proteína metabolizable es considerablemente menor que el contenido de proteínas totales de la leche materna.

Se piensa que los leucocitos de la leche humana constituyen un componente importante de las propiedades antiinfecciosas e inmunológicas de la leche materna. Los fagocitos del calostro y de la leche humana tienen bajo poder bactericida pero una capacidad considerable para la fagocitosis, pueden fagocitar a los microorganismos e impedir su adhesión y subsecuente colonización del intestino.

Las anteriores son solo algunos de los beneficios de la leche materna, sin embargo; existen circunstancias por las cuales la madre decide no optar por la lactancia materna ya sea por su propio rechazo absoluto o por alguna indicación médica que la imposibilita; entre las cuales tenemos:

- ✓ Madres infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana.
- ✓ Madres infectadas por Hepatitis B

- ✓ Madres infectadas por el virus de la leucemia humana de células T.
- ✓ Madres adictas a drogas con la excepción de las que siguen programas de desintoxicación con metadona.
- ✓ Madres que toman fármacos contraindicados durante la lactancia.
- ✓ Madres con tuberculosis cavitaria activa y mastopía herpética o sifilítica.
- ✓ Niños con galactosemia.
- ✓ Niños con deficiencia primaria congénita de lactasa.<sup>(20)</sup>

Los datos de la Encuesta Nacional de Salud Familiar (FESAL) realizada en el 2008 y publicada en el 2009 muestran que solamente el 31.4% de la niñez menor de 6 meses recibe lactancia materna por lo cual al alcanzar el año de edad y los posteriores dos años disminuye considerablemente este valor utilizando las madres algún tipo de fórmula láctea infantil como complemento de la lactancia materna o como única fuente láctea para los niños.<sup>(2)</sup>

### **3.4.2 Lactancia Artificial**

Se utiliza la lactancia artificial como sustituta de la leche materna ya sea en lactantes o en niños de corta edad. La denominada "lactancia artificial" se inventó a finales del siglo XIX, aplicada a la alimentación de terneros y otros animales de granja, para dar salida a los excedentes de producción de leche de vaca, que era conservada en polvo y rehidratada posteriormente para su uso. Unos años después, por iniciativa de la empresa de Henri Nestlé, se inició su uso en humanos. Alcanzó su máxima popularidad en los años 1960.

En vista de estas necesidades actuales la industria ha diseñado fórmulas lácteas infantiles según la necesidad de cada niño acorde a su edad, ya sea en presentación líquida o en polvo para reconstituir y en su composición se ha buscado no imitar a la leche humana, sino lograr la misma funcionalidad. Las fórmulas adaptadas se fabrican a partir de la leche de vaca pero se modifican las proporciones de los distintos componentes nutricionales de forma que

resulten debidamente adaptados a las necesidades nutritivas y capacidad digestiva del niño a partir del primer año.

### **3.5 LECHE**

#### **3.5.1 Definición de la Leche** <sup>(28)</sup>

Es el producto íntegro, no alterado ni adulterado de la secreción de las glándulas mamarias de las hembras del ganado bovino obtenida por el ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas sanas y libre de calostro; que no ha sufrido ningún tratamiento a excepción del filtrado y/o enfriamiento, y está exento de color, olor, sabor y consistencia anormales.

#### **3.5.2 Naturaleza de la leche**

Es una emulsión de grasas en agua, estabilizada por una dispersión coloidal de proteínas en una solución de sales, vitaminas, péptidos, lactosa, oligosacáridos, caseína y otras proteínas.

#### **3.5.3 Características organolépticas** <sup>(28)</sup>

##### **- Textura**

La leche tiene una viscosidad de 1,5 a 2,0 centipoises a 20 °C, ligeramente superior al agua (1,005 cp). Esta viscosidad puede ser alterada por el desarrollo de ciertos microorganismos capaces de producir polisacáridos que por la acción de ligar agua aumentan la viscosidad de la leche.

##### **- Color:**

El color normal de la leche es blanco, el cual se atribuye a reflexión de la luz por las partículas del complejo caseinato- fosfato-cálcico en suspensión coloidal y por los glóbulos de grasa en emulsión.

Aquellas leches que han sido parcial o totalmente descremadas o que han sido adulteradas con agua, presentan un color blanco con tinte azulado. Un color rosado puede ser el resultado de la presencia de sangre o crecimiento de ciertos microorganismos. Otros colores (amarillo, azul, etc.), pueden ser producto de contaminación con sustancias coloreadas o de crecimiento de ciertos microorganismos. Una leche adulterada con suero de quesería puede adquirir una coloración amarilla-verdosa debida a la presencia de riboflavina.

#### **- Sabor**

El sabor natural de la leche es difícil de definir, normalmente no es ácido ni amargo, sino más bien ligeramente dulce gracias a su contenido en lactosa. A veces se presenta con cierto sabor salado por la alta concentración de cloruros que tiene la leche de vaca que se encuentra al final del periodo de lactancia o que sufren estados infecciosos de la ubre (mastitis).

#### **- Olor**

El olor de la leche es también característico y se debe a la presencia de compuestos orgánicos volátiles de bajo peso molecular, entre ellos, ácidos, aldehídos, cetonas y trazas de sulfato de metilo. La leche puede adquirir, con cierta facilidad sabores u olores extraños, derivados de ciertos alimentos consumidos por la vaca antes del ordeño, de sustancia de olor penetrante o superficies metálicas con las cuales ha estado en contacto o bien de cambios químicos o microbiológicos que el producto puede experimentar durante su manipulación.

### **3.5.4 Propiedades físicas de la leche**

#### **- Densidad**

La densidad de la leche puede variar entre 1.028 a 1.034 g/cm<sup>3</sup> a una temperatura de 15°C; su variación con la temperatura es 0.0002 g/cm<sup>3</sup> por cada grado de temperatura.

La densidad de la leche varía entre los valores dados según sea la composición de la leche, pues depende de la combinación de densidades de sus componentes. La densidad mencionada (entre 1.028 y 1.034 g/cm<sup>3</sup>) es para una leche entera, pues la leche descremada esta por encima de esos valores (alrededor de 1.036 g/cm<sup>3</sup>), mientras que una leche aguada tendrá valores menores de 1.028 g/cm<sup>3</sup>.

#### **- pH de la leche**

La leche es de característica cercana a la neutra. Su pH puede variar entre 6.5 y 6.65.

#### **- Acidez de la leche**

Una leche fresca posee una acidez de 0.15 a 0.16%. Esta acidez se debe en un 40% a la anfoterica, otro 40% al aporte de la acidez de las sustancias minerales, CO<sub>2</sub> disuelto y ácidos orgánicos; el 20% restante se debe a las reacciones secundarias de los fosfatos presentes.

Una acidez menor al 0.15% puede ser debido a la mastitis, al aguado de la leche o bien por la alteración provocada con algún producto alcalinizante.

Una acidez superior al 0.16% es producida por la acción de contaminantes microbiológicos. (La acidez de la leche puede determinarse por titulación con Na OH 10N o 9N).

**- Punto de congelación**

El valor promedio es de  $-0.54^{\circ}\text{C}$ . Como se aprecia es menor a la del agua, y es consecuencia de la presencia de las sales minerales y de la lactosa.

**- Punto de ebullición**

La temperatura de ebullición es de  $100.17^{\circ}\text{C}$ .

**- Calor específico**

La leche completa tiene un valor de  $0.93 - 0.94 \text{ cal/g}^{\circ}\text{C}$ , la leche descremada  $0.94$  a  $0.96 \text{ cal/g}^{\circ}\text{C}$ .

**3.5.5 Composición de la leche <sup>(28)</sup>**

La leche es un alimento básico que tiene la función primordial de satisfacer los requerimientos nutricionales del recién nacido. Y lo consigue gracias a su mezcla en equilibrio de proteínas, grasa, carbohidratos, sales y otros componentes menores dispersos en agua. Nutricionalmente presenta una amplia gama de nutrientes (de los que sólo el hierro está a niveles deficitarios) y un alto aporte nutricional en relación con el contenido en calorías; hay buen balance entre los constituyentes mayoritarios: grasa, proteínas y carbohidratos. Además del papel nutricional, se ha descrito su papel potencial como factor y modulador del crecimiento.

La leche es un fluido biológico complejo, cuya composición y propiedades físicas varía de una especie a otra según en función de las necesidades dietéticas de las crías. El constituyente mayoritario de la leche es el agua y contiene cantidades variables según la especie de lípidos, proteínas y carbohidratos que se sintetizan en la glándula mamaria. También se encuentran en la leche pequeñas cantidades de minerales y otros componentes

liposolubles e hidrosolubles que proceden directamente del plasma sanguíneo, proteínas sanguíneas e intermediarios de la síntesis mamaria.

**Cuadro N°1 Valores promedios de la composición de la leche** <sup>(23)</sup>

COMPONENTE	VALOR MEDIO (%)
Agua	86,9
Proteína	3,5
Grasa	4,0
Lactosa	4,9
Cenizas	0,7

#### - Agua

Es el componente más abundante y es en ella donde encontramos los otros componentes en estados diferentes. Es así que el cloro, sodio y potasio están en dispersión iónica, la lactosa y parte de la albúmina en dispersión molecular, la caseína y fosfatos en dispersión coloidal y la materia grasa en emulsión.<sup>(9,25)</sup>

#### - Proteínas

Las proteínas de la leche están conformadas por tres grupos: la caseína en un 3%, la lactoalbúmina en un 0,5% y la lactoglobulina en un 0,05%. En ellas se encuentran presentes más de veinte aminoácidos dentro de los cuales están todos los esenciales. La caseína a su vez está compuesta por tres tipos de caseína, la k-caseína, la b-caseína y la a- caseína.

#### - Lactosa

Es el componente más abundante entre los sólidos de la leche. La concentración varía entre 4,2 y 5%

La lactosa es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa.

La lactosa influye sobre todo en las propiedades coligativas de la leche, en la presión osmótica, el descenso del punto de congelación y el incremento del punto de ebullición

#### **- Materia grasa**

La grasa de la leche tiene una composición compleja. Entre los componentes predominan los triglicéridos, que constituyen el 98% de la grasa láctea y se encuentran pequeñas cantidades de di y monoglicéridos y ácidos grasos libres. También hay cantidades mensurables de fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol. Otros componentes se encuentran en cantidades muy pequeñas, pero pueden ser importantes en las propiedades organolépticas o desde el punto de vista nutritivo. Entre ellos podemos mencionar las vitaminas liposolubles principalmente A, D y E junto con pequeñas cantidades de vitamina K; los compuestos responsables del aroma y sabor como aldehído, cetonas y lactonas y los pigmentos carotenoides.

#### **- Minerales**

Los minerales más importantes en la leche son los bicarbonatos, cloruros, el calcio, fósforo, sodio y potasio. En pequeñas cantidades se encuentran presentes hierro, yodo, cobre, manganeso y zinc.

#### **- Vitaminas**

La leche es una fuente de vitaminas liposolubles A, D, E y K, y de vitaminas hidrosolubles como el complejo B y la vitamina C.

#### **- Enzimas**

La leche contiene un gran número de enzimas, aunque se encuentran en pequeñas cantidades, algunas tienen una considerable importancia en la

estabilidad d la leche durante el almacenamiento entre las más conocidas son la fosfatasa, lipasa, catalasa, galactasa y reductasa.

Las proteasas y lipasas pueden afectar el aroma y sabor y a la estabilidad de las proteínas de la leche.

#### - **Gases**

La leche también tiene **gases** como el CO<sub>2</sub>, el oxígeno y el nitrógeno.

### **3.5.5 Clasificación de Leche**

#### **3.5.5.1 Según su proceso térmico** <sup>(23)</sup>

##### - **Leche cruda**

Es el producto íntegro, no alterado ni adulterado, de la secreción de las glándulas mamarias de las hembras del ganado bovino obtenida por el ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas sanas y libre de calostro; que no ha sido sometida a ningún tratamiento a excepción del filtrado y/o enfriamiento, y está exento de color, olor, sabor y consistencia anormales.

##### - **Leche pasteurizada**

La leche de vaca entera, semidescremada o descremada, que ha sido sometido a un proceso de calentamiento en condiciones de temperatura y tiempo que aseguren la total destrucción de la microflora patógena y casi la totalidad de la microflora no patógena. El tratamiento térmico de la leche pasteurizada es de 72 a 75 °C durante 15 a 20 segundos o su equivalente.

##### - **Leche ultrapasteurizada**

La leche de vaca entera, semidescremada o descremada, que ha sido sometido a un proceso de calentamiento en condiciones de temperatura y tiempo que

aseguren la total destrucción de la microflora patógena y casi la totalidad de la microflora no patógena. El tratamiento térmico de la leche ultrapasteurizada debe ser de 135 a 140 °C por un tiempo mínimo de 2 a 4 segundos o su equivalente.

- **Leche esterilizada**

Es la leche sometida a procesos térmicos, de tal manera que se destruyen todos los microorganismos, incluyendo esporas y toxinas. Este proceso se realiza con la leche ya envasada, sea en botellas o latas, las que son tratadas en autoclave, por un tiempo de 10 a 20 minutos y a temperaturas de 120 °C, como es el caso de la leche evaporada.

- **Leche deshidratada**

Llamada también leche en polvo, la cual es producida con leche pasteurizada sometida a proceso de secado, en el cual se elimina el agua, hasta obtener un producto con 92 a 94 % de materia seca. Para la producción de leche en polvo previamente se somete a tratamiento térmico para inactivar las enzimas lipásicas y estabilizar las proteínas.

### **3.5.5.2 Según su contenido de grasa. (23)**

- **Leche entera**

La leche cuyo contenido de grasa es mayor de 0,15 % y menor 3,0 % m/m.

- **Leche semidescremada**

Esta leche conserva parcialmente su grasa, entre 1.5% y 1.8% de materia grasa. Se elimina aproximadamente la mitad de la materia grasa.

### - **Leche descremada**

Es la leche que contiene un mínimo de grasa, aproximadamente 0.3% conservando sus proteínas, azúcar y calcio, pero no las vitaminas liposolubles.

### **3.5.6 Proceso de pasteurización o ultra pasteurización**

Es el proceso por el cual se somete la totalidad de la leche a una temperatura conveniente durante el tiempo especificado para destruir la totalidad de los microorganismos patógenos que puedan contener, tales como bacterias, protozoos, mohos y levaduras, y la mayor parte de la microflora no patógena, seguido de un enfriamiento rápido, sin que sus componentes sufran alteraciones sensibles en su valor nutritivo, ni en sus propiedades organolépticas y fisicoquímica.

A diferencia de la esterilización, la pasteurización no destruye las esporas de los microorganismos, ni elimina todas las células de microorganismos termofílicos.

### **3.5.7 Fuentes de contaminación de la leche** <sup>(33)</sup>

Aunque la leche se obtiene por vacas sanas y en las mejores condiciones asépticas, es raro que sea enteramente estéril, debido a la anatomía de su ubre (conductos gruesos y poco ramificados que facilitan la penetración de microorganismos por vía ascendentes, a diferencia de otras especies como ovejas y cabras, de los cuales si se pueden tener leches estériles).

La leche contiene pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana, sin embargo, durante el ordeño, la leche se puede contaminar a partir del animal,

especialmente de las zonas externas de la ubre y áreas próximas; del medio ambiente, desde el estiércol y el suelo, así como del lecho en el que descansan los animales, y a través del polvo, aire, agua e insectos (particularmente moscas). Probablemente las dos fuentes de contaminación más significativas sean el equipo y utensilios, utilizados para su obtención y recolección, así como las superficies que entran en contacto con la leche, incluidas las manos de los ordeñadores y demás personal.

Existe la posibilidad de que la leche se encuentre afectada de un gran número de agentes microbianos desde el momento de su producción, dependiendo en gran medida de las prácticas de higiene y sanidad observadas en la manipulación durante la producción, transporte, proceso y venta.

### **3.6 Fórmulas Lácteas Infantiles**

El desarrollo de sustitutos de la leche materna forma parte integral de la historia. Aunque no se han desarrollado formulas pediátrica capaces de reproducir las propiedades inmunológicas y la digestibilidad de la leche humana, las formulas infantiles han sido sometidas a muchas revisiones y se han convertido en una parte importante del régimen alimenticio del lactante y niño de corta edad. Después de los 6 meses las formulas infantiles son capaces de cubrir una parte importante de los requerimientos nutricionales del niño.

Las indicaciones generales de las formulas infantiles son:

- Suplementación, en hijos de mujeres que no desean o no pueden alimentarlos en el seno materno
- Suplementación, en hijos de mujeres que desean suspender la alimentación al seno materno ocasionalmente.
- Suplementación, cuando la producción de leche materna es insuficiente.<sup>(14)</sup>

### **Desventajas del Uso de Leche de Vaca pura**

El uso de leche de vaca sin modificar no resulta beneficioso en los niños, ya que contiene una concentración excesiva de proteínas, calcio, fósforo y sodio, además es deficitaria en ácidos grasos esenciales, hierro, vitamina C, D, E y niacina.<sup>(19)</sup> La ingesta proteica de los niños que se alimentan con leche de vaca es mayor que la requerida por los niños, produciendo como consecuencia una sobrecarga renal de solutos, e incluso hipercalciuria. Además, la proteína de la leche de vaca puede ocasionar una reacción en la mucosa intestinal, provocando hemorragias microscópicas en el tracto intestinal, y como consecuencia, una anemia por deficiencia de hierro. La leche de vaca tiene un bajo contenido en hierro y gran parte de ese hierro está unido a la caseína, lo que puede interferir en su absorción. De igual forma, su bajo contenido en vitamina C no favorece tampoco la absorción del poco hierro que contiene.<sup>(5)</sup>

En niños sanos, antes de los dos años, no está indicado también el uso de leches desnatadas o semidesnatadas ya que la grasa es una fuente energética y es vehículo de vitaminas liposolubles facilitando su absorción.<sup>(18)</sup>

El Comité de Expertos en Nutrición de la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) recomienda que se evite la ingesta de leche de vaca hasta el tercer año de vida.

### **3.6.2 Definición de Formula Láctea Infantil**

Son fórmulas elaboradas a partir de la leche de vaca. Pero antes de que un lactante y niños puedan beber leche de vaca en la forma de fórmula infantil, es preciso reducir el contenido de proteínas y minerales e incrementar el contenido de carbohidratos. La grasa originaria se elimina y reemplaza por otras grasas vegetales, animales o minerales, se agregan vitaminas y elementos traza. Las grasas de estas fórmulas deben constituir el 40-55% del aporte calórico total. La

lactosa debe ser el hidrato de carbono mayoritario. El contenido de sales minerales es reducido aunque no inferior al contenido en la leche de mujer.<sup>(19)</sup>

### **3.6.3 Clasificación de Fórmulas Lácteas**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica las Leches artificiales de la siguiente manera:

#### **3.6.3.1 Fórmulas de Inicio (Lactantes de 0 a 6 meses)**

Los preparados o fórmulas de inicio para lactantes llamados también tipo 1 se definen como aquellos productos alimenticios destinados a la alimentación del lactante desde el nacimiento hasta los 4 a 6 meses de vida, y deben satisfacer por sí mismos sus necesidades nutritivas.

