

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



EVALUACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PESCADO CRUDO
COMERCIALIZADO EN EL MUELLE DEL PUERTO DE LA LIBERTAD

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

BERTA LILIANA MARTINEZ RONQUILLO
MARIA SANDRA DINORAH ROMERO ANGULO

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

NOVIEMBRE, 2015

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR INTERINO

LIC. JOSE LUIS ARGUETA ANTILLON

SECRETARIA GENERAL INTERINA

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Ena Edith Herrera Salazar

TRIBUNAL CALIFICADOR

COORDINADORA DEL AREA DE MICROBIOLOGIA

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

COORDINADORA DEL AREA GESTION AMBIENTAL

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

DOCENTE ASESOR

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** todo poderoso por brindarnos sabiduría, entendimiento y discernimiento para lograr nuestros objetivos y darnos la capacidad, valentía y fuerza de poder enfrentar cada obstáculo y dificultad que se presentó a lo largo de nuestra carrera.

A **Nuestros padres y hermanos**, por estar ahí en los momentos más difíciles dándonos ánimos, consejos y apoyo a lo largo de toda nuestra formación académica y enseñarnos que todo lo que se desea con esfuerzo se puede lograr.

Al **comité de Trabajo de Graduación**: Directora General de Procesos de Graduación, MSc. Ena Edith Herrera Salazar, Coordinadoras de área: MSc. María Evelin Sánchez de Ramos, MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez, por orientarnos a lo largo de la realización de este trabajo de Graduación.

A nuestra **docente asesora** MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz, por brindarnos su tiempo y conocimientos, por ser una guía y ejemplo de profesionalismo.

Al **Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y su personal**, por su colaboración y amabilidad durante el desarrollo de la parte experimental de este trabajo de graduación.

A nuestros amigos y compañeros **Mirella Castillo** y **Dennis Quinteros** por brindarnos su valiosa ayuda, apoyo y comprensión para poder desarrollar este trabajo de graduación.

Agradecemos a la **Universidad de El Salvador**, por habernos abierto las puertas de este prestigioso templo del saber, cuna de buenos profesionales.

Sandra y Liliana

DEDICATORIAS

Principalmente a **Dios** todo poderoso y la Virgen María por estar siempre conmigo brindándome mucha sabiduría, discernimiento, fortaleza, confianza, salud y amor para poder culminar mi carrera y poder enfrentar cada obstáculo en mi vida.

A mi mamá **Matilde Ronquillo** de una manera muy especial me dio la vida y desde el cielo me cuida, me bendice y guía mi camino.

A mis tíos **Guadalupe Ronquillo** y **Marcelino Rivas** que con mucho esfuerzo y trabajo han logrado guiar mi camino además de brindarme su apoyo incondicional en muchos aspectos de mi vida.

A mi hermano **Alexis Ronquillo** por brindarme su apoyo incondicional y estar conmigo en cada momento de mi vida.

A mi novio **Dennis Quinteros** por ser mi mayor apoyo, por brindarme su confianza, por regalarme su valiosa amistad, cariño y amor y por estar presente en cada uno de mis obstáculos y logros.

A mis primas **Norma Hernández** y **Marina Rivas** por su apoyo y comprensión en lo largo de mi carrera.

A mi compañera de tesis y amiga **Sandra Romero** por haber vivido tantas experiencias en el trayecto de nuestra carrera, por su paciencia en el desarrollo de nuestra tesis, por su valiosa amistad y pasar tiempo juntas apoyándonos en diversos momentos de nuestras vidas.

Berta Liliana Martínez Ronquillo

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a **Dios** y la **Virgen María** por darme la sabiduría y fortaleza para poder superar cada dificultad y culminar mi carrera, por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorar cada día más los momentos felices.

A mis padres **Sandra Daysi Angulo de Romero** y **Víctor Manuel Romero Quijada** por estar siempre a mi lado apoyándome y guiarme por el mejor camino, por sus consejos y comprensión, por su amor, trabajo y sacrificios; y por alentarme a continuar cuando parecía que me iba a rendir

A mi hermano **Víctor Manuel Romero Angulo** por ser además de mi familia un amigo y brindarme su apoyo y consejos en los momentos en que más los he necesitado.

A mi compañera de tesis y amiga **Berta Liliana Martínez Ronquillo** por ser una amiga y ayudarme en los momentos difíciles de mi vida, por su paciencia y comprensión en el desarrollo de la tesis, por haber compartido muchas experiencias tanto en el estudio como en la vida profesional y personal.

María Sandra Dinorah Romero Angulo

INDICE

Resumen

Capítulo I

1.0 Introducción

xxv

Capitulo II

2.0 Objetivos

2.1 General

2.2 Específicos

Capitulo III

3.0 Marco Teórico

30

3.1 El pescado

30

3.2 Clasificación

30

3.3 Anatomía y fisiología

30

- Esqueleto

30

- Anatomía del músculo y su función

31

3.4 Crecimiento y reproducción

33

3.5 Principales elementos del músculo de pescado

34

- Lipidos

35

- Vitaminas y minerales

36

- Proteínas

37

3.6 Calidad y deterioro de los productos pesqueros

38

3.7 Cambios post mortem en el pescado

39

- Cambios y evaluación sensorial

40

- Cambios microbiológicos

44

3.8 Métodos de conservación

46

- Empleo de bajas temperaturas

46

Refrigeración

46

Congelación

47

- Salazón y secado

47

- Ahumado	48
- Conservadores que se incorporan al hielo	48
3.9 Factores asociados a la actividad microbiana	49
3.10 Factores que determinan el desarrollo microbiano	49
3.11 Efecto del eviscerado y de la especie de pescado	52
- Efecto del eviscerado	52
- Efecto de la especie de pescado	53
Especies grasas	53
Especies magras	53
3.12 Factores que influyen en la velocidad del deterioro del pescado fresco	54
3.13 Métodos mejorados para la manipulación del pescado fresco	54
- Almacenamiento y transporte de peces vivos	54
- Enfriamiento del pescado con hielo	57
- Reducción de la temperatura	58
- El hielo derretido mantiene la humedad en el pescado	59
3.14 Manipulación del pescado fresco en las pesquerías artesanales	59
3.15 Datos históricos sobre la pesca artesanal	60
3.16 Comportamiento de la pesca artesanal	63
3.17 Enfermedades transmitidas por alimentos	64
- Definición	64
- Factores de riesgo	64
3.18 La ingesta de alimentos y su relación con ciertas enfermedades alimentarias en El Salvador	65
3.19 Microorganismos indicadores de contaminación de pescado fresco	66
- <i>Escherichia coli</i>	66
Morfología microscópica	68

Morfología macroscópica	68
Enfermedades transmitidas	69
3.20 Microorganismos patógenos en pescado fresco	70
- <i>Salmonella spp</i>	70
Morfología microscópica	70
Morfología macroscópica	71
Enfermedades transmitidas	72
- <i>Vibrio cholerae</i>	73
Morfología microscópica	73
Morfología macroscópica	75
Enfermedades transmitidas	75
- <i>Staphylococcus aureus</i>	76
Morfología microscópica	77
Morfología macroscópica	78
Enfermedades transmitidas	78

Capítulo IV

4.0 Diseño Metodológico	81
4.1 Tipo de estudio	81
- Estudio de campo	81
- Estudio transversal	81
- Estudio experimental	81
- Estudio retrospectivo	81
- Estudio prospectivo	81
4.2 Investigación bibliográfica	81
4.3 Investigación de campo	82
- Universo	82
- Muestra	82
- Métodos e instrumentos de recolección de datos	82
Tipo de muestreo	82

Tamaño de muestra	83
4.4 Codificación empleada en la toma de muestra	84
4.5 Parte experimental	86
4.5.1 Procedimiento para la toma de muestra	86
4.5.2 Procedimiento previo a la manipulación de la muestra	87
4.5.3 Procedimiento para el tratamiento de la muestra (previo al análisis)	87
4.5.4 Preparación de diluciones para Coliformes Totales	88
4.5.5 Determinación y cuantificación de Coliformes Totales	89
4.5.6 Determinación y cuantificación de Coliformes Fecales	90
4.5.7 Determinación de <i>Escherichia coli</i>	91
Prueba confirmativa de <i>Escherichia coli</i>	91
Prueba de indol	91
Crecimiento en agar EMB	91
4.5.8 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	91
Aislamiento de <i>Salmonella spp</i>	92
Prueba confirmativa	93
Pruebas bioquímicas	93
4.5.9 Determinación de <i>Vibrio cholerae</i>	93
Prueba confirmativa	94
Prueba de oxidasa	94
Pruebas bioquímicas	94
4.5.10 Determinación y cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método de recuento en placa	95
Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	95
Cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	96
Pruebas confirmativas	96
Prueba de coagulasa	96
Prueba de catalasa	97

Tinción al GRAM	97
4.5.11 Pruebas de identificación o pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp</i> y <i>Vibrio cholerae</i>	97
Agar triple azúcar y hierro (TSI)	97
Reacción de Indol	98
Reacción de Rojo de Metilo	98
Reacción de Voges Proskauer	99
Prueba de motilidad	99
Prueba de citrato	99
Prueba de urea	99
Capítulo V	
5.0 Resultados y análisis de resultados	102
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	135
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	139
Bibliografía	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Ubicación geográfica del Muelle del Puerto de la Libertad
- 2 Guía de observación de las diferentes especies comercializadas y guía de observación de las diferentes especies seleccionadas
- 3 Guía de inspección para verificar las condiciones sanitarias y almacenamiento para ventas fijas y barco de pesca artesanal
- 4 Etiqueta de identificación para muestra a analizar
- 5 Diluciones para Coliformes Totales
- 6 Determinación y cuantificación de Coliformes Totales
- 7 Determinación y cuantificación de Coliformes Fecales y *E. coli*
- 8 Determinación de *Salmonella spp*
- 9 Determinación de *Vibrio cholerae*
- 10 Determinación y cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el método Recuento en Placa
- 11 Tinción al Gram
- 12 Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae*
- 13 Tabla comparativa para resultados de pruebas bioquímicas de *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae*
- 14 Tabla de NMP para diluciones seriadas de tres tubos
- 15 Criterios microbiológicos según RTCA 67.04.50:08
- 16 Comparación de datos epidemiológicos en El Salvador
- 17 Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Salmonella spp*
- 18 Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Vibrio cholerae*
- 19 Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Staphylococcus aureus*

- 20 Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para Coliformes Fecales
- 21 Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Escherichia coli*
- 22 Porcentaje de NaCl en los que crecen las diferentes especies de Vibrio
- 23 Ubicación de los establecimientos fijos muestreados
- 24 Diferentes especies de pescado crudo comercializadas en los establecimientos de venta fijas
- 25 Especies de pescado seleccionadas de los establecimientos muestreados
- 26 Informe de resultados presentado a la Defensoría del Consumidor

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°		N° pág.
1	Componentes del músculo del pescado	34
2	Minerales constituyentes del músculo de pescado	37
3	Atributos sensoriales del pescado crudo	40
4	Factores intrínsecos que afectan la velocidad de deterioro de las especies de pescado almacenadas en hielo	54
5	Codificación empleada en toma de muestra de pescado crudo y muestra de referencia	84

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		N° pág
1	Esqueleto del pez	31
2	Anatomía del músculo del pez	32
3	Morfología microscópica de <i>E. coli</i>	68
4	Morfología macroscópica de <i>E. coli</i> en Agar EMB	69
5	Morfología microscópica de <i>Salmonella spp</i>	71
6	Morfología macroscópica de <i>Salmonella spp</i> en Agar Sangre	71
7	Morfología microscópica de <i>Vibrio cholerae</i>	74
8	Morfología macroscópica de <i>V. cholerae</i> en Agar TCBS	75
9	Morfología microscópica de <i>Staphylococcus aureus</i>	77
10	Morfología macroscópica de <i>S. aureus</i> en Agar Baird Parker	78
11	Limpieza y sanitización de hielera con alcohol a 70%	87
12	Evisceración de muestras de la etapa 1	88
13	Recolección de muestras de pescado crudo y muestra de referencia en bolsa plástica estéril según codificación	88
14	Muestra de músculo correspondiente a 25 g; preparación de diluciones en Agua Peptonada Buferada	89

15	<ul style="list-style-type: none"> a) Manipulador con indumentaria inadecuada; b) Pescado expuestos a contaminación c) Manipulación inadecuada del producto comercializado 	109
16	<ul style="list-style-type: none"> a) Muestra de referencia expuesta al sol (comercializado en Barco de Pesca Artesanal); b) y c) Bodega donde se almacena el hielo que abastece a los comerciantes y pescadores 	112
17	<ul style="list-style-type: none"> a) y b) Canal de hierro en el que transportan el hielo hacia la bodega de almacenamiento. c) Mesa en la que se evisceran diferentes especies de pescado (pescado perteneciente directamente del Barco de Pesca Artesanal) 	112
18	Colonias sospechosas para <i>Salmonella spp</i> en Agar BS	115
19	Colonias sospechosas para <i>Salmonella spp</i> en Agar SS	115
20	Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp</i>	116
21	Colonias sospechosas para <i>Pseudomona spp</i> en Agar Cetrimide	116
22	Colonias sospechosas para <i>V. cholerae</i> en Agar TCBS	119
23	Crecimiento de colonias sospechosas para vibrio en diferentes concentraciones de NaCl en TSA	120
24	Colonias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i> en Agar Baird Parker	122

25	Prueba de coagulasa para <i>Staphylococcus aureus</i>	123
26	Prueba catalasa para <i>Staphylococcus</i>	123
27	a) Prueba positiva para Coliformes Totales; b) Prueba positiva para Coliformes Fecales	125
28	Prueba positiva para <i>E. coli</i> a través de luz Ultravioleta	128
29	Prueba positiva para <i>E. coli</i> en Agar EMB	128
30	Prueba positiva para <i>E. coli</i> con reactivo de KOVAC	128
31	Gráfico de porcentaje de las 43 muestras analizadas que no cumplen con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08	130
32	Gráfico de comparación de resultados de muestras de pescado crudo que no cumplen especificación según RTCA para <i>Salmonella spp</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> y Coliformes Fecales. ETAPA 1	131
33	Gráfico de comparación de resultados de muestras de pescado crudo que no cumplen especificación según RTCA 67.04.50:08 para <i>Salmonella spp</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> y Coliformes Fecales. ETAPA 2	132

INDICE DE TABLAS

TABLA Nº		Nº Pág
1	Porcentaje de aminoácidos presentes en el pescado	38
2	Actividad acuosa (aw) mínimo para el desarrollo de Microorganismos	50
3	Grupos microbianos e intervalos de temperaturas mínimas, óptimas y máximas para su desarrollo	51
4	Valores óptimos e intervalos de pH para el crecimiento de microorganismos	51
5	Morfología macroscópica de <i>Salmonella spp</i>	93
6	Morfología macroscópica para <i>V. cholerae</i>	94
7	Morfología macroscópica de <i>S. aureus</i>	95
8	Interpretación de resultados de pruebas en Agar TSI	98
9	Guía de observación y de inspección de las diferentes especies de pescado comercializadas	102
10	Guía de observación de las diferentes especies de pescado seleccionada	103
11	Guía de inspección de las condiciones sanitarias y de almacenamiento en las ventas fijas.	106
12	Guía de inspección de las condiciones sanitarias y de almacenamiento en Barco de Pesca Artesanal	110
13	Resultados obtenidos en la determinación de <i>Salmonella spp</i> en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo, comparadas con especificación según RTCA 67.04.50:08	113

14	Resultados de la determinación de <i>V. cholerae</i> en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestra de referencia comparado con especificación según RTCA 67.04.50:08	117
15	Resultados de la determinación de <i>S. aureus</i> en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestra de referencia comparado con especificación según RTCA 67.04.50:08	119
16	Resultados de la determinación y cuantificación de Coliformes Fecales en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestra de referencia comparado con especificación según RTCA 67.04.50:08	124
17	Resultados de las muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestra de referencia para <i>E. coli</i>	126
18	Resumen de los resultados obtenidos	129

ABREVIATURAS

APB: Agua Peptonada Buferada.

APA: Agua Peptonada Alcalina

BAM: Manual de análisis bacteriológico.

BHI: Caldo Infusión Cerebro Corazón.

BP: Agar Baird Parker

BS: Agar Bismuto sulfito.

CENSALUD: Centro de Investigación y Desarrollo en Salud

CF: Coliformes Fecales

CT: Coliformes Totales

E. coli: *Escherichia coli*.

EC: Caldo *Escherichia coli*

EMB: Eosina-azul de metileno.

ETAs: Enfermedades transmitidas por alimentos.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para agricultura y alimentación.

g: gramo.

H₂S: gas sulfuro de hidrogeno.

LMX: Caldo Fluorocult

NMP: Número Más Probable

MR-VP: Caldo Rojo de Metilo - Voges Prokauer

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano

RV: Rappaport- Vassiliadis

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

Spp: *Especies*

SS: Agar Salmonella- Shigella

TCBS: Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa

TSA: Agar Trypticase Soya

TT: Caldo Tetracionato

V. cholerae: *Vibrio cholerae*

TMA: Trimetilamina

OTMA: Óxido de trimetilamina

A_w: Actividad acuosa

ISIAP: Instituto Salvadoreño de Investigación Agraria y Pesquera

ISCATT: Instituto Salvadoreño de Capacitación y Transferencia Tecnológica

MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería

CENDEPESCA: Centro Nacional de Desarrollo Pesquero

OMS: Organización Mundial de la Salud

UFC: Unidades Formadoras de Colonia

M: Músculo

V: Vísceras

A: Ausencia

P: Presencia

RESUMEN

El muelle del puerto de La Libertad es uno de los lugares de mayor comercio en productos pesqueros debido a su afluencia turística a nivel nacional, por lo que es importante conocer la calidad microbiológica de los productos que se comercializan y/o se consumen en el muelle del Puerto de La Libertad.

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en los establecimientos de ventas fijas del Muelle del Puerto de La Libertad, para ello se identificaron los establecimientos encargados de comercializar pescado crudo, posteriormente se realizó una inspección de Buenas Prácticas de Manipulación utilizando dos guías: a) Guía de observación de las diferentes especies de pescado crudo comercializadas en cada uno de los establecimientos de ventas fijas como en un barco de pesca y b) Guía de inspección de las condiciones sanitarias y de almacenamiento de los productos pesqueros en los establecimientos fijos y el barco de pesca artesanal. Para el estudio microbiológico se determinó el número de establecimientos por medio de un Muestreo Aleatorio Simple resultando que el muestreo se realizó en 27 establecimientos de ventas fijas de los 29 establecimientos que comercializaban pescado crudo. En dicho lugar el muestreo se desarrolló en dos etapas: En la etapa 1 se seleccionaron 13 ventas fijas y se analizaron muestras de músculo así como de vísceras de pescado crudo; en la etapa 2, se seleccionaron 14 establecimientos y se analizaron muestras de músculo de pescado crudo; en ambas etapas, se analizó una muestra de pescado de referencia obtenida de un barco de pesca artesanal. Con el análisis microbiológico de ambas etapas se obtuvo que el 100% de las muestras presenta ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, el 30% presenta *Salmonella spp*, el 37% de las muestras son >460 NMP/g para Coliformes Fecales y el 100% sobrepasa los límites máximos permisibles para *Escherichia coli*, según especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos criterios microbiológicos para la Inocuidad de alimento.

Sub grupo 9.1 Pescados y productos pesqueros frescos, congelados incluidos moluscos, crustáceos, equinodermos, empacados. Además se determinó la presencia de Coliformes Totales (*Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Klel spp*, *Proteus spp*, *Pseudomonas spp*. entre otras), por lo tanto estas muestras no son aptas para consumo humano debido a que presentan contaminación de origen fecal.

Por lo que se recomienda que la Defensoría del Consumidor verifique el cumplimiento de las buenas prácticas de manipulación de los productos pesqueros e imparta capacitaciones sobre las Buenas prácticas de Manipulación y almacenamiento e higiene a la cooperativa de pescadores.

Todos los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en un período de Julio – Agosto del presente año. Los resultados obtenidos fueron entregados a la Defensoría del Consumidor para que tomen las medidas que consideren pertinentes.

CAPÍTULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCIÓN

El pescado es un alimento de alto valor nutricional por lo que se ha establecido como un alimento con excelentes sustratos para el crecimiento microbiano ya que posee un pH cercano al del agua lo cual lo hace muy susceptible al deterioro, además de su flora microbiana localizada en los intestinos, las branquias, y moco superficial; el pescado, también es fácil de contaminarse por microorganismos patógenos procedentes del medio donde viven, y por una inadecuada manipulación, almacenamiento e higiene; todos ellos son factores cruciales para la calidad del producto, afectando directamente al consumidor final, ocasionándole enfermedades que son transmitidas por alimentos contaminados como salmonelosis, shigelosis entre otras, estudios reflejan que el pescado crudo es un alimento de alto riesgo de contaminación microbiana debido que experimentan cambios microbiológicos desde el momento de su captura hasta su comercialización. ⁽⁸⁾

Por tal razón el objetivo principal de esta investigación fue evaluar la calidad microbiológica de pescado crudo de las diferentes especies comercializadas en el Muelle del Puerto de La Libertad, mediante una guía de observación se seleccionaron al azar las diferentes especies de pescado crudo comercializadas y por medio de una guía de inspección se verificaron las condiciones sanitarias y de almacenamiento del pescado tanto en los establecimientos de ventas fijas como en barco de pesca artesanal.

El método estadístico que se utilizó fue un Muestreo Aleatorio Simple en el cual se seleccionaron al azar un total de 27 establecimientos de los 29 establecimientos de ventas fijas que comercializan pescado crudo y dos establecimientos en barco de pesca artesanal tomando estos últimos como muestra de referencia.

El análisis microbiológico se realizó en dos etapas; la etapa uno consta de un análisis a muestras de músculo y vísceras de pescado crudo de 13

establecimientos, en la etapa dos se analizaron muestras de músculo de pescado crudo de 14 establecimientos teniendo en cuenta que en ambas etapas se analizó una muestra de referencia proveniente del Barco de Pesca Artesanal. Las determinaciones que se realizaron fueron microorganismos indicadores de contaminación fecal y microorganismos patógenos en muestras de músculo y vísceras de diferentes especies de pescado crudo (basándose en parámetros específicos establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos criterios microbiológicos para la Inocuidad de alimento. Sub grupo 9.1 Pescados y productos pesqueros frescos, congelados incluidos moluscos, crustáceos, equinodermos, empacados); realizando además una cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el Método de Recuento en placa; Coliformes fecales y *Escherichia coli* por el método del Número Más Probable; determinación de ausencia y presencia de *Salmonella spp.* y *Vibrio cholerae*. Se utilizaron Pruebas Bioquímicas en las diferentes muestras de pescado como prueba confirmativa para la presencia de *Salmonella spp.* y *Vibrio cholerae*, dando a conocer estos resultados a la Defensoría del Consumidor.

Dichos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, en un período de Julio-Agosto del presente año.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el muelle del Puerto de la Libertad.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1** Describir mediante una guía de observación y de inspección las diferentes especies, las condiciones sanitarias y de almacenamiento del pescado crudo comercializado en muelle del Puerto de la Libertad.
- 2.2.2** Determinar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos *Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae* y cuantificación mediante el método de recuento en placa de *Staphylococcus aureus* en muestras de pescado crudo (músculo y vísceras).
- 2.2.3** Cuantificar mediante el Método del Numero Más Probable microorganismos indicadores de contaminación: Coliformes Fecales y *Escherichia coli*, en muestras de músculo y vísceras.
- 2.2.4** Comparar la calidad microbiológica de pescado crudo con la muestra de referencia , y a su vez comparar los resultados obtenidos con respecto a las especificaciones que establece el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.
- 2.2.5** Dar a conocer los resultados obtenidos a la Defensoría del Consumidor.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 EL PESCADO ⁽²³⁾

Según el Código alimentario para productos pesqueros el Pescado fresco es un producto pesquero que no ha recibido ningún tratamiento de conservación fuera del enfriamiento.

3.2 CLASIFICACIÓN ⁽²³⁾

Los peces generalmente se definen como vertebrados acuáticos, que utilizan branquias para obtener oxígeno del agua y poseen aletas con un número variable de elementos esqueléticos llamados radios.

Cinco clases de vertebrados poseen especies que pueden ser llamadas peces, pero sólo dos de estos grupos - los peces cartilagosos (los tiburones y las rayas) y los peces óseos - son generalmente importantes y están ampliamente distribuidos en el ambiente acuático.

La clasificación de los peces en cartilagosos y óseos (los peces no mandibulados son de menor importancia) resulta importante desde el punto de vista práctico y también por el hecho de que estos grupos de peces se deterioran en formas diferentes y varían respecto a su composición química.

3.3 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA ⁽²³⁾

- El esqueleto

Siendo un vertebrado, el pez tiene columna vertebral y cráneo cubriendo la masa cerebral. La columna vertebral se extiende desde la cabeza hasta la aleta caudal y está compuesta por segmentos (vértebras). Estas vértebras se prolongan dorsalmente para formar las espinas neurales y en la región del tronco tienen apófisis laterales que dan origen a las costillas (Figura N° 1). Estas costillas son estructuras cartilaginosas u óseas en el tejido conectivo (miocomata) y ubicadas

entre los segmentos musculares (miotomas). Por lo general, hay también un número correspondiente de costillas falsas o "pin bones" ubicadas más o menos horizontalmente y hacia el interior del músculo. Estos huesos causan problemas importantes cuando el pescado se ha fileteado o ha sido preparado de otra manera para alimento.

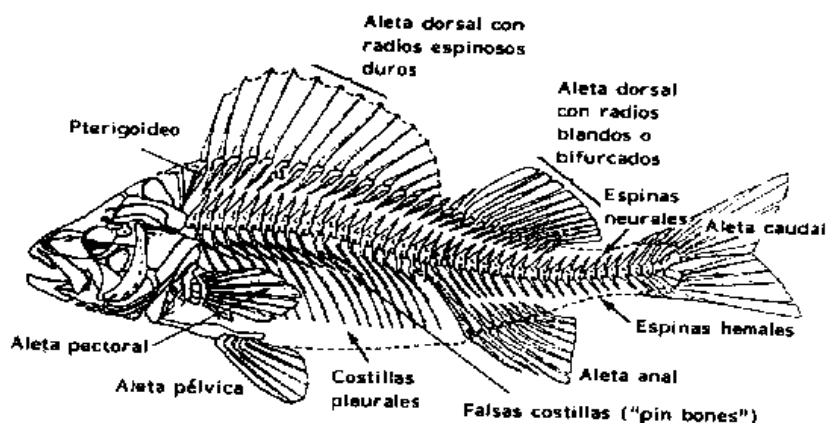


Figura Nº 1. Esqueleto del pez

- Anatomía del músculo y su función

La anatomía del músculo del pez difiere de la anatomía de los animales terrestres, porque carece del sistema tendinoso (tejido conectivo) que conecta los paquetes musculares al esqueleto del animal. En cambio, los peces tienen células musculares que corren en paralelo, separadas perpendicularmente por tabiques de tejido conectivo (miocomata), ancladas al esqueleto y a la piel. Los segmentos musculares situados entre estos tabiques de tejido conectivo se denominan miotomas.