Esta etapa es caracterizada por requerir alimentación láctea exclusiva y por ser un período de altos requerimientos nutricionales en relación a su peso, como así también de inmadurez digestiva y metabólica.<sup>(12)</sup>

Las fórmulas de inicio son derivadas de la leche de vaca. Esta es modificada en cantidad, calidad y tipo de nutrientes con el fin de asemejarla tanto como sea posible a la leche humana (de allí el antiguo término de fórmulas maternizadas), y adaptarla a la condiciones de inmadurez digestiva y renal del recién nacido, mejorar su digestibilidad y tolerancia, disminuyendo la carga renal de solutos. Por todo ello, estas fórmulas deben ser la primera opción cuando sea necesario complementar o sustituir la lactancia materna, siempre que las condiciones socioeconómicas lo permitan<sup>(17)</sup>

#### **- Composición**

La proporción de principios inmediatos debe imitar la leche materna: 50- 55% del aporte calórico en forma de grasa, 35-50% de hidratos de carbono y el 5%, las proteínas.

**Tabla 3. Composición recomendada para Leches de Inicio según la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en 2005. Energía y Macronutrientes (25)**

NUTRIENTES		UNIDADES	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO
ENERGÍA		kcal /100 mL	60	70
PROTEINAS	PROTEINA DE VACA	g/100 kcal	1.8	3
	PROTEINA DE SOYA	g/100 kcal	2.25	3
LIPIDOS	GRASA TOTAL	g/100 kcal	4.4	6
	ACIDO LINOLEICO	g/100 kcal	0.3	1.2
	ACIDO $\alpha$ -LINOLEICO	mg/100 kcal	50	NS*
HIDRATOS DE CARBONO		g/100 kcal	9	14

\*NS = No se reporta

**Tabla 4. Composición recomendada para Leches de Inicio según la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en 2005. Vitaminas y Minerales (25)**

VITAMINA/MINERAL	UNIDADES	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO
VITAMINA A	$\mu\text{g RE}/100 \text{ kcal}^*$	60	180
VITAMINA D	$\mu\text{g}/100 \text{ kcal}$	1	2,5
VITAMINA E	$\alpha\text{-TE}/100 \text{ kcal}^{**}$	0.5	5

**Tabla 4. Continuación**

VITAMINA/MINERAL	UNIDADES	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO
VITAMINA K	µg/ 100 kcal	4	25
TIAMINA	µg/ 100 kcal	60	300
RIBOFLAVINA	µg/ 100 kcal	80	400
NIACINA	µg/ 100 kcal	300	1500
VITAMINA B <sub>5</sub>	µg/ 100 kcal	35	175
COLINA	mg/ 100 kcal	7	50
VITAMINA B <sub>12</sub>	µg/ 100 kcal	0,1	0,5
ACIDO PANTOTENICO	µg/ 100 kcal	400	2000
ACIDO FÓLICO	µg/ 100 kcal	10	50
VITAMINA C	mg/ 100 kcal	8	30
BIOTINA	µg/ 100 kcal	1,5	7,5
HIERRO	mg/ 100 kcal	0,3	1,3
CALCIO	mg/ 100 kcal	50	140
FOSFORO	mg/ 100 kcal	25	90
MAGNESIO	mg/ 100 kcal	5	15
SODIO	mg/ 100 kcal	20	60
POTASIO	mg/ 100 kcal	60	160
CLORO	mg/ 100 kcal	50	160
MANGANESO	µg/ 100 kcal	1	50
SELENIO	µg/ 100 kcal	3	9
COBRE	µg/ 100 kcal	35	100
ZINC	mg/ 100 kcal	0.5	<b>NS</b>
FLUOR	µg/ 100 kcal	<b>NS</b>	100

\*NS: No se reporta. \*\*RE: Retinol Equivalent, 1 µg RE = 1 µg all *trans* retinol

### 3.3.3.2 Fórmulas de Continuación (Lactantes de 6 a 12 meses)

Las fórmulas de continuación, llamadas también de seguimiento o tipo 2, se emplean a partir de los 4-6 meses hasta el año de edad. No van a ser el único alimento del lactante, sino que serán el complemento indispensable de la alimentación complementaria.<sup>(13)</sup>

Las fórmulas tipo 2 son fórmulas menos complejas que las de inicio, en cuanto a su composición, ya que la madurez fisiológica del lactante ahora es mayor y no requieren tantas modificaciones como una leche de inicio.

Las diferencias más importantes con las leches de inicio son:

- Mayor densidad energética por adición de hidratos de carbono.
- Contenido proteico más elevado.
- Hidratos de carbono variados, pudiendo contener maltrodextrinas, además de lactosa y almidón.

Estas fórmulas surgen como una mejor alternativa que la leche de vaca, a un costo razonable. Han sido reguladas por la FAO- OMS para adecuarlas a las características biológicas del lactante mayor de 6 meses, más maduro orgánicamente y funcionalmente en sus aparatos digestivo y renal.<sup>(18)</sup>

#### - Composición

Las características de una fórmula de continuación son una mayor densidad energética por adición de hidratos de carbono y que contiene otros hidratos de carbono además de la lactosa. El porcentaje de sacarosa, fructosa y miel no debe ser superior al 20% de los hidratos totales. La ESPGAN desaconseja la adición de sacarosa para evitar la adicción al sabor dulce. Contiene mayor cantidad de proteínas que la fórmula de inicio. En cuanto al contenido en hierro, no se conoce el nivel óptimo, pero es mayor en las fórmulas de continuación que en las de inicio. Además, recomienda la adición de ácido ascórbico a la fórmula para mejorar la absorción del hierro. El aporte de grasas es bastante similar al de la fórmula de inicio y debe ser al menos el 35% del aporte calórico

total de la fórmula. Dado que el contenido en grasas es bajo en la mayoría de los alimentos complementarios a estas edades, es aceptable que la leche tenga hasta 6 g de grasa/100 kcal, lo que supone un aporte de un 40-55% del aporte calórico total de la fórmula.<sup>(13)</sup>

**Tabla 5. Composición para Leches de Continuación según la recomendación de la Comisión Europea en 2003<sup>(7)</sup>**

NUTRIENTES		UNIDADES	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO
ENERGÍA		kcal/100 mL	60	80
PROTEINAS	PROTEINA DE VACA	g/100 kcal	1.8	3
	PROTEINA DE SOYA	g/100 kcal	2.25	3
LIPIDOS	GRASA TOTAL	g/100 kcal	3.3	6.5
	ACIDO LINOLEICO	mg/100 kcal	500	1200
	ACIDO $\alpha$ -LINOLEICO	mg/100 kcal	50	<b>NS*</b>
HIDRATOS DE CARBONO		g/100 kcal	7	14

\*NS = No se reporta

**Tabla 6. Composición recomendada para Leches de Continuación  
la Comisión Europea en 2003. Vitaminas y Minerales (7)**

VITAMINA/MINERAL	UNIDADES	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO
VITAMINA A	µg RE/100 kcal*	60	180
VITAMINA D	µg/ 100 kcal	1	3
VITAMINA E	α-TE/100 kcal***	0.5	5
VITAMINA K	µg/ 100 kcal	4	20
TIAMINA (B <sub>1</sub> )	µg/ 100 kcal	60	300
RIBOFLAVINA (B <sub>2</sub> )	µg/ 100 kcal	80	400
NIACINA (B <sub>3</sub> )	µg/ 100 kcal	300	1200
VITAMINA B <sub>6</sub>	µg/ 100 kcal	35	165
VITAMINA B <sub>12</sub>	µg/ 100 kcal	0,1	0,5
ACIDO PANTOTENICO (B <sub>5</sub> )	µg/ 100 kcal	400	2000
ACIDO FOLICO	µg/ 100 kcal	10	30
VITAMINA C	mg/ 100 kcal	10	30
BIOTINA	µg/ 100 kcal	1,5	7,5
HIERRO	mg/ 100 kcal	0,6	1,7
CALCIO	mg/ 100 kcal	50	140
FOSFORO	mg/ 100 kcal	20	70
MAGNESIO	mg/ 100 kcal	5	15
SODIO	mg/ 100 kcal	20	60
POTASIO	mg/ 100 kcal	60	160
CLORO	mg/ 100 kcal	50	160
MANGANESO	µg/ 100 kcal	1	100
SELENIO	µg/ 100 kcal	3	9
COBRE	µg/ 100 kcal	35	100
ZINC	mg/ 100 kcal	0,5	NS**
FLUOR	µg/ 100 kcal	NS**	100

NS: No se reporta. \*RE: Retinol Equivalent, 1 µg RE = 1 µg all *trans* retinol

### **3.3.3.3 Fórmulas de Crecimiento (Niños de corta edad de 1 a 3 años)**

Las leches de crecimiento son fórmulas de continuación que se han modificado parcialmente, destinadas a los niños desde los 12 hasta los 36 meses de vida, y su uso se recomienda para evitar la introducción temprana de la leche de vaca. Las fórmulas de crecimiento son una opción como paso intermedio entre estas fórmulas de continuación y la leche de vaca, para ser utilizadas entre 1 y 3 años de edad.<sup>(8)</sup>

#### **- Composición**

Así como las leches de inicio y las de continuación presentan una normativa sobre su composición y etiquetado, en este caso las leches de crecimiento no tienen una directiva específica que las regule, por lo que la industria alimentaria se ajusta a las recomendaciones existentes para las fórmulas de continuación y a los estudios sobre nuevos factores nutricionales que se van realizando y de los que se infieren recomendaciones generales de este modo, están suplementadas con hierro, vitaminas y oligoelementos. El hierro, en esta etapa, va a ser un nutriente esencial para mantener los valores de hemoglobina en sangre y para aumentar las reservas del organismo, y existen estudios que advierten sobre la carencia de hierro como una de las deficiencias nutricionales más frecuentes en niños durante los primeros 2 años de vida en los países industrializados.

Respecto a la leche de vaca, las leches de crecimiento presentan un aporte energético superior (entre 65 y 77 kcal/100 mL), con un contenido proteico optimizado. La cantidad de lípidos totales entre la leche de vaca entera y las leches de crecimiento son similares, aunque estas últimas aportan un perfil lipídico más equilibrado, debido a que para fabricarlas se utiliza leche

desnatada y se añaden aceites vegetales. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga se aconsejan en las fórmulas de inicio, pero algunas leches de crecimiento también los incorporan.<sup>(13)</sup>

Por último, no se debe olvidar que la recomendación del tipo de leche de crecimiento que debe tomar el niño, entre 1 y 3 años, la debe hacer de manera individualizada el profesional sanitario, de acuerdo a la ingesta de nutrientes, su riesgo de tener deficiencias nutricionales, así como la influencia de posibles enfermedades.

**Tabla 7. Comparación entre Leche de Continuación y Leche de Crecimiento con Ingesta Dietética de Referencia (8)**

NUTRIENTES	INGESTA DIETETICA DE REFERENCIA (DRI)		LECHE DE CONTINUACION		LECHE DE CRECIMIENTO	
	RDA*	AI**	Valor máx.	Valor min.	Valor máx.	Valor min.
PROTEÍNA	13 g/día		2,3 g	1,7 g	3,3 g	1.9 g
CALCIO		500 mg/día	119 mg	73,5 mg	135 mg	78,7 mg
HIERRO	7 mg/día		1,3 mg	0,9 mg	1,5 mg	1,2 mg
VITAMINA D		15µg/día	2 µg	1,2 µg	1,9 µg	1,2 µg

\*RDA: Estimación Dietética Recomendada \*\*AI: Ingesta Adecuada

Como podemos observar en la **Tabla 7**, los aportes recomendados para proteínas, calcio, hierro y vitamina D y los de estos mismos nutrientes en las fórmulas de crecimiento, continuación. Si calculamos para una ingesta de medio litro diario vemos que, aun considerando los aportes mínimos de las distintas fórmulas, el consumo de medio litro diario cubre entre el 65 y el 85% de la ingesta recomendada para estos elementos, tanto si se trata de una leche de continuación como de una de crecimiento, y en el caso de la vitamina D, el

100%. El contenido en proteínas, lípidos e hidratos de carbono de las leches de crecimiento es muy similar al de las fórmulas de continuación.

Todas las leches de crecimiento tienen un valor energético de entre 65-77 kcal/100 mL. El contenido proteico es ligeramente más alto que el de las fórmulas de continuación, pero dentro de las recomendaciones científicas; el de hidratos de carbono y lípidos es muy similar, aunque las fórmulas de crecimiento modifican el perfil lipídico utilizando aceites vegetales.

### **3.3.3.3.1 Estándares de Macronutrientes, Vitaminas y Minerales en las Fórmulas Lácteas**

#### **- Proteínas**

Las metas más importantes para mejorar las fórmulas lácteas respecto a este nutrimento son acercarse al contenido total de éstas así como al perfil de aminoácidos. El contenido de la proteína debe ser por lo menos 80% con respecto a la Leche Materna, incluso la ESPGHAN recomienda que por valores energéticos tanto los aminoácidos indispensables como los condicionalmente indispensables deben contener al menos los valores correspondientes a la Leche Materna .

#### **- Lípidos**

Son nutrimentos indispensables, importantes para un adecuado crecimiento y desarrollo, además de ser vehículo para la absorción de vitaminas liposolubles. Son la fuente predominante de energía tanto en los lactantes y niños alimentados al seno materno como los alimentados con fórmula, proporcionando en promedio entre el 40 y el 55% del total del contenido energético.

Durante el proceso de elaboración de las fórmulas lácteas se sustituye la grasa de la Leche de Vaca por una mezcla de aceites vegetales como: aceite de palma, de maíz, soya, cártamo, debido a que con este reemplazo se mejora la digestibilidad y la absorción. Respecto a los ácidos grasos poliinsaturados a los cuales se les ha atribuido un papel en la optimización en el desarrollo mental y visual del lactante, la recomendación emitida por la ESPGHAN es no más del 2% de Omega 6 y de Omega 3 el 1% en promedio del total de ácidos grasos.

#### - Minerales

El objetivo es mantener niveles adecuados de minerales tales como el hierro debido a que la biodisponibilidad de éste en la Leche de Vaca es menor que en la Leche Materna, por lo que se recomienda un rango de adición de 0.3-1.7 mg por cada 100 kcal. Otros minerales importantes son el calcio y el fósforo así como la relación entre ambos la cual se recomienda no menor a 1:1 pero no mayor a 2:1; se realiza una modificación en la cantidad de sodio y potasio por lo que se disminuye la carga renal de solutos, de la misma manera se adicionan con vitaminas con la finalidad de que sean parecidos a las cantidades presentes en la leche humana. Sin embargo, es importante mencionar que aun existen otros componentes que no ha sido posible agregarlos como hormonas, inmunoglobulinas, enzimas.

#### **3.3.3.4 Fórmulas especiales** <sup>(12)</sup>

Las Fórmulas especiales tienen como fin alimentar al lactante o niño que presenta algún tipo de enfermedad y deben ser contempladas como alimentos y medicamentos; por lo que, su indicación debe ser siempre pediátrica.

### 3.3.3.4.1 Clasificación <sup>(12)</sup>

#### - **Fórmulas para niños prematuros**

El objetivo de éstas es lograr una tasa similar al patrón de crecimiento intrauterino, por lo que tienen una mayor densidad energética que otras fórmulas, contienen en promedio 50% de lactosa y el resto puede ser maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, adicionadas con ácidos grasos esenciales, además de contener triglicéridos de cadena media.

#### - **Fórmulas sin lactosa**

La lactosa es el hidrato de carbono principal en las fórmulas, este tipo de fórmulas no contienen lactosa o pueden llegar a presentar un contenido residual en promedio de 6 mg/100 ml, las fuentes de hidratos de carbono con las que se sustituyen son maltodextrinas, sacarosa y sólidos de jarabe de maíz, con grasas de origen vegetal

#### - **Fórmulas de soya**

La fuente de proteína son aislados de proteína de soya cuyo valor biológico está por debajo de las proteínas de la LV, además de contener un patrón de aminoácidos diferente ya que la fórmula de soya contiene una menor cantidad de metionina, por lo que deben adicionarse con este aminoácido y con carnitina, así como también con vitaminas y minerales.

El contenido de proteínas es mayor que en las fórmulas de inicio debido a la menor biodisponibilidad, además de fortificarse con hierro y zinc por el contenido de fitatos los cuales disminuyen su absorción. Son libres de lactosa, pero se agregan polímeros de glucosa y sacarosa, la recomendación de ésta

última es que no sea más del 20%. Respecto al contenido de grasas son mezclas de aceites vegetales.

- **Fórmulas antirreflujo**

Contienen almidón de maíz o arroz pregelatinizado en promedio de un 25-30% con la finalidad de espesarlas, además de contener lactosa y polímeros de glucosa, en este tipo de fórmulas la proteína no está modificada, pueden llegar a presentar una relación suero:caseína en promedio de 30:70 para lograr un retardo en el vaciamiento gástrico debido a que la caseína se flocula con el pH gástrico del estómago formando una mezcla viscosa, contienen una mezcla de aceites de origen vegetal además de contener ácidos grasos poliinsaturados.

- **Fórmulas para niños con problemas digestivos**

Las fórmulas hidrolizadas se desarrollaron para el tratamiento de problemas de maldigestión-malabsorción. Son procesadas por diversos métodos, tanto las proteínas del suero como las de la caseína dando como resultado péptidos de diversos tamaños. Pueden ser parcialmente o extensamente hidrolizadas. Las fórmulas parcialmente hidrolizadas contienen en su composición péptidos con peso molecular de 5000-10000 kDa como las fórmulas hipoalergénicas aunque estrictamente no lo son debido a que no cumplen los criterios establecidos para considerarlas como fórmulas hipoalergénicas ya que el porcentaje de proteína hidrolizada que contienen es bajo, pero al contar con estos péptidos hidrolizados pueden tener efectos preventivos. Contienen lactosa y maltodextrinas, y las grasas son una mezcla de aceites vegetales.

### 3.6.4 Tipos de Formulas Lácteas Infantiles

En El Salvador se comercializan actualmente solo dos tipos:

- Formulas Infantiles en polvo
- Formulas Infantiles liquidas listas para tomar

#### 3.6.4.1 Fórmulas Infantiles en polvo

Los preparados en polvo para niños y lactantes se pueden fabricar de diversas maneras:

- **Proceso de mezcla en húmedo**

Todos los ingredientes se manejan en fase líquida y se someten a tratamiento térmico.

- **Proceso de mezcla en seco**

Los ingredientes se preparan por separado, se someten a tratamiento térmico según convenga, se secan y luego se mezclan en seco.

- **Proceso combinado**

Una parte de los ingredientes se elabora según mezcla húmeda a fin de obtener un polvo de base al que se añade el resto de los ingredientes según el mezcla en seco. En este proceso los preparados en polvo fabrican a partir de ingredientes que pueden incluir leche, derivados lácteos, concentrados de proteína de soja, hidratos de carbono, grasas, minerales, vitaminas y algunos aditivos alimentarios. Estos ingredientes, en forma líquida o en polvo, normalmente se mezclan con agua para formar una mezcla líquida, que luego se seca hasta obtener un polvo en grandes secadores de pulverización. Antes del secado, la mezcla líquida se calienta (se pasteuriza a 71,6°C durante 15 segundos o 74,4°C durante 25 segundos, o a temperaturas más altas [por

ejemplo, 105°C-125°C durante 5 segundos por lo menos]), se homogeniza, en algunos casos se evapora y a veces se almacena en grandes depósitos refrigerados. Durante el proceso de secado, la mezcla líquida se calienta a unos 82°C y se bombea con alta presión hasta las boquillas pulverizadoras o un atomizador montado en una cámara amplia de secado a través de la cual fluye aire filtrado a temperatura elevada. La mezcla líquida se seca de manera casi instantánea en el aire caliente y el polvo resultante cae al fondo del secador para su recogida.