El tejido muscular del pez, como el de los mamíferos, está compuesto por músculo estriado. La unidad funcional, es decir, la célula muscular, consta de sarcoplasma que contiene el núcleo, granos de glucógeno, mitocondria, etc. y un número (hasta 1.000) de miofibrillas. La célula está envuelta por una cubierta de tejido conectivo denominada sarcolema. Las miofibrillas contienen proteínas contráctiles, actina y miosina. Estas proteínas o filamentos están ordenados en

forma alternada muy característica, haciendo que el músculo parezca estriado en una observación microscópica.

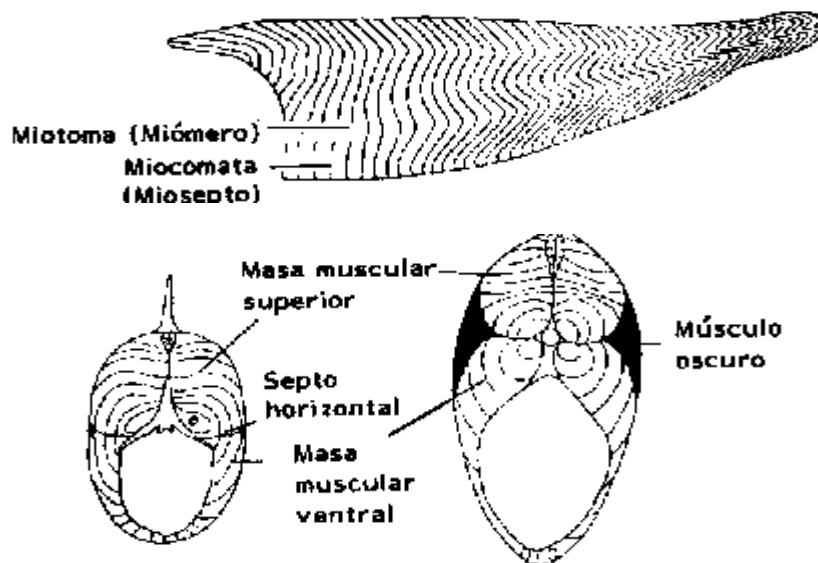


Figura N° 2. Anatomía del músculo del pez

Generalmente el tejido muscular del pez es blanco pero, dependiendo de la especie, muchos presentan cierta cantidad de tejido oscuro de color marrón o rojizo. El músculo oscuro se localiza exactamente debajo de la piel a lo largo del cuerpo del animal.

La proporción entre músculo oscuro y músculo blanco varía con la actividad del pez. En los pelágicos, es decir, especies como el arenque y la caballa, que nadan más o menos en forma continua, hasta el 48 por ciento de su peso puede estar constituido por músculo oscuro. En los peces demersales, o sea, especies que se alimentan en el fondo del mar y se mueven sólo periódicamente, la cantidad de músculo oscuro es muy pequeña.

Hay muchas diferencias en la composición química de los dos tipos de músculo, siendo algunas de las más notables el alto contenido de lípidos y hemoglobina presentes en el músculo oscuro. Desde el punto de vista tecnológico, el alto contenido de lípidos del músculo oscuro resulta importante debido a los problemas asociados con la rancidez.

El color rojizo de la carne del salmón y la trucha de mar, no se origina a partir de la mioglobina sino que es debido a un carotenoide rojo, la astaxantina. La función de este pigmento no está claramente establecida, pero se ha propuesto que el carotenoide podría actuar como antioxidante. Además, su acumulación en el músculo puede funcionar como un depósito de pigmento, necesario durante el desove cuando el macho desarrolla una fuerte coloración rojiza en la piel y la hembra transporta carotenoides dentro de los huevos. El apropiado desarrollo después de la fertilización parece depender fuertemente de la cantidad de carotenoides. Se observa claramente que el color del músculo de los salmónidos se desvanece durante el desove.

El pez no sintetiza astaxantina y, por lo tanto, depende de la ingesta del pigmento a través del alimento. Algunos salmónidos viven en aguas donde la presa natural no contiene mucho carotenoide, por ejemplo el Mar Báltico, dando como resultado una coloración menos rojiza del músculo en comparación con los salmónidos de otras aguas. Esto puede ser tomado como una indicación de que la función fisiológica propuesta para la astaxantina en salmónidos, explicada en el párrafo anterior, resulte ser menos importante.

3.4 CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN ⁽²³⁾

Durante el crecimiento, aumenta el tamaño de cada célula muscular en lugar de su número. También la proporción del tejido conectivo se incrementa con la edad.

La mayor parte de los peces llegan a su madurez sexual cuando han alcanzado cierto tamaño, característico para cada especie y no está directamente correlacionado con la edad. En general este tamaño crítico se alcanza antes en los machos que en las hembras. Como la velocidad de crecimiento disminuye una vez que el pez alcanza su madurez, a menudo resulta una ventaja económica criar hembras en acuicultura.

Durante todo el año, el pez sexualmente maduro gasta energía en el fortalecimiento de sus gónadas (huevos y espermatozoides). Este desarrollo de las gónadas provoca el agotamiento de las reservas de proteínas y lípidos, porque se lleva a cabo durante un período de escasa o ninguna alimentación.

3.5 PRINCIPALES ELEMENTOS DEL MÚSCULO DE PESCADO ⁽⁹⁾

El pescado y productos pesqueros contienen agua, proteínas y otros compuestos nitrogenados, lípidos, hidratos de carbono, minerales y vitaminas. Su composición química varía mucho de una especie y un pez individual dependiendo de la edad, el sexo, el medio ambiente y la temporada.

En el siguiente cuadro se presentan los principales componentes químicos del músculo del pescado en cantidad porcentual mínima como máxima.

Cuadro N° 1. Componentes del músculo del pescado ⁽⁹⁾

Componentes del músculo del pescado (%)			
Constituyente	Mínimo (%)	Variación normal (%)	Máximo (%)
Proteínas	6	16-21	28
Lípidos	0,1	0,2-25	67
Carbohidratos		<0,5	
Cenizas	0,4	1,2-1,5	1,5
Agua	28	66-81	96

- **Los lípidos** ⁽¹⁰⁾

Los lípidos presentes en las especies de peces teleósteos se pueden dividir en dos grandes grupos: los fosfolípidos y los triglicéridos. Los fosfolípidos constituyen la estructura integral de las membranas unitarias en las células; por lo tanto, a menudo se llaman lípidos estructurales. Los triglicéridos son lípidos utilizados para el almacenamiento de energía en los depósitos de grasa, por lo general dentro de las células de grasa especiales rodeadas por una membrana de fosfolípidos y una red de colágeno más bien débil. Los triglicéridos son a menudo denominados depósitos de grasa. Algunos peces contienen ésteres de cera como parte de sus grasas de depósito.

Pescado y los lípidos de mamíferos difieren principalmente en que los peces lípidos incluyen hasta 40 por ciento de ácidos grasos de cadena larga (14-22 átomos de carbono) que son altamente insaturados. La grasa de mamíferos raramente contiene más de dos dobles enlaces por molécula de ácido graso, mientras que las grasas de depósito de pescado contienen varios ácidos grasos con cinco o seis dobles enlaces.

El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados con cuatro, cinco o seis dobles enlaces es ligeramente inferior en los ácidos grasos poliinsaturados de lípidos de peces de agua dulce (aproximadamente 70 por ciento) que en los lípidos correspondientes de peces marinos (aproximadamente 88 por ciento). Sin embargo, la composición de los lípidos no está completamente fija, sino que puede variar con el consumo de alimento y la temporada.

En la nutrición humana, los ácidos grasos tales como ácido linoleico y ácido linolénico - importantes para la prevención de enfermedades de la piel - se consideran esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por el organismo. En los peces marinos, estos ácidos grasos constituyen sólo alrededor del dos por ciento del total de lípidos - un pequeño porcentaje en comparación con muchos

aceites vegetales. Sin embargo, los aceites de pescado contienen otros ácidos "esenciales" grasos poliinsaturados que actúan de la misma manera como los ácidos linoleico y araquidónico. Como miembros de la familia del ácido linolénico (primer doble enlace en la tercera posición, w-3 contado desde el grupo metilo terminal), también tienen beneficios neurológicos en niños en crecimiento. Uno de estos ácidos grasos, eicosapentaenoico (C20: 5 w 3), ha atraído considerable atención desde que los científicos daneses encontraron una importante presencia de la misma en la dieta de un grupo de esquimales de Groenlandia, que resultó virtualmente libre de la arteriosclerosis. Pruebas convincentes existen ahora para los aceites de pescado y el pescado, y el papel importante que desempeñan en la disminución del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y en la mejora del desarrollo del cerebro del feto.

- **Vitaminas y minerales** ⁽²³⁾

La cantidad de vitaminas y minerales es específica de la especie y también puede variar según la temporada. En general, la carne de pescado es una buena fuente de vitaminas del complejo B y también de las vitaminas A y D en el caso de especies grasas.

En cuanto a minerales, la carne de pescado es considerado como una valiosa fuente de calcio y fósforo en particular, pero también de hierro, cobre y selenio. Peces de agua salada tienen un alto contenido de yodo.

El contenido de vitamina en el pescado es comparable a la de los mamíferos, excepto en el caso de las vitaminas A y D que se encuentran en grandes cantidades en la carne de las especies grasas y en abundancia en el hígado de las especies. Cabe señalar que el contenido de sodio de carne de pescado es relativamente bajo, lo que lo hace adecuado para dietas bajas en sodio.

Cuadro N° 2. Algunos minerales constituyentes del músculo de pescado

Elemento	Valor promedio (mg/100g)	Rango (mg/100g)
Sodio	72	30 -134
Potasio	278	19 – 502
Calcio	79	19 – 881
Magnesio	38	4,5 – 452
Fósforo	190	68 - 550

- **Proteínas** ⁽²³⁾

Las proteínas del músculo del pez se pueden dividir en tres grupos:

Proteínas estructurales (actina, miosina, tropomiosina y actomiosina), que constituyen el 70-80 por ciento del contenido total de proteínas (comparado con el 40 por ciento en mamíferos). Estas proteínas son solubles en soluciones salinas neutras de alta fuerza iónica ($\geq 0,5$ M).

Proteínas sarcoplasmáticas (mioalbúmina, globulina y enzimas), que son solubles en soluciones salinas neutras de baja fuerza iónica (0,15 M). Esta fracción constituye el 25-30 por ciento del total de proteínas.

Proteínas del tejido conectivo (colágeno), que constituyen aproximadamente el 3 por ciento del total de las proteínas en teleósteos y cerca del 10 por ciento en elasmobranquios (comparado con el 17 por ciento en mamíferos).

Las proteínas del pescado contienen todos los aminoácidos esenciales y, al igual que la leche, los huevos y proteínas de la carne de mamíferos, tienen un alto valor biológico.

Tabla N° 1. Porcentaje de aminoácidos presentes en el pescado.

Porcentaje de aminoácidos presentes en el pescado	
Aminoácido	Pescado (%)
Lisina	8.8
Triptófano	1
Histidina	2
Fenilalanina	3.9
Leucina	8.4
Isoleucina	6
Treonina	4.6
Metionina-cistina	4
Valina	6

3.6 CALIDAD Y DETERIORO DE LOS PRODUCTOS PESQUEROS ⁽²⁸⁾

Los productos pesqueros son considerados alimentos muy perecederos debidos a su composición química y al pH poco ácido de su carne. La pérdida de la frescura de estos alimentos ocurre por la acción de enzimas endógenas presentes en las vísceras y en los músculos (autólisis) y/o por el desarrollo de los microorganismos deteriorantes. La flora contaminante se asienta básicamente en la piel, las branquias y el intestino y se extiende a todos los tejidos donde existen sustancias nutritivas adecuadas y un pH relativamente elevado que favorece el desarrollo de dichos microorganismos.

La degradación bacteriana de componentes solubles de bajo peso molecular produce metabolitos volátiles responsables del mal olor y sabor desagradables, que conducen rechazo sensorial del pescado. Por otro lado, la acción de proteasas endógenas y/o bacterianas provoca cambios en las propiedades texturales que afectan la calidad de estos productos.

La velocidad de los procesos de descomposición que ocurren en el pescado depende de factores intrínsecos de las especies tales como la edad, el tamaño,

la composición química de los tejidos, el estado nutricional y las condiciones fisiológicas de los ejemplares. Asimismo depende de la composición cualitativa y cuantitativa de la microflora inicial asociada al ambiente de procedencia. Factores extrínsecos como las condiciones de captura y los métodos de conservación son también determinantes.

El método más utilizado para conservar los productos pesqueros, desde su captura hasta la llegada al consumidor es la aplicación del frío. En función de la temperatura empleada se pueden clasificar al pescado en: refrigeración congelado y ultracongelado. El pescado refrigerado es el que desde su captura esta conservado en hielo. Habitualmente, este se distribuye cubriendo todo el pescado, en una proporción que varía entre 1:1 y 1:4; respecto al pescado, con lo que se garantiza temperaturas entre 1°C y 6°C. Dichas condiciones no detienen los procesos autolíticos y microbiológicos implicados en el deterioro, pero producen una fuerte inhibición de los mismos.

3.7 CAMBIOS POST MORTEM EN EL PESCADO ⁽¹⁾

El desarrollo de las condiciones de deterioro en el pescado y sus productos se debe a la combinación de fenómenos autolíticos, químicos y microbiológicos. La condición denominada “deterioro” no está en términos objetivos claramente definida. La pérdida inicial de frescura de las especies de pescado magras en su estado natural, con o sin refrigeración se debe a cambios autolíticos, mientras que el deterioro se debe principalmente a la acción de los microorganismos.

Según Sikorsky, los cambios que sufre el pescado luego de su captura dependen de los factores que afectan las concentraciones de sustratos y metabolitos de los peces vivos, actividades enzimáticas, contaminación microbiológica, y condiciones de captura.

- **Cambios y evaluación sensorial** ⁽¹¹⁾

La evaluación sensorial se define como la disciplina científica empleada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones características del alimento, percibidas a través de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y audición.

La evaluación sensorial del pescado crudo en mercados y sitios de desembarque se efectúa mediante la evaluación de la apariencia, textura y olor. Algunos de estos atributos, se mencionan en el siguiente cuadro.

Cuadro N° 3. Atributos sensoriales del pescado crudo ⁽¹¹⁾

Criterio				
Partes del pescado inspeccionadas	Puntuación			
	3*	2*	1*	0*
	Apariencia			
Piel	Pigmentación brillante e iridiscente, decoloraciones ausentes, mucus transparente y acuoso	Pigmentación brillante pero no lustrosa	Pigmentación en vías de decolorarse y empañarse	Pigmentación mate
		Mucus ligeramente opalescente	Mucus lechoso	Mucus opaco
Ojos	Convexos (salientes)	Convexos y ligeramente hundidos	Planos	Cóncavo en el centro
	Córnea transparente	Córnea ligeramente opalescente	Córnea opalescente	Córnea lechosa
	Pupila negra y brillante	Pupila negra y apagada	Pupila opaca	Pupila gris
Branquias	Color brillante	Menos coloreadas	Descolorándose	Amarillentas
	Mucus ausente	Ligeros trazos de mucus	Mucus opaco	Mucus lechoso
Carne (corte del abdomen)	Azulada, translúcida, uniforme, brillante	Aterciopelada, cerosa, empañada	Ligeramente opaca	Opaca
	Sin cambios en el color original	Ligeros cambios en el color		

Cuadro N° 3 (Continuación)

Partes del pescado inspeccionadas	Criterio			
	Puntuación			
	3*	2*	1*	0*
Color (a lo largo de la columna vertebral)	No coloreada	Ligeramente rosa	Rosa	Rojo
Órganos	Riñones y residuos de otros órganos deben ser de color rojo brillante, al igual que la sangre dentro de la aorta	Riñones y residuos de otros órganos deben ser de color rojo empañado; la sangre comienza a decolorarse	Riñones, residuos de otros órganos y sangre presentan un color rojo pálido	Riñones, residuos de otros órganos y sangre presentan un color pardusco
Carne	Firme y elástica	Menos elástica	Ligeramente blanda (flácida), menos elástica	Suave (flácida) las escamas se desprenden fácilmente de la piel, la superficie surcada tiende a desmenuzarse
	Superficie uniforme		Cerosa (aterciopelada) y superficie empañada	
Columna vertebral	Se quiebra en lugar de separarse de la carne	Adherida	Ligeramente adherida	No está adherida
Peritoneo	Completamente adherido a la carne	Adherido	Ligeramente adherida	No está adherida
Branquias, piel, cavidad abdominal	A algas marinas	Olor No hay olor a algas marinas, ni olores desagradables	Ligeramente ácido	Acido

3*: Excelente calidad; 2*: Buena calidad; 1*: Mala calidad; 0*: Muy mala calidad

Se puede detectar un patrón característico del deterioro del pescado almacenado en hielo, el cual puede ser dividido en las cuatro fases siguientes:

Fase 1: El pescado es muy fresco y tiene un sabor a alga marina, dulce y delicada. El sabor puede ser muy ligeramente metálico. En el bacalao, el eglefino, la merluza, el merlán y el lenguado, el sabor dulce se hace más pronunciado a los 2-3 días de la captura.

Fase 2: Hay una pérdida del olor y del gusto característico. La carne es neutral pero no tiene olores extraños. La textura se mantiene agradable.

Fase 3: Aparecen signos de deterioro y, dependiendo de la especie y del tipo de deterioro (aeróbico o anaeróbico), se producen una serie de compuestos volátiles de olor desagradable. Uno de estos compuestos volátiles puede ser la trimetilamina (TMA) derivada de la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina (OTMA). La TMA tiene un olor a "pescado" muy característico. Al inicio de esta fase pueden aparecer olores y sabores ligeramente ácidos, afrutados y ligeramente amargos, especialmente en peces grasos. En los últimos estadios de esta fase se desarrollan olores nauseabundos, dulces, como a col, amoniacales, sulfurosos y rancios. La textura se toma suave y aguada, o dura y seca.

Fase 4 El pescado puede caracterizarse como deteriorado y pútrido.

El cambio más dramático es el ataque del *rigor mortis* o endurecimiento muscular. Inmediatamente después de la muerte el músculo del pescado está totalmente relajado, la textura flexible y elástica generalmente persiste durante algunas horas y posteriormente el músculo se contrae. Cuando se toma duro y rígido, todo el cuerpo se vuelve inflexible y se dice que el pescado está en *rigor mortis*. Esta condición generalmente se mantiene durante uno o más días y luego se resuelve el *rigor*. (7)

La resolución del *rigor mortis* depende de la activación enzimática responsable de los procesos autolíticos que permiten que el musculo se relaje nuevamente y

recupere la flexibilidad, pero no la elasticidad previa al *rigor*. La proporción entre el comienzo y la resolución del rigor varía según la especie y es afectada por la temperatura, la manipulación, el tamaño y las condiciones físicas del pescado.

El efecto de la temperatura sobre el rigor no es uniforme. En el caso del bacalao, las altas temperaturas ocasionan un rápido comienzo del *rigor* y un *rigor mortis* bastante fuerte. Esto debe ser evitado, dado que las fuertes tensiones producidas por el *rigor* pueden causar "desgajamiento", es decir, debilitamiento del tejido conectivo y posterior ruptura del filete.

Generalmente se acepta que el comienzo y la duración del *rigor mortis* resultan más rápido a mayor temperatura, pero se ha observado en ciertas especies tropicales el efecto opuesto de la temperatura, en relación con el comienzo del *rigor*. Resulta evidente que en estas especies el inicio del *rigor* se acelera a la temperatura de 0 °C en comparación con 10 °C, lo cual muestra buena correlación con la estimulación de los cambios bioquímicos a 0 °C. Sin embargo, una explicación para esto ha sido sugerida por Abe y Okuma (1991), quienes han demostrado que el comienzo del *rigor mortis* en la carpa (*Cyprinus carpio*) depende de la diferencia entre la temperatura del mar y la temperatura de almacenamiento. Cuando esta diferencia es grande, el *rigor* se inicia a menor tiempo y viceversa.

El *rigor mortis* se inicia inmediatamente o poco después de la muerte, en el caso de peces hambrientos y cuyas reservas de glucógeno están agotadas, o en peces exhaustos. El método empleado para aturdir y sacrificar el pez también influye en el inicio del *rigor*. El aturdimiento y sacrificio por hipotermia (el pez es muerto en agua con hielo) permite obtener el más rápido inicio del rigor, mientras que un golpe en la cabeza proporciona una demora de hasta 18 horas.

El significado tecnológico del *rigor mortis* es de mayor importancia cuando el pescado es fileteado antes o durante el *rigor*. Durante el rigor el cuerpo del

pescado está completamente rígido; el rendimiento del fileteado resulta muy bajo y una manipulación tosca puede causar el desgarramiento de los filetes. Si los filetes son removidos del hueso antes del *rigor*, el músculo puede contraerse libremente y se encogerá al comenzar el rigor. El músculo oscuro puede encogerse hasta un 52 por ciento y el músculo blanco hasta un 15 por ciento de su longitud original. Si el pescado es cocido antes del *rigor*, la textura será muy suave y pastosa. Por el contrario, la textura es dura pero no seca cuando el pescado es cocido durante el *rigor*. Posterior al *rigor* la carne se toma firme, succulenta y elástica.

- **Cambios Microbiológicos** ⁽²¹⁾

La flora microbiana del pez vivo depende de la carga microbiana de las aguas donde vive. En el mucilago que recubre la superficie externa del pescado se han encontrado bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Acinobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Serratia*, *Vibrio* y *Bacillus*. Las bacterias existentes en la superficie del pescado procedente de las aguas del norte son principalmente psicrófilas, mientras que en el pescado procedente de las aguas tropicales las bacterias que se encuentran son principalmente mesófilas.

En el intestino de los pescados de ambas procedencias se encuentran bacterias de los géneros *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* y *Escherichia*. Los barcos, las cajas, los recipientes, las pesquerías y los pescadores pronto se contaminan abundantemente con estas bacterias y las transmiten a los pescados durante las operaciones de limpieza. El número de bacterias existentes en el mucílago y en la superficie de la piel del pescado recién capturado en el mar puede oscilar desde cifras tan pequeñas como 10^2 UFC por centímetro cuadrado a cifras de 10^6 UFC por centímetro cuadrado, mientras que el líquido intestinal se pueden encontrar desde 10^3 UFC a 10^6 UFC de bacterias

por mililitro. El tejido de las branquias puede albergar de 10^3 UFC a 10^6 UFC de bacterias por gramo. ⁽³⁶⁾

El crecimiento bacteriano depende de distintos factores tales como la especie, la edad, el tamaño del ejemplar, la alimentación, el estado fisiológico y las composiciones cualitativas y cuantitativas de la microflora inicial. Asimismo depende del arte de la pesca, de la manipulación y las temperaturas de almacenamiento.

El método de captura es con frecuencia el factor que más influye en el número y el tipo de bacterias presentes en el pescado. Por ejemplo, el sistema de pesca de arrastre en el que las redes recorren el fondo del mar durante un tiempo prolongado, da como resultado que el pescado esté expuesto a los elevados recuentos de bacterias del sedimento removido del fondo, y este elevado número de bacterias se puede reflejar en la carga microbiana inicial de la superficie del pescado.

El mecanismo de penetración de la flora microbiana en el músculo es distinto para peces planos y redondos. En los primeros se realiza a través de la piel y se favorece por las heridas que se pueden producir durante su captura; en los segundos, el acceso al músculo se produce a través del intestino. El paso desde el intestino está favorecido por la bacteriemia que se produce en los peces al ser capturados, debido a la fatiga y asfixia que sufren. Las branquias también sirven como puerta de entrada de los gérmenes al músculo.

Anteriormente se suponía que las bacterias invadían el músculo por medio del tejido vascular o penetrando por la piel. Sin embargo se ha demostrado que en pescado enfriado sólo unas pocas bacterias invaden el músculo y en la etapa bastante tardía; las bacterias entran en la carne vía colágena cuando el pescado se almacena a temperatura $>8^{\circ}\text{C}$, en tanto que el producto enfriado muestra la principal actividad microbiana en la superficie, y las enzimas bacterianas difunden

de la superficie hacia dentro del tejido. Un factor asociado a la estabilidad del producto es el tipo de dermis y epidermis con mucus conteniendo lisozimas. ⁽⁷⁾

Los productos pesqueros presentan dentro de su composición, compuestos nitrogenados no proteicos simples, como óxido de trimetilamina (OTMA), urea, creatina, taurina, anserina, histidina, carnosina, betaina, los cuales son degradados al inicio de la actividad bacteriana, generando compuestos como trimetilamina (TMA), amoníaco, histamina, indol, entre otros. En elasmobranquios la alteración de la urea a CO₂ y amoníaco, se asocia fundamentalmente a la actividad ureasas bacterianas. Por ejemplo, músculos de crustáceos pueden presentar más de 300 mg de compuestos nitrogenados libres por 100 g de tejido, lo cual les confiere una elevada susceptibilidad de alteración por actividad bacteriana: la arginina puede ser desaminada por bacterias, la cual al ser posiblemente descarboxilada genera la putresina. ⁽⁶⁾

3.8 METODOS DE CONSERVACION ⁽³⁷⁾

- Empleo de temperaturas bajas

Refrigeración

Cuando el pescado se captura lejos de la factoría pesquera, la necesidad de someterlo a refrigeración en el barco depende de la especie de pescado del cual se trate, de si se eviscera en el barco y de la temperatura atmosférica, en general los pescados pequeños son perecederos que los grandes y los eviscerados se autolisan más lentamente que los enteros.

Cuando las temperaturas ambientales elevadas y las distancias a las que es preciso transportarlos son grandes, en el propio barco pesquero se hace necesario someter a refrigeración tanto el pescado como los productos derivados, introduciéndolos en cajas con hielo triturado o mediante refrigeración mecánica, con el fin de retardar la autólisis y la multiplicación de los microorganismos.

Congelación

El efecto de la congelación en la población bacteriana de los peces es difícil de predecir, debido que hay cierta reducción en los recuentos y los números siguen cayendo durante el almacenamiento en estado de congelación. Las bacterias Gram-negativas son más sensibles a la congelación que las bacterias Gram-positivas, y las esporas bacterianas son altamente resistentes.

Salmonella y otros miembros de la familia Enterobacteriaceae son algunas de las bacterias más sensibles pero, hay grandes variaciones en la respuesta de estos organismos cuando está presente en los peces. Esta variabilidad se debe a la variedad de los diferentes procesos de congelación de alimentos incluso en el caso de los microorganismos sensibles al frío como el *Vibrio parahaemolyticus* puede haber algo de supervivencia después de la congelación.

Desde un punto de vista práctico, las condiciones de congelación y posterior almacenamiento en frío más deseable para la calidad, es decir, congelación rápida y baja temperatura no fluctuante durante el almacenamiento, son más protectoras de las bacterias presentes. La congelación simplemente preserva el estatus bacteriano del producto y es un método eficaz para detener la acción bacteriana. Aunque unos pocos microorganismos se han notificado a ser capaz de crecer a $-7,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, en la práctica no hay actividad bacteriana significativa por debajo de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en pescados y mariscos.

- La salazón y secado

La preservación de los peces y camarones por secado, la salazón o ambos se practica ampliamente en todo el mundo. El efecto principal sobre los microorganismos se debe a la reducción de una a_w aunque el cloruro de sodio en concentraciones más altas en sí puede ser letal para algunas bacterias y levaduras, debido a sus efectos osmóticos. Sin embargo, las bacterias sensibles,

tales como *Salmonella* que contaminan un producto seco pueden persistir en él por algún tiempo.

Sin embargo la desecación no retarda la oxidación de los aceites de pescado y es posible que esta oxidación sea la causa de que este pescado se altere.

Los cambios microbiológicos se producen principalmente durante las primeras etapas de la salazón y secado ($a_w > 0,90$).

- **Ahumado**

Las grandes cantidades de pescado todavía se tratan mediante el proceso de ahumado, en el que la conservación se logra mediante el secado. El ahumado en caliente la temperatura interna normalmente supera los 60°C, mientras que en el ahumado en frío que rara vez supera los 35°C.

- **Conservadores que se incorporan al hielo.**

Los denominados hielos germicidas se preparan añadiendo un conservador químico al agua antes de congelarla. Este tipo de hielos son eutécticos cuando el conservador químico incorporado se distribuye uniformemente en el mismo, cosa que sucede cuando se trata de cloruro de sodio, y no eutécticos cuando la distribución del conservador químico no es uniforme, lo que sucede cuando se trata de benzoato de sodio. Para emplearlo en el pescado, el hielo no eutéctico se tritura uniformemente con el fin que el conservador químico se distribuya uniformemente sobre él.

En la actualidad tanto el gobierno de Canadá como el de los Estados Unidos y los gobiernos de otras naciones, permiten incorporar tetraciclinas al hielo que emplean los pescadores para conservar el pescado en los barcos de pesca de arrastre y durante su transporte, en la proporción de hasta 7 ppm.

El objetivo de aplicar conservadores químicos al pescado, bien directamente o en forma de baños o como hielos germicidas, consiste en destruir o inhibir los microorganismos de la superficie del pescado, en donde al principio más abundan y son más activos.

3.9 FACTORES ASOCIADOS A LA ACTIVIDAD MICROBIANA ⁽⁷⁾

El tipo y velocidad de deterioro microbiano en productos pesqueros se asocia a los siguientes factores:

- **Tipo de organismo:** Pescado, equinodermo, crustáceos, moluscos; bentónico, pelágico; magro, semigraso, graso.
- **Tipo de grado de contaminación bacteriana** en tejido muscular o porción comestible: Atribuible a factores como zona de captura arte y método de pesca.
- **Tipo de manipulación** a bordo de las embarcaciones pesqueras, carga y descarga del producto.
- **Temperatura de conservación:** En hielo, refrigeración, congelación, manejo a temperatura ambiente.
- **Uso de conservadores:** Empleo de agentes químicos o antibióticos en forma de baño o adicionados al hielo.
- **Condiciones fisiológicas del organismo:** Relajado, fatigado, vacuidad o plenitud de su aparato digestivo; parasitosis.

3.10 FACTORES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO MICROBIANO ⁽⁷⁾

- **Tipo de nutrientes:** Las proteínas, péptidos, aminoácidos, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas son contribuyentes de los productos pesqueros, a partir de los cuales los microorganismos pueden desarrollarse.

- **Actividad acuosa (a_w):** La a_w de un alimento se define como la relación entre la presión de vapor del agua del alimento (P) y la del agua pura (P_o) a la misma temperatura. Es una medida indirecta de la cantidad de agua disponible en un alimento para el crecimiento y proliferación de microorganismos o para reacciones químicas $a_w = P_x/P_o$.

Tabla Nº 2. Actividad acuosa (A_w) mínima para el desarrollo de microorganismos.

ACTIVIDAD ACUOSA MÍNIMA PARA EL DESARROLLO DE MICROORGANISMOS	
Microorganismo	A_w mínimo
Bacterias	
Normales	0.91
Halófilas	0.75
<i>Pseudomonas sp.</i>	0.97
<i>Escherichia coli</i>	0.95
<i>Clostridium botulinum</i>	0.95
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
Levaduras	
Normales	0.88
Osmófilas	0.60
Hongos	
Normales	0.80
Xerófilos	0.65

- **Temperatura:** Dependiendo de la temperatura para su desarrollo, los microorganismos se pueden clasificar psicrófilos, mesófilos, termófilos.

Tabla Nº 3. Grupos microbianos e intervalos de temperaturas mínima, óptima y máxima para su desarrollo

Grupos microbianos e intervalos de temperaturas mínima, óptima y máxima para su desarrollo			
Grupo microbiano	Temperaturas (°C)		
	Mínima	Óptima	Máxima
Psicrófilo	-9 a 0	10 a 20	25 a 30
Mesófilo	10 a 25	20 a 40	40 a 45
Termófilo	25 a 45	50 a 60	70 a 80

- **Potencial redox (Eh) o estado de oxidación-reducción** de un medio se mide en milivolts, valores positivos indican condiciones aeróbicas, en tanto que valores negativos se asocian a condiciones anaeróbicas. De acuerdo con el requerimiento de oxígeno, los microorganismos se pueden dividir en: aerobios, microaerófilos, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos.
- **Potencial de iones hidrógeno (pH):** Los microorganismos poseen un pH óptimo de crecimiento en el cual se pueden desarrollar favorablemente.

Tabla Nº 4. Valores óptimos e intervalo de pH para el crecimiento de microorganismos

Valores óptimos e intervalo de pH para el crecimiento de microorganismos.		
Grupo microbiano	pH	
	Óptimo	Intervalo
Bacterias		
<i>Escherichia coli</i>	6.7	4.3-9.5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	4.4-9.0
<i>Pseudomonas vulgaris</i>	6.5	4.4-9.2
<i>P. aeruginosa</i>	6.8	6.6-7.0
Levaduras	5.5	2.5-8.0
Hongos	3.5	2.0-7.0

- **Sustancias inhibidoras** El desarrollo microbiano se puede ver afectado por sustancias inhibidoras presentes en forma natural en alimentos (ajo, acroleína) o adicionadas (ácido benzoico).

3.11 EFECTO DEL EVISCERADO Y DE LA ESPECIE DE PESCADO ⁽²⁴⁾

La cantidad y los tipos de bacterias en los peces se ven afectados por las operaciones de procesamiento primario simples debido que las bacterias se limitan principalmente a la piel, las branquias y el intestino de los peces recién capturados, se podría esperar que la evisceración, decapitación, fileteado y desuello reduciría en gran medida el número de bacterias en el producto final. Sin embargo esto depende si se evita la contaminación cruzada y de la adición de bacterias extrañas desde el medio ambiente. En la práctica, incluso con el uso de agua de proceso tratada con cloro, el procesamiento de la máquina, antisépticos para las manos, cuchillos y otras precauciones, filetes, carnes y otros productos de procesadores de pescado fresco suele realizar recuentos bacterianos de 10^3 - 10^5 por gramo de carne de pescado, aunque de vez en cuando los recuentos inferiores se logran y otras veces se producen recuentos mucho más altos.

El cambio más importante cualitativamente de procesamiento primario es generalmente un aumento en la proporción relativa de las bacterias Gram-positivas y la aparición de bacterias asociadas con los seres humanos incluyendo algunos estafilococos y bacterias entéricas.

- **Efecto del eviscerado**

Es del conocimiento común que tanto la calidad como la duración en almacén, de muchos pescados, disminuyen cuando éstos no son eviscerados. Durante los períodos de alimentación el pez contiene muchas bacterias en su sistema digestivo, produciéndose además poderosas enzimas digestivas. Estas últimas son capaces de causar una autólisis violenta *post mortem*, la cual puede originar

fuerentes olores y sabores, especialmente en el área abdominal, o incluso causar estallido de vientre. Por otra parte, el eviscerado implica exponer al aire el área abdominal y las zonas de corte haciéndolas más susceptibles a la oxidación y decoloración. De esta forma, muchos factores como la edad del pescado, la especie, el contenido de lípidos, el área de pesca y el método, entre otros, deben ser tomados en consideración antes de decidir si el eviscerado resulta o no ventajoso.

- **Efecto de la especie de pescado**
Especies grasas

En la mayoría de los casos los pescados grasos pequeños y medianos, como el arenque, la sardina y la caballa, no son eviscerados inmediatamente después de la captura. La razón se debe, por una parte, al gran número de pequeños peces que son capturados al mismo tiempo y por otra, a los problemas con la decoloración y aceleración de la rancidez.

Sin embargo, pueden aparecer problemas con el pescado no eviscerado durante los períodos de alimentación intensa debido al estallido de vientre. Las reacciones que ocasionan el estallido de vientre son complejas y no totalmente conocidas. Se sabe que durante estos períodos la resistencia del tejido conectivo decrece y que el pH *post mortem* es generalmente más bajo en los pescados mejor alimentados; esto también debilita el tejido conectivo. Además, al parecer el tipo de alimento ingerido puede desempeñar un papel importante en el fenómeno del estallido de vientre.

Especies magras

En la mayor parte de los países del Norte de Europa el eviscerado de las especies magras es obligatorio. Esto se basa en la presunción de que la calidad de esas especies se resiente si no son evisceradas. En el caso del bacalao, se ha demostrado que la omisión del eviscerado causa una considerable pérdida de la

calidad y una reducción de la duración en almacén de cinco a seis días. Tan sólo dos días después de la captura se hacen visibles coloraciones en el área abdominal y el filete crudo adquiere un desagradable olor a coles.

3.12 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VELOCIDAD DEL DETERIORO DEL PESCADO FRESCO ⁽²⁴⁾

La velocidad de deterioro y la duración en almacén del pescado es afectada por muchos parámetros entre ellas las condiciones aeróbicas de almacenamiento, el tamaño: el pescado grande se deteriora más lentamente que el pequeño; propiedades de la piel: la duración en almacén es mayor para el pescado plano que para el cilíndrico y mayor para el pescado magro que para el graso; el tipo de pescado: el pescado óseo permanece comestible mucho más tiempo que el cartilaginoso.

Cuadro N° 4. Factores intrínsecos que afectan la velocidad de deterioro de especies de pescado almacenadas en hielo

Factores que afectan la velocidad de deterioro	Velocidad relativa de deterioro	
	Rápida	Lenta
Tamaño	pescado pequeño	pescado grande
pH <i>post mortem</i>	pH alto	pH bajo
Contenido de grasa	especies grasas	especies magras
Propiedades de la piel	piel delgada	piel gruesa

3.13 MÉTODOS MEJORADOS PARA LA MANIPULACIÓN DEL PESCADO FRESCO ⁽²⁴⁾

- Almacenamiento y transporte de peces vivos

La forma más obvia de evitar el deterioro, y la pérdida de calidad, es manteniendo con vida el pez capturado hasta el momento del consumo. El manejo de peces vivos para el comercio y consumo ha sido practicado con la carpa en China,

probablemente por más de tres mil años. Hoy en día, mantener los peces vivos hasta su consumo es una práctica de manipulación común tanto en países desarrollados como en países en vía de desarrollo y tanto a escala artesanal como industrial.

En el caso de la manipulación de peces vivos, los peces son primeramente acondicionados en un contenedor con agua limpia mientras que los peces dañados, enfermos o muertos son retirados. Los peces son mantenidos en inanición y de ser posible, la temperatura del agua se reduce a fin de disminuir la velocidad metabólica y la actividad del pez. Al disminuir la velocidad metabólica se reduce la contaminación del agua con amoníaco, nitrito y dióxido de carbono, compuestos tóxicos para el pez, que también tienen la habilidad de extraer oxígeno del agua. Estos compuestos tienden a incrementar la tasa de mortalidad. Además, cuanto menos activo se encuentren los peces, a mayor densidad pueden ser empacados dentro del contenedor.

Un gran número de especies de pescado son generalmente mantenidas vivas en recipientes de mantenimiento, jaulas flotantes, pozos y corrales. Las cuencas de mantenimiento, normalmente asociadas con las compañías acuícolas, pueden ser equipadas con control de oxígeno, filtros de agua y control de circulación y temperatura. Sin embargo, métodos más simples también son usados en la práctica. Por ejemplo, en ríos de China se emplean grandes cestas de palma tejida como jaulas flotantes, y en las cuencas de los ríos Amazonas y Paraná en Sur América se emplean sencillos corrales construidos en el remanso de un río o arroyo para mantener grandes peces como el "surubi" (*Platystoma* spp.), el "pacu" (*Colossoma* spp.) y el pirarucu (*Arapaima gigas*).

Los métodos de transporte de peces vivos varían desde sistemas muy sofisticados instalados en camiones en los cuales el agua se mantiene a una temperatura regulada, se filtra, se recicla y se le añade oxígeno, hasta sistemas artesanales muy simples como el transporte de peces en bolsas de plástico con una atmósfera súper saturada de oxígeno. Existen camiones que pueden

transportar hasta 50 toneladas de salmón vivo; sin embargo, existe también la posibilidad de transportar algunos kilogramos de peces vivos en forma relativamente fácil, empleando bolsas plásticas.

Hoy en día un gran número de especies como *ínter alia*, salmón, trucha, carpa, anguila, besugo, lenguado, bagre, *clarias*, tilapia, mejillones, ostras, berberechos, camarón, cangrejo y langosta, son mantenidas vivas y transportadas, muy frecuentemente de un país a otro.

Existen amplias diferencias en el comportamiento y la resistencia de las diferentes especies. Por lo tanto, el método para mantener y transportar peces vivos debe ser confeccionado de acuerdo a cada especie en particular y al tiempo que será necesario mantener el pez fuera de su hábitat natural antes del sacrificio. Por ejemplo, los peces pulmonados (*Protopterus spp*) pueden ser transportados y mantenidos vivo fuera del agua por largos períodos, con solo mantener húmeda su piel.

Algunas especies de peces, evidentemente las especies de agua dulce, son más resistentes que otras a los cambios en la concentración de oxígeno en solución y a la presencia de sustancias tóxicas. Esto probablemente se deba al hecho de que su biología está adaptada a las amplias variaciones anuales en la composición del agua de algunos ríos (ciclos de la materia en suspensión y del oxígeno disuelto). En estos casos, los peces vivos son mantenidos y transportados sólo cambiando el agua de los contenedores regularmente. Este método es ampliamente utilizado en las cuencas de los ríos Amazonas, Paraná y Orinoco en Sur América, en Asia (particularmente en la República Popular de China, en donde se emplean métodos más sofisticados) y en África.

El más reciente desarrollo consiste en mantener y transportar el pez en estado de hibernación. En este método, la temperatura del cuerpo es reducida drásticamente a fin de reducir el metabolismo del pez y eliminar completamente los movimientos del animal. El método reduce enormemente la tasa de

mortalidad e incrementa la densidad de empaque, pero debe mantenerse un cuidadoso control de la temperatura a fin de mantener la temperatura de hibernación. Existe una temperatura de hibernación apropiada para cada especie. A pesar de que el método se emplea actualmente, por ejemplo para transportar camarones "kuruma" vivos y langostas en aserrín húmedo pre-enfriado, debe ser considerada como una técnica experimental para la mayoría de las especies.

A pesar de que cada día cobra más importancia el mantener y transportar los peces vivos, esto no constituye una solución viable para la mayoría de las capturas mundiales de pescado a granel.

- **Enfriamiento del pescado con hielo**

Evidencias históricas demuestran que en la China milenaria se utilizaba hielo natural para preservar pescado, hace más de tres mil años atrás. Los antiguos romanos también empleaban hielo natural mezclado con algas marinas para mantener el pescado fresco. Sin embargo, fue el desarrollo de la refrigeración mecánica lo que hizo posible la utilización del hielo en la preservación del pescado.

En los países desarrollados, particularmente Estados Unidos de América y algunos países de Europa, la tradición de enfriar el pescado con hielo data desde hace más de cien años. Por lo tanto, las ventajas prácticas de la utilización del hielo en la manipulación del pescado fresco están plenamente comprobadas. Sin embargo, vale la pena que las nuevas generaciones de tecnólogos pesqueros e interesados en la materia las revisen, prestando atención a los principales puntos de esta técnica.

El hielo es utilizado en la preservación del pescado por una u otra de las siguientes razones:

- **Reducción de la temperatura.** Mediante la reducción de la temperatura en alrededor de 0°C, el crecimiento de microorganismos del deterioro y de patógenos es reducido, abreviándose de esta forma la velocidad de deterioro y reduciendo o eliminando algunos riesgos de seguridad.

La reducción de la temperatura también disminuye la velocidad de las reacciones enzimáticas, particularmente las relacionadas a los primeros cambios *post mortem*, extendiendo el período de *rigor mortis*, si dicha reducción se aplica en forma apropiada.

La reducción de la temperatura del pescado es sin duda el más importante efecto de la utilización del hielo. Por lo tanto, cuanto más rápido se enfríe el pescado con hielo, tanto mejor. A pesar de que se han reportado reacciones de "choque" por el frío en algunas especies tropicales colocadas en hielo, ocasionando una disminución en el rendimiento de los filetes (Curran *et al.*, 1986), la ventaja del enfriado rápido generalmente sobrepasa otras consideraciones. El desarrollo de métodos *ad hoc* para para la manipulación del pescado no está por supuesto excluido en el caso de especies que puedan presentar un comportamiento de "choque" por el frío.

- **El hielo derretido mantiene la humedad del pescado.** Esta acción previene principalmente la deshidratación superficial y reduce la pérdida de peso. El agua del hielo derretido también incrementa la transmisión de calor entre las superficies del pescado y del hielo (el agua es mejor conductor del calor que el aire): en la práctica la velocidad más rápida de enfriamiento se obtiene en una suspensión de agua y hielo (por ejemplo sistemas de agua de mar enfriada).

Si por alguna razón no se utiliza hielo inmediatamente después de capturado el pez, vale la pena mantener húmedo el pescado. El enfriamiento por evaporación generalmente reduce la temperatura.

3.14 MANIPULACION DEL PESCADO FRESCO EN LAS PESQUERÍAS ARTESANALES ⁽²⁴⁾

Las pesquerías artesanales existen tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo y es difícil encontrar un denominador común; sin embargo, desde el punto de vista de la manipulación del pescado, las embarcaciones artesanales manejan cantidades relativamente pequeñas de pescado (en comparación con las embarcaciones industriales) y las jornadas de pesca son generalmente cortas (usualmente menos de un día y frecuentemente solo unas horas).

Aunque muy generalmente las pesquerías artesanales son consideradas una práctica poco sofisticada, un examen cuidadoso revela que en muchos casos están atravesando por un proceso de cambio. Existen muchas razones para este proceso, pero generalmente las principales fuerzas impulsoras son: la urbanización, las exportaciones de pescado y la competencia con la flota industrial.

Con la urbanización y la demanda, por productos seguros y de mejor calidad (como resultado de las exportaciones y la competencia con la pesca industrial), las condiciones cambiaron drásticamente. Las grandes ciudades también incrementaron su demanda por suministro de pescado, y así los intermediarios y los procesadores pesqueros debieron ir a lugares distantes de desembarco por pescado. La cantidad de pescado manipulado aumentó, las jornadas de pesca duraban más tiempo y los artes de pesca pasivos, como la red de enmalle, eran colocados para pescar por períodos de tiempo más prolongados. Una cadena de intermediarios, y/o mercados oficiales de pescado, reemplazó al comprador directo en la playa y como un resultado del crecimiento de la industria procesadora de pescado, en algunos lugares también incrementó el esfuerzo de pesca; con el consecuente aumento en el número de barcos pesqueros y el incremento en la eficiencia de los artes de pesca.

De una forma o de otra, cada una de las nuevas circunstancias añadía horas al tiempo que transcurría entre la captura del pescado y su consumo o procesamiento (por ejemplo, congelación). Este incremento en la exposición del pescado sin hielo a la temperatura ambiente (o a la temperatura del agua, en el caso del pescado muerto en las redes de enmalle), aunque breve (como unas 6-12 horas adicionales), cambió dramáticamente la situación relacionada con el deterioro del pescado y la seguridad.

En esta nueva situación, el pescado permanecía a temperatura ambiente por unas 13-19 horas o más, podía estar deteriorado, presentar calidad terminal, o representar un peligro para la salud pública. Además de los aspectos relativos a la seguridad y la calidad, las pérdidas *post* cosecha, inexistentes al nivel de subsistencia y muy bajas en el ámbito de las villas, adquieren gran importancia. Por ejemplo, se estima que las pérdidas *post* cosecha de percha del Nilo capturada artesanalmente en Uganda ascienden al 25 - 30 por ciento de la captura total.

Lo que impulsaron a los servicios de extensión en los países en desarrollo y la asistencia técnica internacional a enfocar el problema, introduciendo mejores métodos en la manipulación del pescado a escala artesanal. La solución técnica básica radica en la utilización de hielo, métodos de manipulación de pescado adecuados y contenedores aislados; esta es la propuesta utilizada por la mayor parte de la flota artesanal en los países en desarrollo.

3.15 DATOS HISTÓRICOS SOBRE LA PESCA ARTESANAL. ⁽¹²⁾

En El Salvador la pesca artesanal es una actividad de subsistencia que se realiza desde tiempos precolombinos; sin embargo como actividad económica se inicia desde el siglo pasado. La pesca artesanal genera el 98.6% de total de empleos del sector pesquero nacional, en la fase de captura.

Con los productos pesqueros del sector artesanal, se contribuye a la dieta alimenticia de la población salvadoreña siendo así el 89% de la población que consume productos pesqueros debido que contienen carbohidratos, agua, fosforo, vitaminas, minerales, lípidos entre otros, todo ello son indispensables para el desarrollo y crecimiento del ser humano, por tal razón requiere de entidades que realicen una vigilancia alimentaria.

Desde el 5 de octubre de 1955, fecha en que se decretó la ley de caza y pesca marítima, hasta diciembre de 1979, la administración y supervisión de la actividad pesquera estuvo repartida en diferentes instituciones; la administración y fiscalización por el ministerio de economía, la investigación extensión y capacitación de pescados artesanales marítimos y continentales por el Ministerio de Agricultura y Ganadería.

En Enero de 1980 se creó la Dirección General de Recursos Pesqueros con el objeto de investigar, experimentar, administrar, fomentar y desarrollar los recursos pesqueros con el propósito de aumentar la producción, comercialización y distribución, para contribuir el déficit de proteína animal de la población de bajos ingresos, así como incrementar el Producto Territorial Bruto con el fin de participar en forma significativa al proceso de desarrollo socio-económico del país.

En diciembre de 1981, al reestructurarse el Ministerio de Agricultura y Ganadería, las atribuciones y responsabilidades de la Dirección General de Recursos Pesqueros, fueron repartidas así: La parte normativa de la investigación quedo bajo la responsabilidad del Instituto Salvadoreño de Investigación Agraria y Pesquera (ISIAP), y el Instituto Salvadoreño de Capacitación y Transferencia Tecnológica (ISCATT); la parte operativa de toda la actividad pesquera quedó a cargo de cuatro gerencias ejecutivas regionales.

Esta reestructuración influyó en la calidad y cantidad de los servicios prestados a los usuarios, pues el hecho de que sus institutos fueron normativos y las regiones operativas permitieron que se produjera descoordinación en el desarrollo de las actividades, reduciendo significativamente los servicios prestados, sin embargo; si las reformas de las instituciones referidas hubieran dispuesto del tiempo necesario para consolidar una organización funcional, probablemente el enlace en cuanto a la eficiencia hubiese tenido mayor impacto en el sector.

En agosto de 1982, nuevamente se reestructuró el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), esta nueva organización entró en vigencia a partir del mes de Enero de 1983, creándose en Centro Nacional de Desarrollo Pesquero (CENDEPESCA), cuyo objetivo general es de garantizar y asegurar el uso racional, eficiente y duraderos de los recursos pesqueros, contribuyendo a superar la situación socio-económica de la población dedicada a esta actividad.

Esto ha sido el resultado de la creación de leyes e instituciones cuyos propósitos se han enfocado a la atención generalizada del subsector en todos sus componentes, pudiéndose mencionar que la labor pesquera se ha ejecutado en tres fases: Extracción, procesamiento y comercialización, realizándose a tres niveles; pesca industrial o tecnificada, llevada a cabo por compañías privadas, la pesca artesanal o de pequeña escala que se realiza por uno o más pescadores, los cuales tradicionalmente han usado métodos rudimentarios para las labores de extracción y la acuicultura se refiere al cultivo de organismos bio-acuáticos en reservorios naturales.

Actualmente el Codex Alimentarius en conjunto con la FAO y la OMS establece un Código de Prácticas de Calidad de Pescado y Productos Pesqueros con el objetivo de proteger la salud de los consumidores y asegurar prácticas equitativas en el comercio de alimentos el cual está dirigido a todos aquéllos que se ocupan de la manipulación, la producción, el almacenamiento, la distribución, la exportación, la importación y la venta de pescado y productos pesqueros.

Para el desarrollo económico y social de las masas de pescadores artesanales del Muelle del Puerto de la Libertad se fundó una cooperativa llamada Asociación Cooperativa de Pescadores Artesanales (ACOPELI R. L.) el cual se encarga de las funciones administrativas y la administración de las operaciones productivas, contables, financieras y de comercialización.

3.16 COMPORTAMIENTO DE LA PESCA ARTESANAL. ⁽³⁰⁾

La pesca artesanal se efectuará tanto en aguas marítimas, que incluye los estéreos, bahías y las desembocaduras de los ríos, así como en aguas continentales, lagos, lagunas y reservorios de agua. Se caracteriza porque las operaciones pequeñas presentan materiales de cayuco, lanchas de madera o de fibra de vidrio con remos, velas y motores fuera de la borda, para la captura han utilizado diferentes instrumentos entre ellos: Anzuelos, redes agalladeras, redes de enmalle, atarrallas y trasmayos.