En algunos casos los fabricantes elaboran los preparados para lactantes secando primero una mezcla en húmedo de los ingredientes principales (proteínas, grasas e hidratos de carbono). Esto es lo que normalmente se conoce como polvo base de los preparados. Luego se mezclan los ingredientes secundarios secos, como las vitaminas, los minerales y otros hidratos de carbono, con el polvo base en grandes mezcladores hasta obtener la formulación del producto final. Una vez finalizadas las fases de secado o mezcla, el producto final se transfiere de los silos de almacenamiento o mezcladores, y posteriormente a la maquinaria de llenado, donde se introduce en botes o recipientes flexibles. Los recipientes se tratan con gas inerte y se sellan, codifican, etiquetan y embalan en cajas de cartón para su expedición. El producto terminado se suele retener para someterlo a pruebas finales, que incluyen un examen del contenido de nutrientes, la uniformidad y un análisis microbiológico.

#### **3.6.4.2 Fórmulas líquidas listas para tomar**

La esterilización de la leche líquida por calor se hace habitualmente en botellas, mediante un procedimiento discontinuo o continuo. En ambos casos, la leche puede pre-esterilizarse a temperatura comprendida entre 120°C y 135°C

durante unos pocos segundos. Después se envasa a 60°C~70°C en botellas calientes de vidrio o recipientes metálicos, e incluso, más recientemente, en botellas de plástico. Estas botellas o recipientes se tapan herméticamente y se calientan durante períodos de 20 minutos a una hora hasta temperaturas de 120°C para conseguir que la leche del interior del recipiente o botella alcance, por lo menos, una temperatura de 115°C durante 15 minutos.

En el caso de las fórmulas lácteas líquidas listas para tomar se pueden esterilizar por calor según el método UHT (aproximadamente 150°C durante 3 segundos) y posteriormente se envasa asépticamente. El procesamiento industrial que se aplica para la fabricación de estos productos no debería variar los niveles de nutrientes presentes en el producto final, no obstante, esto no suele ser así, y por ejemplo en el caso de las vitaminas termolábiles es necesario considerar las pérdidas que se producen durante el tratamiento térmico y añadir las cantidades adicionales durante la elaboración de la fórmula.

### **3.7 Contaminantes microbiológicos en Formulas Lácteas Infantiles en polvo**

Se ha reportado que los lactantes y niños alimentados con fórmulas artificiales tienen más procesos infecciosos, los cuales son más graves y generan más hospitalizaciones en comparación con los niños que son alimentados con lactancia materna exclusiva.

El problema se define desde el tema de la inocuidad, especialmente la seguridad biológica de las preparaciones a base de leche artificial, dado que independiente del sector donde esté ubicado, las condiciones de manejo deben ser normalizadas. Además, requiere de un cuidado especial en la manipulación de cualquier alimento que se le suministre. Entonces, todos los lugares de

fabricación deben cumplir con las condiciones higiénicas y sanitarias necesarias y obligatorias para proteger la salud.<sup>(3)</sup>

### 3.7.1. Posibles focos de contaminación en el Proceso de elaboración de Fórmulas Infantiles en polvo<sup>(3)</sup>

La calidad nutricional de la leche que se va a transformar en leche en polvo para lactantes y niños, debe estar ligada a prácticas higiénicas desde la obtención de la leche cruda; es decir, desde la producción primaria, hasta la obtención y comercialización del alimento procesado en sus diferentes fases. En este proceso puede tener varios focos de posible contaminación entre los cuales tenemos:

#### - **Materia prima**

En la fabricación de fórmulas infantiles en polvo para lactante algunas materias primas no son sometidas a tratamientos térmicos por medio de ellas puede sufrirse contaminación microbiana (aplicable a los procesos de mezcla en seco y combinados). Por consiguiente, es esencial que estas alcancen los mismos niveles microbiológicos exigidos para el preparado en polvo para lactantes.<sup>(3)</sup>

#### - **Secado mezcla en húmedo**

Después de un proceso de calentamiento el producto puede sufrir contaminación microbiana del entorno de elaboración durante el secado o envasado. Luego del tratamiento en los procesos combinados se agregan los aceites vegetales y las vitaminas los cuales pueden estar contaminados.<sup>(3)</sup>

- **Mezclado en seco**

Contaminación debida a los ingredientes: algunos ingredientes tienen un riesgo elevado de contener microorganismos patógenos mientras que otros tienen un riesgo bajo. La proporción puede depender de la situación y del lugar de origen

### 3.7.2 Contaminación por *Staphylococcus aureus* y *Salmonella entérica* (3)

***Salmonella entérica*** es un microorganismo patógeno catalogado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como Categoría "A". Esta categoría lo ubica como agente etiológico que puede causar varias enfermedades en los lactantes, tales como infecciones sistémicas, infecciones gastrointestinales y respiratorias, y enterocolitis necrosante.

El control de *Salmonella enterica* en los alimentos de bajo contenido de humedad, como las leches infantiles en polvo, es todo un reto para los fabricantes ya que en el proceso de elaboración de la leche infantil en polvo existen varios puntos donde se puede generar una contaminación microbiana, considerando las superficies de equipos (por la gran capacidad de adherencia de *Salmonella enterica* y su posibilidad de crear biofilms), el uso de temperaturas y tiempos insuficientes en el tratamiento térmico de la leche, posibles fugas de los equipos (que permitan la mezcla de la leche tratada térmicamente y la que no ha sido sometida a calor), malas prácticas de limpieza y desinfección de la planta y durante la etapa de secado, factores como el mal control de la temperatura durante el procesamiento, la densidad de las partículas, el contenido de grasa y la variación de la cepa, así como las condiciones del equipo.

Ahora bien, de acuerdo con algunas investigaciones epidemiológicas y ambientales, la presencia de *Salmonella entérica* luego del tratamiento térmico, puede deberse a contaminación cruzada, ya que se esperaría que las fórmulas lácteas en polvo por tener una  $A_w$  muy baja no deberían mostrar la presencia de patógenos vegetativos.

*Salmonella entérica* tiene la capacidad de sobrevivir en alimentos secos durante largos periodos de tiempo y es susceptible de estar en las fórmulas infantiles, dado la combinación de  $A_w$  baja y un alto contenido de grasa. Este microorganismo es uno de los miembros de la familia Enterobacteriaceae con mayor tolerancia a los procesos de secado intensivo, sus células pueden

subsistir en un estado latente y volver al crecimiento de célula activa cuando las condiciones ambientales son favorables.

La contaminación con *Staphylococcus aureus* también puede ocasionarse en las formulas infantiles debido a la mala manipulación del producto desde el proceso de fabricación y producción hasta su empleo por el consumidor.

### 3.8 Requisitos microbiológicos en las Formulas Lácteas Infantiles.<sup>(24)</sup>

En la **Tabla 8** se presentan los requisitos microbiológicos para Fórmulas Lácteas y no Lácteas para lactantes (de 0 a 12 meses) y niños pequeños (12 a 36 meses) según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos”

**Tabla 8. Requisitos Microbiológicos**

Parámetro	Límite
<i>Staphylococcus aureus</i> (formulas lácteas)	<10 UFC/ g
<i>Salmonella ssp</i> /25 g	Ausencia
<i>Enterobacter sakasaki</i> /25g (formulas lácteas)	Ausencia

### 3.9 Microorganismos patógenos en leche.

#### 3.9.1 *Salmonella spp* <sup>(27)</sup>

##### - Características generales

El género salmonella pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Siendo fiel a su nombre, esta familia se compone de bacterias que se multiplican en el intestino,

siendo varios los géneros de enterobacteriaceae que incluye especies patógenas como la *Salmonella enterica*.<sup>(23)</sup>

Cuando el medio de cultivo es apropiado, crecen dentro de intervalos de temperaturas, de pH, y de actividad de agua ( $a_w$ ) más amplios que cuando se trata de un medio de cultivo con escasez de nutrientes.

Su temperatura máxima de crecimiento es de unos 45.6°C. Crecen bien a temperatura ambiente, si bien su temperatura óptima de crecimiento es de aproximadamente 37°C.

El intervalo de pH de crecimiento se halla comprendido entre los valores 4.1 y 9.0, multiplicándose, por lo tanto, en alimentos de baja acidez.

Su actividad de agua ( $a_w$ ) mínima de crecimiento varía para cada alimento aunque es de aproximadamente 0.93 a 0.95. Además, las especies y cepas de *Salmonella spp* se diferencian por su termorresistencia y por la influencia que los factores ambientales ejercen en el crecimiento.

El tratamiento térmico que se aconsejan para destruir las *salmonellas* spp en los alimentos perecederos es el calentamiento de los alimentos a una temperatura de 66°C y mantenimiento de esta temperatura en todas las partes del alimento por lo menos durante 12 minutos (o a 60°C durante 78 a 83 minutos)

#### - **Morfología microscópica**

Las salmonellas son bacilos Gram negativos, no esporuladas, anaerobios facultativos, que miden de 0.5 a 2.0  $\mu\text{m}$  de ancho y de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de largo; y son peritriquios cuando tienen motilidad.

#### - **Morfología macroscópica**

En Agar Salmonella-shigella presenta colonias incoloras, con centro negro debido a la producción  $\text{SH}_2$ . No fermentan la lactosa ni la sacarosa, son

fermentadores de la glucosa, catalasa positiva, oxidasa negativa y suelen ser móviles, son negativos para indol.

- **Enfermedades relacionadas con *Salmonella spp***

Respecto a *Salmonella entérica*, se ha presentado un marcado incremento en las cifras de brotes en los últimos años, y una considerable resistencia de sus serotipos ante los antimicrobianos y las medidas de control implementadas, tanto en las industrias productoras de leches infantiles, como en los lactarios y demás sitios de reconstitución de las fórmulas infantiles.

*Salmonella entérica* es parte de la población natural del tracto digestivo de varios animales como pájaros, tortugas y ranas, los cuales causan salmonelosis en animales para el consumo (aves, principalmente), quienes finalmente se hacen portadores del microorganismo. Los seres humanos también pueden portar la bacteria luego de una infección, y expulsarla por las heces durante un periodo largo. Esta bacteria, también se ha aislado de aguas negras y suelos contaminados con heces.

La salmonelosis de origen alimentario se caracteriza por EDA y un aumento en el peristaltismo intestinal. Es necesario consumir una cantidad mayor de 10<sup>5</sup> células para que se inicie la infección; sin embargo, existen cepas muy virulentas que con poca cantidad causan la enfermedad

Las cepas patógenas de *Salmonella entérica* inician la infección en el íleon. Una vez en las células epiteliales, se multiplica y se desencadena toda una respuesta inflamatoria por la ulceración y lisis celular, creando, posteriormente, un ambiente que propicia todo un desequilibrio hidroelectrolítico a nivel intestinal que da lugar a la diarrea. Los síntomas aparecen de 8 a 42 horas e incluyen náuseas, vómito y cólicos abdominales. También pueden darse escalofríos, fiebre y postración. La duración del cuadro es de 2 a 3 días, pero

según la agresividad del patógeno y el estado inmunológico del huésped, este periodo puede llegar a ser más o menos largo y ser fatal en niños y adultos mayores.

### 3.9.3 *Staphylococcus aureus*<sup>(27)</sup>

#### - **Características generales**

El *Staphylococcus aureus* es el patógeno humano más importante entre los estafilococos. Se encuentra en el medio ambiente externo. Aunque forma parte de la microflora humana normal, puede causar infecciones oportunistas importantes en condiciones apropiadas.<sup>(23)</sup>

#### - **Morfología microscópica**

*Staphylococcus aureus* es un coco Gram positivo en forma de racimos de uvas, hemolítico, que mide de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro es beta catalasa-positivo, coagulasa positivo y fermenta el manitol, es aerobio y anaerobio facultativo por lo que puede crecer en una atmósfera tanto con o sin oxígeno, no presenta movilidad ni forma cápsula. Es capaz de crecer hasta con un 10% de sal común por lo que puede crecer en el agua de mar.

#### - **Morfología macroscópica**

La morfología de esta bacteria se caracteriza por presentar colonias lisas, brillantes y convexas y posee un endopigmento color amarillo-naranja a blanco porcelana color dorado fermenta glucosa, lactosa y maltosa y el crecimiento

ocurre en un amplio rango de temperatura 6,5 a 50° C, siendo optimo 30-40° C.

(25)

- **Enfermedades relacionadas con *Staphylococcus aureus***

El *Staphylococcus aureus* suele estar en la piel y en las membranas mucosas de las personas sanas, sin llegar a causar infección, pero cuando penetra en los tejidos como en el caso de una herida puede ocasionar una amplia gama de infecciones debido a su producción de toxinas o por la invasión y destrucción de los tejidos, lo que provoca otras enfermedades debido a la proliferación del estafilococo. En ocasiones, el *Staphylococcus aureus* puede entrar en el torrente sanguíneo desde el sitio de la infección y alcanzar otros tejidos distantes, como el cerebro o los pulmones.

Hay muchos portadores del *Staphylococcus aureus* que no desarrollan infección; de hecho se considera que entre el 20% y el 40% de los adultos sanos son portadores asintomáticos del *Staphylococcus aureus*, lo que constituye un problema en cuanto a la transmisión de la enfermedad. El *Staphylococcus aureus*, es una bacteria muy resistente y longeva, permaneciendo en el aire o sobre objetos inanimados.

Esta bacteria es resistente a la resequedad, de modo que se disemina con facilidad y rapidez a los pacientes, procedente de la cabeza del personal clínico y de fómites como sábanas, ropa y equipo. Las cepas de *Staphylococcus aureus* son resistentes a muchos fármacos y resisten la muerte frente a la mayor parte de desinfectantes. De este modo persisten y se desarrollan en el medio hospitalario, donde se transmiten a los individuos muy susceptibles a infecciones por *Staphylococcus aureus*, aquellos que utilizan agujas como los diabéticos, alérgicos, personas con tratamiento de hemodiálisis o drogadictos, los que padecen enfermedades crónicas de la piel como psoriasis, eczemas o

dermatitis atópica y personal hospitalario incluso recién nacidos, sujetos con inmunosupresión, víctimas de quemaduras y pacientes con dispositivos internos fijos como catéter.

Los síntomas característicos de la intoxicación estafilocócica son náusea, vómito, dolor abdominal y diarrea se desarrollan entre 1 y 6 horas después de haber consumido el alimento, conteniendo enterotoxinas. Pueden ocurrir otras manifestaciones, como dolor de cabeza y disnea, pero con menor frecuencia, generalmente síntomas no persisten más allá de las 24 horas; en casos severos puede haber deshidratación, origina descompensación electrolítica; las muertes son raras y puede ocurrir en ancianos, niños o personas débiles.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLÓGICO**

## **4.0 DISEÑO METODOLOGICO**

### **4.1 TIPO DE ESTUDIO**

#### **4.1.1 Experimental**

Se realizaron análisis microbiológicos a las muestras que se recolectaron de Fórmulas de Crecimiento en polvo para determinar la presencia/ausencia de *Salmonella spp* y la cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el Método Recuento en placa realizándose en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

#### **4.1.2 Transversal**

Se considera transversal porque se llevó a cabo durante un período de dos meses (Mayo a Junio del año 2014) donde se estudió el problema de interés.

#### **4.1.3 Estudio de Campo**

Se realizaron dos visitas a los supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla (Ver Anexo N°1).

### **4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA**

Se realizó en:

Biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Biblioteca Central, Universidad de El Salvador (UES).

Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).

Internet.

### 4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

A través de un sondeo en la Zona Urbana de Santa Tecla se determinaron ocho supermercados de tres cadenas comerciales: **Super Selectos, La Despensa de Don Juan y La Despensa Familiar** como se muestra en el **Cuadro N° 2** en los cuales en todos se comercializan marcas de Fórmulas de Crecimiento (Ver Anexo No.7). Se realizó una visita a cada una de las sucursales de los diferentes supermercados y se observó que los supermercados Super Selectos y La Despensa de Don Juan comercializan las mismas marcas, sin embargo los supermercados de La Despensa Familiar únicamente comercializan tres de ellas; por lo tanto se decidió excluir los supermercados de La Despensa Familiar para evitar problemas en la realización del muestreo por inexistencia de alguna marca seleccionada. Posteriormente se efectuó una segunda visita de campo a los seis supermercados los cuales distribuyen siete marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo (Ver Anexo No.7); para determinar cuáles de estas marcas son las que muestran una mayor preferencia entre los consumidores por lo que se realizó una encuesta (Ver Anexo No.2) utilizando como criterio de inclusión, clientes que tuvieran hijos entre 1 a 3 años y que estuvieron dispuestos a completar la encuesta y como criterio de exclusión, clientes que no tuvieran hijos entre 1 a 3 años o que los tuvieran pero no desearon completar la encuesta; con lo cual se obtuvieron al final un total de 25 encuestas respondidas obteniendo resultados (Ver Anexo No.3) de tres marcas comerciales como las de mayor consumo.

**Cuadro N° 2. Supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla**

CADENA COMERCIAL	NÚMERO DE SUPERMERCADOS
Super Selectos	4
La Despensa de Don Juan	2
La Despensa Familiar	2

### 4.3.1 UNIVERSO Y MUESTRA

#### 4.3.1.1 UNIVERSO

Son todas las marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo (Ver Anexo No.7) comercializadas en los supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla.

#### 4.3.1.2 MUESTRA

Son las tres marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo de mayor preferencia en la Zona Urbana de Santa Tecla de acuerdo a la encuesta realizada (Ver Anexo No. 2 y 3).

#### 4.3.1.3 CODIFICACIÓN DE SUPERMERCADOS Y MUESTRAS

Las tres cadenas comerciales de los supermercados fueron codificadas como S1 (La Despensa de Don Juan); S2 (Super Selectos) y S3 (La Despensa Familiar) y la posterior codificación de sus respectivas sucursales puede observarse en el Anexo No.8.