En los años comprendidos entre 1998-2003, la participación de la producción pesquera artesanal significó el 49.5% en la producción total del subsector, con una producción promedio de 4413.5 toneladas métricas, lo que generó un valor económico medio de \$5922.10.

Es de hacer notar la importancia del subsector pesquero está determinado no sólo por su incidencia en el orden propiamente económico, sino también, por las repercusiones que posee dentro de la población al significar una fuente principal de alimento, pues proporciona sustancias nutritivas que en combinación con otros alimentos tiende a cubrir los requerimientos de nutrientes esenciales, para la dieta alimenticia nacional.

Para el año 2006, las capturas de peces, crustáceos y moluscos realizadas por pescadores artesanales marinos, asociados e independientes, fueron del orden de 12,683,557 kilogramos, de los cuales corresponden 6,281,337 kilogramos a

otros peces de menor valor comercial, cantidad que representa el 49.52% de los desembarques de la pesca artesanal; 1,590,445 kilogramos de pargo con 12.54%; 1,364,160 kilogramos de corvina con 10.76%; 1,015,775 kilogramos de bagre con 8.01%; 775,469 kilogramos de otros crustáceos con 6.11%; 768,158 kilogramos de tiburón con 6.06%; 560,824 kilogramos de macarela con 4.42%; 246,904 kilogramos de camarón con 1.95%; y 80,485 kilogramos de moluscos con 0.63%. Comparando las cifras anteriores con las de 2005, se observa incremento en los desembarques de 125.91% para corvina; 56.94% para macarela; 53.69% para pargo; 48.58% para otros peces; 31.76% para moluscos y 9.16% para bagre; no así las otras especies que presentan decremento de 74.88% para crustáceos; 43.02% para camarón y 32.24% para tiburón.

3.17 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS ⁽²⁷⁾

Definición

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001), las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como *«El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (p. ej., bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas»*.

Factores de riesgo

Son los factores que contribuyen a los riesgos que surgen del consumo de alimentos y se relacionan con los tipos de poblaciones y estilos de vida de los consumidores. En países como El Salvador esto ha cambiado durante las últimas dos décadas en razón de conflictos de índole económica, social o política que trajeron como consecuencia un deterioro de los recursos naturales creando un medio de baja calidad con repercusiones sobre la disponibilidad de una buena producción alimentaria. Esto, a su vez, incrementó el éxodo de la población de

las zonas rurales a las áreas urbanas originando una proliferación de asentamientos humanos de tipo marginal y desprovisto de las condiciones elementales para una buena calidad de vida. En estas condiciones, la población debió buscar fuentes de trabajo y de aprovisionamiento de alimentos de acuerdo a esa situación, factor que contribuyó a la proliferación de vendedores de alimentos en la vía pública para satisfacer las necesidades alimentarias de una gran masa de población. A su vez, estos alimentos de tipo popular representan un riesgo para la propagación de enfermedades, especialmente de aquellas de origen microbiológico y principalmente en la zona urbana, ya que la mayor parte de los proveedores no cumplen con los requisitos mínimos de higiene y calidad. La idiosincracia y costumbres higiénicas de la población influyen en la ocurrencia de una serie de enfermedades que no están limitadas a un solo grupo social. Tanto en las zonas rurales como urbanas, el punto de partida en la preparación de los alimentos y bebidas, en particular de aquellos de consumo popular, es la calidad del agua utilizada (por ejemplo, para lavado de hortalizas, refrescos, encurtidos). En las áreas urbanas las viviendas cuentan con servicio de agua potable que distribuye la red de acueductos y alcantarillado pero en muchas ocasiones las aguas negras y servidas presentan filtraciones debido a un mal mantenimiento del sistema o a que las tuberías son insuficientes para la cantidad de agua que circula por las mismas. De esta forma se contaminan abastecimientos, fuentes naturales, tanques de captación y el sistema de distribución de agua en general, llegando a los hogares sin que la cloración tenga efecto.

3.18 LA INGESTA DE ALIMENTOS Y SU RELACIÓN CON CIERTAS ENFERMEDADES ALIMENTARIAS EN EL SALVADOR.

En El Salvador no existe un diagnóstico real sobre el agente etiológico productor de las enfermedades gastrointestinales como las diarreas que, en grado importante, pueden ser provocadas por el consumo de alimentos contaminados.

El perfil general de la situación de salud en el país indica la presencia de enfermedades transmisibles endémicas con brotes epidémicos de periodicidad variable dando como resultado un incremento de los indicadores de enfermedades crónicas no transmisibles. La mayor cantidad de casos se evidencian en San Salvador 79,436, La Libertad 25,844 y Santa Ana 13,679 casos.

La prevalencia de 16,135 casos por cada 100,000 habitantes de las diarreas se focaliza en menores de un año de edad, mientras que una prevalencia de 2,238 casos por cada 100,000 habitantes se focaliza en personas de 20 a 59 años de edad; según tasas de Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) por grupo de edad hasta semana 23/2015. (Ver anexo N°16)

La población joven es la más expuesta a este problema, probablemente porque en esas edades las prácticas higiénicas pueden ser menos estrictas, incluso en la selección de los alimentos a consumir. Comparando casos acumulados de enfermedad diarreica aguda a la semana 22 del año 2015 (181,935 casos) con el mismo período del año 2014 (147,280 casos), se evidencia un incremento del 24% (34, 655 casos).

En el año 2001 se registró una intoxicación paralítica por mariscos, en el cual se registraron 41 casos sin ninguna defunción y no se informó ningún caso en los años siguientes. (Ver anexo N° 16)

3.19 MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINACION EN PESCADO FRESCO

- ***Escherichia coli*** ^{(38), (13)}

E. coli se distribuye ampliamente en el intestino de los seres humanos y animales de sangre caliente y es el anaerobio facultativo predominante en el intestino y es parte de la flora intestinal del ser humano.

Varias epidemias infantiles en la década de los años 1940 implicaron a *E. coli* en la enfermedad diarreica de los niños. Los serotipos de *E. coli* a los cuales se le ha relacionado con enfermedades diarreicas con el hombre o con brotes de intoxicaciones alimentarias han sido denominados *E. coli* enteropatógeno (EEC). En el hombre, los síndromes como consecuencia de la ingestión de EEC se han dividido en dos grupos principales.

El primer grupo está integrado por cepas que elaboran una enterotoxina y que produce una enfermedad parecida al cólera o enfermedad enterotoxigénica en las personas. Estas cepas enterotoxigénicas suelen producir dos enterotoxinas, una toxina termoestable (ST) y la otra termolábil (LT), creyéndose que son las causantes de las enfermedades diarreicas de los niños y de la diarrea del viajero. Para que se desencadenen las enfermedades enterotoxigénicas, se precisa la ingestión de serotipos de EEC capaces de elaborar las enterotoxinas, seguida de la colonización de los microorganismos en el tramo superior del intestino delgado y de la producción de enterotoxinas.

El otro gran grupo está integrado por cepas invasoras que elaboran una citotoxina y originan una enfermedad invasora, colitis, o un síndrome desenteriforme. Estos serotipos no elaboran enterotoxina, se multiplican en el colon, e invaden o penetran en las células epiteliales de su mucosa, produciendo signos y síntomas.

Para que se presenten tanto la enfermedad enterotoxigénica como la enfermedad invasora, se necesita una elevada dosis de EEC. Por consiguiente, para que tenga lugar una abundante multiplicación, los alimentos deben estar contaminados masivamente o deben estar incorrectamente conservados o refrigerados. Este microorganismo es relativamente termosensible y puede ser destruido con facilidad a temperaturas de pasteurización y también mediante la apropiada cocción de los alimentos.

Morfología Microscópica. ⁽³⁾

E. coli es un microorganismo gramnegativo, anaerobio facultativo en forma de baston, no móviles, no esporulante. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C con un intervalo de crecimiento de 10°C - 40°C. Su pH óptimo de crecimiento es de 7.0 – 7.5; fermenta la lactosa, presenta oxidasa negativa, catalasa positiva. Su valor D a 60 ° C es de 0,1 min. Actividad de agua (a_w) 0,95. Presenta prueba de indol positivo, citrato negativo, producción de gas, rojo de metilo positivo.



Figura N°3. Morfología microscópica de *Escherichia coli*.

Morfología macroscópica ⁽²⁵⁾

La *E. coli* forma colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados. En agar MacConkey las colonias fermentadoras de la lactosa son rojas debido a la conversión ácida del indicador, rojo neutro. En agar EMB (agar eosina-azul de metileno) se produce un brillo metálico verdoso por parte de los fermentadores de la lactosa fuertes, en condiciones en las que la producción de ácido es suficiente como para hacer descender el pH a 4.5 o menos. En agar XLD (agar xilosa-lisina-desoxicolato) muestra un viraje del medio al amarillo por las colonias productoras de ácido de *E. coli*.

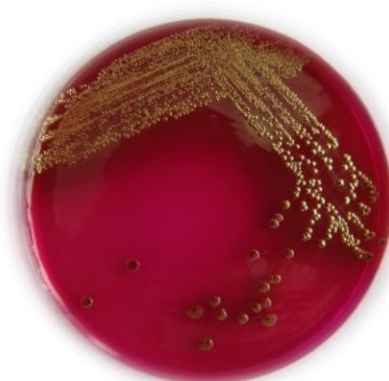


Figura N° 4. Morfología macroscópica de *Escherichia coli* en agar EMB

Enfermedades transmitidas

Enfermedades transmitidas por los alimentos que resulta del consumo de alimentos contaminados con las cepas patógenas de *E. coli* puede adoptar diversas formas. Las formas enteropatógenas de la enfermedad generalmente toman 5-48 h para desarrollar después del consumo de alimentos. La aparición de la enfermedad es una función de la cepa, así como los números de *E. coli* consumido por la víctima. En general, los síntomas incluyen dolor abdominal severo.

Cuando la enfermedad implica las formas enteropatógenas y hemorrágicas de *E. coli*, los síntomas son mucho más grave y el resultado mucho más grave. Los síntomas generalmente comienzan aproximadamente 10-24 h después del consumo del alimento contaminado. El dolor generalmente se acompaña de diarrea y la diarrea puede ser sanguinolenta. Otros síntomas incluyen náuseas, vómitos, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza y dolor muscular. Como la forma hemorrágica de la enfermedad progresa, puede pasar sangre en la orina. Esta etapa de la enfermedad se denomina síndrome hemolítico urémico e implica anemia hemolítica, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda. Para evitar que la etapa de la colitis avanzar en el síndrome hemolítico urémico, los pacientes a veces se infunden con agentes terapéuticos

para inactivar la citotoxina. Los pacientes que llegan a la etapa de síndrome urémico hemolítico pueden sufrir daños permanentes o no pueden sobrevivir.

3.20 MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN PESCADO FRESCO

- *Salmonella spp.* ^{(15), (38)}

Salmonella corresponde a enterobacterias móviles con flagelación peritrica. Las especies y cepas de *salmonella* se diferencian por su termorresistencia y por la influencia que los factores ambientales ejercen en el crecimiento. Los tratamientos térmicos que se aconsejan para destruir salmonellas en los alimentos perecederos es calentar los alimentos a una temperatura de 66°C.

Morfología microscópica ⁽³⁸⁾

El género *Salmonella*, dentro de la familia Enterobacteriaceae, se compone de anaerobios facultativos, oxidasa negativa, bacteria catalasa-positiva en forma de bastoncillo Gram-negativa; las barras son típicamente 0,7-1,5 × 2-5 m de tamaño, aunque se pueden formar filamentos largos. La mayoría de las cepas son glucosas móviles y fermento con la producción de ácido y gas. Otras pruebas bioquímicas, emplean comúnmente para distinguir *Salmonella* de otros géneros dentro de la familia, temperatura óptima es de 37°C, el pH óptimo para el crecimiento de *Salmonella* se encuentra dentro del rango de 6.5 a 7.5. Las cepas crecen a valores de pH de hasta 9,5 y hacia abajo a 4,05, multiplicándose por lo tanto en alimentos de baja acidez; su actividad del agua (a_w) mínima de crecimiento varia para cada alimento aunque es aproximadamente 0.93 -0.95



Figura N° 5. Morfología microscópica de *Salmonella* spp

Morfología macroscópica ⁽²⁵⁾

En agar Rambach detecta capacidad de especies de *Salmonella* para metabolizar el propilenglicol. Las colonias son de color rojo brillante. En medio semisólido modificado Rapaport-Vassiliadis (MSRV) se presentan colonias con un halo de crecimiento que se disemina a partir del punto original de inoculación. En agar XLD colonias no fermentadoras de la lactosa (no hay viraje ácido del medio), la *Salmonella* presentan color negro lo que indica la producción de H₂S. En agar sangre presentan colonias de color gris apagado, algo húmedas.

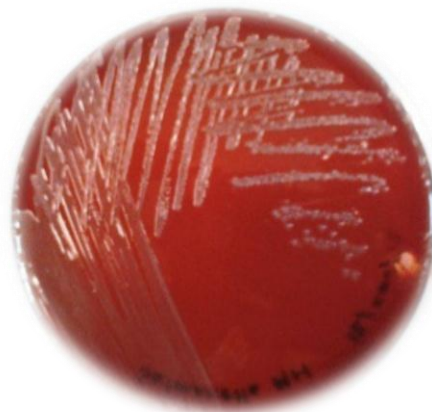


Figura N° 6. Morfología macroscópica de *Salmonella* spp en agar sangre

Enfermedades transmitidas ⁽²¹⁾

La Salmonella origina efectos patógenos al hombre el cual dependiendo de la especie responsable se originan cuadros clínicos como:

- Infecciones con carácter entérico, tipo fiebres tifoideas o paratifoideas que pueden originar en casos más graves septicemias y localización en viseras.
- Infecciones gastrointestinales, tipo de gastritis o enterocolitis.

Con respecto a las infecciones tipo fiebres tifoideas y paratifoideas, se sabe que el agente etiológico es *S. typhi* (fiebre tifoidea) y *S. paratyphi* A, B o C (fiebre paratifoideas).

Las fiebres tifoideas son transmitidas al hombre vía oral (alimentos crudos, mal conservados o que llevan mucho tiempo preparados). Esta llega al estómago, resiste la acidez gástrica y pasa al intestino delgado, concretamente al ileon y penetra por endocitosis destruyendo parte de las células de la mucosa intestinal; una vez dentro, las salmonellas son fagocitadas por macrófagos, que las transportan por diferentes vías hasta originar una primera bacteremia. Todo eso sucederá en el periodo de incubación, que comprende de 8 a 15 días. A partir de aquí hay un comienzo brusco de los signos y síntomas de la enfermedad. Las Salmonellas en la sangre son de nuevo captadas por nuevas células mononucleares y de aquí pasan bazo, hígado y médula ósea, produciendo la multiplicación de nuevas salmonellas, volviendo de nuevo a intestino donde se generan placas ulceradas en algunos casos con necrosis (placas de Peyer) en casos más graves origina perforación y hemorragias.

Las fiebres paratifoideas son una enfermedad mucho más leve con un periodo de incubación de entre 7 y 10 días, donde no existe bacteremia, aunque el estado febril (38 - 40 °C) puede durar varias semanas. No hay perforación intestinal ni hemorragias ni invasión de salmonella a otros órganos, aunque son característicos dolores de cabeza, fiebres altas, anorexia, abstinencia, entre otros.

Infecciones gastrointestinales y enterocolitis. El agente etiológico corresponde a *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* y otras especies. Estas infecciones con un periodo de incubación de entre 12 y 36 horas, se produce generalmente por consumir alimentos contaminados, necesitando para ello una concentración de salmonellas de 10^6 a 10^9 UFC por mililitro. En general los mismo alimentos ejercen un efecto protector sobre las bacterias, ya que cuando llegan al estómago les permite pasar con cierta facilidad al intestino delgado colonizando fundamentalmente las zonas del ileon y el ciego; en estas colonizaciones penetran por fagocitosis al epitelio donde se multiplican originando una inflamación que genera perdida de electrolitos y agua dando lugar a cuadros diarreicos con dolor abdominal, fiebres más o menos altas, nauseas, vómitos, etc.

- *Vibrio cholerae* ⁽⁴⁾

Los Vibriones se encuentran entre las bacterias más comunes en aguas poco profundas en todo el mundo. Son bacilos aerobios curvos, dotados de motilidad, poseen un flagelo polar. El serogrupo O1 del *V. cholerae* y los vibriones relacionados causan el cólera en humanos.

Por lo regular, el *V. cholerae* fermenta la sacarosa y la manosa pero no la arabinosa. Una prueba oxidasa positiva es una etapa clave en la identificación preliminar del *V. cholerae* y otros vibriones. Las especies de *Vibrio* son susceptibles al compuesto O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropil-pteridina), que las diferencia de las aeromonas resistentes a esta sustancia. La mayor parte de *Vibrio* son halotolerantes, y con frecuencia el NaCl estimula su crecimiento. Algunos vibriones son halofílicos y requieren del NaCl para crecer.

Morfología microscópica ⁽⁴⁾

El *V. cholerae* es un bacilo curvo en forma de coma, de 2-4 μm de longitud. Presenta motilidad activa por medio de un flagelo polar. En cultivo prolongado,

los vibriones pueden convertirse en bacilos rectos parecidos a bacterias entéricas gramnegativas.

El *V. cholerae* posee lipopolisacáridos O que le confieren especificidad serológica. Existen al menos 139 grupos de antígenos O. Las cepas del *V. cholerae* de los grupos O1 y O139 causan el cólera típico; en ocasiones, el *V. cholerae* que no es O1 ni O139, causan enfermedad similar al cólera.

El antígeno al serogrupo O1 del *V. cholerae* posee determinantes que permiten una tipificación adicional, los principales serotipos son Ogawa e Inaba. Se han definido dos biotipos del *V. cholerae* epidémico: el clásico y El Tor. El Tor produce una hemolisina, es positivo en la prueba de Voges-Proskauer y resistente a la polimixina B.

El *V. cholerae* O139 es muy similar al *V. cholerae* O1-biotipo El Tor. El *V. cholerae* O1 no elabora cápsula alguna.

El *V. cholerae* y los vibriones relacionados producen una enterotoxina termolábil con peso molecular de casi 84000 que consta de subunidades A y B. La activación de la subunidad A₁ incrementa la concentración de cAMP intracelular y produce hipersecreción prolongada de agua y electrolitos. Hay un incremento de la secreción de cloro dependiente de sodio, y se inhibe la absorción del sodio y del cloro. Aparece diarrea, hasta 20 a 30 L/d, con deshidratación resultante, choque, acidosis y muerte.



Figura N° 7. Morfología microscópica de *Vibrio cholerae*

Morfología macroscópica ⁽⁴⁾

El *V. cholerae* produce colonias convexas lisas, redondas, opacas y granulares con luz transmitida. El *V. cholerae* y la mayor parte de otros vibriones crecen bien a 37°C sobre muchos medios, incluso medios definidos que contienen sales minerales y asparagina como fuentes de carbono y nitrógeno. Crece bien sobre agar tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS), sobre el cual produce colonias de color amarillo. Los vibriones son oxidasa positivos, lo cual los diferencia de bacterias entéricas gramnegativas crecidas sobre agar sangre. Típicamente, los vibriones crecen a pH muy alto (8.5 a 9.5) y los ácidos los destruyen con rapidez; por tanto, los cultivos que contienen carbohidratos fermentables se hacen estériles muy pronto.

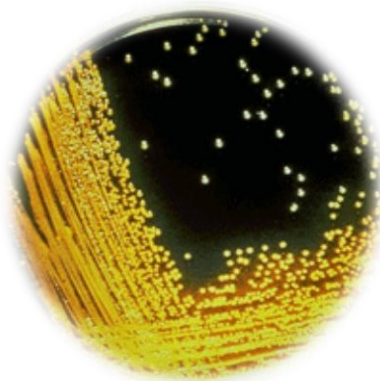


Figura N° 8. Morfología macroscópica de *Vibrio cholerae* en agar TCBS

Enfermedades transmitidas ^{(4), (40)}

En condiciones naturales, el *V. cholerae* solo es patógeno para humanos. Una persona debe ingerir 10^8 a 10^{10} microorganismos para infectarse y desarrollar la enfermedad. El cólera no es una infección invasora. Los microorganismos no alcanzan el torrente sanguíneo, sino que permanecen en el intestino. Los microorganismos del *V. cholerae* virulentos se unen a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales. Allí se multiplican y liberan toxinas coléricas. La enfermedad se propaga por contacto de una persona a otra e

implica a las personas con enfermedad leve o inicial y por agua, alimentos y moscas. El estado de portador pocas veces excede 3 a 4 semanas, y los verdaderos portadores crónicos son raros. Los vibriones sobreviven en el agua unas tres semanas.

Después de un periodo de incubación de 1 a 4 días se inician de manera súbita náuseas, vómito y diarrea profusa con cólicos abdominales. Las evacuaciones parecidas a “agua de arroz”, contienen moco, células epiteliales y un gran número de vibriones. Hay pérdida rápida de líquidos y electrolitos que conduce a deshidratación profunda, colapso circulatorio y anuria. Sin tratamiento, la tasa de mortalidad es de 25 a 50%. El biotipo El Tor tiende a causar enfermedad más leve que el biotipo típico.

- *Staphylococcus aureus*⁽⁴⁾

Los estafilococos son células esféricas grampositivas, habitualmente dispuestas en racimos de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. El género *Staphylococcus* contiene al menos 30 especies. Las 3 de importancia clínica son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*. El *Staphylococcus aureus* es coagulasa-positivo lo que lo diferencia de las otras especies.

El *S. aureus* es un patógeno importante para humanos, casi toda persona presenta algún tipo de infección por *S. aureus* durante su vida, que varía en gravedad desde intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas menores hasta infecciones graves potencialmente mortales.

Los estafilococos producen catalasa, que los diferencia de los estreptococos. Fermentan lentamente muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas, la actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra. Los estafilococos

patógenos producen muchas sustancias extracelulares. Los estafilococos son relativamente resistentes a la desecación al calor (resisten 50°C durante 30 minutos) y al cloruro de sodio al 9%, pero se inhiben con facilidad mediante ciertas sustancias químicas, por ejemplo, hexaclorofeno a 3%. Los estafilococos muestran susceptibilidad variable a muchos antimicrobianos.

Morfología microscópica ⁽⁴⁾

Los estafilococos son células esféricas de casi 1 µm de diámetro dispuestas en grupos irregulares. En líquidos de cultivo también se observan cocos únicos en parejas, tétradas y cadenas. Los cocos jóvenes son fuertemente grampositivos, después de envejecer muchas células se hacen gramnegativas. Los estafilococos están desprovistos de motilidad y no forman esporas. Bajo la influencia de fármacos como la penicilina, los estafilococos sufren lisis.

En la estructura de la pared celular, los estafilococos contienen polisacáridos y proteínas antigénicas y también otras sustancias importantes. El peptidoglucano (un polímero polisacárido formado por la unión de subunidades) suministra el exoesqueleto rígido de la pared celular. La exposición a un ácido fuerte o a lisozima destruye a los peptidoglucanos. El peptidoglucano es importante en la patogenia de la infección: induce la producción de interleucina-1 (pirógeno endógeno) y de anticuerpos opsonicos en los monocitos; y pueden atraer químicamente a los leucocitos polimord nucleares, posee actividad parecida a endotoxina, genera un fenómeno de Shwartzman localizado y activa al complemento.

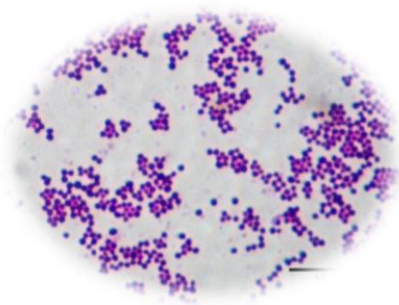


Figura N° 9. Morfología microscópica de *Staphylococcus aureus*

Morfología macroscópica

Los estafilococos crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aerobias o microaerofilicas. Crecen con mayor rapidez a 37°C, pero el pigmento se forma mejor a temperatura ambiente (20 a 25°C). Sobre medios solidos las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes. El *S. aureus* habitualmente forma colonias de color gris o amarillo dorado intenso. El *S. aureus* y en ocasiones, otras especies pueden producir hemolisis de grado variable.

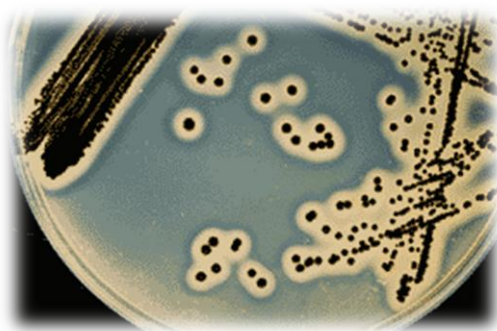


Figura N°10: Morfología macroscópica de *Staphylococcus aureus* en agar baird parker

Enfermedades transmitidas

Los estafilococos pueden producir enfermedad por su capacidad para multiplicarse y propagarse de modo extenso en los tejidos y mediante la producción de muchas sustancias extracelulares. En un extremo de la diversidad de la enfermedad se encuentra en la intoxicación alimentaria por estafilococo, atribuible únicamente a la ingestión de enterotoxinas preformadas; en el otro extremo están la bacteriemia estafilocócica y los abscesos diseminados en todos los órganos.

De 40 a 50% de los humanos albergan *S. aureus* en la nariz, los estafilococos también se encuentran regularmente en las vestimentas y la ropa de cama y en

otros fómites en el entorno humano. El *S. aureus* patógeno invasor produce coagulasa y muestra tendencia a generar un pigmento amarillo y a causar hemólisis.

El prototipo de una lesión estafilocócica es el forúnculo y otros abscesos localizados. Los grupos de *S. aureus* establecidos en un folículo piloso conducen a necrosis tisular (factor dermonecrosante). Los estafilococos también causan enfermedad por las toxinas que elaboran, sin infección invasora aparente. La exfoliación bullosa, el síndrome de la piel escaldada, se atribuye a la producción de toxina exfoliativa. El síndrome de choque tóxico se vincula con la toxina-1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1).

El envenamiento alimentario causado por enterotoxina estafilocócica se caracteriza por un breve periodo de incubación (1 a 8 horas); náuseas severas, vómito y diarrea; y convalecencia rápida. No hay fiebre. El síndrome de choque tóxico se manifiesta por inicio brusco de fiebre alta, vómito, diarrea, mialgia, erupción escarlatiniforme e hipotensión con insuficiencia cardiaca y renal en los casos más graves. Con frecuencia se presenta en los primeros cinco días de la menstruación en mujeres jóvenes que usan tampón, pero también en niños o en varones con infección estafilocócica en las heridas. El *S. aureus* vinculado con el síndrome de choque tóxico se puede encontrar en la vagina, tampones, heridas, en otras infecciones localizadas o en la garganta, pero casi nunca en el torrente sanguíneo.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO.

4.1 TIPO DE ESTUDIO.

- Estudio de Campo

Se recolectaron muestras de pescado crudo comercializado en el Muelle del Puerto de la Libertad y se verifico mediante una guía de observación las diferentes especies comercializadas y por medio de una guía de inspección las condiciones sanitarias y de almacenamiento del pescado en los establecimientos de ventas fijas como en el barco de pesca artesanal.

- Estudio Transversal

La investigación se realizó en un tiempo determinado de Julio-Agosto 2015 para analizar los resultados del problema en estudio.

- Estudio Experimental

Se evaluaron parámetros microbiológicos según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 de ausencia/presencia de *Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae* y cuantificación de *Staphylococcus aureus*, *Coliformes Fecales* y *Escherichia coli*, en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo.

- Estudio Retrospectivo.

Existen antecedentes Nacionales como Internacionales los cuales se tomaron como referencia para poder realizar esta investigación.

- Estudio Prospectivo.

Mediante este estudio se pueden realizar nuevas investigaciones.

4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

La investigación se realizó visitando las siguientes bibliotecas:

- 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 Ingeniería y Arquitectura de la 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

Mediante una guía de observación se identificaron las especies de pescado crudo que se comercializan en el Muelle del Puerto de la Libertad y por medio de una guía de inspección se verificaron las condiciones sanitarias y de almacenamiento en ventas fijas como en barco de pesca artesanal.

- Universo

Todos las especies de pescado crudo que se comercializan en los establecimientos del Muelle del Puerto de la Libertad.

- Muestra

Las muestras analizadas corresponden a: 1) Una especie de pescado crudo seleccionadas al azar de cada uno de los 27 establecimientos; 2) Dos muestras de referencia (pescado comercializado en barco de pesca artesanal). Etapa uno ver cuadro N°5 y Tabla N° 10. En la etapa uno se analizaron músculo y vísceras de cada muestra; mientras que en la etapa dos se analizó solo el músculo.

- Métodos e instrumentos de recolección de datos

Tipo de muestreo

El tipo de muestreo empleado en esta investigación es el Muestreo Aleatorio Simple, debido que los 29 establecimientos fijos que comercializan pescado crudo tenían la misma probabilidad de ser muestreados.

Obteniéndose al final 27 de los 29 establecimientos fijos y dos barcos de pesca artesanal (como referencia); por lo tanto esto hace un total de 29 establecimientos muestreados como se representa en el cuadro N° 5.

Tamaño de la muestra

Se contó con 29 establecimientos fijos que comercializan pescado crudo en el Muelle del Puerto de la Libertad; realizando un muestreo aleatorio simple se seleccionaron al azar 27 de los 29 establecimientos de venta fijos.

- El análisis se realizó en dos etapas:

- 1) Primera etapa: se seleccionaron 13 establecimientos fijos al azar y se analizaron muestras de músculo y vísceras de pescado crudo, a su vez se analizó una muestra de referencia de pescado comercializado en barco de pesca artesanal.
- 2) Segunda etapa: se seleccionaron 14 establecimientos fijos y se analizaron muestras de músculo de pescado crudo, además se analizó una muestra de referencia de músculo comercializado en barco de pesca artesanal.

Para determinar el tamaño de la muestra se utilizó la formula siguiente:

Fórmula para determinar el tamaño de la muestra mediante Muestreo Aleatorio Simple.

$$n = \frac{z^2 pqN}{(N-1)e^2 + z^2 pq}$$

Dónde:

n= Muestra

Z²= Nivel de confianza al 95%.

p= Población que posee características de interés.

q= Población que no posee características de interés.

N= Universo

e = Error muestral máximo permisible en la investigación.

En esta investigación el nivel de confianza es del 95% por lo tanto se obtiene un valor de $Z = 1.96$; además por no existir antecedentes se considera que $p=q=0.5$.

Sustituyendo

$$n = \frac{(1.96)^2(0.5)(0.5)(29)}{(N - 1)(0.05)^2 + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 27.02 \cong 27 \text{ establecimientos de ventas fijas}$$

De cada uno de los establecimientos de ventas fijos y del barco de pesca artesanal se seleccionaron al azar una especie de pescado crudo, de un peso aproximado a 1½ Libra (aproximadamente tres pescados) que constituyó la muestra, considerando esa cantidad una muestra representativa para desarrollar los análisis microbiológicos de acuerdo al criterio del investigador, ya que para la determinación de cada microorganismo (*Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales-*Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Salmonella*) se utilizaron 25 gramos de muestra de músculo o vísceras.

4.4 CODIFICACION EMPLEADA EN LA TOMA DE MUESTRA

Cuadro N° 5: Codificación empleada en la toma de muestras de pescado crudo. Etapa 1 y Etapa 2

Etapa 1

Nº de Venta	Muestra	Código de muestra	Total de Muestra por Venta
Establecimientos de Ventas Fijas (ETAPA 1)			
1	Músculo	M0101	2
	Vísceras	V0102	
2	Músculo	M0203	2
	Vísceras	V0204	
3	Músculo	M0305	2
	Vísceras	V0306	

Cuadro N° 5 (Continuación)

Nº de Venta	Muestra	Código de muestra	Total de Muestra por Venta
4	Músculo	M0407	2
	Vísceras	V0408	
5	Músculo	M0509	2
	Vísceras	V0510	
6	Músculo	M0611	2
	Vísceras	V0612	
7	Músculo	M0713	2
	Vísceras	V0714	
8	Músculo	M0815	2
	Vísceras	V0816	
9	Músculo	M0917	2
	Vísceras	V0918	
10	Músculo	M1019	2
	Vísceras	V1020	
11	Músculo	M1121	2
	Vísceras	V1122	
12	Músculo	M1223	2
	Vísceras	V1224	
13	Músculo	M1325	2
	Vísceras	V1326	
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 1) – Muestra de referencia			
14	Músculo	M1427	2
	Vísceras	M1428	
Total de muestras para ETAPA 1			28

Etapas 2

Nº de Venta	Muestra	Código de muestra	Total de Muestra por Venta
Establecimientos de Ventas Fijas (ETAPA 2)			
15	Músculo	M1529	1
16	Músculo	M1630	1
17	Músculo	M1731	1
18	Músculo	M1832	1
19	Músculo	M1933	1
20	Músculo	M2034	1
21	Músculo	M2135	1
22	Músculo	M2236	1
23	Músculo	M2337	1
24	Músculo	M2438	1
25	Músculo	M2539	1
26	Músculo	M2640	1
27	Músculo	M2741	1

Cuadro N° 5 (Continuación)

N° de Venta	Muestra	Código de muestra	Total de Muestra por Venta
28	Músculo	M2842	1
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 1) – Muestra de referencia			
29	Músculo	M2943	1
Total de Muestras para ETAPA			15
Total de Muestras Analizadas (Etapa 1 + Etapa 2)			(28 +15) = 43

4.5 PARTE EXPERIMENTAL

4.5.1 Procedimiento para la toma de muestra

1. Recolección de muestras en establecimientos fijos y barco de pesca artesanal.

Se seleccionaron 27 de los 29 establecimientos de ventas fijas que comercializan pescado crudo en el Muelle del Puerto de La Libertad en forma aleatoria, y se seleccionaron dos barcos de pesca artesanal los cuales se codificaron como E-14 y E-29 (Ver Anexo N° 23); de acuerdo al establecimiento y barco seleccionado, se dio inicio a la *guía de observación* (Ver anexo N° 2) en el cual se identificaron las diferentes especies de pescado que se comercializan en cada establecimiento y las características de frescura que estos productos presentan, luego se seleccionó una especie de pescado, diferente para cada establecimiento (Ver tabla N° 10), y se tomó una muestra con un peso aproximado de 1 ½ libra (tres pescados). Además cada comerciante utiliza bolsas plásticas de color negro para su respectivo embalaje. Posteriormente cada muestra se colocó en bolsas plásticas de polietileno con su respectiva identificación (Ver anexo N° 4); seguido se colocó una capa de hielo en una hielera previamente limpia y sanitizada con alcohol etílico al 70% (ver figura N° 11) y se procedió a colocar las muestras en la hielera. Al finalizar el muestreo se realizó una guía de inspección sobre las condiciones sanitarias y de almacenamiento del pescado que se comercializa en los establecimientos fijos y en barco de pesca artesanal (Ver Tabla N° 11 y

12). Luego se trasladaron las muestras al Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

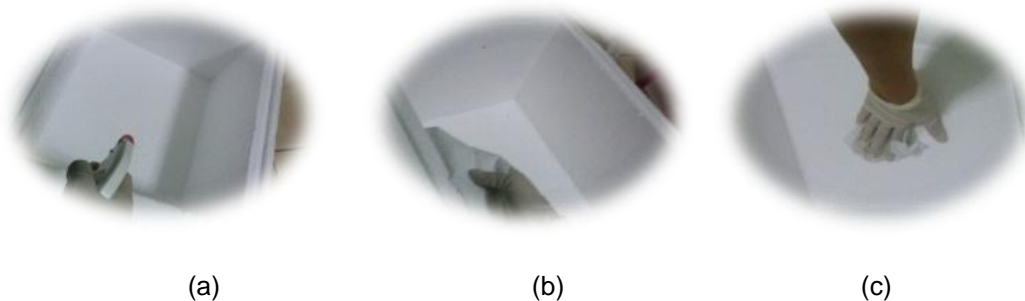


Figura N° 11: (a, b, c) Limpieza y sanitización de hielera con alcohol 70%

4.5.2 Procedimiento previo a la manipulación de la muestra

1. Se utilizó gorro, mascarilla, guantes y gabacha para el desarrollo del análisis microbiológico de la muestra
2. Se desinfectó el área de trabajo (mesa de laboratorio) con alcohol etílico al 70%, para evitar contaminación de las muestras a analizar.
3. Posteriormente se rotuló cada placa de petri, tubo de ensayo u otro material a utilizar de la siguiente manera: Código de muestra, número de muestra, dilución (Si aplica), medio, tipo de muestra (músculo o vísceras).

4.5.3 Procedimiento para el tratamiento de la muestra (previo al análisis microbiológico).

1. Se realizó una cisura con un cuchillo estéril, en el abdomen de cada pescado previamente descamado. (*).
2. Se extrajeron las vísceras de cada pescado crudo y se recolectaron en una bolsa plástica estéril de acuerdo al tipo de codificación. (*)
3. Se tomó una muestra de músculo de cada pescado crudo en estudio y se recolectaron en una bolsa plástica estéril de acuerdo al tipo de codificación. (Ver figura N° 12 y 13).
4. Se procedió al desarrollo del análisis microbiológico.

(*) Este procedimiento se realizó solo en la primera etapa del análisis ya que en la segunda etapa se analizó solo músculo.

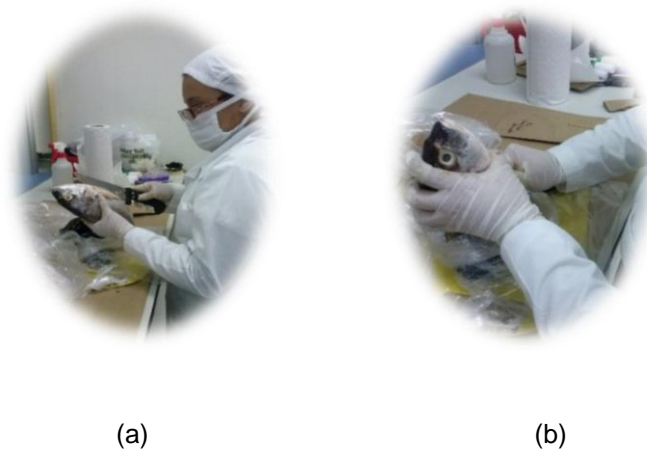


Figura N°12: (a), (b) Evisceración de muestras de Etapa 1



Figura N°13: Recolección de muestras de pescado crudo y pescado fresco en bolsa plástica estéril según codificación.

4.5.4 Preparación de diluciones para Coliformes Totales(ver anexo N° 5) ⁽⁵⁾

1. Pesarse asépticamente 25 gramos de muestra (músculo o vísceras) directamente en una bolsa de polietileno estéril previamente tarada. (ver figura N°14)
2. Añadir 225 mL de Agua Peptonada Buferada (APB) y homogenizar por dos minutos en el Stomacher a 260 rpm. Esta será la dilución 1:10 (10^{-1}). (ver figura N°14)

3. Pipetear 10 mL de la dilución anterior (1:10) y añadirlos a un frasco de dilución que contenga 90 mL de la Solución Agua Peptonada Buferada (APB) y agitar. Esta será la dilución 1:100 (10^{-2}). (ver figura N°14)
4. Pipetear 10 mL de la dilución anterior (1:100) y adicionarlo en otro frasco que contenga 90 mL de la Solución Agua Peptonada Buferada (APB) y agitar. Esta será la dilución 1:1000 (10^{-3}). (ver figura N°14)



Figura N°14: a) Muestra de musculo correspondiente a 25 g;
b) Preparación de diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 en Agua Peptonada Buferada

4.5.5 Determinación y Cuantificación de Coliformes Totales ⁽⁵⁾ (ver anexo N°5 y 6).

1. Adicionar 10 mL de Caldo Fluorocult LMX a nueve tubos de ensayos estériles.
2. Transferir con una pipeta estéril, 1 mL de la dilución 1:10 a tres tubos de ensayo estériles (Concentración 0.1 g de inóculo). Homogenizar.
3. Transferir con una pipeta estéril, 1 mL de la dilución 1:100 a tres tubos de ensayo estériles (Concentración 0.01 g de inóculo). Homogenizar.

4. Transferir con una pipeta estéril, 1 mL de la dilución 1:1000 a tres tubos de ensayo estériles (Concentración 0.001 g de inóculo). Homogenizar.
5. Incubar los tubos a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 horas.
6. Transcurrido el tiempo estipulado, observar si hay cambio de color en el medio en los tubos (coloración azul-verdosa), el cual indica presencia de Coliformes Totales.
7. Calcular el Número Más Probable (NMP) para Coliformes Totales de acuerdo al resultado obtenido; utilizando la tabla "Para 3 tubos con 10 mL, 1 mL, 0.1 mL de inóculo, por cada gramo de muestra, con límites de confianza del 95%". (ver anexo N°14).

4.5.6 Determinación y Cuantificación de Coliformes Fecales (Ver anexo N° 7) ^(3,5)

1. Con un asa bacteriológica previamente esterilizada, tomar una muestra de suspensión de los tubos obtenidos como positivos para Coliformes Totales, y transferir a Caldo EC, el cual debe contener en su interior una campana de Durham.
2. Incubar los tubos a una temperatura de $45.5^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas.
3. Transcurrido el tiempo, verificar en los tubos la presencia de turbidez y la producción de gas en las campanas de Durham. El cual indica prueba positiva para Coliformes Fecales.
4. De acuerdo al número de tubos positivos para Coliformes Fecales, calcular el Número Más Probable (NMP) utilizando la tabla "Para 3 tubos con 10 mL, 1 mL, 0.1 mL de inóculo, por cada gramo de muestra, con límites de confianza del 95%". (ver anexo N°14).

4.5.7 Determinación de *Escherichia coli*. (Ver anexo N° 7) ^(3,5)

1. A través de luz UV, verificar la presencia de fluorescencia en los tubos que presentan prueba positiva para Coliformes Totales.

NOTA: Los tubos con fluorescencia indican prueba positiva para *E. coli*.

2. De acuerdo al número de tubos positivos para *Escherichia coli*, calcular el Número Más Probable (NMP) utilizando la tabla “Para 3 tubos con 10 mL, 1 mL, 0.1 mL de inóculo, por cada gramo de muestra, con límites de confianza del 95%”. (ver anexo N°14).

Prueba confirmativa para *Escherichia coli*.

- Prueba de Indol

1. Adicionar cinco gotas de reactivo de Kovacs, a los tubos que presentan fluorescencia a través de luz UV; la formación de un anillo color violeta formado en la capa superior del tubo indica prueba positiva para *E. coli*.

- Crecimiento en Agar EMB

1. De los tubos positivos para *E. coli*, tomar una muestra de suspensión con la ayuda de un asa bacteriológica estéril y sembrar en Agar EMB.
2. Incubar a 37° C por 24 a 48 horas.
3. Transcurrido el tiempo estipulado, observar la morfología macroscópica y para *E. coli* deben ser colonias planas con centro oscuro con o sin brillo metálico.

4.5.8 Determinación de *Salmonella spp* (Ver anexo N° 8) ^(3, 6, 7)

1. Pesar asépticamente 25 gramos de muestra (músculo y/o vísceras) directamente en una bolsa de polietileno estéril previamente tarada.
2. Añadir 225 mL de Caldo Lactosado y homogenizar por dos minutos en el Stomacher a 260 rpm. Esta será la dilución 1:10 (10^{-1}).
3. Transferir a un Erlenmeyer estéril de 250 mL y cubrirlo con papel aluminio, se debe de homogenizar por un minuto.
4. Incubar a una temperatura de 35°C por 24 ± 2 horas.

5. Agitar suavemente la muestra incubada.
6. Transferir con la ayuda de una pipeta volumétrica o pipeta de morh estéril; 1 mL de la dilución 1:10 (10^{-1}), sobre 10 mL de Caldo Tetrionato. Mezclar en el vortex.
7. Transferir 0.1 mL de la dilución 1:10 (10^{-1}), sobre 10 mL de Caldo Rapaport-Vassiliadis (RV). Mezclar en el vortex.
8. Incubar el Caldo Rapaport-Vassiliadis (RV) a una temperatura de $42^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas.
9. Incubar el Caldo Tetrionato a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas.

Aislamiento de *Salmonella spp.*

1. Agitar suavemente la muestra incubada
2. Tomar una muestra del inóculo del Caldo Rapaport-Vassiliadis (RV), con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo y sembrar en Agar Bismuto-Sulfito (BS).
3. Esterilizar el asa bacteriológica y tomar nuevamente una muestra del inóculo y sembrar en Agar Salmonella-Shigella (SS).
4. Esterilizar el asa y tomar una muestra del inóculo de Caldo Tetrionato, y sembrar en Agar Bismuto-Sulfito (BS).
5. Esterilizar el asa bacteriológica y tomar nuevamente una muestra del inóculo y sembrar en Agar Salmonella-Shigella (SS).
6. Incubar a una temperatura de 35°C por 24 ± 2 horas.
7. Luego del período de incubación, verificar las colonias características que indican la presencia de *Salmonella spp.*

Tabla N° 5. Morfología macroscópica de *Salmonella spp.*

Medio	Morfología Macroscópica
Agar Salmonella-Shigella (SS).	Colonias traslucidas (color anaranjado claro) con centro negro
Agar Bismuto-Sulfito (BS).	Colonias color marrón a negras o gris verdoso, en ocasiones con brillo metálico alrededor de las colonias

- **Pruebas confirmativas**

Pruebas Bioquímicas. (Ver anexo N° 12)

1. Seleccionar una colonia sospechosa de *Salmonella spp* y sembrar en Agar TSA con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo.
2. Realizar pruebas bioquímicas para su identificación.
3. Incubar pruebas bioquímicas a 37° C por 24 horas.
4. Comparar resultados con tabla de Reacciones Bioquímicas de Enterobacterias. (ver anexo N° 13).

4.5.9 Determinación de *Vibrio cholerae* (Ver anexo N° 9) ^(4, 8)

1. Pesar asépticamente 25 g de muestra (músculo o vísceras) en una bolsa plástica de polietileno estéril previamente tarada.
2. Añadir 225 mL de Agua de Peptona Alcalina y homogenizar por dos minutos en el Stomacher a 260 rpm.
3. Transferir el contenido a un Erlenmeyer estéril de 250 mL y taparlo con papel aluminio. Esta será dilución 1:10 (10^{-1}).
4. Incubar a una temperatura de 35° C \pm 2° C por 6 a 8 horas.
5. Transcurrido el tiempo estipulado, sembrar en Agar TCBS con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo.
6. Incubar placas con Agar TCBS a una temperatura de 35° \pm 2° C durante 18 a 24 horas.
7. Después del período de incubación, observar la morfología macroscópica.

Tabla N° 6. Morfología Macroscópica de *Vibrio cholerae*

Medio	Morfología Macroscópica
<p style="text-align: center;">Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS)</p>	<p>Las colonias son grandes (de 2 a 3 mm), lisas, de color amarillo y ligeramente aplanado con los centros opacos y translúcidas en las periferias.</p>

Prueba confirmativa

1. Seleccionar una colonia sospechosa aislada y sembrar en Agar TSA + 2% de NaCl, con la ayuda de un asa bacteriológica estéril.
 2. Incubar de 24 a 48 horas a una temperatura de 35° C ± 2° C.
- **Prueba de oxidasa**
1. Humedecer un trozo de papel filtro con el reactivo de oxidasa.
 2. Seleccionar con un asa bacteriológica estéril una colonia aislada del medio Agar TSA + 2% de NaCl y transferir al papel filtro.
 3. Observar una coloración azul oscuro después de 10 segundos, el cual indica prueba positiva para *Vibrio cholerae*; si no se produce cambio de color o sólo adquieren un color rosado pálido por el reactivo, indica prueba negativa.
- **Pruebas bioquímicas.**
1. Seleccionar una colonia sospechosa para *V. cholerae* aislada del medio Agar TSA + 2% NaCl y sembrar en las siguientes pruebas de identificación: TSI, Indol, Vogues Proskauer, rojo de metilo, movilidad, citrato.
 2. Incubar pruebas bioquímicas por 24 horas a 37° C.
 3. Comparar resultados con tabla de Reacciones Bioquímicas de Enterobacterias. (ver anexo N°13).

4.5.10 Determinación y cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el método recuento en placa (Ver anexo N° 10) ^(2, 9, 10)

1. Pesar asépticamente 25 gramos de muestra (músculo o vísceras) directamente en una bolsa de polietileno estéril previamente tarada.
2. Añadir 225 mL de Agua Peptonada Buferada (APB) y homogenizar por dos minutos en el Stomacher a 260 rpm. Esta será la dilución 1:10 (10^{-1}).
3. Pipetear 10 mL de la dilución anterior (1:10) y añadirlos a un frasco de dilución que contenga 90 mL de la Solución Agua Peptonada Buferada (APB) y agitar. Esta será la dilución 1:100 (10^{-2}).
4. Pipetear 10 mL de la dilución anterior (1:100) y adicionarlo en otro frasco que contenga 90 mL de la Solución Agua Peptonada Buferada (APB) y agitar. Esta será la dilución 1:1000 (10^{-3}).

Aislamiento de *Staphylococcus aureus*

1. Transferir asépticamente 1 mL de cada dilución (1:10; 1:100; 1:1000) a 3 placas con Agar Baird Parker de la siguiente forma: Placa número uno, adicionar 0.3 mL; placa número dos, adicionar 0.3 mL y placa número tres, adicionar 0.4 mL.
2. Extender el inóculo sobre el Agar utilizando un rastrillo estéril.
3. Conservar las placas hasta que el inóculo sea absorbido por el Agar (aproximadamente 10 minutos).
4. Invertir las placas y encubar a una temperatura de 35° C por 45 a 48 horas.
5. Transcurrido el tiempo establecido, observar en las placas; con colonias características de *Staphylococcus aureus*.

Tabla N° 7: Morfología macroscópica de *Staphylococcus aureus*

Medio	Morfología macroscópica
Agar Baird Parker	Colonias circulares, lisas, convexas, de 2-3 mm de diámetro, de color gris a negro, con un halo claro a su alrededor.

Cuantificación de *Staphylococcus aureus*

1. Seleccionar las placas de cada dilución; que presentan colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*.
2. Contar el número de colonias de cada placa utilizando contador colonias y de acuerdo a la forma de recuento.

NOTA: 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 aureus*.

3. Reportar resultados como Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de músculo o víscera.

- **Pruebas confirmativas.**

Prueba de Coagulasa

1. Seleccionar colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* y transferir con la ayuda de un asa bacteriológica estéril, a un tubo de ensayo estéril que contenga 0.2 mL a 0.3 mL de Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) y emulsionar.
2. Incubar a una temperatura de 35° C por 18 a 24 horas.
3. A partir del cultivo BHI, inocular en la superficie del Agar TSA inclinado; con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo e incubar a 35° C por 24 horas.
4. Añadir 0.5 mL de Coagulasa de Plasma reconstituido con EDTA al cultivo de BHI y homogenizar.
5. Incubar a una temperatura de 35° C por 24 horas.
6. Observar la formación de coagulo firme y completo que se mantiene en su lugar cuando el tubo se inclina o se invierte. Esto indica prueba positiva para *Staphylococcus aureus*.

Prueba de Catalasa

1. En un portaobjeto de vidrio agregar una gota de peróxido de hidrogeno al 3%.
2. Seleccionar una colonia sospechosa de *Staphylococcus aureus* del Agar TSA inclinado y emulsionar sobre la gota de peróxido de hidrogeno.
3. Observar la liberación de burbujas que indican prueba positiva para *Staphylococcus aureus*.

Tinción al GRAM (ver anexo N°11).

1. Seleccionar una colonia aislada con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo y realizar tinción al GRAM.
2. Observar morfología microscópica, el cual debe ser: Cocos en forma de cadenas de color morado

4.5.11 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN O PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae* (Ver anexo N° 12) (1, 13, 14.)

Agar triple azúcar y hierro (TSI)

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica en forma de punta e inocular en agar TSI.
2. Introducir el asa bacteriológica hasta el fondo del medio en dirección vertical, luego estriar en la superficie del medio.
3. Incubar a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.
4. Mantener condiciones aerobias dejando el tapón ligeramente desenroscado para prevenir la producción excesiva de Sulfuro de Hidrogeno (H_2S).
5. Transcurrido el tiempo estipulado, interpretar los resultados considerando como alcalino (K) el color rojo que es característico del medio y como ácido (A) al viraje de color, de rojo a amarillo.

Tabla Nº 8. Interpretación de resultados para pruebas en Agar TSI

Resultado	Simbología	Interpretación
Pico alcalino/fondo alcalino (coloración roja)	K/K	Microorganismo fermentador de glucosa
Pico ácido/fondo ácido (coloración amarilla)	A/A	Microorganismo fermentador de glucosa, sacarosa y lactosa.
Pico alcalino/fondo ácido (coloración roja/amarilla)	K/A	Microorganismo no fermentadores
Precipitado de color negro	H ₂ S	Microorganismo que produce Sulfuro de Hidrogeno
Producción de burbujas	----	Microorganismo que libera gas

Reacción de Indol

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo e inocular en Caldo Indol.
2. Incubar durante 24 horas a 37° C ± 2°C.
3. Luego agregar 0.5 mL de reactivo de éter y 0.5 mL de reactivo de Erlich.
4. Observar la formación de un anillo de color púrpura, en la superficie del tubo inoculado, el cual indica prueba positiva.