Las tres marcas comerciales fueron codificadas como Marca A-3 (Nido 1+), Marca B-3 (Crece 1+) y Marca D-3 (Similac 3)(Ver Anexo No. 6)

### 4.3.2 TIPO DE MUESTREO

Para determinar el número de supermercados a muestrear se utilizó el muestreo estratificado en el cual cada cadena comercial constituyó un estrato tal como se observa en el Cuadro N° 3.<sup>(26)</sup>

**Cuadro N° 3. Estratos, supermercados y número de supermercados.**

N°DE ESTRATO	CODIFICADO	NÚMERO DE SUPERMERCADOS
1	S1	2
2	S2	4

Para seleccionar los supermercados a muestrear por estrato se utilizó el muestreo aleatorio simple

**Fórmula para determinar el tamaño de muestra en el muestreo estratificado para una población conocida de 6 supermercados <sup>(26)</sup>**

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N - 1) + Z^2pq}$$

**En donde:**

**N** = Universo

**n** = Muestra

**Z** = Intervalo de confianza al 95% o 99%

**p** = Población que posee la característica de interés

**q** = Población que no posee la característica de interés

**d** = Error muestral máximo permitido en la investigación

Para la presente investigación se utilizó un intervalo de confianza de 95% lo que nos proporciona un valor para  $Z = 1.96$ , al desconocerse el valor de **p** se le asigna un valor de 0.5 y al ser  $\mathbf{q} = 1 - \mathbf{p}$  se obtiene para **q** también un valor de 0.5. Entonces sustituyendo datos, se obtiene;

$$n = \frac{(6)(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2(6 - 1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 2.60 \cong 3 \text{ supermercados}$$

Lo cual quiere decir que del total de seis supermercados únicamente se muestrearon tres, los cuales según el muestreo estratificado se definieron encontrando el porcentaje representativo de cada estrato mediante la fórmula siguiente:

$$\% = \frac{Ni}{N} \times 100$$

**En donde:**

***Ni*** = Número de supermercados por estrato

***N*** = Número de supermercados en el universo

Así tenemos que para el Estrato 1, correspondiente a Super Selectos se obtiene:

$$\% = \frac{4}{6} \times 100$$

$$\% = 66.66\%$$

Y para el Estrato 2, correspondiente a La Despensa de Don Juan tenemos:

$$\% = \frac{2}{6} \times 100$$

$$\% = 33.33\%$$

**Cuadro N° 4. Porcentaje de cada cadena comercial de Supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla**

<b>N°DE ESTRATO</b>	<b>CODIFICADO</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>
<b>1</b>	S1	33.33%
<b>2</b>	S2	66.67%
	<b>Total</b>	100.0%

Para definir el número de sucursales (unidades muestreadas) por cada estrato se utilizó la siguiente fórmula:

$$ni = n \times \frac{Ni}{N}$$

**En donde:**

***ni*** = Número de sucursales a muestrear por cadena commercial

***n*** = Tamaño de muestra

***Ni*** = Número de supermercados por estratos

***N*** = Número de supermercados en el universo

Así que para el Estrato 1, se obtuvieron:

$$ni = n \times \frac{Ni}{N}$$

$$ni = 3 \times \frac{4}{6}$$

$$ni = 2 \text{ supermercados}$$

Y por consiguiente para el Estrato 2, se obtuvo:

$$ni = n \times \frac{Ni}{N}$$

$$ni = 3 \times \frac{2}{6}$$

$$ni = 1 \text{ supermercado}$$

**Cuadro N°5. Número de supermercados a muestrear por Estrato.**

N°DE ESTRATO	CODIFICADO	NÚMERO DE SUPERMERCADOS A MUESTREAR
1	S1	1
2	S2	2

**Selección de sucursales a muestrear**

La selección de cuales serian las sucursales (Ver Anexo No. 8) a muestrear por cada línea comercial se realizó aleatoriamente, colocando el nombre de las sucursales por estrato (un estrato a la vez) en una tómbola, obteniendo los siguientes resultados:

**Cuadro N° 6. Sucursales a muestrear por cada cadena comercial.**

N°DE ESTRATO	CODIFICADO	SUCURSALES A MUESTREAR
1	S1	S1-A
2	S2	S2-A
		S2-B

**4.3.2.2 Tamaño de la Muestra**

No es posible determinar con anterioridad al muestreo el tamaño de la población, debido a ello se utilizó una fórmula para tamaño de muestra para una población desconocida:

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

Utilizando los mismos criterios para los valores de “Z”, “p” y “q” que en el muestreo estratificado se obtuvo:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2}$$

$$n = 3.8416 \cong 4 \text{ muestras}$$

Los resultados determinan cuatro muestras por cada sucursal de supermercado, por lo que se recolectaron cuatro muestras por cada una de las tres marcas comerciales que constituyen la muestra en cada sucursal de cadena comercial.

**Cuadro N° 7. Número de muestras recolectadas por cada estrato**

ESTRATO	CODIFICADO	SUCURSAL	MUESTRAS			
			A-3	B-3	D-3	TOTAL
1	S1	S1-A	4	4	4	12
2	S2	S2-A	4	4	4	12
		S2-B	4	4	4	12
<b>TOTAL</b>						36 Muestras

#### 4.4. TOMA DE MUESTRA

Las muestras recolectadas poseen un empaque de lata o una bolsa laminada dependiendo la marca correspondiente. Se procedió a la identificación de cada una de ellas colocándoles una viñeta, la cual contenía:

Número de muestra

Código de muestra

Hora y fecha a la cual se realizará el muestreo.

Nombre de la persona que tomará la muestra y el testigo

Así mismo se llevó una Hoja Control (Ver Anexo N°5) por cada muestra, la cual se completó para garantizar la identificación de las muestras.

Debido a que son fórmulas infantiles en polvo éstas no requerían refrigeración en su transporte ya que su temperatura de almacenamiento ideal es no mayor de 30°C por lo que fueron transportadas directamente al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador donde se realizaron los análisis microbiológicos correspondientes.

#### **4.5 PARTE EXPERIMENTAL**

Se tomó cada muestra de leche en polvo en su respectivo empaque de lata o bolsa laminada de la siguiente manera: Se utilizó un algodón impregnado de alcohol isopropílico y se frotó el empaque de la muestra con el fin de eliminar cualquier suciedad externa que pudiera existir y alterar los resultados.

##### **4.5.1 ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

###### **DETERMINACION DE *Salmonella spp*(9)**

1. Pesar 25 gramos de leche en polvo asépticamente.
2. Transferir muestra de 25 gramos a un frasco estéril con tapón de rosca que sea de boca ancha con capacidad de 500 mL o un contenedor que sea apropiado.
3. Agregar 15 mL de Caldo Lactosado estéril y agitar utilizando un agitador de vidrio estéril hasta disolver. Adicionar tres porciones adicionales de Caldo Lactosado: 10 mL, 10 mL y 190 mL para un total de 225 mL.

4. Agitar vigorosamente hasta que la muestra sea homogénea.
5. Colocar el tapón de rosca y cerrar dejando reposar la muestra durante una hora.
6. Desenroscar ligeramente el tapón e incubar por 24 horas a 35°C.
7. Luego de transferido el tiempo de incubación, cerrar completamente el tapón de rosca y agitar suavemente la muestra.
8. Transferir 0.1 mL de muestra incubada a un tubo que contenga 10 mL de Medio Rappaport-Vassiliadis y 1.0 mL de la misma dilución a otro tubo que contiene 10 mL de Caldo Tetrionato y mezclar.
9. Incubar ambos medios de enriquecimiento: Medio Rappaport-Vassiliadis  $24 \pm 2$  h a  $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$  y Caldo Tetrionato a  $24 \pm 2$  h a  $35 \pm 2.0^\circ\text{C}$ .
10. Luego del periodo de incubación, mezclar vigorosamente el tubo que contiene Caldo Tetrionato y posteriormente utilizando un asa estéril tomar una asada del Caldo Tetrionato y estriar tres veces en una placa con Agar Bismuto – Sulfito, luego tomar otra asada del mismo caldo y estriar tres veces en una placa con Agar Salmonella-Shigella.
11. Incubar placas durante  $24 \pm 2$  h a 35°C.
12. Repetir los pasos 10 y 11 utilizando Caldo Rappaport-Vassiliadis.
13. Luego de transcurrido el periodo de incubación, examinar las placas por presencia de colonias que pudieran ser *Salmonella spp.* (Ver Anexo N°11)

Al examinar las placas que contienen Agar Bismuto- Sulfito buscar presencia de colonias de color café, negro o gris que pueden tener brillo metálico. El medio circundante es usualmente café, pero puede tornarse negro al incrementar el tiempo de incubación produciendo un efecto de halo, de igual manera al examinar las placas con Agar Salmonella - Shigella buscar la presencia de colonias incoloras con centro negro debido a la producción de  $\text{SH}_2$ .

## PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Salmonella spp*<sup>(9)</sup>

Si se han obtenido colonias sospechosas de *Salmonella spp* en Agar Bismuto Sulfito o Agar Salmonella – Shiguella seleccionar una colonia sospechosa aislada y utilizando un asa estéril estriar en Agar Tripticosa Soya (TSA) y dejar incubar durante 24 horas. Posteriormente realizar las siguientes pruebas bioquímicas:

### - **Agar Triple Azúcar y Hierro (TSI)** <sup>(32)</sup>

Es un medio universalmente empleado para la diferenciación de Enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico.

#### **Fundamento:**

El medio de cultivo contiene extracto de carne y pluripeptona que aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. Contiene también lactosa, sacarosa y glucosa que son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio también presente es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones  $Fe^{3+}$ , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro.

El rojo de fenol es el indicador de pH del agar, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido.

El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

**Procedimiento<sub>(32)</sub>:**

1. Seleccionar una colonia aislada de placa con Agar Tripticasa Soya Agar (TSA) con la punta de un asa estéril
2. Inocular en un tubo con Agar TSI inclinado introduciendo el asa hasta el fondo y posteriormente estriando en la superficie del medio.
3. Incubar los tubos con agar TSI a 35°C por 24 ± 2 horas
4. Mantener condiciones aerobias dejando el tapón ligeramente desenroscado para prevenir la producción excesiva de Sulfuro de Hidrógeno (H<sub>2</sub>S).

Proceder a la interpretación de resultados considerándose ácido (A) el viraje a amarillo del medio de cultivo por el indicador Rojo de Fenol y alcalino (K) al mantenimiento del rojo característico del medio.

**Cuadro N° 8 Especificaciones de resultados para Agar Triple Azúcar y Hierro (TSI)<sub>(32)</sub>**

RESULTADO	SIMBOLOGIA	INTERPRETACION
Pico alcalino / Fondo ácido	K/A	Microorganismo fermenta glucosa
Pico ácido / Fondo ácido	A/A	Microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa
Pico alcalino / Fondo alcalino	K/K	Microorganismo es no fermentador de azúcares
Presencia de burbujas	--	Microorganismo produce gas
Presencia de H <sub>2</sub> S	--	Microorganismo produce ácido sulfhídrico

**K= Alcalino**

**A= Acido**

- **Prueba de Indol** <sub>(30)</sub>

Esta prueba se realiza para determinar la capacidad de las bacterias para producir indol a partir del triptófano.

### **Fundamento**

El indol es un compuesto que se genera mediante la desaminación reductiva del triptófano y esta reacción es llevada a cabo por algunas bacterias que poseen las enzimas denominadas en su conjunto triptofanasas. Para detectar la producción de indol se utiliza el medio Caldo triptófano y la lectura de la prueba se realiza con el reactivo de Kovacs (alcohol isoamilo, p-dimetilaminobenzaldehído y ácido clorhídrico concentrado)

### **Procedimiento<sup>(30)</sup>**

1. Seleccionar una colonia aislada de placa con Agar Tripticasa Soya Agar (TSA) con la punta de un asa estéril.
2. Inocular en un tubo con Caldo de Triptófano.
3. Incubar durante una temperatura de 35° C por un tiempo de 24 horas.
4. Detectar la presencia de Indol agregando 0.5 mL de éter y 0.5 mL del Reactivo de Kovacs.

El análisis positivo se evidencia por la aparición de un anillo color rojo intenso en la capa superior del tubo inoculado.

### **- Prueba de Vogues-Proskauer y Rojo de Metilo <sup>(31)</sup>**

### **Fundamento**

El medio de cultivo posee pluripectona la cual aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano y la glucosa es el hidrato de carbono fermentable. La glucosa puede ser metabolizada por los microorganismos, a través de distintas vías metabólicas. Según la vía utilizada, se originarán productos finales ácidos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico), o productos finales neutros (acetil metil carbinol). Esta diferencia en el metabolismo bacteriano, podría ser reconocida por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la

presencia de productos ácidos por la vía ácido mixta y por la adición de alfa naftol e hidróxido de potasio para evidenciar la producción de un producto final neutro (acetoína) por la vía butanodiólica.

#### **Procedimiento para Prueba Vogues-Proskauer<sup>(31)</sup>**

1. Seleccionar una colonia aislada de placa con Agar Tripticasa Soya (TSA) con la punta de un asa estéril.
2. Inocular en un tubo con Caldo MR-VP.
3. Incubar durante una temperatura de 35° C por un tiempo de 24 horas.
4. Agregar 0.6 mL de una solución de alfa-naftol y 0.2 mL de la solución de Hidróxido de Potasio al 40% agitando luego de cada adición.

Una prueba positiva se evidencia por la aparición de una coloración rosada en el tubo inoculado

#### **Procedimiento para Prueba Rojo de Metilo<sup>(31)</sup>**

1. Seleccionar una colonia aislada de placa con Agar Tripticasa Soya (TSA) con la punta de un asa estéril.
2. Inocular en un tubo con Caldo MR-VP.
3. Incubar durante una temperatura de 35° C por un tiempo de 24 horas.
4. Agregar a temperatura ambiente 0.3 mL de Solución indicadora de Rojo de Metilo.

Una prueba positiva se evidencia por la aparición de un color rojo claro en el tubo inoculado

#### **- Prueba de Citrato de Simmons <sup>(29)</sup>**

Medio utilizado para la diferenciación de Enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía.

### **Fundamento**

Los componentes del medio de cultivo son el fosfato monoamónico como única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad.

El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarboxílico. El desdoblamiento del citrato da progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa.

### **Procedimiento<sub>(29)</sub>**

1. Seleccionar una colonia aislada de placa con Agar Tripticasa Soya Agar (TSA) con la punta de un asa estéril.
2. Inocular en un tubo que contenga Agar Citrato introduciendo el asa de forma recta hasta el fondo del tubo.
3. Incubar durante una temperatura de 35° C por un tiempo de 24 horas.

Observar si se desarrolla una coloración azul la que indica un resultado positivo por el viraje del indicador Azul de Bromotimol en el tubo inoculado, en caso de se mantenga el color verde inicial es una reacción negativa.

- **Especificaciones de Pruebas Bioquímicas para *Salmonella spp*<sub>(9)</sub>**

Al obtener los resultados de las pruebas bioquímicas estos se deben comparar con los resultados característicos para *Salmonella spp* los cuales se resumen en el Cuadro N° 9.

**Cuadro N° 9 Especificaciones de pruebas bioquímicas características de *Salmonella spp*<sub>(9)</sub>**

PRUEBA	RESULTADO
Agar Triple Azúcar y Hierro (TSI)	K/A* Con la presencia de H <sub>2</sub> S
Rojo de Metilo	Positivo
Voges Proskauer	Negativo
Citrato	Negativo o Positivo
Indol	Negativo

\* K= Alcalino

A= Acido

*Las pruebas bioquímicas no se realizaron en la presente investigación ya que no se obtuvieron colonias sospechosas de *Salmonella spp* en las muestras analizadas de fórmulas de crecimiento en polvo.*

**DETERMINACION DE *Staphylococcus aureus*** <sub>(10)</sub>

**Preparación de Dilución 10<sup>-1</sup>**

1. Pesar 10 gramos de muestra de manera asépticamente.
2. Transferir muestra a un frasco estéril de 250 mL
3. Adicionar 90 mL de Agua Peptonada Bufferada pH 7.2 y agitar vigorosamente hasta que la muestra se suspenda sin grumos.

**Recuento en placa *Staphylococcus aureus*<sub>(10)</sub>**

1. Transferir una alícuota de 1 mL de la Dilución  $10^{-1}$  a tres placas con Agar Baird Parker distribuyendo la alícuota en tres partes (0.3 mL, 0.3 mL y 0.4 mL).
2. Distribuir inóculo sobre la superficie del Agar utilizando un rastrillo de vidrio estéril doblado. Mantener placas en misma posición hasta que el inóculo sea completamente absorbido por el Agar.
3. Invertir placas e incubar durante 45-48 h a 35°C.
4. Después de incubar, observar las colonias características de este microorganismo en el Agar Baird Parker. Éstas se presentan como: colonias negras, circulares, brillantes, convexas, lisas con diámetro de 1 a 2 mm, muestran una zona circular opaca y un halo claro alrededor de la colonia.
5. Si se observan varios tipos de colonias típicas que parecen ser *Staphylococcus aureus* en las placas seleccionados, se cuentan separadamente. Pueden registrarse placas con menos de 20 colonias y con más de 200 colonias, pero contando en el último caso, solamente aquellas que tengan la apariencia típica de *Staphylococcus*.
6. Seleccionar de cada placa 1 colonia sospechosa de ser *Staphylococcus aureus*, y realizar la prueba para la producción de Coagulasa; y de obtener resultados positivos, multiplicar el número de colonias de cada placa por el factor de dilución de muestra. Informar este número como el número de *Staphylococcus aureus* por gramo de muestra probado (UFC/g). (Ver Anexo N°12)

**Prueba de la Coagulasa<sub>(10)</sub>**

1. Transferir colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* en tubos pequeños que contengan de 0.2 a 0.3 mL de Caldo Infusión Cerebro - Corazón (BHI) y emulsionar completamente.

2. Inocular la suspensión de BHI, en un medio de mantenimiento conveniente como el Agar Tripticasa Soya (TSA).
3. Incubar el cultivo que contiene BHI a una temperatura de 35°C por un tiempo de 6 horas
4. Agregue 0.5 mL de Coagulasa de Plasma reconstituido con EDTA al cultivo de BHI y mezclar completamente.
5. Incubar a una temperatura de 35°C y examinar periódicamente durante un periodo de seis horas por formación de coágulo.  
Únicamente un coagulo firme que se mantiene al inclinar o invertir el tubo se considera una prueba positiva para *Staphylococcus aureus*.

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En la visita de campo que se realizó a los diferentes supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla se observó que se comercializan siete marcas de Fórmulas de Crecimiento; a excepción de los supermercados **S3** que solo comercializaban tres de ellas por lo que se excluyeron por posible inexistencia de alguna marca seleccionada.

Para la realización del análisis se codificaron con una letra a cada marca de Fórmula de Crecimiento por supermercado (Ver Anexo N° 7) y un número a cada muestra de cada marca con el objeto de facilitar la identificación y el registro de datos los cuales se mantuvo en todo el análisis, ver Tabla N°9.

**Tabla N° 9 Control de datos de las muestras analizadas de marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo.**

CODIFICADO	CODIFICADO	Muestras			
S1-A	A-3	Código:A-3-1 Lote: 064340 Vence:11/14	Código:A-3-2 Lote: 030637 Vence:12/15	Código:A-3-3 Lote: 064695 Vence: 12/14	Código:A-3-4 Lote:065384 Vence: 12/14
	B-3	Código:B-3-1 Lote: 09914 Vence:01/15	Código:B-3-2 Lote: 09914 Vence:01/15	Código:B-3-3 Lote: 09914 Vence:01/15	Código:B-3-4 Lote: 09914 Vence:01/15
	D-3	Código:D-3-1 Lote: 32505NT Vence:08/15	Código:D-3-2 Lote: 30535NT Vence:06/15	Código:D-3-3 Lote: 32505NT Vence:08/15	Código:D-3-4 Lote: 30535NT Vence:06/15

**Tabla 9. Continuación**

CODIFICADO	CODIFICADO	Muestras			
S2-A	A-3	Código:A-3-5 Lote:021461 Vence:12/14	Código:A-3-6 Lote: 064702 Vence: 12/14	Código:A-3-7 Lote: 065393 Vence: 12/14	Código:A-3-8 Lote:065383 Vence: 12/14
	B-3	Código B-3-5 Lote: 10814 Vence: 01/15	Código B-3-6 Lote: 10814 Vence: 01/15	Código B-3-7 Lote: 09914 Vence: 01/15	Código B-3-8 Lote: 09914 Vence: 01/15
	D-3	Código D-3-5 Lote: 30535NT Vence:06/15	Código D-3-6 Lote: 30535NT Vence: 06/15	Código D-3-7 Lote: 30535NT Vence: 06/15	Código D-3-8 Lote: 30535NT Vence: 06/15
S2-B	A-3	Código A-3-9 Lote:065383 Vence:12/14	Código A-3-10 Lote:065390 Vence:12/14	Código A-3-11 Lote: 010326 Vence:03/15	Código A-3-12 Lote:010638 Vence: 03/15
	B-3	Código B-3-9 Lote: 10814 Vence:01/15	Código B-3-10 Lote: 10814 Vence: 01/15	Código B-3-11 Lote: 10814 Vence: 01/15	Código B-3-12 Lote: 10814 Vence: 01/15
	D-3	Código D-3-9 Lote:33541NT Vence:09/15	Código D-3-10 Lote: 33541NT Vence: 09/15	Código D-3-11 Lote: 33541NT Vence: 09/15	Código D-3-12 Lote: 33541NT Vence: 09/15

En la recolección de las muestras se llevó a cabo un control de datos en donde se le asignó un código de identificación a cada una de las muestras, así como también se verificó el número de lote y la fecha de vencimiento; obteniéndose como resultado que para el supermercado S1-A todas las marcas codificadas como A-3 poseían números de lote distintos, no así para la marca codificada B-3 que todas las muestras provenían del mismo número de lote y para las

muestras codificadas de la marca D-3 se encontraron dos distintos lotes; de la misma manera se verificaron los número de lotes en el supermercado S2-A en donde la muestras de la marca A-3 tenían distintos números de lotes, para la marca B-3 se tomaron muestras con dos distintos número de lotes y para la marca D-3 todas las muestras provenían del mismo número de lote; finalmente en el supermercado S2-B todas las muestras de la marca codificada A-3 tenían distinto número de lote, al contrario de las marcas codificadas B-3 y D-3 que tenían un sólo número de lote respectivamente.