Reacción de Rojo de metilo

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo e inocular Caldo RM-VP.
2. Incubar durante 24 horas a 37°C ± 2°C.
3. Luego agregar 1 ó 2 gotas de reactivo de rojo de metilo.
4. Observar la aparición del color rojo difuso en todo el medio el cual indica prueba positiva.

Reacción de Voges Proskauer

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo e inocular Caldo RM-VP.
2. Incubar durante 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
3. Luego agregar 0.6 mL de la solución Alcohólica de Alfa Naftol al 5%.
4. Agregar 0.2 mL de la solución de Hidróxido de Potasio (KOH) al 40%.
5. Observar la aparición del color rosado después de 10 a minutos, esto indica prueba positiva.

Prueba de Motilidad

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de punta e inocular en picadura sobre Agar Movilidad.
2. Incubar durante 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
3. Observar la formación de turbidez alrededor de la picadura realizada, lo cual indica prueba positiva.

NOTA: La prueba de Motilidad puede presentar formación de Sulfuro de Hidrogeno.

Prueba de Citrato

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de punta e inocular sobre Agar Citrato en dirección recta hasta el fondo del tubo.
2. Incubar durante 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
3. Observar el viraje de color de, verde a azul, indica prueba positiva; si permanece de color verde indica prueba negativa.

Prueba de Urea

1. Seleccionar una colonia sospechosa con la ayuda de un asa bacteriológica estéril en forma de anillo e inocular sobre Caldo Urea.

2. Incubar durante 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
3. Observar cambio de coloración; si el color vira de anaranjado al color rosa fuerte indica prueba positiva, si permanece constante indica prueba negativa.

CAPITULO V
RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Tabla N° 9: Guía de observación y de inspección de las diferentes especies comercializadas.

N° de Establecimiento de Venta	Especies de Pescados comercializados
Ventas fijas (ETAPA 1)	
1	Corvina, Boca Colorada
2	Salbucana, Corvina, Robalo, Boca Colorada,
3	Boca colorada, Corvina, Robalo
4	Mojarra, Robalo, Boca Colorada, Lonja de Tiburón
5	Robalo, Corvina
6	Bagre, Boca Colorada, Barbona
7	Caite, Lenguado, Barbona, Bagre, Boca Colorada, Tamalito
8	Boca Colorada, Queen, Robalo, Corvina, Bagre
9	Queen, Boca Colorada, Corvina, Bagre
10	Robalo, Boca Colorada, Lenguado, Bagre
11	Queen Americano, Boca Negra, Boca Colorada
12	Barbona, Boca Colorada, Robalito, Atún
13	Queen, Boca Colorada
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 1) – Muestra de referencia	
14	Boca colorada, corvina

Tabla N°9 (Continuación)

N° de Establecimiento de Venta	Especies de Pescados comercializados
Ventas fijas (ETAPA 2)	
15	Robalo, Boca Colorada, Lonja de Raya
16	Queen, Corvina, Boca Colorada
17	Luna, Corvina Blanca, Barbona, Boca colorada, Corvina rosada, Robalo
18	Lonja de raya, Lonja de tiburón, Bagre y Atún
19	Queen, Corvina, Bagre, Lonja de raya
20	Queen, Boca colorada, Picuda, Corvina, Barbona
21	Tamalito, Boca colorada, Picuda, Corvina, Bagre, Mojarra, Macarela
22	Lenguado, Boca colorada, Corvina, Queen, Bagre
23	Boca colorada, Corvina, Queen, Lenguado, Lonja de Tiburón
24	Corvina, Boca colorada, Lenguado, Lonja de raya
25	Boca, colorada, Queen
26	Filete de Corvina
27	Robalo, Boca colorada, Corvina
28	Bagre, boca colorada
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 2)- Muestra de referencia	
29	Corvina, Queen

En la tabla N° 9 se observan las diferentes especies de pescado crudo comercializadas en los 27 establecimientos fijos seleccionados al azar los establecimientos en barco de pesca artesanal (muestras de referencia), es de notar que la especie con mayor comercio es Boca colorada seguido de Corvina.

Tabla N° 10: Guía de observación e inspección de las especies de pescado seleccionado

N° de Venta	Especie de pescado seleccionado	Descripción de la muestra
Establecimientos de ventas fija (ETAPA 1)		
1	CORVINA	Presenta ojos planos, piel brillante y mucus en la superficie
2	ROBALO	Color sin brillantez
3	BOCA COLORADA	Presenta ojos planos, piel brillante, Olor desagradable.
4	MOJARRA	Color sin brillantez.
5	CORVINA	Presenta ojos planos, color sin brillantez.
6	BAGRE	Color sin brillantez, presenta ojos planos, Olor desagradable.
7	TAMALITO	Piel brillante, olor desagradable
8	QUEEN	Color opaco, ojos hundidos y sucios, olor agradable a mar.
9	CORVINA	Unos pescados presentan pupila hundida y ojos sucios, color sin brillantez. Otros presentan los ojos limpios y brillantes, pupila salida y piel húmeda y brillante.
10	ROBALO	Presentan ojos sucios, hundidos, color sin brillantez.
11	BOCA NEGRA	Presentan ojos hundidos, áspero al tacto, color sin brillantez.
12	BARBONA	Presenta ojos hundidos, piel húmeda y brillante
13	QUEEN	Ojos hundidos y sucios, piel áspera.
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 1) - Muestra de referencia		
14	BOCA COLORADA	Limpio y brillante, piel húmeda y brillante, olor agradable a mar, pupila salida, ojos húmedos.

Tabla N° 10 (Continuación)

N° de Venta	Especie de pescado seleccionado	Descripción de la muestra
Establecimientos de ventas fijas (ETAPA 2)		
15	LONJA DE RAYA	Carne firme y elástica, Olor agradable a mar.
16	QUEEN	Ojos hundidos y sucios, áspero al tacto, apagado.
17	LUNA	Ojos planos, piel brillante pero no lustrosa, pupila negra y apagada.
18	LONJA DE TIBURÓN	Piel firme y poco elástica, superficie uniforme.
19	BAGRE	Pupila opaca, ojos ligeramente hundidos y blanquecinos, pigmentación brillante pero no lustrosa.
20	PICUDA	Pupila salida, ojos húmedos, pigmentación brillante pero no lustrosa.
21	TAMALITO	Pupila negra y apagada, ojos convexos y ligeramente hundidos, color no brillante pero no lustroso.
22	LENGUADO	Color sin brillantez, ojos hundidos y sucios, córnea opalescente.
23	BOCA COLORADA	Piel apagada, áspero al tacto, ojos hundidos y blanquecinos, pupila opaca.
24	CORVINA	Pupila hundida y ojos sucios, color sin brillantez, mucus transparente.
25	QUEEN	Ojos hundidos y sucios, áspero al tacto.
26	FILETE DE CORVINA	Firme ligeramente elástica, de superficie uniforme, enganchada a las espinas.
27	ROBALO	Presentan ojos sucios, hundidos, color sin brillantez.
28	BAGRE	Pupila opaca, ojos ligeramente hundidos, pigmentación brillante pero no lustrosa.
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 2) - Muestra de referencia		
29	CORVINA	Ojos húmedos, color sin brillantez, mucus transparente, olor agradable a mar.

En la tabla N° 10 se observa la especie de pescado seleccionada al azar de cada establecimiento; el cual la mayoría de pescados que se comercializan en los establecimientos de ventas fijas presentaron pupilas hundidas, ojos opacos a blanquecinos y sucios, algunos pescados presentaron un olor desagradable y piel con poca o ninguna brillantez, estas alteraciones indican que el grado de frescura del pescado ha disminuido y por lo tanto puede afectar la calidad microbiológica y poner en riesgo la salud de los consumidores (Ver anexo N° 2). En los barcos de pesca artesanal los pescados seleccionados presentaron un olor agradable a mar, ojos húmedos y piel de color brillante, por lo cual presentan características de frescura.

Tabla N° 11: Guía de observación y de inspección de las condiciones sanitarias y de almacenamiento en las ventas fijas

PARAMETROS A VERIFICAR EN LOS PRODUCTOS	SI	NO	OBSERVACIONES
Los pescados se encuentran almacenados junto con otros productos		X	Se encuentran en depósitos individuales excepto en un puesto que presenta tres especies de pescado en un mismo deposito.
Los pescados se encuentran a una temperatura adecuada (con hielo alrededor)	X		El hielo se encuentra en el fondo del recipiente.
Los pescados presentan algún daño físico o mucosidad excesiva en su superficie.		X	Los pescados no presentan daño físico pero las características de frescura presentan deterioro (ojo color blanco)
Los pescados se encuentran protegidos del sol, especifique	X		Todos los locales fijos presentan techo de lámina que los protege del sol.
La superficie donde se manipulan los productos pesqueros presentan las siguientes características: Lisas, de plástico		X	La superficie es de madera y presenta rugosidad y algunas grietas

Tabla N° 11 (Continuación)

PARAMETROS A VERIFICAR EN LOS MANIPULADORES	SI	NO	OBSERVACIONES
Los manipuladores utilizan diferentes tipos de toallas para limpiar y secar los utensilios		X	Los utensilios solo se enjuagan con agua y los secan con el delantal.
Los manipuladores presentan las siguientes características:			
◆ Uñas cortas, sin esmalte (en el caso de las mujeres)		X	Se observaron personas con esmalte en las uñas.
◆ Vestimenta limpia	X		Presentaban manchas de sangre y escamas en el mandil debido al eviscerado de los pescados. En algunos manipuladores por presentar vestimenta de color oscuro, no se logró determinar si la vestimenta está limpia o no.
◆ Cabello recogido o gorro		X	No presentan gorro y en el caso de las mujeres presentan el cabello suelto
◆ Heridas a simple vista		X	No se observó ninguna herida en los manipuladores
◆ Utilizan joyas (anillos, pulseras, reloj, entre otros)	X		Algunas manipuladoras presentan anillos y pulseras.
Utilizan, utensilios limpios para la manipulación del pescado y además estos son fácil de limpiar y desinfectar		X	No se observó limpieza de los utensilios con jabón o algún tipo de desinfectante. Se eviscero más de un pescado con el mismo utensilio sin una limpieza adecuada.
Utilizan diferentes utensilios para cada producto con el fin de evitar contaminación cruzada		X	Se utiliza el mismo cuchillo, cepillo de alambre, etc.; para las diferentes especies de pescados
Utilizan tablas de plástico para picar		X	Solo se utilizan tablas de madera
¿Qué tipo de embalaje utilizan para la entrega del producto pesquero?			
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Periódico: El periódico no se encuentra en contacto directo con el pescado. ◆ Bolsas plásticas de color negro. 			

En la tabla N° 11 se presentan las observaciones sobre las condiciones sanitarias y de almacenamiento en las ventas fijas que comercializan pescado crudo en el muelle del Puerto de La Libertad y se observó que los comerciantes no utilizan guantes para manipular el pescado (Ver figura N° 15), algunos manipuladores presentan las uñas con esmalte, el cabello suelto sin gorro o red (ver figura N°15), y la misma persona que manipula el dinero manipula el pescado sin lavarse las manos. En algunos establecimientos se observó que los manipuladores consumen alimentos en el área de trabajo lo que podría causar una contaminación cruzada.

El pescado no se encuentra protegido por lo que están expuestos a moscas y contaminantes en el ambiente además en algunos establecimientos el pescado pasa por varios manipuladores por lo que es más susceptible a una contaminación (Ver figura N°15), en los depósitos en los cuales se encuentran almacenados los pescados hay mezclas de diferentes especies y otros productos marinos; el pescado se coloca en tablas de madera deterioradas para eviscerarlo lo que dificulta la limpieza correcta de la tabla ya que pueden quedar restos de otros pescados, además el cuchillo y el cepillo para retirar escamas solo se lava con agua que se encuentra en un balde y en algunas ocasiones al cuchillo se le retiran restos de otros productos pesqueros con ayuda de un trapo de dudosa higiene lo que podría ser una fuente de contaminación.

Las vísceras son descartadas directamente al mar por lo que aumenta la contaminación en el agua lo cual influye en la contaminación de los productos pesqueros.

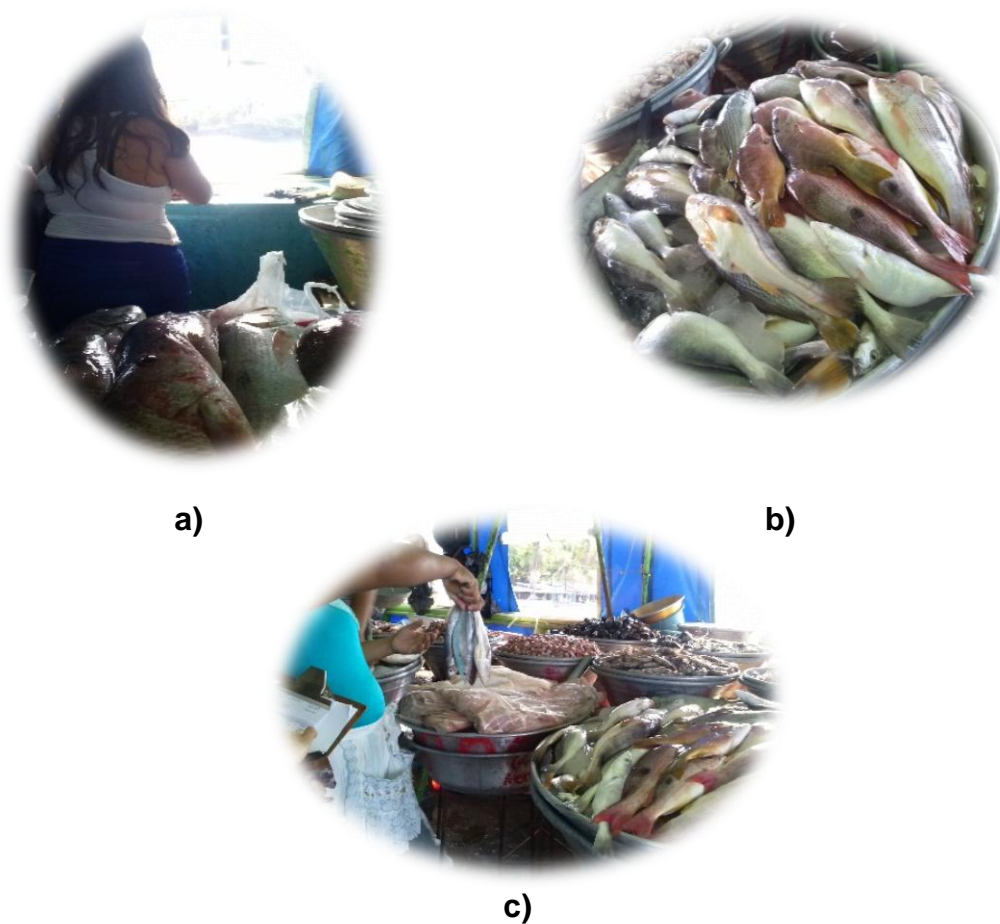


Figura N° 15: a) Manipulador no utiliza gorro y se encuentra con el cabello suelto.
b) Pescados expuestos a contaminación, no presentan ninguna protección.
c) Manipulación inadecuada del producto comercializado.

Tabla N° 12: Guía de observación y de inspección de las condiciones sanitarias y de almacenamiento en el barco de pesca artesanal

- **Producto**

PARAMETROS A VERIFICAR	SI	NO	OBSERVACIONES
Se dispone de hielo para mantener una temperatura adecuada los productos pesqueros.	X		El hielo se coloca al fondo de la hielera y encima de este se colocan los productos pesqueros.
Los productos pesqueros se encuentran almacenados con otros productos.	X		En la hielera también se encuentran depósitos de plástico y sacos.
El personal coloca los pescados en recipientes adecuados como por ejemplo: Hielera.	X		La hielera se encuentra incorporada en el barco pesquero, la hielera es de madera por lo cual es un reservorio de microorganismos.
Los productos pesqueros han sufrido alguna alteración en sus características organolépticas (color, olor, textura, entre otros).		X	Los productos pesqueros se colocan en la tapa de la hielera para mostrarlo a los posibles compradores y no presentan alteraciones

-

- **Transporte de barco de pesca artesanal**

PARAMETROS A VERIFICAR	SI	NO	OBSERVACIONES
La superficie donde se manipulan los productos pesqueros presentan las siguientes características			
◆ Lisas		X	Se observa deterioro en la tapa de la hielera.
◆ Plástico		X	Ninguna
◆ Acero inoxidable		X	Ninguna
◆ Madera	X		La hielera se encuentra dividida en dos secciones, en el cual la división es de madera pero esta se encuentra quebrada en las esquinas superiores.
◆ Fibra de vidrio	X		Se observan grietas en la tapa.

Tabla N° 12 (Continuación)

PARAMETROS A VERIFICAR	SI	NO	OBSERVACIONES
La zona destinada para el almacenamiento del producto pesquero está libre de sufrir una presión excesiva.		X	La hielera se encuentra deteriorada, además se encuentra dentro de ella depósitos de plástico que ejercen presión al pescado almacenado.
El transporte (lancha) presenta ángulos cerrados el cual facilita acumulación de suciedad.	X		Se observan áreas con oxidación.
Dentro de la lancha se encuentran objetos o sustancias que pueden causar alguna contaminación cruzada con el producto pesquero.		X	Los objetos se encuentran en secciones separadas.

En la tabla N° 12 se presentan las observaciones sobre las condiciones sanitarias y de almacenamiento en los barcos de pesca artesanal que comercializan pescado fresco en el muelle del Puerto de La Libertad y se observó que el pescado se encuentra expuesto al sol, en algunas ocasiones por tiempo prolongado lo que podría aumentar su deterioro y esto a su vez su descomposición, el pescado no se encuentra protegido por lo que están expuestos a moscas y contaminantes en el ambiente (por ejemplo: descargas fecales de aves que se encuentran en el entorno) Ver figura N° 17, en algunas áreas las gaviotas pasan en el piso o en las mesas en las que se manipula el pescado alimentándose con restos de los productos pesqueros por lo que podría ser una fuente de contaminación.

En el caso de la hielera que se encuentra en los barcos de pesca artesanal, se coloca una capa de hielo, y se desconoce su procedencia por lo que podría aumentar la carga microbiana de los productos pesqueros (Ver figura N° 16), además el eviscerado del pescado es realizado en una mesa de condiciones insalubres debido a que el material es madera, lo que no es adecuado ya que presenta grietas lo que podría contener reservorios de microorganismos y al mismo tiempo causar una contaminación cruzada con los restos de otros

pescados u otros productos marinos, afectando así la calidad microbiológica del pescado (ver figura N° 17) y finalmente la salud del consumidor.



Figura N°16: a) Pescado fresco expuesto al sol comercializado en las lanchas.
b) y c) Bodega donde se almacena el hielo que abastecen a los comerciantes y pescadores.



Figura N°17: a) y b) Canal de hierro en el que se transporta el hielo hacia la bodega de almacenamiento.
c) Mesa en la cual se evisceran los pescados frescos del barco de pesca artesanal.

DETERMINACIÓN DE *Salmonella* spp.

Tabla Nº 13. Resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella* spp. en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencia comparado con especificación RTCA 67.04.50:08

Especificación para <i>Salmonella</i> spp según RTCA 67.04.50:08 = AUSENCIA					
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 1					
Código	Resultado <i>Salmonella</i> spp	Otros Microorganismos	Código	Resultados <i>Salmonella</i> spp	Otros Microorganismos
M0101	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp	V0102	Presencia	-----
M0203	Ausencia	<i>Enterobacter</i> spp	V0204	Ausencia	<i>Enterobacter</i> spp
M0305	Presencia	-----	V0306	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp
M0407	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp	V0408	Ausencia	<i>Klebsiella</i> spp
M0509	Presencia	-----	V0510	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp
M0611	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp	V0612	Presencia	-----
M0713	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp	V0714	Presencia	-----
M0815	Presencia	-----	V0816	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp
M0917	Ausencia	<i>Proteus</i> spp	V0918	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp
M1019	Ausencia	<i>Proteus</i> spp	V1020	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp
M1121	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp <i>Pseudomona</i> spp	V1122	Ausencia	<i>Klebsiella</i> spp
M1223	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp	V1224	Presencia	-----
M1325	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp <i>Pseudomona</i> spp	V1326	Presencia	<i>Pseudomona</i> spp
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1					
M1427	Ausencia	<i>Citrobacter</i>	M1428	Presencia	-----
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 2					
Código	Resultado <i>Salmonella</i> spp	Otros Microorganismos	Código	Resultados <i>Salmonella</i> spp	Otros Microorganismos
M1529	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp	M2236	Ausencia	<i>Citrobacter</i> spp

Tabla N° 13 (Continuación)

Código	Resultado <i>Salmonella</i> <i>spp</i>	Otros Microorganismos	Código	Resultados <i>Salmonella</i> <i>spp</i>	Otros Microorganismos
M1630	Presencia	-----	M2337	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>
M1731	Ausencia	<i>Citrobacter spp</i>	M2438	Presencia	-----
M1832	Ausencia	<i>Citrobacter spp</i>	M2539	Ausencia	<i>Citrobacter spp</i>
M1933	Ausencia	<i>Citrobacter spp</i>	M2640	Presencia	-----
M2034	Presencia	-----	M2741	Ausencia	<i>Proteus spp</i>
M2135	Ausencia	<i>Citrobacter spp</i>	M2842	Ausencia	<i>Citrobacter spp</i>
Resultados obtenidos en muestras de referencia ETAPA 2					
M2943	Ausencia	<i>Klebsiella spp</i>			

*M: Músculo; V: Vísceras

En la tabla N° 13 se muestran los resultados obtenidos para la determinación de *Salmonella spp.* en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo como de la muestra de referencia, en el cual se reflejan que el 70% de muestras analizadas si cumplen con la especificación del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 excepto las muestras con código V0102, M0305, M0509, V0612, V0714, M0815, V1224, V1326, V1428, M1630, M2034, M2438, M2640 en escala porcentual representan, el 30% de muestras analizadas que no cumplen es decir, en dichas muestras hay presencia de *Salmonella spp.* lo que indica que hay contaminación cruzada y malas prácticas higiénicas por parte de los manipuladores, por lo tanto no son aptas para consumo humano (Ver anexo N° 17). Para determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp.*, se realizó un pre-enriquecimiento en medio no selectivo Caldo Lactosado, luego un enriquecimiento selectivo es decir en Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) y Caldo Tetratonato (TT), y posteriormente se aisló en medio diferencial Agar Salmonella-Shigella (Agar S-S) y Agar Bismuto Sulfito (Agar B-S), en el cual se obtuvieron colonias sospechosas para *Salmonella spp.* (Ver figura N° 18 y 19); mediante pruebas bioquímicas se logró comprobar la ausencia o presencia de dicho microorganismo patógeno en las muestras analizadas (Ver figura N° 20)

además de la presencia de otros microorganismos como *Citrobacter sp*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*. Teniendo en cuenta la presencia de otros microorganismos en las muestras analizadas; estas se asocian principalmente con el agua es decir con la contaminación del mar, debido que en el desembocan muchos ríos los cuales están contaminados con descargas fecales además los desechos de filetes y vísceras son arrojados al mar por lo tanto aumenta la contaminación.

Un hallazgo importante fue la presencia de *Pseudomona spp* que se aisló en las muestras con códigos M1121, M1325, V1326 (ver figura N° 21), siendo una bacteria comúnmente implicada en la alteración de pescado y además un patógeno oportunista que puede iniciar algunas infecciones en personas con las defensas bajas.



Figura N° 18: Colonias sospechosas para *Salmonella spp.* de color gris con brillo metálico en Agar Bismuto - Sulfito.



Figura N° 19: Colonias sospechosas para *Salmonella spp.* de color negro con halo transparente en Agar Salmonella - Shigella.



Figura N° 20: Pruebas bioquímicas para *Salmonella* spp. .



Figura N° 21: Presencia de *Pseudomona* sp. en Agar Cetrimide.y a través de luz UV presenta fluorescencia (imagen central y derecha)

DETERMINACIÓN DE *Vibrio cholerae*

Tabla N° 14: Resultados de la determinación de *Vibrio cholerae* en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencia comparado con especificación RTCA 67.04.50:08

Especificación para <i>Vibrio cholerae</i> según RTCA 67.04.50:08 = AUSENCIA			
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 1			
Código	Resultado	Código	Resultado
M0101	Ausencia	V0102	Ausencia
M0203	Ausencia	V0204	Ausencia
M0305	Ausencia	V0306	Ausencia
M0407	Ausencia	V0408	Ausencia
M0509	Ausencia	V0510	Ausencia
M0611	Ausencia	V0612	Ausencia
M0713	Ausencia	V0714	Ausencia
M0815	Ausencia	V0816	Ausencia
M0917	Ausencia	V0918	Ausencia
M1019	Ausencia	V1020	Ausencia
M1121	Ausencia	V1122	Ausencia
M1223	Ausencia	V1224	Ausencia
M1325	Ausencia	V1326	Ausencia
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1			
M1427	Ausencia	M1428	Ausencia
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 2			
Código	Resultado	Código	Resultado
M1529	Ausencia	M2236	Ausencia
M1630	Ausencia	M2337	Ausencia
M1731	Ausencia	M2438	Ausencia
M1832	Ausencia	M2539	Ausencia
M1933	Ausencia	M2640	Ausencia
M2034	Ausencia	M2741	Ausencia
M2135	Ausencia	M2842	Ausencia
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 2			
M2943	Ausencia		

*M: Músculo; V: Vísceras

En la tabla N° 14 se muestran los resultados de la determinación de *Vibrio cholerae* en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencia (Código: M1427, V1428 y M2943), el cual indican que en todas las muestras analizadas es decir el 100% presenta ausencia de dicho microorganismo, por lo tanto cumplen con lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. (Ver anexo N° 18).

Sin embargo se sospecha la presencia de otros tipos de Vibrios que aunque no son consideradas en el RTCA pueden causar Enfermedades Transmitidas por Alimentos, siendo la principal fuente de contaminación el agua (MAR) además de las malas prácticas higiénicas.

Para determinar *Vibrio cholerae* en las muestras analizadas se realizó un enriquecimiento con Agua Peptonada Alcalina (APA), luego se aisló utilizando un medio diferencial Agar TCBS, en el cual se identificaron colonias sospechosas para *Vibrio cholerae* (Ver figura N° 22); debido a los diferentes tipos y colores de colonia en Agar TCBS se tomó la decisión de sembrar en Agar TSA + % NaCl; el % de NaCl fue tomado de la tabla del Manual de Análisis Bacteriológico para *Vibrio*, el cual especifica las diferentes concentraciones de cloruro de sodio en los que crecen los vibrios, por dicha razón los porcentajes utilizados son TSA + 6% NaCl, TSA + 8% NaCl, y TSA + 10% NaCl, luego se incubó a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. (Ver anexo N° 20 y N° 21).