En conclusión, el 100% de las muestras recolectadas poseían su respectivo número de lote y todas tenían una fecha de vencimiento vigente.

#### **5.1 Resultados obtenidos en la verificación de las condiciones de almacenamiento de cada una de las marcas A-3, B-3 y D-3**

Se verificaron las condiciones de almacenamiento de las marcas de Fórmulas de Crecimiento en polvo A-3, B-3 y D-3 en cada supermercado a través de una lista de chequeo (Ver Anexo No. 5), se visitaron cada uno de los supermercados seleccionados y se observó el lugar en donde se almacena cada marca de Fórmulas de Crecimiento, así también la limpieza de los estantes, la integridad del empaque de cada una de las muestras, la fecha de vencimiento y se tomó la temperatura en cada supermercado mediante un termohidrómetro.

**Tabla N°10. Resultados obtenidos durante la inspección de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de crecimiento en polvo Marca A-3 de venta de los supermercados muestreados.**

Item	CODIFICADO		
	S1-A	S2-A	S2-B
1. ¿Se encuentran en lugares específicos para fórmulas lácteas infantiles?	NO	NO	NO
2. ¿Se encuentran los lugares limpios e higienizados?	SI	SI	SI
3. ¿El empaque se encuentra íntegro y perfectamente cerrado?	SI	SI	SI
4. ¿Están los productos con fecha de vencimiento apta para el consumo humano?	SI	SI	SI
5. ¿Cumple con la temperatura de almacenamiento ( $\leq 30$ °C)?	SI	SI	SI

Los resultados de la verificación de las condiciones de almacenamiento para la marca A-3 en los supermercados muestreados son los siguientes: Estas no se encuentran en un lugar específico para Fórmulas Infantiles sino en estantes para leches en polvo en general, ya que estas se almacenan según las políticas de cada supermercado. Estos si se almacenan en estantes metálicos limpios e higiénicos, su empaque primario se encontró íntegro además de perfectamente cerrado, con fecha de vencimiento y una temperatura de almacenamiento adecuada ( $\leq 30$  °C).

**Tabla N°11. Resultados obtenidos durante la inspección de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de crecimiento en polvo Marca B-3 de venta de los supermercados muestreados.**

Item	CODIFICADO		
	S1-A	S1-A	S1-A
1. ¿Se encuentran en lugares específicos para fórmulas lácteas infantiles?	NO	NO	NO
2. ¿Se encuentran los lugares limpios e higienizados?	SI	SI	SI
3. ¿El empaque se encuentra integro y perfectamente cerrado?	SI	SI	SI
4. ¿Están los productos con fecha de vencimiento apta para el consumo humano?	SI	SI	SI
5. ¿Cumple con la temperatura de almacenamiento ( $\leq 30$ °C)?	SI	SI	SI

Los resultados obtenidos para la Marca B-3 son similares a los resultados de la marca A-3, en donde el único parámetro que no se cumple es el lugar donde se almacenan según las políticas de cada supermercado ya que los estantes no son específicos para Fórmulas Infantiles y se almacenan con distintos tipos de leches en polvo; si cumplen con los parámetros de limpieza e higiene, la bolsa laminada en la que se empaca se encontró integra y bien cerrada así como la temperatura en ambos supermercados era inferior a 30 °C.



**Fig N° 1** Foto del lugar de almacenamiento de las marcas comerciales de Fórmulas de Crecimiento en polvo A-3 y B-3 en supermercado S1-A.



**Fig N° 2.** Foto del lugar de almacenamiento de las marcas comerciales Fórmulas de Crecimiento en polvo A-3 y B-3 en supermercado S2-A.

**Tabla N°12. Resultados obtenidos durante la inspección de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de crecimiento marca D-3, en las salas de venta de los supermercados muestreados.**

Item	CODIFICADO		
	S1-A	S2-A	S2-B
1. ¿Se encuentran en lugares específicos para fórmulas lácteas infantiles?	SI	SI	SI
2. ¿Se encuentran los lugares limpios e higienizados?	SI	SI	SI
3. ¿El empaque se encuentra íntegro y perfectamente cerrado?	SI	SI	SI
4. ¿Están los productos con fecha de vencimiento apta para el consumo humano?	SI	SI	SI
5. ¿Cumple con la temperatura de almacenamiento ( $\leq 30$ °C)?	SI	SI	SI

Para la marca D-3 se observó el cumplimiento de todos los parámetros ya que se almacenan en un lugar específico para Fórmulas Infantiles (Ver Anexo N°11), en donde sus estantes se encuentran limpios e higiénicos, perfectamente cerrado, con fecha de vencimiento y temperatura adecuada por lo que se puede decir que la Fórmula de Crecimiento D-3 es la única que cumple todos los parámetros establecidos.

## 5.2 Resultados obtenidos del Análisis Microbiológico

### Determinación de *Salmonella spp*<sub>(9)</sub>

Esta determinación se realizó a un total de 36 muestras (12 por cada marca comercial) de las cuales se pesaron 25 g de cada muestra, posteriormente se disolvió en 225 mL de Caldo Lactosado y se incubó por 24 horas a 35°C. Luego de transferido el tiempo de incubación, se transfirieron 0.1 mL de la muestra incubada a un tubo que contenía 10 mL de Medio Rappaport-Vassiliadis y 1.0 mL de la misma muestra a otro tubo que contenía 10 mL de Caldo Tetrionato, ambos medios de enriquecimiento se incubaron a 35°C durante 24 horas.



**Fig N°3.** Foto de muestras de la marca A-3 en Caldo Tetrionato y Rappaport - Vassiliadis

### - Siembra en Agar Bismuto – Sulfito y Agar *Salmonella-Shigella*

Luego de transcurrido el período de incubación de los tubos con medios de enriquecimiento Rappaport-Vassiliadis y Caldo Tetrionato se procedió a realizar la siembra de cada muestra en Agar *Salmonella-Shigella* y en Agar Bismuto-Sulfito.

Utilizando un asa estéril se tomó una asada del Caldo Tetracionato y se estrió tres veces en una placa con Agar Bismuto-Sulfito, luego se tomo otra asada del mismo caldo y se estrió tres veces en una placa con Agar Salmonella-Shigella; de la misma manera se tomo una asada de medio Rappaport-Vassiliadis y se estrió tres veces en una placa con Agar Bismuto-Sulfito luego se tomo otra asada del mismo caldo y se estrió tres veces en una placa con Agar Salmonella-Shigella; se incubaron todas las placas por 24 horas a 35°C y se obtuvieron los resultados que se muestran en las Tablas N°13 14 y 15.

**Tabla N°13. Resultados de la determinación de *Salmonella spp* realizados a la Fórmula de Crecimiento de la Marca A-3**

CODIFICADO	Medios Selectivo para <i>Salmonella spp</i>	
	Agar Bismuto-Sulfito	Agar Salmonella-Shigella
A-3-1	Ausencia	Ausencia
A-3-2	Ausencia	Ausencia
A-3-3	Ausencia	Ausencia
A-3-4	Ausencia	Ausencia
A-3-5	Ausencia	Ausencia
A-3-6	Ausencia	Ausencia
A-3-7	Ausencia	Ausencia
A-3-8	Ausencia	Ausencia

**Tabla N° 13. Continuación**

CODIFICADO	Medios Selectivo para <i>Salmonella spp</i>	
	Agar Bismuto-Sulfito	Agar Bismuto-Sulfito
A-3-9	Ausencia	Ausencia
A-3-10	Ausencia	Ausencia
A-3-11	Ausencia	Ausencia
A-3-12	Ausencia	Ausencia

Al examinar las muestras codificadas A-3 en las placas de Agar Salmonella-Shigella y Agar Bismuto Sulfito, se determinó que no había crecimiento de colonias en los medios de cultivo y al ser ambos agares selectivos para *Salmonella spp* se concluyó que las muestras recolectadas estaban libres de contaminación por dicho microorganismo patógeno.

**Tabla N°14. Resultados de la determinación de *Salmonella spp* realizados a la Fórmula de Crecimiento de la marca B-3**

CODIFICADO	Medios Selectivo para <i>Salmonella spp</i>	
	Agar Bismuto-Sulfito	Agar Salmonella-Shigella
B-3-1	Ausencia	Ausencia
B-3-2	Ausencia	Ausencia
B-3-3	Ausencia	Ausencia
B-3-4	Ausencia	Ausencia

**Tabla N° 14 Continuación**

CODIFICADO	Medios Selectivo para <i>Salmonella spp</i>	
	Agar Bismuto-Sulfito	Agar Bismuto-Sulfito
B-3-5	Ausencia	Ausencia
B-3-6	Ausencia	Ausencia
B-3-7	Ausencia	Ausencia
B-3-8	Ausencia	Ausencia
B-3-9	Ausencia	Ausencia
B-3-10	Ausencia	Ausencia
B-3-11	Ausencia	Ausencia
B-3-12	Ausencia	Ausencia

Para las muestras codificadas B-3 no se observó crecimiento de colonias características de *Salmonella sp* en Agar Salmonella – Shigella y Agar Bismuto Sulfito por lo que se concluyó que el microorganismo no estaba presente en dichas muestras.

**Tabla N°15. Resultados de la determinación de *Salmonella spp* realizados a la Fórmula de Crecimiento de la marca D-3.**

CODIFICADO	Medios de Selectivo para <i>Salmonella spp</i>	
	Agar Bismuto-Sulfito	Agar Salmonella-Shigella
D-3-1	Ausencia	Ausencia

**Tabla N°15. Continuación**

CODIFICADO	Medios de Selectivo para <i>Salmonella spp</i>	
	Agar Bismuto-Sulfito	Agar Salmonella-Shigella
D-3-2	Ausencia	Ausencia
B-3-3	Ausencia	Ausencia
B-3-4	Ausencia	Ausencia
B-3-5	Ausencia	Ausencia
B-3-6	Ausencia	Ausencia
B-3-7	Ausencia	Ausencia
B-3-8	Ausencia	Ausencia
B-3-9	Ausencia	Ausencia
B-3-10	Ausencia	Ausencia
B-3-11	Ausencia	Ausencia
B-3-12	Ausencia	Ausencia

De la misma manera se examinaron las placas que contenían las muestras codificadas D-3 en donde se verifico que no existían crecimiento de colonias

sospechosas de *Salmonella spp* por lo que se concluye que dichas muestras están libres del microorganismo antes mencionado.

*- Pruebas Bioquímicas para Salmonella spp*

En los resultados obtenidos de las muestras analizadas de fórmulas de crecimiento en polvo codificadas como A-3, B-3 y D-3 para la determinación de *Salmonella spp* no se observó crecimiento de colonias sospechosas de *Salmonella spp* en el Agar Bismuto Sulfito ni en el Agar Salmonella-Shiguella por lo que estas no se realizaron.

**Tabla N°16. Resultados de los parámetros microbiológicos realizados a las marcas de Fórmulas de Crecimiento A-3, B-3 y D-3 para *Salmonella spp* comparado con el RTCA 67.04.50:08.<sup>(24)</sup>**

<b>CODIFICADO</b>	<b>LIMITE (Según RTCA 67.04.50:08)</b>	<b>RESULTADO</b>
MARCA A-3	Ausencia	Ausencia
MARCA B-3	Ausencia	Ausencia
MARCA D-3	Ausencia	Ausencia

Los resultados que se observan en la Tabla N°16 indican que las tres marcas comerciales cumplen con el límite establecido para la determinación de *Salmonella spp* por el Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08.(Ver Anexo N° 4)

### Determinación de *Staphylococcus aureus*<sup>(15)</sup>

Esta determinación se realizó por el Método de Recuento en placa a un total de 36 muestras (12 por cada marca comercial) en donde se pesaron 10 gramos de cada muestra y se disolvió en 90 mL de Agua Peptonada Bufferada, siendo esta la dilución  $10^{-1}$ , luego se distribuyó una alícuota de 1 mL de la Dilución  $10^{-1}$  en tres partes (0.3 mL, 0.3 mL y 0.4 mL) y se transfirió cada una de las alícuotas a una placa con Agar Baird Parker, haciendo un total de tres placas por muestra y un total general de 108 placas, las cuales fueron incubadas por 48 horas a  $35^{\circ}\text{C}$ , luego de transcurrido el tiempo de incubación se procedió a realizar el recuento en placa de cada muestra en donde se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla N°17.

**Tabla N°17. Resultados de la cuantificación de *Staphylococcus aureus* realizados a las Fórmulas de Crecimiento de la marca A-3.**

CODIFICADO	Agar Baird Parker		
	0.3 mL	0.3 mL	0.4 mL
A-3-1	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-2	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-3	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-4	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-5	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-6	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

**Tabla No. 17 Continuación**

CODIFICADO	Agar Baird Parker		
	0.3 mL	0.3 mL	0.4 mL
A-3-7	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-8	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-9	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-10	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-11	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
A-3-12	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

Se examinaron las tres placas de Agar Baird Parker por cada una de las muestras codificadas A-3 realizándose el Recuento en placa y al no obtenerse crecimiento de colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* el resultado se reporta como el valor inverso de la dilución empleada y por lo tanto se obtiene un valor de < 10 UFC/g.

**Tabla N°18. Resultados de la cuantificación de *Staphylococcus aureus* realizados a las Fórmulas de Crecimiento de la marca B-3.**

CODIFICADO	Agar Baird Parker		
	0.3 mL	0.3 mL	0.4 MI
B-3-1	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

Tabla No. 18 Continuación

CODIFICADO	Agar Baird Parker		
	0.3 mL	0.3 mL	0.4 mL
B-3-2	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-3	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-4	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-5	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-6	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-7	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-8	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-9	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-10	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-11	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B-3-12	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

De igual manera, no se obtuvo crecimiento de colonias sospechosas en Agar Baird Parker para las muestras codificadas B-3 por lo que utilizando el mismo criterio anterior, el resultado se reporta como < 10 UFC/g.

**Tabla N°19. Resultados de la cuantificación de *Staphylococcus aureus* realizados a las Fórmulas de Crecimiento de la marca D-3.**

CODIFICADO	Agar Baird Parker		
	0.3 mL	0.3 mL	0.4 mL
D-3-1	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-2	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-3	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-4	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-5	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-6	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-7	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-8	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-9	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-10	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-11	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
D-3-12	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

Se verificaron las placas de Agar Baird Parker para las muestras D-3 en donde no se obtuvo ningún crecimiento de colonias por lo tanto, este se reporta como <10 UFC/g.

**Tabla N°20. Resultados de los parámetros microbiológicos realizados a las marcas de Fórmulas de Crecimiento A-3, B-3 y D-3 para *Staphylococcus aureus*.(24)**

<b>CODIFICADO</b>	<b>LIMITE (Según RTCA 67.04.50:08)</b>	<b>RESULTADO</b>
MARCA A-3	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
MARCA B-3	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
MARCA D-3	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

En los resultados obtenidos en la determinación de *Staphylococcus aureus* se utilizó por el Método Recuento en Placa y se observó que las muestras de las marcas de Fórmulas de Crecimiento codificadas como A-3, B-3 y D-3 no presentaron crecimiento de colonias en la placas de Agar Baird Parker transcurridas las 48 horas de incubación. Los resultados observados en la Tabla N°15 indican que las tres marcas comerciales cumplen con el límite establecido para la determinación de *Staphylococcus aureus* establecidos por el Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 (Ver Anexo N° 4).

### Comparación de Resultados para la Determinación de *Salmonella* spp

**Tabla N°21** Porcentaje de marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano *RTCA 67.04.50:08 para Salmonella spp.*

MARCAS COMERCIALES DE FORMULAS DE CRECIMIENTO	PORCENTAJE (%)
Marcas que cumplen	100
Marcas que no cumplen	0



**Fig. N°4.** Gráfico de las marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con la especificación para *Salmonella spp* según indica el Reglamento Técnico Centroamericano *RTCA 67.04.50:08*.

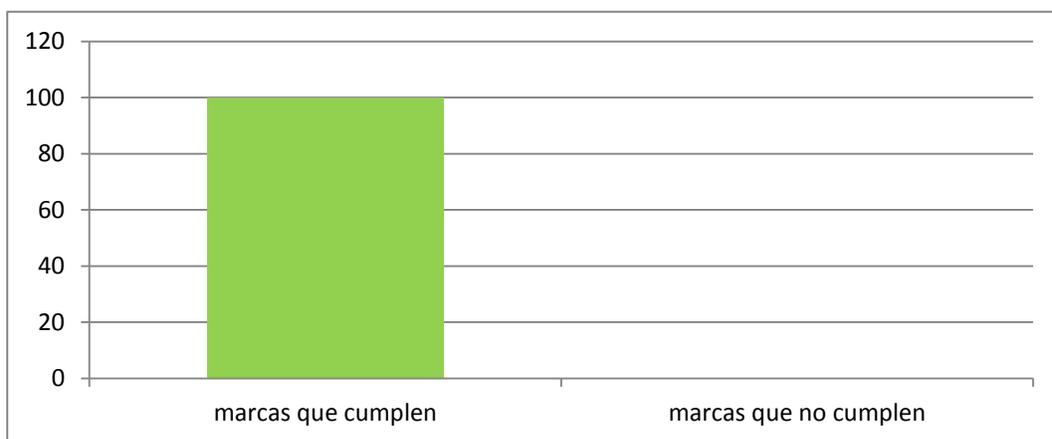
La Tabla N°21 y Fig. N°4 presentan los resultados de las marcas de Fórmulas de Crecimiento en polvo en donde todas las muestras analizadas cumplen con

los requerimientos microbiológicos para *Salmonella spp* según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08<sup>(24)</sup>

### Comparación de Resultados para la Determinación de *Staphylococcus aureus*

**Tabla N°22** Porcentaje de marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para *Staphylococcus aureus*.

MARCAS COMERCIALES DE FORMULAS DE CRECIMIENTO	PORCENTAJE (%)
Marcas que cumplen	100
Marcas que no cumplen	0



**Fig. N°5.** Gráfico de las marcas de Fórmulas de Crecimiento que cumplen con la especificación según indica el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA **67.04.50:08**.