NOTA: Se utilizó Agar TSA + 2% de NaCl debido que la marcha analítica como tal para *Vibrio cholerae* así lo especifica.

De acuerdo al crecimiento en los diferentes TSA + % NaCl se clasificó los posibles Vibrios presentes en las muestras. Cabe recalcar que, para *Vibrio cholerae* no debe haber crecimiento en TSA + 6% NaCl, TSA + 8% NaCl, y TSA + 10% NaCl. (Ver figura N° 23)

Posteriormente se realizó la prueba de oxidasa a partir de las colonias aislada en Agar TSA + 2% NaCl, obteniendo resultados positivos en todas las muestras excepto en la muestra con código V0102, M1731, que presentaron oxidasa negativa (Ver figura N° 23) y mediante pruebas bioquímicas se logró determinar la presencia de *Vibrio sp.*

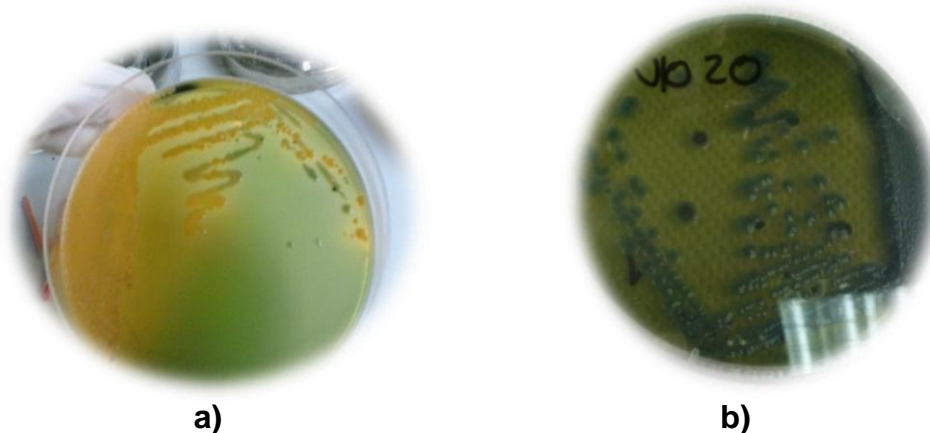


Figura N° 22: a) Colonias amarillas sospechosas para *Vibrio cholerae*;
b) Colonias verdes sospechosas para *Vibrio parahaemolyticus*

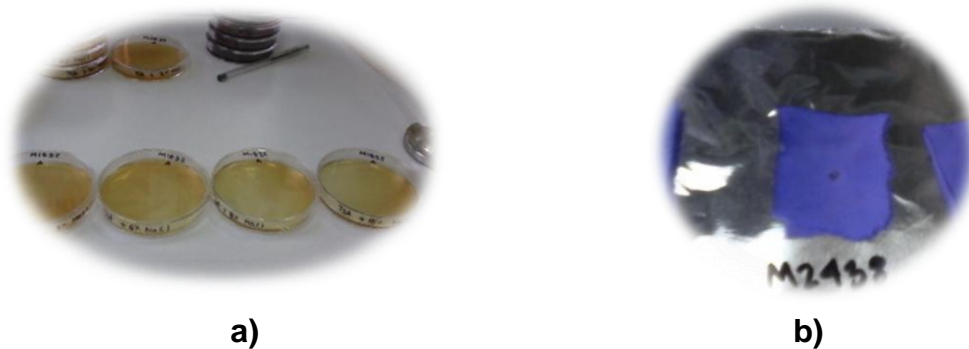


Figura N° 23: a) *Vibrio sp.* en agar TSA al 2%, 6%, 8% y 10%;
b) Prueba oxidasa positiva para *Vibrio sp.*

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus*

Tabla N° 15: Resultados obtenidos en la determinación de *Staphylococcus aureus* en muestra de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencia comparado con especificación RTCA 67.04.50:08

Especificación para <i>Staphylococcus aureus</i> según RTCA 67.04.50:08 = mínimo: 10 UFC/g máximo: 10 ² UFC/g			
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 1			
Código	Resultado	Código	Resultado
M0101	<10 UFC/g	V0102	<10 UFC/g
M0203	<10 UFC/g	V0204	<10 UFC/g
M0305	<10 UFC/g	V0306	<10 UFC/g
M0407	<10 UFC/g	V0408	<10 UFC/g
M0509	<10 UFC/g	V0510	<10 UFC/g
M0611	<10 UFC/g	V0612	<10 UFC/g
M0713	<10 UFC/g	V0714	<10 UFC/g
M0815	<10 UFC/g	V0816	<10 UFC/g
M0917	<10 UFC/g	V0918	<10 UFC/g
M1019	<10 UFC/g	V1020	<10 UFC/g
M1121	<10 UFC/g	V1122	<10 UFC/g
M1223	<10 UFC/g	V1224	<10 UFC/g
M1325	<10 UFC/g	V1326	<10 UFC/g
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1			
M1427	<10 UFC/g	M1428	<10 UFC/g
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 2			
Código	Resultado	Código	Resultado
M1529	<10 UFC/g	M2236	<10 UFC/g
M1630	<10 UFC/g	M2337	<10 UFC/g
M1731	<10 UFC/g	M2438	<10 UFC/g
M1832	<10 UFC/g	M2539	<10 UFC/g
M1933	<10 UFC/g	M2640	<10 UFC/g
M2034	<10 UFC/g	M2741	<10 UFC/g
M2135	<10 UFC/g	M2842	<10 UFC/g

Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 2		
M2943	<10 UFC/g	

*M: Músculo; V: Vísceras

En la tabla N° 15 se encuentran los resultados de la determinación de *Staphylococcus aureus* en muestra de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencia, obtenidos mediante el método recuento en placa, siendo estos resultados conformes debido a que en el 100% de las muestras analizadas no se encontró *Staphylococcus aureus*. Esto puede deberse a que los manipuladores no presentaban heridas visibles, síntomas de gripe o manipulación de la mucosa nasal. Debido que en Agar Baird Parker no hay crecimiento de colonias de *Staphylococcus aureus* el resultado se reporta como <10 UFC/g de muestra, por lo tanto cumple con lo especificado en el RTCA 67.04.50:08 (Ver anexo N° 19).

Para determinar y cuantificar *Staphylococcus aureus* se realizaron diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} con Agua Peptonada Buferada luego se inoculó en Agar Baird Parker, posterior a su tiempo de incubación se verificó el crecimiento de colonias características para *Staphylococcus aureus* (Ver figura N° 24); para confirmar su presencia en las muestras analizadas se realizó la prueba de coagulasa obteniendo resultados negativos debido que no hubo formación de un coagulo firme (Ver figura N° 25), a su vez se realizó la prueba de catalasa, obteniendo resultados positivos ya que se observó la formación de burbujas al suspender la muestra en peróxido al 3% (Ver figura N° 26), lo que indica que en las muestras analizadas hay ausencia de *Staphylococcus aureus* y las colonias sospechosas que se observaron pertenecen a *Staphylococcus epidermidis*, por lo tanto no representa un riesgo para salud del consumidor ya que pertenece a la flora normal del ser humano. (17)

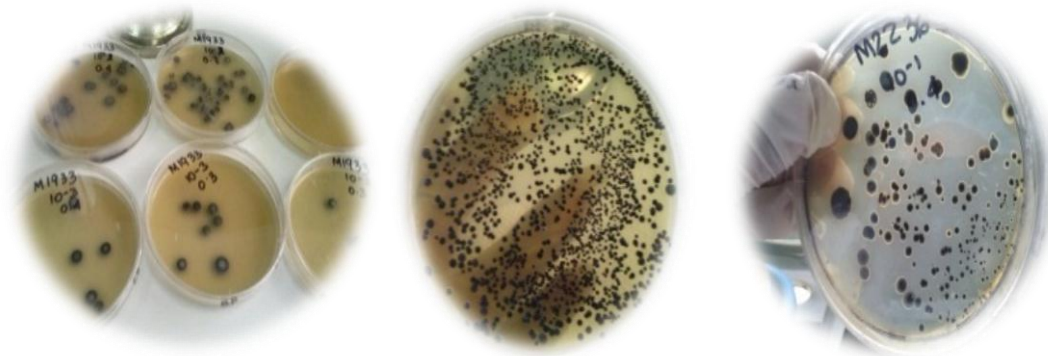


Figura N° 24: Colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker



Figura N° 25: Prueba coagulasa negativa para *Staphylococcus*



Figura N° 26: Prueba catalasa positiva para *Staphylococcus* sp.

DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE COLIFORMES FECALES

Tabla N° 16: Resultados de determinación y cuantificación de Coliformes fecales en muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencias comparado con RTCA 67.04.50:08

Especificación para Coliformes Fecales según RTCA 67.04.50:08									
Mínimo: 3NMP/g Máximo: 460 NMP/g									
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 1									
Código	Dilución			Resultados NMP/g	Código	Dilución			Resultados NMP/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
M0101	3/3	2/3	3/3	290	V0102	2/3	3/3	0/3	29
M0203	3/3	3/3	1/3	460	V0204	3/3	3/3	2/3	1100
M0305	3/3	3/3	2/3	1100	V0306	2/3	2/3	1/3	28
M0407	3/3	3/3	2/3	1100	V0408	3/3	3/3	3/3	>1100
M0509	3/3	0/3	2/3	64	V0510	2/3	3/3	0/3	29
M0611	3/3	3/3	3/3	>1100	V0612	3/3	3/3	2/3	1100
M0713	3/3	3/3	0/3	240	V0714	3/3	2/3	1/3	150
M0815	3/3	2/3	1/3	150	V0816	1/3	1/3	0/3	7.4
M0917	3/3	2/3	1/3	150	V0918	2/3	1/3	1/3	20
M1019	3/3	2/3	1/3	93	V1020	3/3	0/3	0/3	23
M1121	2/3	2/3	1/3	28	V1122	1/3	2/3	0/3	11
M1223	3/3	3/3	3/3	>1100	V1224	2/3	3/3	1/3	36
M1325	3/3	3/3	2/3	1100	V1326	2/3	2/3	0/3	21
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1									
M1427	3/3	2/3	2/3	210	V1428	3/3	2/3	2/3	210
Resultados obtenidos en ETAPA 2									
Código	Dilución			Resultados NMP/g	Código	Dilución			Resultados NMP/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
M1529	3/3	3/3	2/3	1100	M2236	2/3	2/3	1/3	28
M1630	2/3	1/3	2/3	27	M2337	0/3	1/3	0/3	3
M1731	3/3	2/3	2/3	210	M2438	2/3	2/3	0/3	21
M1832	3/3	2/3	2/3	210	M2539	1/3	2/3	0/3	11
M1933	0/3	0/3	1/3	3	M2640	2/3	2/3	1/3	28
M2034	1/3	2/3	0/3	11	M2741	2/3	2/3	0/3	21

Tabla N° 16 (Continuación)

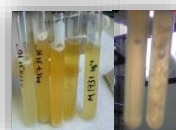
Código	Dilución			Resultados NMP/g	Código	Dilución			Resultados NMP/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
M2135	0/3	2/3	0/3	6.2	M2842	1/3	2/3	0/3	11
RESULTADOS OBTENIDOS EN MUESTRA DE REFERENCIA ETAPA 2									
M2943	3/3	3/3	2/3	1100					

*M: Músculo; V: Vísceras

En la Tabla N° 16 se observan los resultados obtenidos para Coliformes Fecales en el cual refleja que todas la muestras analizadas presentan Coliformes fecales pero solo el 23% sobrepasa los límites máximos permisibles según lo especificado en el RTCA 67.04.50.08 por lo tanto estas muestras no cumplen debido que hay presencia de contaminación de origen fecal cuya principal fuente de contaminación es el agua del mar seguido de una manipulación inadecuada y malas prácticas higiénicas por parte de los comerciantes, y el otro 77% de las muestras analizadas se encuentran dentro de los límites permisibles . (Ver anexo N° 20). Para poder determinar y cuantificar Coliformes Fecales se realizó mediante el Método del Número Más Probable el cual se realizaron diluciones con Agua Peptonada utilizando tres tubos por dilución (dilución 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³). Primero se inoculó en caldo LMX los cuales dieron prueba positiva para Coliformes Totales presentando una coloración verde-azulado, a partir de estos tubos positivos se sembró en caldo EC posterior al tiempo de incubación se verificó la presencia de gas en la campana de durham, lo cual indica prueba positiva para Coliformes Fecales. (Ver anexo N° 7 y ver figura N° 27)



a)



b)

Figura N° 27: a) prueba positiva para Coliformes Totales (coloración verde azulado);
b) Prueba Positiva para Coliformes Fecales (presencia de gas)

DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE *Escherichia coli*

Tabla N° 17: Resultados de las muestras de músculo y vísceras de pescado crudo / muestras de referencia para *Escherichia coli*

Especificación para <i>Escherichia coli</i> según RTCA 67.04.50:08 = < 3 NMP/g									
RESULTADOS OBTENIDOS EN ETAPA 1									
Código	Dilución			Resultados NMP/g	Código	Dilución			Resultados NMP/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
M0101	3/3	3/3	2/3	1100	V0102	3/3	3/3	0/3	240
M0203	3/3	3/3	2/3	1100	V0204	3/3	2/3	1/3	150
M0305	3/3	3/3	2/3	1100	V0306	3/3	3/3	1/3	460
M0407	3/3	3/3	3/3	>1100	V0408	2/3	2/3	1/3	28
M0509	3/3	3/3	1/3	460	V0510	3/3	2/3	1/3	150
M0611	3/3	3/3	1/3	460	V0612	3/3	2/3	1/3	150
M0713	3/3	3/3	1/3	460	V0714	3/3	2/3	0/3	93
M0815	3/3	3/3	3/3	>1100	V0816	3/3	3/3	3/3	>1100
M0917	3/3	3/3	2/3	1100	V0918	3/3	3/3	2/3	1100
M1019	2/3	1/3	1/3	75	V1020	3/3	3/3	3/3	>1100
M1121	2/3	2/3	0/3	21	V1122	3/3	3/3	3/3	>1100
M1223	3/3	2/3	2/3	210	V1224	3/3	3/3	3/3	>1100
M1325	3/3	1/3	2/3	120	V1326	2/3	1/3	1/3	20
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1									
M1427	3/3	2/3	2/3	210	V1428	3/3	2/3	2/3	210
Resultados obtenidos en ETAPA 2									
Código	Dilución			Resultados NMP/g	Código	Dilución			Resultados NMP/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
M1529	2/3	1/3	1/3	20	M2236	2/3	2/3	1/3	28
M1630	3/3	3/3	2/3	1100	M2337	2/3	2/3	1/3	28
M1731	2/3	2/3	1/3	28	M2438	3/3	3/3	2/3	1100
M1832	2/3	2/3	1/3	28	M2539	2/3	2/3	1/3	28
M1933	1/3	1/3	1/3	11	M2640	3/3	3/3	2/3	1100

Tabla N°17 (Continuación)

Código	Dilución			Resultados NMP/g	Código	Dilución			Resultados NMP/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
M2034	3/3	3/3	1/3	460	M2741	3/3	2/3	2/3	210
M2135	3/3	2/3	1/3	150	M2842	2/3	2/3	1/3	28
RESULTADOS OBTENIDOS EN MUESTRA DE REFERENCIA ETAPA 2									
M2943	3/3	3/3	2/3	1100					

*M: Músculo; V: Vísceras

En la tabla N° 17 se observan los resultados para *E. coli*, el 100% de las muestras no cumplen con la especificación del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 (ver anexo N° 21) debido que presentan contaminación de origen fecal, lo que se atribuye a la mala higiene por parte de los manipuladores debido que la misma persona que manipula el producto manipula el dinero, además los desechos de pescado o vísceras se arrojan al mar lo que influye a que la contaminación inicial aumente, además de un almacenamiento inadecuado de los productos, utensilios sucios y no sanitizados, y el hielo utilizado, del cual se desconoce su procedencia. La muestra de referencia no cumple con lo especificado en el RTCA 67.04.50:08 debido que sobrepasa los límites máximos permisibles que son menor de 3 NMP/g. (Ver anexo N° 15)

Mediante el Método del Número Más Probable (NMP) se determinó y cuantificó, utilizando diluciones seriadas 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ en Agua Peptonada y posteriormente inoculando en tubos de ensayos con caldo LMX, posterior a su incubación se observó una coloración verde azulado el cual indica prueba positiva para Coliformes Totales, a partir de estos tubos positivos se verifico la presencia de *E. coli* por medio de fluorescencia a través de luz Ultravioleta (UV) (ver figura N° 28), el cual se confirmó a partir de estos tubos, sembrando en agar EMB y posterior a su incubación se verificó el crecimiento de colonias planas con una coloración verde metálico (ver figura N° 29)

Además se confirmó mediante la adición del reactivo de KOVAC a los tubos positivos para Coliformes Totales, el cual forma un anillo color violeta en la interfase del medio indicando prueba positiva para *Escherichia coli*. (ver figura N°30).



Figura N° 28 Prueba positiva para *Escherichia coli*, se observa fluorescencia a través de luz UV

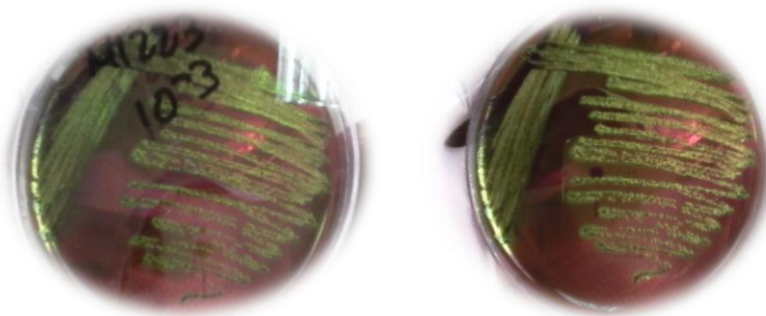


Figura N° 29: Prueba positiva para *E. coli* en agar EMB (colonias de color verde metálico)



Figura N° 30: Formación de un anillo color violeta en la inter-fase del medio, indica prueba positiva para *E. coli*

Tabla N° 18: Resumen de resultados obtenidos de las muestras de músculo y vísceras de pescado crudo comparados con especificaciones de RTCA 67.04.50:08

RESUMEN DE RESULTADOS ETAPA 1												
Especie	Código	Especificación según RTCA 67.04.50:08					Código	Especificación según RTCA 67.04.50:08				
		Salmo	Vc	S. a.	C. T.	E. coli		Salmo	Vc	S. a.	C. T.	E. coli
		A	A	10 - 10 ² UFC/g	3 - 460 NMP/g	< 3 NMP/g		A	A	10-10 ² UFC/g	3 - 460 NMP/g	< 3 NMP/g
Corvina	M0101	A	A	< 10	290	1100	V0102	P	A	< 10	29	240
Robalo	M0203	A	A	< 10	460	1100	V0204	A	A	< 10	1100	150
Boca colorada	M0305	P	A	< 10	1100	1100	V0306	A	A	< 10	28	460
Mojarra	M0407	A	A	< 10	1100	>1100	V0408	A	A	< 10	>1100	28
Corvina	M0509	P	A	< 10	64	460	V0510	A	A	< 10	29	150
Bagre	M0611	A	A	< 10	>1100	460	V0612	P	A	< 10	1100	150
Tamalito	M0713	A	A	< 10	240	460	V0714	P	A	< 10	150	93
Queen	M0815	P	A	< 10	150	>1100	V0816	A	A	< 10	7.4	>1100
Corvina	M0917	A	A	< 10	150	1100	V0918	A	A	< 10	20	1100
Robalo	M1019	A	A	< 10	93	75	V1020	A	A	< 10	23	>1100
Boca negra	M1121	A	A	< 10	28	21	V1122	A	A	< 10	11	>1100
Barbona	M1223	A	A	< 10	>1100	210	V1224	P	A	< 10	36	>1100
Queen	M1325	A	A	< 10	1100	120	V1326	P	A	< 10	21	20
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1												
Boca colorada	M1427	A	A	< 10	20	210	V1428	P	A	< 10	20	210

A: Ausencia; P: Presencia; M: Músculo; V: Vísceras; Salmo: *Salmonella sp*; V. c.: *Vibrio cholerae*; S. a.: *Staphylococcus aureus*; C. T.: *Coliformes Totales*; E. coli: *Escherichia coli*

Tabla N° 18 (Continuación)

RESULTADOS ETAPA 2						
Especie	Código	Especificación según RTCA 67.04.50:08				
		<i>Salmo</i>	<i>Vc</i>	<i>S. a</i>	<i>C. T</i>	<i>E. coli</i>
		A	A	10-10 ² UFC/g	3-460 NMP/g	< 3 NMP/g
Lonja de raya	M1529	A	A	< 10	1100	20
Queen	M1630	A	A	< 10	27	1100
Luna	M1731	P	A	< 10	210	28
Lonja de Tiburón	M1832	A	A	< 10	210	29
Bagre	M1933	A	A	< 10	3	11
Picuda	M2034	P	A	< 10	11	460
Tamalito	M2135	A	A	< 10	6.2	150
Lenguado	M2236	A	A	< 10	28	28
Boca Colorada	M2337	A	A	< 10	3	28
Corvina	M2438	P	A	< 10	21	1100
Queen	M2539	A	A	< 10	11	28
Filete de Corvina	M2640	A	A	< 10	28	1100
Robalo	M2741	A	A	< 10	21	210
Bagre	M2842	A	A	< 10	11	28
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 2						
Corvina	M2943	A	A	< 10	1100	1100

A: Ausencia; P: Presencia; M: Músculo; *Salmo*: *Salmonella sp*; *V. c.*: *Vibrio cholerae*; *S. a.*: *Staphylococcus aureus*; *C. T.*: *Coliformes Totales*; *E. coli*: *Escherichia coli*

En la tabla N° 18, se observa el resumen de los resultados obtenidos de las muestras de músculo y vísceras de pescado crudo, y las muestras de referencia, en el cual se refleja que de las 43 muestras analizadas en total ninguna cumple con las especificaciones establecidas por Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 debido que todas la muestras sobrepasan los límites máximos permisibles para *Escherichia coli* siendo este un contaminante de origen fecal es decir su hábitat es el intestino por lo tanto se puede encontrar en las heces del ser humano o de animales por lo cual una fuente de contaminación es el agua del mar ya que en el desembocan diferentes ríos que están contaminados con descargas fecales, además los manipuladores arrojan las vísceras de los pescado y otros desperdicios, agregando las malas prácticas higiénicas de manipulación y almacenamiento del producto; el conjunto de todos estos malos hábitos higiénicos contribuye al crecimiento de otras bacterias en los alimentos que afecta directamente la salud del consumidor por lo tanto no son aptas para consumo humano. En las muestras, se logró determinar la presencia de Coliformes Totales, *Pseudomona spp*, *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp* y *Klebsiella spp* (excepto en los códigos V0102, M0305, M0509, V0713, V0714, M0815, V1224, V1326, V1428, M1630, M2034, M2438, M2640 que se determinó la presencia de *Salmonella spp*).

RESUMEN PORCENTUAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS 43 MUESTRAS ANALIZADAS.

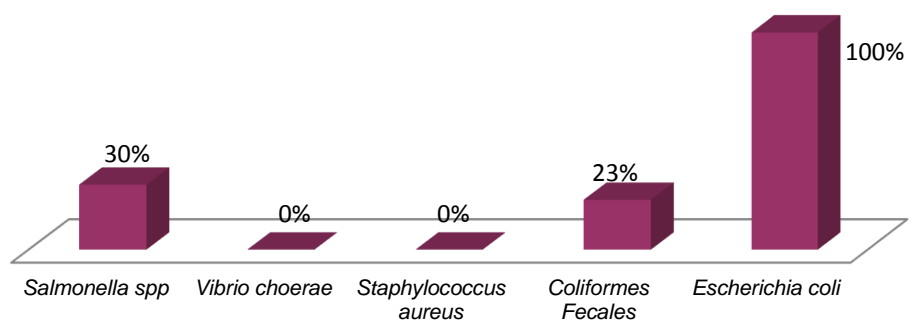


Figura N° 31: Gráfico de los porcentajes obtenidos de las 43 muestras analizadas que no cumplen con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08

En la figura N° 31 se representan los resultados de las 43 muestras analizadas en donde el 30% de las muestras no cumple con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp*, el 23 % no cumple con los parámetros máximos permisibles para Coliformes Fecales, el 100% de las muestras sobrepasan los límites para *Escherichia coli* y el 100% de las muestras analizadas cumple para *Vibrio cholerae* y *Staphylococcus aureus*.

De acuerdo a lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 para el “Sub grupo de alimento: 9.1 de pescado y productos pesqueros frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos, empacados” se tiene que las muestras analizadas no son aptas para consumo humano.

RESULTADO PORCENTUAL OBTENIDOS EN ETAPA 1

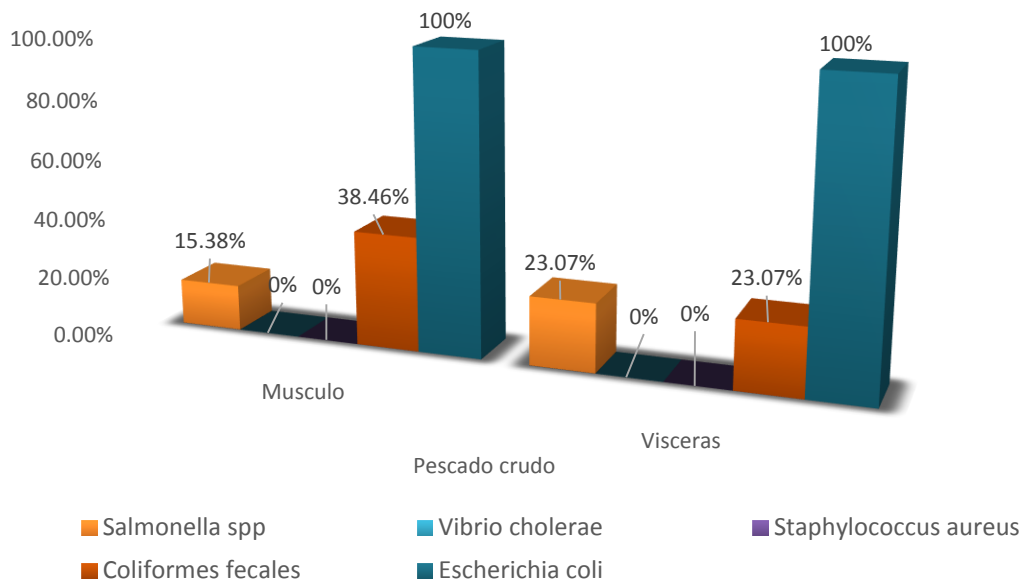


Figura N°32: Gráfica de comparación de resultados de muestras de pescado crudo que no cumplen con especificaciones de RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y Coliformes fecales. Etapa 1

En la figura N° 32 se observan los resultados obtenidos en escala porcentual de la etapa 1 y se tiene que el 15.38% presenta *Salmonella spp*, todas las muestras analizadas presentan ausencia de *S. aureus* y *V. cholerae*; el 38.4% sobrepasa los límites máximos permisibles para Coliformes Fecales y en general el 100% de las muestras no cumplen las especificaciones del RTCA 67.04.50:08 para *E. coli*; con respecto a la muestra de referencia presenta ausencia de *Salmonella spp*, *V. cholerae* y *S. aureus*; para Coliformes Fecales se encuentra dentro del rango establecido por el RTCA 67.04.50:08 y para *E. coli* sobrepasa los límites establecidos, por lo que indica que las muestras analizadas presentan una carga microbiana inicial debido al medio de donde provienen ya que el mar es muy complejo en el cual desembocan muchos ríos que presentan descargas fecales, además de la contaminación que se ejerce de los comerciantes al arrojar desperdicios o vísceras al mar.