La Tabla N°22 y Fig. N°5 presentan los resultados de las marcas de Fórmulas de Crecimiento en polvo en donde todas las muestras analizadas cumplen con los requerimientos microbiológicos para *Staphylococcus aureus* según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. En la verificación de las condiciones de almacenamiento de las Fórmulas de Crecimiento en polvo se determinó que cada supermercado tiene distintas políticas de almacenamiento por lo que no todas las marcas comerciales se encuentran en estantes específicos para Fórmulas Infantiles; sin embargo se concluye que el incumplimiento de este parámetro no demostró ser un factor influyente en el resultado.
2. En la determinación de *Salmonella spp* hubo ausencia de este microorganismo en el 100% de las muestras de Formulas de crecimiento en polvo de las marcas A-3, B-3, y D-3 analizadas por lo que se encuentran dentro de la especificación por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos en la determinación por Recuento en Placa de *Staphylococcus aureus* el 100% de las muestras de Fórmulas de Crecimiento de las marcas A-3, B-3, y D-3 presentaron un valor de <10 UFC/g cumpliendo con las especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.
4. En general para cada una de las muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo de las marcas analizadas A-3, B-3, y D-3, estas se consideran

aptas para el consumo humano porque cumplen con dos de las especificaciones establecidas por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08; pero no puede declararse su inocuidad microbiológica ya que no fueron evaluadas por otra de las especificaciones establecidas por dicho reglamento la cual corresponde a la determinación de *Cronobacter sakazakii*.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Que los supermercados establezcan un programa de buenas prácticas de almacenamiento o exigir el cumplimiento del mismo si este ya lo tuviere; para que se garantice que la permanencia de las Fórmulas Lácteas Infantiles en los establecimientos no será fuente de contaminación microbiológica y que se almacenen en estantes específicos para Fórmulas Infantiles para ayudar a garantizar la inocuidad microbiológica de las Fórmulas Lácteas Infantiles.
2. Que el Ministerio de Salud Pública monitoree continuamente la vigilancia en las Formulas Lácteas Infantiles para verificar las condiciones de almacenamiento en los supermercados, con el fin de garantizar la calidad del producto que consumen la población infantil salvadoreña.
3. Que el Ministerio de Salud exija estándares de calidad a las industrias que comercializan las Formulas Lácteas Infantiles para garantizar la calidad microbiológica y la inocuidad de las mismas.
4. Que en futuras investigaciones de pregrado den seguimiento al presente trabajo, realizando un estudio de los parámetros físico-químicos de las Fórmulas de Crecimiento por marcas comerciales; debido a que por su composición son susceptibleS a sufrir degradación y así ayudar a garantizar la calidad del producto.
5. Que en futuros trabajos de investigación de pregrado se realicen análisis microbiológicos y fisicoquímicos a otras marcas de Fórmulas de Crecimiento que se comercializan en los supermercados así como también a otros tipos de Formulas Lácteas Infantiles.

## BIBLIOGRAFIA

1. Asociación Demográfica Salvadoreña (2009). Encuesta Nacional de Salud Familiar (FESAL). San Salvador.
2. Behrman R, Kliegman R y Jenson H. (2012) Nelson Tratado de Pediatría. Madrid: Elsevier.
3. Bejarano J y Castillo Y. (2013). Principales Contaminantes Microbiológicos en Fórmulas Lácteas Infantiles. Revista CienciaUat, 25(1), 45-48.
4. Ciclos Formativos de Grado Superior en Dietética (2013). Nutrición en los niños de corta edad. Madrid.
5. CODEX Alimentarius (1987). Codex Standard For Follow-Up Formula: Autor.
6. Contreras J. (2008). Utilidad de indicadores de pardeamiento químico para el control de ingredientes y formulas infantil. [Tesis de Doctorado] Universidad de Granada. Facultad de Farmacia. España.
7. Comisión Europea (2007). Informe del Comité Científico de Alimentos en la Revisión de Requerimientos esenciales de Formulas de Inicio y Fórmulas de Continuación. Europa: Autor.
8. Ferrer B y Dalmau J. (2005). Fórmulas de continuación y fórmulas de crecimiento. Acta pediátrica, 63, 471-475.
9. FDA (Food and Drug Administration) (2014) Bacteriological Analytical Manual: *Salmonella*. United States: Autor.

10. FDA (Food and Drug Administration) (2001) Bacteriological Analytical Manual: *Staphylococcus aureus*. United States: Autor
11. Frazier C y Westhoff C. Microbiología de los alimentos. 4ª Ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia. S.A. 2003.
12. García Barrionuevo J. (2009) Lactancia artificial. Revista Granada Farmacéutica, 17, 14-16.
13. García M. (2007). Lactancia artificial: técnica, indicaciones, fórmulas especiales. *Pediatría General*, XI(4):318-326.
14. Guías de actuación conjunta Pediatría Primaria-Especializada (2010). La Alimentación del lactante y del niño de corta edad. Madrid: Autor.
15. Hernández, Manuel Triana (2004). Recomendaciones nutricionales para el ser humano: actualización. *Invest Biomed* 23(4):266-92.
16. Instituto de Medicina de los Estados Unidos (2011). Ingestas Dietéticas de Referencia (DRIs): Estimación de las Necesidades Promedio. Estados Unidos: Autor.
17. Magariños H. (2000). Producción Higiénica de la Leche Cruda, Valdivia, Chile.
18. Marietti G. Fórmulas lácteas infantiles para la alimentación del lactante sano durante el primer año de vida. [on line] Disponible en: <http://www.clinicapediatica.fcm.unc.edu.ar>.
19. Martin M (2009). Leches de Crecimiento. *Almirón*, 28, 106-107.

- 20.**Nafria Ramos, Ana María. [Tesis de Maestría] Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas”. Facultad de Ciencias del Hombre y la Naturaleza. El Salvador
- 21.**FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) Macronutrientes; Carbohidratos, grasas y proteínas.
- 22.** OMS (Organización Mundial de la Salud) (2013). Fomento de una alimentación adecuada del lactante y del niño pequeño
- 23.**OSARTEC (Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica) (2008). Norma Salvadoreña Obligatoria 61.01.02:08 Leche de vaca Pasteurizada y Ultrapasteurizada. San Salvador.
- 24.**OSARTEC (Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica) (2008). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos. Formulas Lácteas y No Lácteas para lactantes y niños pequeños. El Salvador.
- 25.**Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición (2005). Estándar Global para la Composición de Formula de Inicio: Recomendaciones de un coordinado grupo de expertos de la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición. Europa.
- 26.**Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (2012). Muestra y muestreo. México
- 27.**Winn A, Jand K, Procop S y Woods K. Diagnostico microbiológico. Buenos Aires: Panamericana.

- 28.** <http://www.alimentacionsana.org/informaciones/novedades/leche%20html>. Alimentación Sana, (2014). Propiedades de la Leche. [Fecha de Consulta 21 de Febrero de 2014].
- 29.** [http://www.britanialab.com/productos/328\\_hoja\\_tecnica\\_es.pdf](http://www.britanialab.com/productos/328_hoja_tecnica_es.pdf). Laboratorios Britania (2014) Agar Citrato de Simmnons [Fecha de Consulta 02 de Junio de 2014].
- 30.** [http://www.britanialab.com/productos/180\\_hoja\\_tecnica\\_es.pdf](http://www.britanialab.com/productos/180_hoja_tecnica_es.pdf). Laboratorios Britania (2014) Indol Reactivo. [Fecha de Consulta 02 de Junio de 2014].
- 31.** <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/mr-vpmedio.htm> Laboratorios Britania (2014) MR-VP Medio. [Fecha de Consulta 02 de Junio de 2014].
- 32.** <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/tsiagar.htm>. Laboratorios Britania (2014). Agar Triple Azucar y Hierro. [Fecha de Consulta 02 de Junio de 2014].
- 33.** <http://www.tetrapak.com/pe/Documents/Fas%C3%ADculo%201.pdf>, La leche. [Fecha de Consulta 21 de Febrero de 2014].
- 34.** <http://www.conmishijos.com/bebes/saluddelbebe/desarrollopsicomotor.html> Con mis hijos. Desarrollo psicomotor en bebés y niños. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
- 35.** [https://www.sccalp.org/documents/0000/0084/BolPediatr2006\\_46\\_supl2\\_200-205.pdf](https://www.sccalp.org/documents/0000/0084/BolPediatr2006_46_supl2_200-205.pdf). Pediatras de Área de Zamora (2006). Indicaciones y prescripción de fórmulas especiales. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].

36. <http://www.pulevasalud.com/ps/contenido.jsp>. Puleva Salud. Leches de inicio y de continuación. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
37. <http://www.greenfacts.org/es/glosario/ghi/ingesta-diaria-admisible'IDA.html> GreenFacts. Facts on the Health and the Environment. Ingesta Diaria admisible. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
38. <http://infoalimenta.com/biblioteca-alimentos/51/67/>. Biblioteca de Alimentos. Lácteos y Derivados. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
39. <https://www.uji.es/bin/serveis/prev/prodserv/salut/alim.pdf>. Asociación de Soporte a la Lactancia Materna. Alimentación Complementaria del Lactante. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
40. [www.pomif.com/pages/practicas/bacteriologia/recuento-de...text/](http://www.pomif.com/pages/practicas/bacteriologia/recuento-de...text/) *Recuento de Bacterias*. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
41. <http://www.eio.uva.es/~tapia/Estratificado.pdf> Muestro Estratificado. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
42. <http://www.estadistica.mat.uson.mx/Material/elmuestreo.pdf> Muestreo. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
43. [web.udl.es/usuarios/...e...Pasteurizacion.../9%20-%20Pasteurizacion.pdf](http://web.udl.es/usuarios/...e...Pasteurizacion.../9%20-%20Pasteurizacion.pdf) Pasteurización. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].
44. [www.pomif.com/pages/practicas/bacteriologia/pruebas\\_bioquimicas](http://www.pomif.com/pages/practicas/bacteriologia/pruebas_bioquimicas). Pruebas bioquímicas. [Fecha de Consulta 17 de Junio de 2014].

## GLOSARIO

### **Desarrollo lingüístico** <sup>(34)</sup>

Es el proceso cognitivo por el cual los seres humanos, haciendo uso de su competencia lingüística innata<sup>1</sup> , aprenden a comunicarse verbalmente usando la lengua natural usada en su entorno social al momento de su nacimiento y durante su infancia hasta la pubertad.

### **Desarrollo psicomotor** <sup>(34)</sup>

Designa la adquisición de habilidades que se observa en el niño durante toda su infancia. Corresponde tanto a la maduración de estructuras nerviosas como el aprendizaje que el bebe obtiene de conocerse a si mismo y al entorno que lo rodea.

### **Fórmulas Especiales** <sup>(35)</sup>

Es una fórmula láctea infantil cuya composición ha sido diseñada y regulada por distintos comités, con el fin de asegurar las necesidades nutricionales del lactante. En aquellos pacientes en que se presenten intolerancias o alergias dietéticas, errores congénitos del metabolismo, o bien problemas gastrointestinales que suponen alteraciones en la absorción o de otra índole, se debe recurrir al empleo de otras fórmulas llamadas especiales, destinadas a satisfacer las necesidades nutricionales de dichos lactantes durante los primeros meses de vida.

### **Fórmula de Continuación** <sup>(36)</sup>

Llamadas también de seguimiento, están indicadas como parte líquida de la dieta del destete para lactantes a partir del 6<sup>o</sup> mes y para la alimentación de niños de 12 a 36 meses como parte de una dieta diversificada.

### **Fórmula de Crecimiento** <sup>(36)</sup>

Son fórmulas de continuación modificadas parcialmente elaboradas a partir de leche de vaca modificada. Las fórmulas de crecimiento van todas suplementadas con hierro, vitaminas y oligoelementos.

### **Fórmula de Inicio** <sup>(36)</sup>

Llamadas también de comienzo, y conocidas antes como "adaptadas", se fabrican teniendo como modelo básico la leche de mujer y se consideran adecuadas para la fisiología del recién nacido y del lactante pequeño. Una vez reconstituidas, deben cubrir todas las necesidades nutritivas del lactante desde los 0 a los 4-6 meses, aunque pueden utilizarse, complementadas con otros alimentos, hasta el año de edad.

### **Ingesta Diaria** <sup>(15)</sup>

El nivel de consumo promedio diario recomendado basado en aproximaciones o estimaciones de la ingesta de nutrientes observados o determinados experimentalmente por un grupo (o grupos) de las personas aparentemente sanas que se asumen para ser utilizado adecuada cuando una IDR no se puede determinar.

### **Ingesta Dietética de Referencia (IDR)** <sup>(37)</sup>

Estimación de la cantidad de una sustancia presente en un alimento y/o en el agua potable, expresada en función del peso corporal, que puede ser ingerida diariamente durante toda la vida sin que se aprecie un riesgo sobre la salud del consumidor y teniendo en cuenta el nivel de conocimiento en el momento de la evaluación.

### **Leche en polvo** <sup>(38)</sup>

Se obtiene mediante la deshidratación de leche pasteurizada. Este proceso se lleva a cabo en torres especiales de atomización, en donde el agua que

contiene la leche es evaporada, obteniendo un polvo de color blanco amarillento que conserva las propiedades naturales de la leche

### **Lactancia Artificial** <sup>(39)</sup>

Es la alimentación del lactante con leche artificial (preparados lácteos provenientes principalmente de la leche de vaca).

### **Macronutrientes** <sup>(40)</sup>

Son aquellos nutrientes que suministran la mayor parte de la energía metabólica del organismo. Los principales son glúcidos, proteínas, y lípidos.<sup>1</sup> Otros incluyen alcohol y ácidos orgánicos.

### **Micronutrientes** <sup>(41)</sup>

Se conocen como micronutrientes a las sustancias que el organismo de los seres vivos necesita en pequeñas dosis. Son sustancias indispensables para los diferentes procesos metabólicos de los organismos vivos y sin ellos morirían

### **Método de Recuento en Placa** <sup>(40)</sup>

Consiste en la siembra de un volumen conocido de la dilución de la muestra sobre la superficie de un medio de cultivo en placa Petri. En este método todas las colonias crecen sobre la superficie del medio. Generalmente se utiliza esta técnica para el recuento de bacterias aerobias.

### **Muestreo estratificado** <sup>(41)</sup>

Consiste en la división previa de la población de estudio en grupos o clases que se suponen homogéneos respecto a característica a estudiar. A cada uno de estos estratos se le asignaría una cuota que determinaría el número de miembros del mismo que compondrán la muestra.

**Muestro aleatorio simple** <sup>(42)</sup>

Muestreo en el que todas las muestras tienen la misma probabilidad de ser seleccionadas y en el que las unidades obtenidas a lo largo del muestreo se devuelven a la población

**Pasteurización** <sup>(43)</sup>

Es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objetivo de reducir los agentes patógenos que puedan contener: bacterias, protozoos, mohos, levaduras, etc

**Pruebas bioquímicas** <sup>(44)</sup>

Consisten en distintos test químicos aplicados a medios biológicos, los cuales, conocida su reacción, nos permiten identificar distintos microorganismos presentes. Su sistema de funcionamiento generalmente consiste en determinar la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no.

## **ANEXOS**

**ANEXO N° 1**

**MAPA DE IDENTIFICACIÓN DE LA ZONA URBANA DE SANTA  
TECLA**

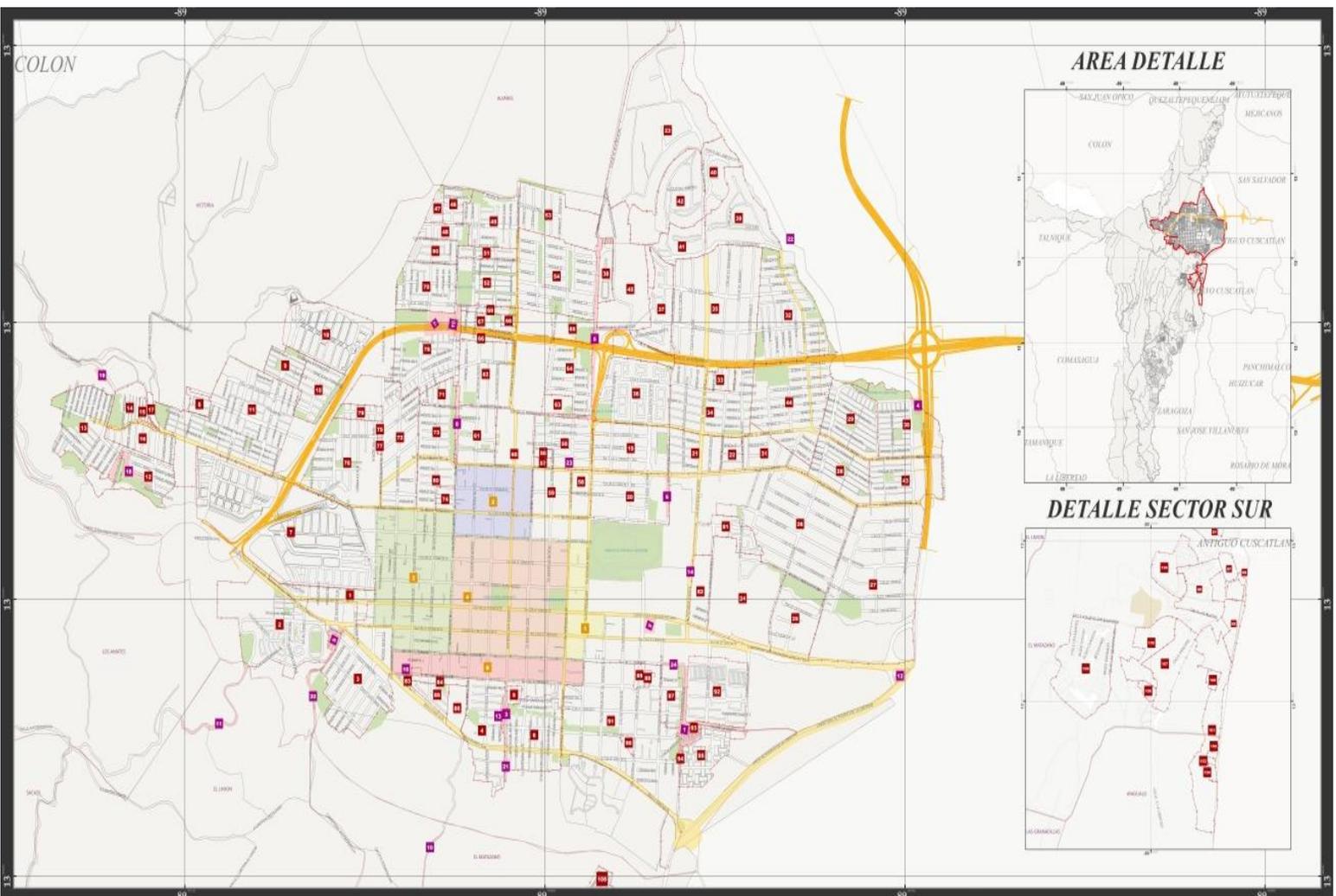


Fig. N° 6 Mapa de Identificación de la Zona Urbana de Santa Tecla

**ANEXO N° 2**

**FORMATO DE ENCUESTA**

**“CRITERIO DE ACEPTACIÓN DE FORMULAS DE CRECIMIENTO EN  
POLVO PARA NIÑOS ENTRE 1 Y 3 AÑOS COMERCIALIZADAS EN  
LOS PRINCIPALES SUPERMERCADOS DE LA ZONA URBANA DE  
SANTA TECLA”**

## ANEXO N° 2



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



---

### ENCUESTA

#### CRITERIO DE ACEPTACION DE FORMULAS DE CRECIMIENTO EN POLVO PARA NIÑOS ENTRE 1 Y 3 AÑOS COMERCIALIZADAS EN LOS PRINCIPALES SUPERMERCADOS DE LA ZONA URBANA DE SANTA TECLA

#### OBJETIVO:

Determinar cuáles son las marcas comerciales de Formulas de Crecimiento en polvo de mayor preferencia entre los clientes de los principales supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla.

Edad: \_\_\_\_\_

Género: \_\_\_\_\_

#### 1. ¿Consumen sus hijos leche materna u alguna fórmula láctea infantil?

Leche Materna \_\_\_\_\_

Formula láctea infantil \_\_\_\_\_

Ambas \_\_\_\_\_

Ninguna \_\_\_\_\_

#### 2. Si su hijo/a consume fórmulas lácteas infantiles. ¿Con que frecuencia consumen sus hijos este producto?

Siempre \_\_\_\_\_

Frecuentemente \_\_\_\_\_

Algunas veces \_\_\_\_\_

Rara vez \_\_\_\_\_

Nunca \_\_\_\_\_

**3. ¿Por qué utiliza Ud. Fórmulas Lácteas Infantiles?**

Calidad \_\_\_\_\_

Madre trabajadora \_\_\_\_\_

Comodidad \_\_\_\_\_

Otros \_\_\_\_\_

**4. ¿Cuál o cuáles de las siguientes marcas son de su preferencia?**

Nido 1+ \_\_\_\_\_

Nestle NAN 3 \_\_\_\_\_

Crece + \_\_\_\_\_

Progress GOLD \_\_\_\_\_

Enfagrow Premium \_\_\_\_\_

Bebelac 3 \_\_\_\_\_

Similac 3 \_\_\_\_\_

**5. ¿Por qué la/las marcas comerciales de la pregunta anterior son de su preferencia?**

Recomendación de Pediatra \_\_\_\_\_

Recomendación de familiares o amigos \_\_\_\_\_

Siempre ha utilizado la misma marca con sus hijos \_\_\_\_\_

Economía \_\_\_\_\_

Otros \_\_\_\_\_

**6. ¿Alguna ocasión ha observado alguna reacción desfavorable en su hijo/a al consumir alguna fórmula?**

Si \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

**7. ¿Ha observado algún cambio en la apariencia del producto una vez abierto?**

Si \_\_\_\_\_

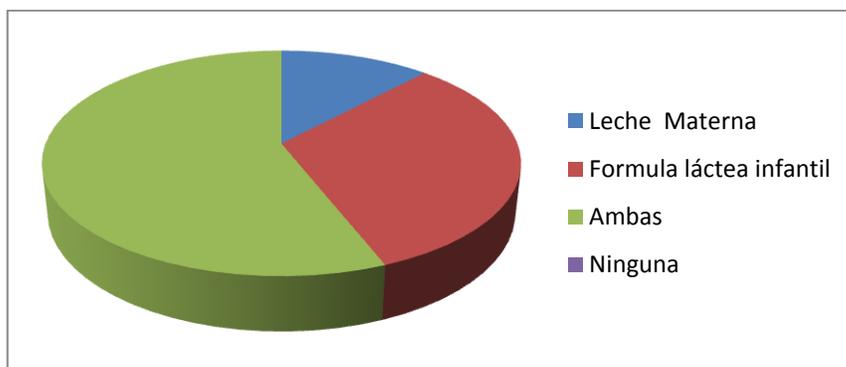
No \_\_\_\_\_

**ANEXO N° 3**  
**RESULTADOS DE ENCUESTA**

**ANEXO N° 3**  
**RESULTADOS DE LA ENCUESTA**

**8. ¿Consumen sus hijos leche materna o alguna Fórmula Láctea Infantil?**

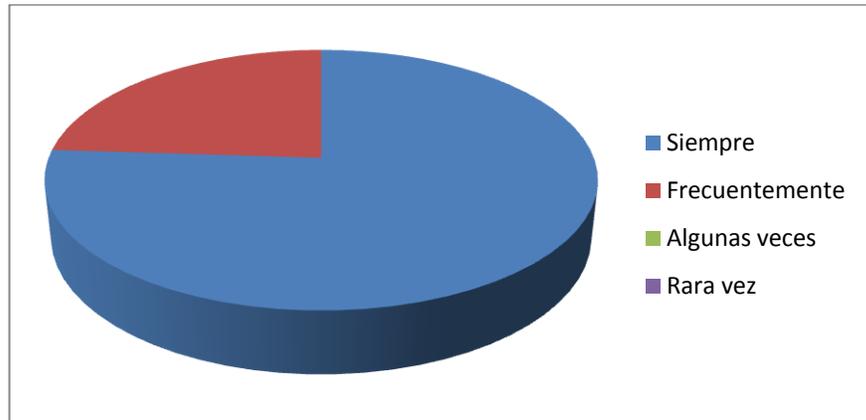
Respuesta	Resultados	Porcentaje (%)
Leche Materna	3	12%
Formula láctea infantil	8	32%
Ambas	14	56%
Ninguna	0	0%



**Figura N°7** Porcentaje de consumo de tipos de Leches en los niños de corta edad

**9. Si su hijo/a consume Fórmulas Lácteas Infantiles. ¿Con que frecuencia consumen sus hijos este producto?**

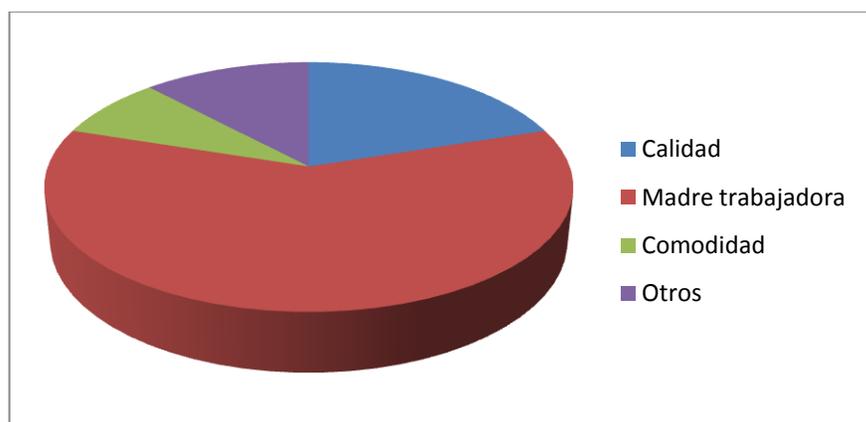
Respuesta	Resultados	% Porcentaje
Siempre	19	76%
Frecuentemente	6	24%
Algunas veces	0	0%
Rara vez	0	0%



**Figura N°8** Gráfico de porcentaje de frecuencia de consumo de Formulas Lácteas Infantiles.

**10. ¿Por qué utiliza Ud. Fórmulas Lácteas Infantiles?**

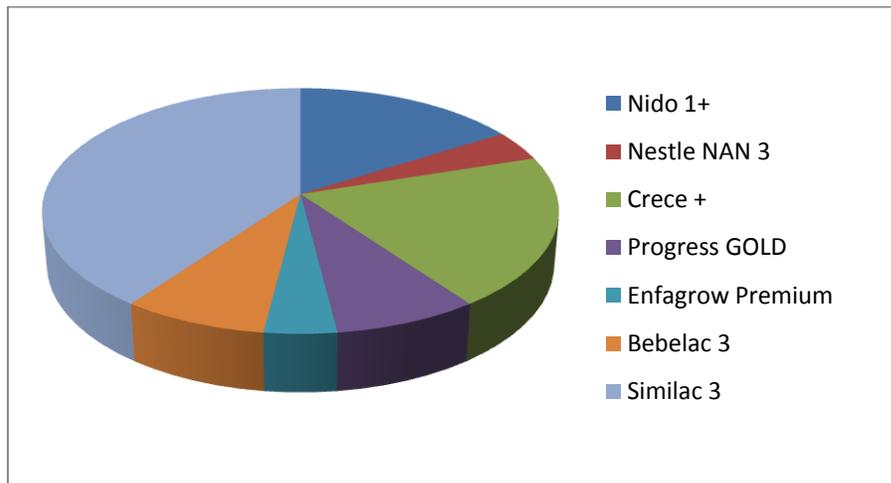
Respuesta	Resultados	% Porcentaje
Calidad	5	20%
Madre trabajadora	15	60%
Comodidad	2	8%
Otros	3	12%



**Figura N°9** Gráfico de criterios de consumo de las Fórmulas Lácteas Infantiles

**11. ¿Cuál o cuáles de las siguientes marcas son de su preferencia?**

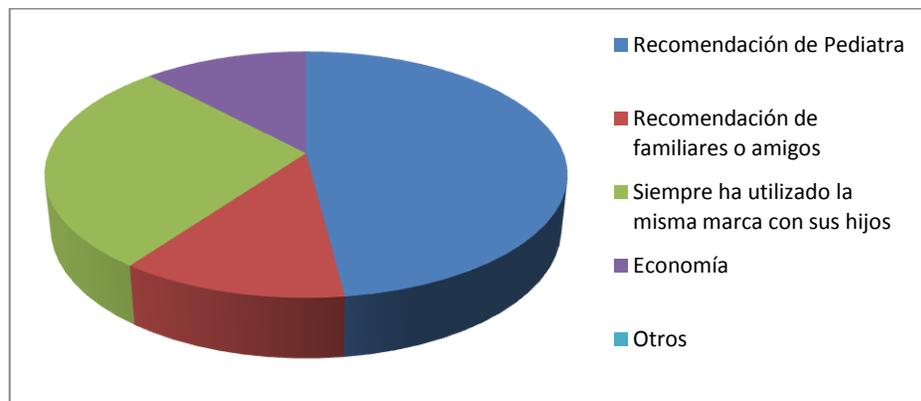
<b>Respuesta</b>	<b>Resultados</b>	<b>% Porcentaje</b>
Nido 1 <sup>+</sup>	4	16%
Nestle NAN 3	1	4%
Crece +	5	20%
Progress GOLD	2	8%
Enfagrow Premium	1	4%
Bebelac 3	2	8%
Similac 3	10	40%



**Figura N°10** Grafico de porcentaje de preferencia entre las Fórmulas Lácteas Infantiles

**12. ¿Por qué la/las marcas comerciales de la pregunta anterior son de su preferencia?**

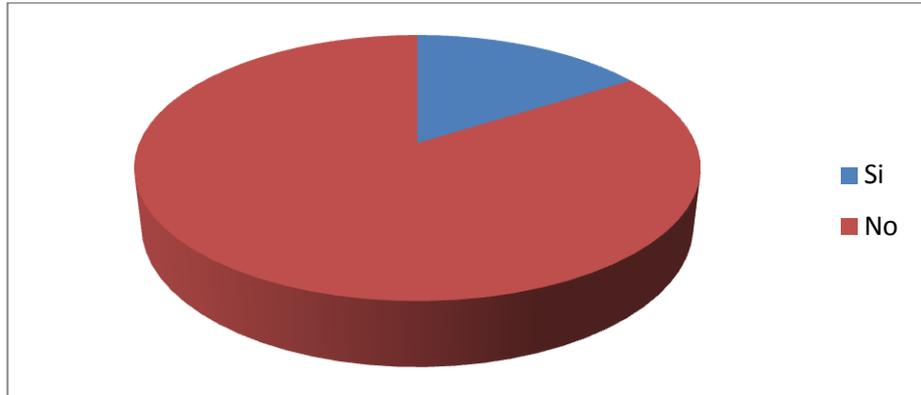
Respuesta	Resultados	% Porcentaje
Recomendación de Pediatra	12	48%
Recomendación de familiares o amigos	3	12%
Siempre ha utilizado la misma marca con sus hijos	7	28%
Economía	3	12%
Otros	0	0%



**Figura N°11** Representación gráfica de criterios de preferencia hacia las Formulas Lácteas Infantiles.

**13. ¿Alguna ocasión ha observado alguna reacción desfavorable en su hijo/a al consumir alguna fórmula?**

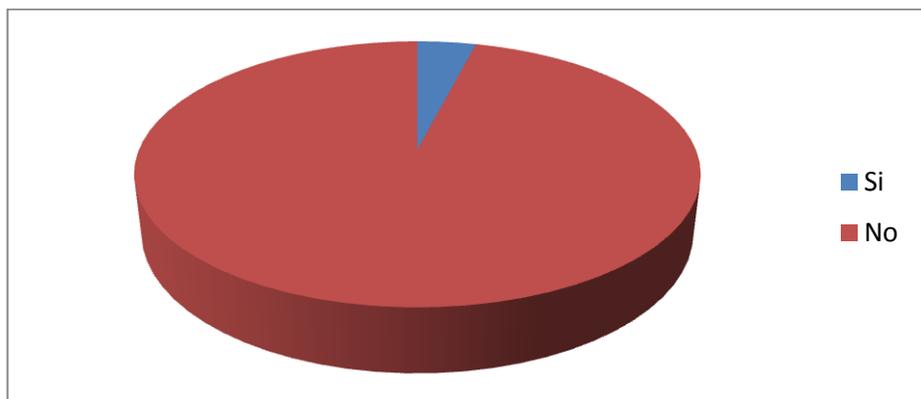
Respuesta	Resultados	% Porcentaje
Si	4	16%
No	21	84%



**Figura N°12** Grafico de porcentaje de respuesta afirmativa o negativa sobre la aparición de reacciones desfavorables ante el consumo de las Formulas Lácteas Infantiles.

14. ¿Ha observado algún cambio en la apariencia del producto una vez abierto?

Respuesta	Resultados	% Porcentaje
Si	1	4%
No	24	96%



**Figura N°13** Grafico de respuesta afirmativa o negativa sobre la observación de algún cambio físico en las Förmulas Lácteas Infantiles.

**ANEXO N° 4**  
**REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN EL REGLAMENTO**  
**TÉCNICO CENTROAMERICANO RTCA 67.04.50:08 PARA**  
**FÓRMULAS LÁCTEAS INFANTILES.**

## ANEXO N°4

**Cuadro N° 10. Requisitos Microbiológicos según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para Fórmulas Lácteas Infantiles**

PARÁMETRO	LÍMITE
<i>Staphylococcus aureus</i> (Fórmulas Lácteas)	<10 UFC/ g
<i>Salmonella ssp</i> /25 g	Ausencia
<i>Cronobacter sakasaki</i> /25g (Fórmulas Lácteas)	Ausencia

**ANEXO N° 5**  
**LISTA DE CHEQUEO DE VERIFICACIÓN DE CONDICIONES DE**  
**ALMACENAMIENTO**

## ANEXO N°5



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



### LISTA DE CHEQUEO

**OBJETIVO:** Identificar las condiciones de almacenamiento de las fórmulas de crecimiento en polvo comercializadas en tres supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla.

Supermercado: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

ITEMS	SI	NO	OBSERVACIONES
1. ¿Se encuentran en lugares específicos para fórmulas lácteas infantiles?			
2. ¿Se encuentran los lugares limpios e higienizados?			
3. ¿Están los recipientes perfectamente cerrados?			
4 ¿Están los productos con fecha de vencimiento apta para el consumo humano?			
5 ¿Cumple con la temperatura de almacenamiento ( $\leq 30$ °C)?			

**ANEXO N° 6**  
**FORMATO DE HOJA CONTROL PARA MUESTRA DE FORMULAS DE**  
**CRECIMIENTO EN POLVO**

## ANEXO N°6

**Cuadro N°11 Hoja control para muestra de formulas de crecimiento  
en polvo**

<b>Control de muestreo</b>	
Marca comercial	
Número de muestra	
Número de lote	
Fecha de vencimiento	
Fecha de muestreo	
Hora de muestreo	
Persona que recolecta la muestra	
Testigo	
Supermercado	

**ANEXO N° 7**  
**FÓRMULAS DE CRECIMIENTO EN POLVO COMERCIALIZADAS EN**  
**LOS PRINCIPALES SUPERMERCADOS DE LA ZONA URBANA DE**  
**SANTA TECLA**

## ANEXO N° 7

**Cuadro N° 12 Fórmulas de crecimiento en polvo comercializadas en los principales supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla**

Supermercado	Marca	Decodificación
Despensa de Don Juan	Nido 1+	A-3
	Crece +	B-3
	Enfagrow Premium 3	C-3
	Similac 3	D-3
	Bebelac 3	E-3
	Nestle NAN 3	F-3
	Progress GOLD	G-3
Despensa Familiar	Nido 1+	A-3
	Similac 3	D-3
	Nestle NAN 3	F-3
Súper Selectos	Nido 1+	A-3
	Crece +	B-3
	Enfagrow Premium 3	C-3
	Similac 3	D-3
	Bebelac 3	E-3
	Nestle NAN 3	F-3
	Progress GOLD	G-3

**ANEXO N° 8**  
**DECODIFICACIÓN DE SUPERMERCADOS A MUESTREAR EN**  
**LA ZONA URBANA DE SANTA TECLA.**

## ANEXO N° 8

**Cuadro N° 13 Decodificación de Supermercados a muestrear en la Zona Urbana de Santa Tecla.**

<b>SUPERMERCADO</b>	<b>SUCURSALES</b>	<b>CODIFICADO</b>
Despensa de Don Juan	Holanda	S1-A
	Merliot	S1-B
Super Selectos	Novocentro	S2-A
	La Cañada	S2-B
	Plaza Merliot	S2-C
	San Martín	S2-D
La Despensa Familiar	San Martín	S3-1
	San Martín	S3-2

**ANEXO N° 9**  
**MATERIAL Y EQUIPO**

## **ANEXO N°9**

### **Material y Equipo**

#### **Cristalería**

- Probetas de 100.0 mL
- Tubos de ensayo con tapón de rosca
- Placas de petri
- Pipetas terminales de 1.0 mL
- Pipetas terminales de 10.0 mL
- Frascos de dilución
- Erlenmeyer de 250.0 mL
- Erlenmeyer de 1.0 L
- Erlenmeyer de 2.0 L
- Gradillas para tubos
- Asas de platino con punta
- Asas de platino en aro
- Rastrillo en forma de L
- Agitadores de Vidrio

#### **Equipo**

- Incubadora
- Estufa
- Autoclave
- Cabina de flujo laminar
- Pipeteadores
- Balanza semianalítica
- Esterilizador de asa

**ANEXO N° 10**  
**MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS**

## **ANEXO N°10**

### **Medios de Cultivo y Reactivos**

#### **Medios de cultivo**

- Caldo Lactosado
- Caldo Rappaport Vassiliadis
- Caldo Tetracionato
- Agar Bismuto Sulfito
- Agar Salmonella-Shigella
- Agua Peptonada Bufferada
- Agar Baird Parker

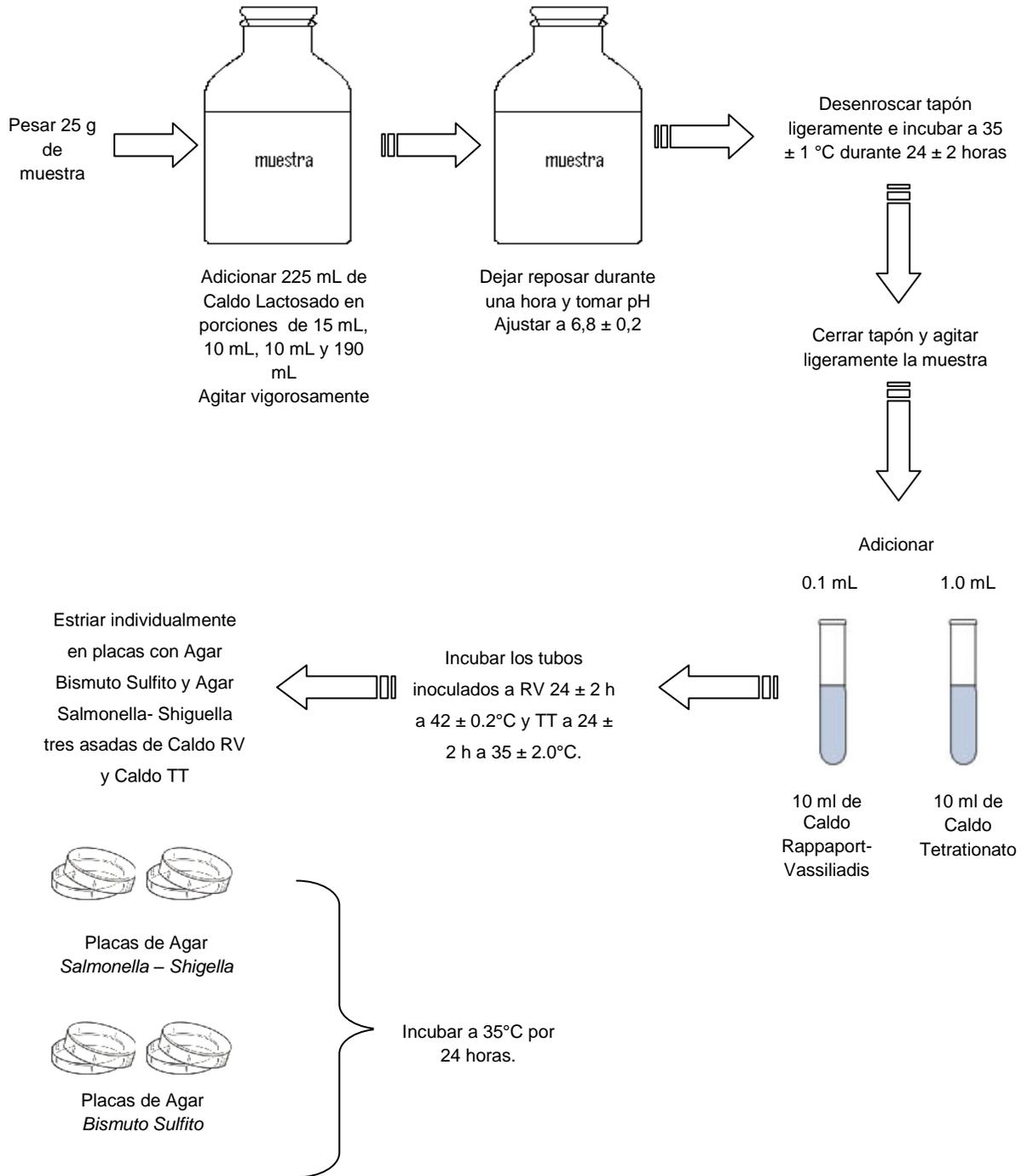
#### **Reactivos**

- Alcohol Isopropilico

**ANEXO N° 11**

**MARCHA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE *Salmonella* spp**

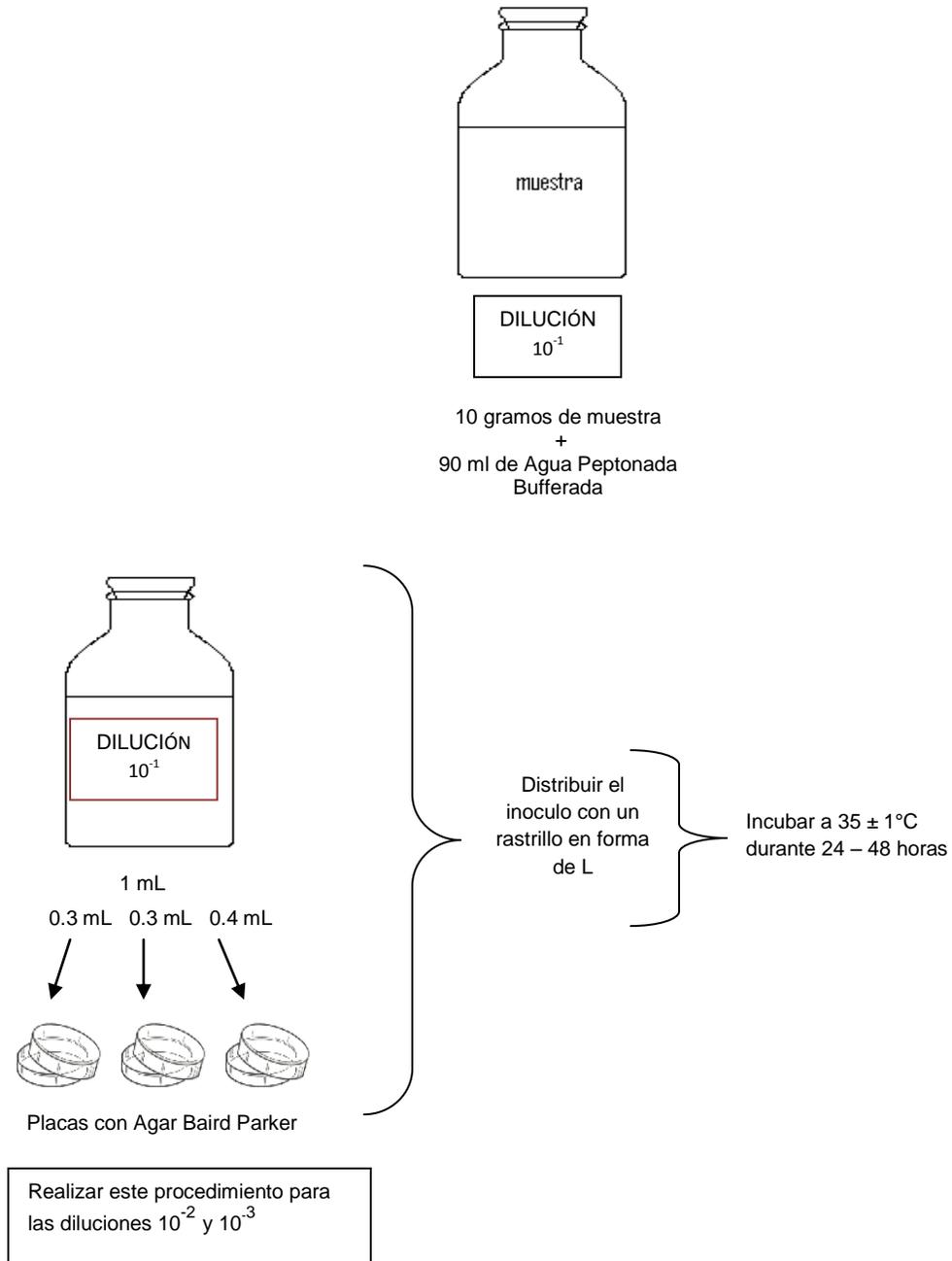
## ANEXO N° 11



**Fig N° 14.** Marcha Analítica para la Determinación de *Salmonella spp.*(9)

**ANEXO N° 12**  
**MARCHA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE**  
*Staphylococcus aureus*

## ANEXO N° 12



**Fig N° 15.** Marcha Analítica para la Determinación de *Staphylococcus aureus*<sub>(10)</sub>

**ANEXO N° 13**  
**LUGAR DE ALMACENAMIENTO DE FORMULAS DE CRECIMIENTO**  
**EN POLVO EN LOS SUPERMERCADOS MUESTREADOS**

### ANEXO N° 13



**Fig. N°16** Foto del lugar de Almacenamiento de Fórmulas de Crecimiento en polvo en Super Selectos Sucursal Novocentro



**Fig. N°17** Foto del Lugar de Almacenamiento de Fórmulas de Crecimiento en polvo en Super Selectos Sucursal La Cañada



**Fig. N° 18** Foto del lugar de Almacenamiento de Fórmulas de Crecimiento en polvo en La Despensa de Don Juan Sucursal Holanda



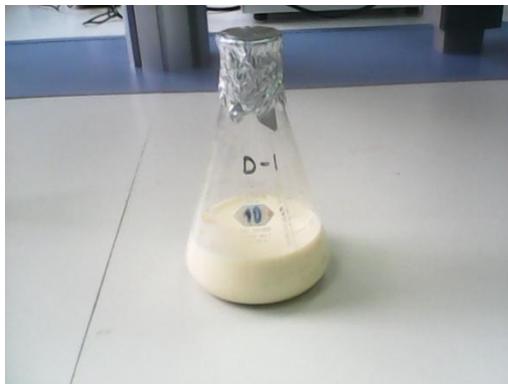
**Fig. N° 19** Foto de una de las muestras recolectadas durante el muestreo

**ANEXO N° 14**  
**MUESTRAS DE FORMULAS DE CRECIMIENTO EN POLVO EN**  
**CALDO LACTOSADO**

## ANEXO N° 14



**Fig. N° 20** Fotos de muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo en Caldo Lactosado



**Fig. N° 21** Fotos de muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo en Caldo Lactosado

**ANEXO N° 15**  
**SIEMBRA DE MUESTRAS EN CALDO TETRACIONATO Y CALDO**  
**RAPAPPORT VASSILIADIS**

## ANEXO N° 15



**Fig. N° 22** Fotos de Siembra de muestras en Caldo Tetracionato y Caldo Rapaport Vassiliadis

**ANEXO N° 16**  
**INCUBACIÓN DE MUESTRAS EN AGAR BISMUTO SULFITO Y**  
**AGAR SALMONELLA SHIGUELLA**

## ANEXO N° 16

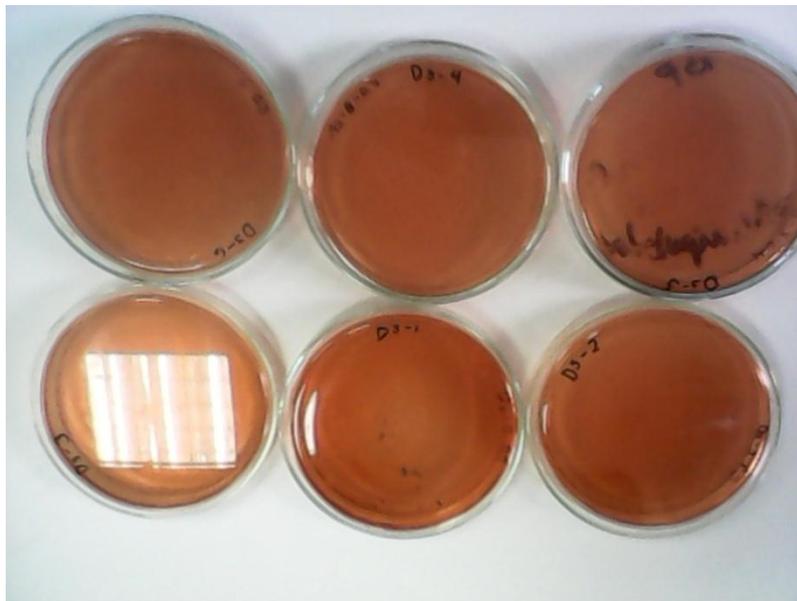
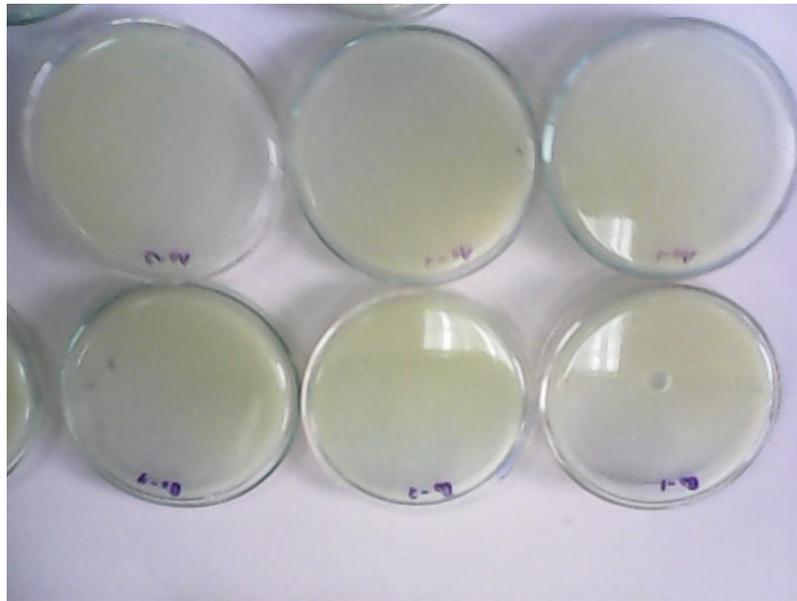


**Fig. N° 23** Foto de incubación de muestras en Agar Bismuto Sulfito y Agar Salmonella Shiguella

**ANEXO N° 17**

**PLACAS DE AGAR BISMUTO SULFITO Y AGAR SALMONELLA-SHIGUELLA Y POSTERIOR A INCUBACIÓN SIN CRECIMIENTO.**

## ANEXO N° 17

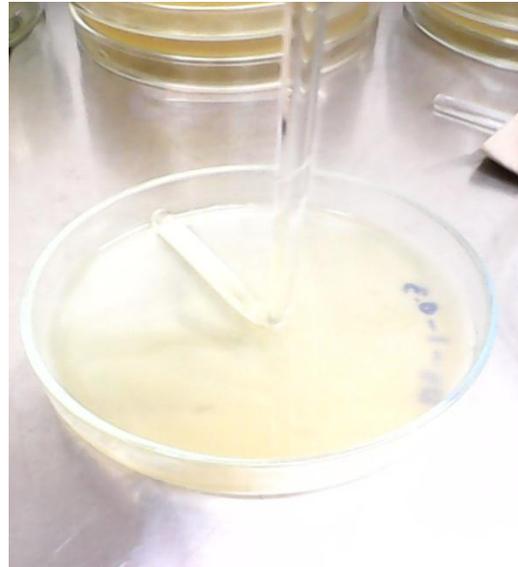


**Fig. N° 24** Fotos de placas de Agar Bismuto Sulfito y Agar Salmonella-Shiguella y posterior a incubación sin crecimiento

**ANEXO N° 18**

**PREPARACIÓN DE DILUCIÓN DE MUESTRAS Y SIEMBRA EN AGAR  
BAIRD PARKER DE MUESTRAS DE FORMULAS DE CRECIMIENTO.**

## ANEXO N° 18



**Fig. N° 25** Fotos de preparación de Dilución de muestras y Siembra en Agar Baird Parker de muestras de Fórmulas de Crecimiento

**ANEXO N° 19**  
**INFORME Y DOCUMENTACION PARA EL MINISTERIO DE SALUD**  
**(MINSAL) Y CENTRO DE APOYO DE LACTANCIA MATERNA**  
**(CALMA)**



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



San Salvador, Septiembre de 2014

Ingeniero  
Arnoldo Rafael Cruz López.  
Jefe de Saneamiento Ambiental  
Ministerio de Salud.

Reciba un cordial saludo deseándole éxitos en su labor diaria.

El motivo de la presente es para dar a conocer a usted los resultados del análisis microbiológico realizado a 36 muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo provenientes de dos cadenas de supermercados de la Zona Urbana, de Santa Tecla, ya que fue el objetivo de nuestro trabajo de graduación, titulado: **ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE FORMULAS DE CRECIMIENTO EN POLVO PARA NIÑOS ENTRE 1 A 3 AÑOS COMERCIALIZADAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA ZONA URBANA DE SANTA TECLA.**

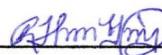
Cabe mencionar que anexo a los resultados se incluyen las especificaciones de El Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 "Alimentos Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos" en su apartado para "Formulas Lácteas y no Lácteas para lactantes y niños pequeños"; El cual se ha tomado como parámetro para comparar los resultados del estudio.

Agradeciendo de antemano su atención.

Atentamente,

F. 

Tania Marcela De la Cruz Arguello

F. 

Débora Raquel Henríquez Gutiérrez

Estudiantes Egresados de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.

F. 

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

F. 

Licda. María Elsa Romero de Zelaya

Docentes Asesoras del Trabajo de Graduación





UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



San Salvador, Septiembre de 2014

SEÑORES  
CENTRO DE APOYO DE LACTANCIA MATERNA.  
UNIDAD DE LACTANCIA MATERNA



Reciban un cordial saludo deseándole éxitos en su labor diaria.

*Ana Leisy Calderón*

El motivo de la presente es para dar a conocer a usted los resultados del análisis microbiológico realizado a 36 muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo provenientes de dos cadenas de supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla, ya que fue el objetivo de nuestro trabajo de graduación, titulado: **ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE FORMULAS DE CRECIMIENTO EN POLVO PARA NIÑOS ENTRE 1 A 3 AÑOS COMERCIALIZADAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA ZONA URBANA DE SANTA TECLA.**

Cabe mencionar que anexo a los resultados se incluyen las especificaciones de El Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 "Alimentos Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos" en su apartado para "Formulas Lácteas y no Lácteas para lactantes y niños pequeños"; El cual se ha tomado como parámetro para comparar los resultados del estudio.

Agradeciendo de antemano su atención.

Atentamente,

F. *Tania*

Tania Marcela De la Cruz Arguello

F. *Débora*

Débora Raquel Henríquez Gutiérrez

Estudiantes Egresados de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.

F. *Cecilia*

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

F. *Mercedes*

Licda. María Elsa Romero de Zelaya

Docentes Asesoras del Tráabajo de Graduación



Resultados obtenidos en las 36 muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo comercializadas en los supermercados de la Zona Urbana de Santa Tecla: Super Selectos (Sucursales Novocentro y la Cañada) y Despensa de Don Juan (Holanda), las cuales se analizaron siguiendo los parámetros establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 “Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos” para Fórmulas Lácteas Infantiles: Determinación de la presencia/ausencia de *Salmonella spp* y la cuantificación de *Staphylococcus aureus* utilizando el Método Recuento en Placa.

Supermercado	Marca	Lote	Limite establecido por el RTCA 67.04.50:08		Resultado
			<i>Salmonella spp</i> Ausencia	<i>Staphylococcus aureus</i> <10 UFC/g	
La Despensa de Don Juan Holanda	NIDO 1+	064340	Ausencia	<10	Conforme
		064695	Ausencia	<10	Conforme
		065384	Ausencia	<10	Conforme
		030637	Ausencia	<10	Conforme
	Cre-c 1+	09914	Ausencia	<10	Conforme
	Similac 3	32505NT	Ausencia	<10	Conforme
		30535NT	Ausencia	<10	Conforme
Super Selectos Novocentro	NIDO 1+	021461	Ausencia	<10	Conforme
		064702	Ausencia	<10	Conforme
		065393	Ausencia	<10	Conforme
		065383	Ausencia	<10	Conforme
	Cre-c 1+	10814	Ausencia	<10	Conforme
		09914	Ausencia	<10	Conforme

Supermercado	Marca	Lote	Limite establecido por el RTCA 67.04.50:08		Resultado
			<i>Salmonella</i> spp Ausencia	<i>Staphylococcus aureus</i> <10 UFC/g	
Super Selectos Novocentro	Similca 3	30535NT	Ausencia	<10	Conforme
Super Selectos La Cañada	NIDO 1+	065383	Ausencia	<10	Conforme
		065390	Ausencia	<10	Conforme
		010326	Ausencia	<10	Conforme
		010638	Ausencia	<10	Conforme
	Cre-c 1+	10814	Ausencia	<10	Conforme
	Similca 3	33541NT	Ausencia	<10	Conforme

De las 36 muestras de Fórmulas de Crecimiento en polvo analizadas se obtienen los resultados siguientes: las 36 muestras cumplen los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 en lo referente a “Fórmulas Lácteas Infantiles” y se consideran aptas para su consumo humano porque cumplen con dos de las especificaciones antes mencionadas; sin embargo no puede declararse su inocuidad microbiológica ya que no fueron evaluadas por otra de las especificaciones establecidas por dicho reglamento la cual corresponde a la determinación de *Cronobacter sakazakii*.

Por lo anterior se recomienda realizar análisis microbiológicos a las Fórmulas de Crecimiento en polvo siguiendo el parámetro: Determinación de la presencia/ausencia de *Cronobacter sakazakii* establecido por la normativa y así poder declarar su inocuidad microbiológica. Así también realizar las inspecciones respectivas en los supermercados para verificar las condiciones en las cuales están siendo almacenados y comercializados estos productos.