RESULTADO PORCENTUAL OBTENIDO EN ETAPA 2

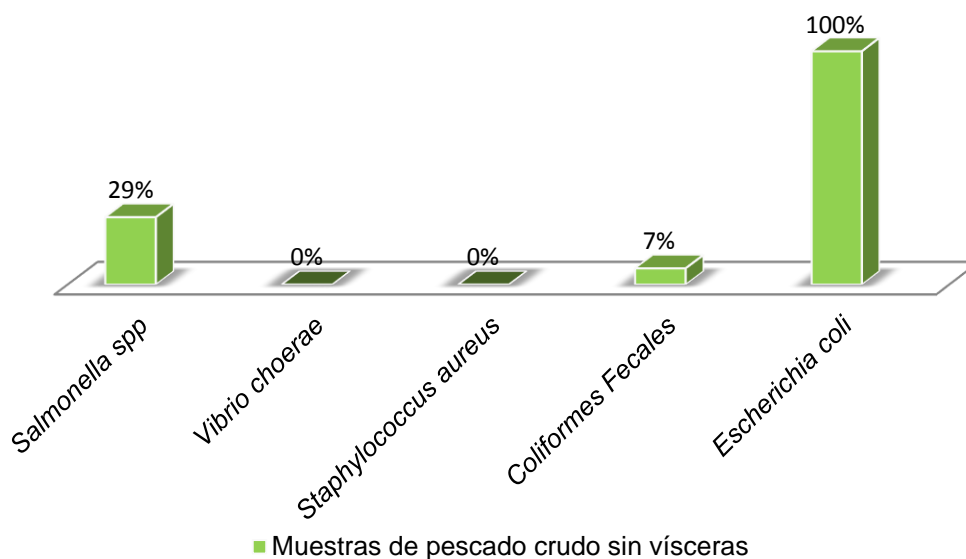


Figura N°33: Gráfica de Porcentaje de resultados de muestras de pescado crudo que no cumplen con RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y Coliformes fecales. Etapa 2.

En la figura N° 33 se observa los resultados de las Muestras de pescado crudo analizados en la etapa 2 y se tiene que el 29% presenta *Salmonella spp*, todas las muestras presenta Coliformes Fecales pero solo el 7% sobrepasa los límites establecido según RTCA 76.04.50:08 y el 100% presenta *E. coli*, con respecto a los resultados de la muestra de referencia se tiene que sobrepasan los límites máximos permisibles para Coliformes Fecales y *E. coli* esto es debido que la muestra de referencia, en el proceso de eviscerado se realiza en una mesa con condiciones insalubres como se verificó en la “*Guía de observación y de inspección de las condiciones sanitarias y de almacenamiento de los establecimiento*” por lo cual aumenta la carga microbiana inicial debido a las malas prácticas de manipulación, de almacenamiento y la falta de higiene de los manipuladores.

Los resultados obtenidos se entregaron a la defensoría del consumidor para que ellos tomen las medidas pertinentes y de esta manera mejorar la calidad de los productos pesqueros comercializados en el Muelle del Puerto de La Libertad y así tener una garantía de que los alimentos una vez ingeridos no representen un riesgo apreciable para la salud del consumidor (Ver anexo N° 26).

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Debido a la falta de conocimiento por parte de los comerciantes sobre las Buenas Prácticas higiénicas y de almacenamiento, se comercializa diversidad de producto pesquero en condiciones inadecuadas, según datos obtenidos en la guía de observación y de inspección, lo cual influye en que los alimentos no sean inocuos y aptos para consumo humano.
2. En la determinación de *Salmonella spp* el 30% de las muestras analizadas presentan este microorganismo por lo que indica que hay contaminación cruzada, mala higiene de los manipuladores y además el hielo utilizado para mantener la temperatura se desconoce su procedencia.
3. El 100% de las muestras analizadas de pescado crudo y la muestra de referencia dieron como resultado ausencia para *Staphylococcus aureus*, representado en los resultados con un valor <10 UFC/g de muestra por lo que cumple con los parámetros establecidos del RTCA 67.04.50:08, esto es debido a que los manipuladores no presentaban heridas visibles, síntomas de gripe o manipulación de la mucosa nasal.
4. El 100% de las muestras analizadas cumple con lo especificado en el RTCA 67.04.50:08 para *Vibrio cholerae* ya que presenta ausencia, pero se sospecha la presencia de otras especies de vibrios, que podrían provenir principalmente del agua del mar, debido a que en él desembocan muchos ríos que contienen descargas fecales además las vísceras de los pescado y todos los desechos que se generan de los productos pesqueros son arrojados al mar lo que genera contaminación.
5. Para Coliformes Fecales el 37% de las muestras analizadas presentan valores >460 NMP/g por lo que no cumplen con las especificaciones del

RTCA 67.04.50:08 y el 100% sobrepasan los límites máximos permisibles para *Escherichia coli* por lo tanto las muestras analizadas no son aptas para consumo humano, debido a las malas prácticas de manipulación, de almacenamiento, las condiciones de captura, entre otras causas posibles como el tipo de alimentación.

6. Al comparar los establecimientos de Ventas fijas y ventas en barco de pesca artesanal se tiene que estos establecimientos no cumplen con las buenas prácticas de manipulación, higiene y almacenamiento debido que las condiciones son insalubres por lo tanto esto afecta que los alimentos no cumplan con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08.
7. En general los resultados obtenidos se tiene que de la totalidad de las muestras analizadas no cumplen con los parámetros establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 debido que sobrepasan los límites máximos permisibles para el “*Sub grupo de alimento: 9.1 de pescado y productos pesqueros frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos, empacados*” por lo que estos productos no son aptos para consumo humano debido a que ponen en riesgo la salud del consumidor.
8. La presencia de otras bacterias como Coliformes Totales: *Citrobacter spp* (Corvina, Boca colorada, Mojarra, Bagre, Tamalito, Queen, Robalo, Boca negra, Barbona, Lonja de raya, Luna, Lonja de tiburón y Lenguado), *Enterobacter spp* (Robalo), *Klebsiella spp* (Boca negra, Boca colorada y Corvina), *Proteus spp* (Corvina y Robalo), *Pseudomona spp* (Boca negra y Queen), confirman que hay contaminación de origen fecal en las muestras analizadas debido a la manipulación inadecuada del producto,

hielo de procedencia desconocida, descarte incorrecto de las vísceras, utensilios sucios, entre otros.

9. En el desarrollo de la investigación se analizaron las vísceras extraídas de las diferentes especies en la etapa 1; debido que estas son una fuente de contaminación ya que las bacterias se encuentran principalmente en el tracto intestinal, branquias y el moco superficial que pueden causar contaminación cruzada en el momento de la evisceración por lo tanto afecta la calidad microbiológica del pescado; siendo así que todas las muestras analizadas no cumplen con la especificación establecida por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que la defensoría del consumidor monitoree los establecimientos de venta fijas y barcos de pesca artesanal para verificar el cumplimiento de las buenas prácticas de manipulación, almacenamiento de los productos pesqueros.
2. Gestionar a través de la alcaldía de La Libertad para que se realicen campañas de limpieza en el muelle del puerto de la libertad y de esta manera disminuir fuentes de contaminación.
3. Gestionar al Ministerio de Salud por medio de la cooperativa de pescadores, para que se realice un control de calidad microbiológico del hielo que abastece a todos los comerciantes y pescadores.
4. Que la defensoría del consumidor imparta capacitaciones sobre las Buenas prácticas de Manipulación, almacenamiento, limpieza y desinfección de áreas y equipos a la cooperativa de pescadores, y a su vez esta última entidad transmita la información a todos los comerciantes y pescadores del Muelle.
5. Que la cooperativa suministre a los pescadores hieleras de material de plástico para sus barcos y así facilitar la limpieza y desinfección del área.
6. A los consumidores de esta clase de productos pesqueros, cocinarlos adecuadamente debido que muchos de los microorganismos encontrados son sensibles a temperaturas altas y por lo tanto hay menos probabilidad de causar daños a la salud.

7. Que futuras investigaciones de pregrado den seguimiento al presente trabajo realizando un estudio en la determinación de las diferentes especies de vibrios.

8. Que futuras investigaciones realicen un estudio de parámetros químicos del pescado como identificación y cuantificación de metales pesados ya que el mar es un hábitat muy complejo en el que desembocan muchos ríos que a su vez estos sirven como descarte de productos químicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Amorín, M. (2013). Valoración microbiológica en superficie de la piel y cavidad abdominal durante el proceso de putrefacción en especies de Pescados dulceacuícolas de valor comercial del río Uruguay (Tesis de Grado). Universidad de La Republica, Montevideo, Uruguay. Abril, 10, 2015. Sitio web: http://www.fvet.edu.uy/drupal-6.16/sites/default/files/biblio_AmorinS.pdf
2. Bailón, L., Cruz, R. & Cervantes, A.(2003). Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. Universidad Nacional Autónoma de México. Abril, 20, 2015. Sitio web: https://www.academia.edu/4858992/Atlas_de_pruebas_bioquimicas_para_identificar_bacterias
3. Breed, R.. (1957). Bergey's manual of determinative bacteriology. Revisado: abril, 22, 2013. De http://www.uiweb.uidaho.edu/micro_biology/250/IDFlowcharts.pdf
4. Brooks, G, Butel, J. & Morse, S.. (1999). Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg (pp. 241, 242, 244, 245, 269, 291, 292, 293.). (Trad.) México: Editorial Manual Modern.
5. Caffer, M., González, Terragno, R., S., Viñas, M., Pichel, M. & Binsztein, N. (2007). Manual de procedimientos: Aislamiento, identificación y caracterización del *Vibrio cholerae*. De Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur. Abril, 22, 2015. Sitio web:

http://www.inciensa.sa.cr/ensenanza/ensenanza_documentos/taller_colera/manuales%20y%20procedimientos%20de%20laboratorio/Aislamiento,%20identificacion%20y%20caracterizacion%20de%20Vibrio%20cholerae%202008%20I.%20Malbran.pdf

6. Corrales, L., Alvarado, M., Castillo, L. & Camacho, Y. (2011). Estudio bacteriológico de la calidad del pescado fresco, Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*) comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia). Recuperado: febrero, 16, 2015. Sitio web: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTORIG4_PESCADO.pdf
7. Durazo, E..(2006). Aprovechamiento de productos pesqueros. Recuperado: marzo, 25, 2015. De https://books.google.com.sv/books?id=MeI25-Pk6kwC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
8. FAO (1994). Informes nacionales y documentos seleccionados presentados en la cuarta reunión del Grupo de trabajo sobre tecnología pesquera. Comisión de pesca continental para América Latina (Informe de pesca N°476, sup.). Marzo, 20, 2015. Sitio web: <https://books.google.com.sv/books?id=gUzw4YI2CEoC&pg=PA105&dq=cambios+post+mortem+en+el+pescado&hl=es&sa=X&ei=cBkGVaSBItTLsASf0YCoDQ&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q=cambios%20post%20mortem%20en%20el%20pescado&f=false>

9. FAO Fisheries and Aquaculture Department (FI). (2005). Main elements of fish muscle. Abril, 14, 2015, de Food and Agriculture Organization of the United Nations Sitio web: <http://www.fao.org/fishery/topic/14825/en>
10. FAO Fisheries and Aquaculture Department. (2005). Lipids. abril, 14, 2015, de Food and Agriculture Organization of the United Nations Sitio web: <http://www.fao.org/fishery/topic/14826/en>
11. FAO Fisheries and Aquaculture Department. (2005). Cambios post – mortem en el pescado. Abril, 14, 2015, de Food and Agriculture Organization of the United Nations. Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/v7180s06.htm#5.1%20cambios%20sensoriales>
12. FECOOPAZ de R.L.. (2001). Propuesta de reformas a la Ley de general de ordenación y promoción de pesca y acuicultura. Abril, 15, 2015. Federación de Cooperativas de Producción y Servicios Pesqueros La Paz. Sitio web: <http://propesca.org/sites/default/files//propuesta-reforma-lei.pdf>
13. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria. marzo, 26, 2015, de FDA Sitio web: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>
14. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Food Sampling/ Preparation of Sample Homogenate. Marzo, 26, 2015. Sitio web:

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063335.htm>

15. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Salmonella. Marzo, 27, 2015. Sitio web: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm#Prep>

16. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Vibrio. Marzo, 27, 2015. Sitio web: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070830.htm>

17. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM: Staphylococcus aureus. Marzo, 27, 2015. Sitio web: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>

18. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM R12: Catalase test. Marzo, 28, 2015. Sitio web: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm061210.htm>

19. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. & Burkhardt, W.. (2002). BAM Appendix 2: Most probable number from serial dilutions. Marzo, 28, 2015. Sitio web: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm#tab2>

20. Frazier, W. & Westhoff, D. (2003). Microbiología de los alimentos. España. Editorial Acriba, s.a. 4ta edición.
21. Granados, R. & Villaverde, M.. (2003). Microbiología Tomo I: Bacteriología. Características y clasificación bacteriana, Virología. Características y técnicas bioquímicas. De https://books.google.com/sv/books?id=sUrlecdf_O8C&printsec=frontcover&dq=morfologia+microscopica+y+macroscopica+de+enterobacterias&hl=es&sa=X&ei=1HoXVeP9Hc38gwSB14OwBw&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q&f=true
22. Hernández, A.. (2010). Pescados y Mariscos. En Tratado de Nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos, Volumen 2(pp.58-69). Recuperado: marzo, 25, 2015. De https://books.google.com/sv/books?id=hcwBJ0FNvqYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
23. Huss, H.H. . (1999). El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. Abril, 13, 2015, de Laboratorio Tecnológico Ministerio de Pesca Dinamarca Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm>
24. Iriate, M.. (Diciembre, 2012). Manipulación del pescado fresco a bordo de embarcaciones de media altura de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta (Venezuela). Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, Vol.: 43, n.2, pp. 59-65. febrero, 18, 2015, De Scielo Venezuela Base de datos.

25. Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. & Winn, W.. (1999). Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas color (pp.196, 205). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
26. Kopper, G., Calderón, G., Schneider, S., Domínguez, W. & Gutiérrez, G., (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico: Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. (Informe técnico sobre ingeniería agrícola y alimentaria 6). Roma, Italia. Rosell, Cadmo. (pp. 67-120). Abril, 18, 2015. De FAO. Sitio web: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s03.pdf>
27. Massa, A. (2006). Cambios bioquímicos post-mortem en músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío (Tesis para Doctor). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
28. Mac Faddin, J.. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia Clínica. Argentina: Editorial Médica Panamericana. Abril, 16, 2015. Sitio web: <https://books.google.com.sv/books?id=FYWSzy7EjR0C&pg=PA223&dq=pruebas+bioquimicas+para+enterobacterias&hl=es&sa=X&ei=YVEnVOqOoOvsAWJ34HADA&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=pruebas%20bioquimicas%20para%20enterobacterias&f=false>
29. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). (2006). Estadísticas pesqueras y acuícolas. Vol. 33. Abril, 10, 2015, de Centro de desarrollo de la pesca y acuicultura (CENDEPESCA). Sitio web:

[http://lotus.mag.gob.sv/intranet/documen.nsf/0/057219358071646F062579AA005873BA/\\$file/file_1708.pdf](http://lotus.mag.gob.sv/intranet/documen.nsf/0/057219358071646F062579AA005873BA/$file/file_1708.pdf)

30. Miranda, K. (2009). Elaboración de una propuesta de procedimientos para la inspección y control higiénico – sanitario de los establecimientos que elaboran atún en conserva (Tesis de grado). Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer, El Salvador.

31. MINECO (Ministerio de Economía), CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), MIFIC (Ministerio de Fomento, Industria y Comercio), SIC (Secretaría de Industria y Comercio), MEIC (Ministerio de Economía, Industria y Comercio). (2009). Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Febrero, 15, 2015, de Reglamento Técnico Centroamericano. Sitio web: http://www.cacia.org/documentos/Criterios_microbiologicos.pdf

32. Ministerio de Salud (MINSAL), Dirección Vigilancia Sanitaria. (2015), Boletín epidemiológico semana 22/2015. Junio, 14, 2015. Sitio web: http://www.paho.org/els/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=1640&Itemid=99999999

33. Ministerio de Salud (MINSAL), Dirección Vigilancia Sanitaria. (2015), Boletín epidemiológico semana 23/2015. Junio, 14, 2015. Sitio web: http://www.salud.gob.sv/archivos/vigi_epide2015/boletines_epidemiologicos2015/Boletin_epidemiologico_SE232015.pdf

34. Morales, G., Blanco, L., Arias, M. & Chaves, C.. (Diciembre, 2004). Evaluación de la calidad bacteriológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica. Archivos

Latinoamericanos de Nutrición, vol.: 54, n.4, pp. 433-437. febrero, 17, 2015, De Scielo Venezuela Base de datos.

35. Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. (2004). Enciclopedia of Food Microbiology. Reino Unido. Editorial: Elsevier. Vol. 1. (pp. 813). Marzo, 22, 2015. Sitio web: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122270703018456?np=y>

36. Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. (2004). Enciclopedia of Food Microbiology. Reino Unido. Editorial: Elsevier. Vol. 1. (pp. 806). Marzo, 22, 2015. Sitio web: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122270703006553>

37. Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. (2004). Enciclopedia of Food Microbiology. Reino Unido. Editorial: Elsevier. Vol. 1. (pp. 633). Marzo, 22, 2015. Sitio web: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122270703005304?np=y>

38. Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. (2004). Enciclopedia of Food Microbiology. Reino Unido. Editorial: Elsevier. Vol. 1. (pp. 1928). Marzo, 22, 2015. Sitio web: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122270703013659>

39. Romero, M. Y., Romero, M. H., (2012). Determinación del perfil bacteriológico de *Oreochromis niloticus* (TILAPIA) fresca y su respectiva agua de estanque proveniente del cantón Atiocoyo, municipio de San

Pablo Tacachico, La Libertad (Tesis de grado). Universidad de El Salvador. San salvador, El Salvador.

40. Sandoval, A. (1991). Manual N°8: Identificación y cuantificación de *Vibrio cholerae*. Mexico. De Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).
Sitio web: <http://bvs.per.paho.org/texcom/colera/AMSandoval.pdf>

41. Vivanco, M. (2005). Muestreo estadístico Diseño y aplicaciones. (pp 69,70) Santiago de Chile, Chile. Editorial universitaria. Primera edición.
Sitio web: https://books.google.com.sv/books?id=-_gr5l3LbpIC&pg=PA69&dq=muestreo+aleatorio+simple&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiX5qf8p6DKAhXEax4KHWueBXIQ6AEIGjAA#v=onepage&q=muestreo%20aleatorio%20simple&f=false

ANEXOS

ANEXO N° 1

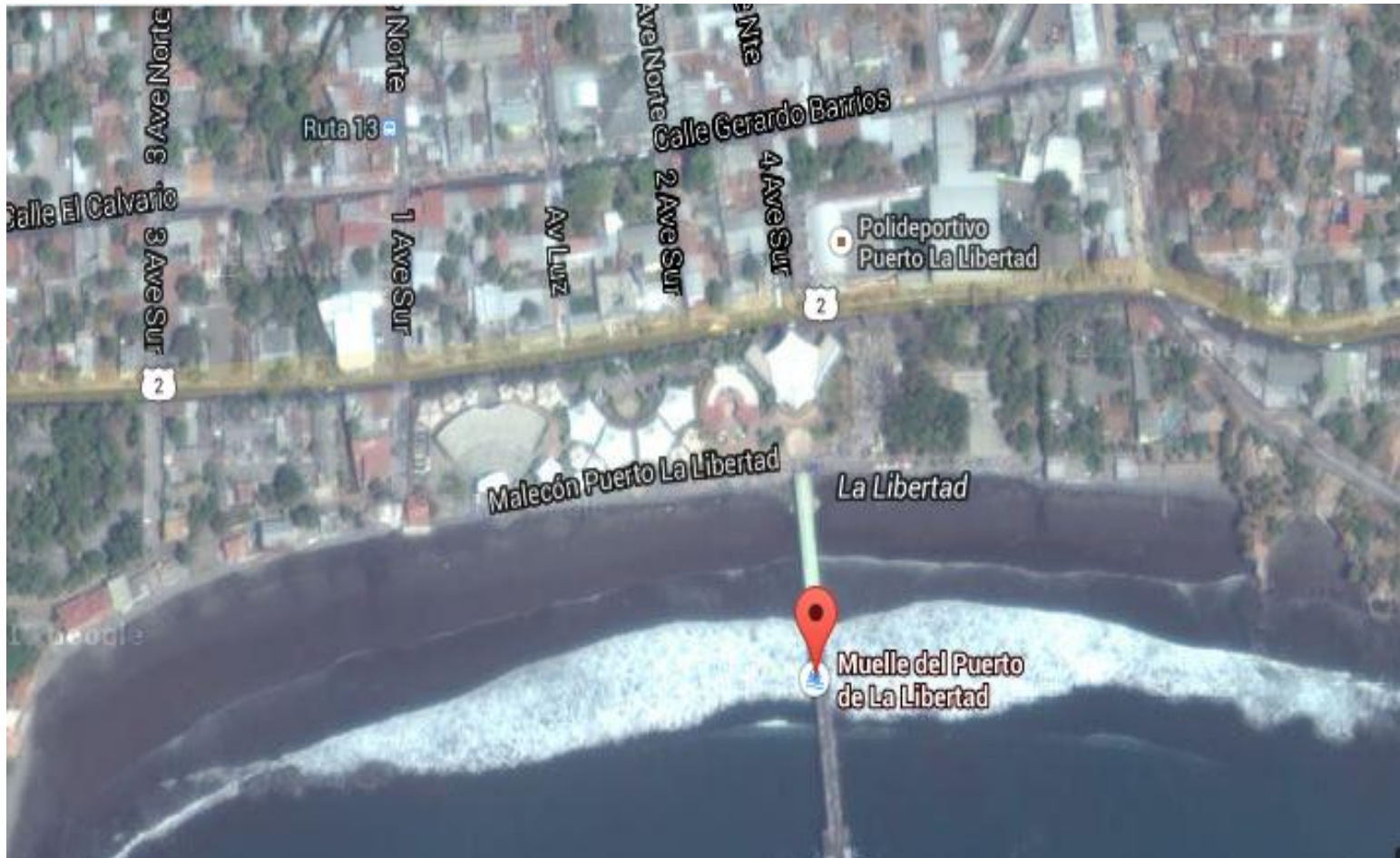


Figura N° 34. Ubicación Geográfica del Muelle del Puerto de la Libertad, La Libertad, El Salvador.

ANEXO N°2
GUIA DE OBSERVACION DE LAS DIFERENTES ESPECIES
COMERCIALIZADAS Y GUA DE OBSERVACION DE LAS
DIFERENTES ESPECIES SELECCIONADAS



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



**GUIA DE OBSERVACION DE LAS DIFERENTES
ESPECIES DE PESCADO COMERCIALIZADAS EN EL
MUELLE DEL PUERTO DE LA LIBERTAD.**

Objetivo: Conocer las diferentes especies de pescado crudo comercializadas en el Muelle del Puerto de la Libertad en Ventas fijas como en barco de pesca artesanal (lancha).

Nº de Venta	Especies de Pescados comercializados
Establecimientos de ventas fijas (ETAPA 1)	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 1) – Muestra de referencia	
14	



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



**GUIA DE OBSERVACION DE LAS DIFERENTES
ESPECIES DE PESCADO COMERCIALIZADAS EN EL
MUELLE DEL PUERTO DE LA LIBERTAD.**

Objetivo: Conocer las diferentes especies de pescado crudo comercializadas en el Muelle del Puerto de la Libertad en Ventas fijas como en barco de pesca artesanal (lancha).

Nº de Venta	Especies de Pescados comercializados
Establecimientos de ventas fijas (ETAPA 2)	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 2)- Muestra de referencia	
29	



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



**GUIA DE OBSERVACION DE LAS DIFERENTES
ESPECIES DE PESCADO SELECCIONADAS AL AZAR
EN LOS ESTABLECIMIENTOS FIJOS Y BARCO DE PESCA ARTESANAL**

Nº de Venta	Especie de pescado seleccionado	Observaciones
Establecimientos de ventas fija (ETAPA 1)		
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 1) - Muestra de referencia		
14		



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



**GUIA DE OBSERVACION DE LAS DIFERENTES
ESPECIES DE PESCADO SELECCIONADAS AL
AZAR EN LOS ESTABLECIMIENTOS FIJOS Y
BARCO DE PESCA ARTESANAL**

Nº de Venta	Especie de pescado seleccionado	Observaciones
Establecimientos de ventas fijas (ETAPA 2)		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
Venta en barco de pesca artesanal (ETAPA 2) - Muestra de referencia		
29		

ANEXO N° 3
GUIA DE INSPECCION PARA VERIFICAR LAS CONDICIONES
SANITARIAS Y ALMACENAMIENTO PARA VENTAS FIJAS Y BARCO
DE PESCA ARTESANAL



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



**GUIA DE INSPECCION PARA VERIFICAR LAS CONDICIONES
SANITARIAS Y ALMACENAMIENTO DEL PESCADO CRUDO
COMERCIALIZADO EN EL MUELLE DEL PUERTO DE LA LIBERTAD
(LOCALES FIJOS EN EL MUELLE).**

Objetivo: Conocer las condiciones sanitarias y de almacenamiento del pescado crudo comercializado en el muelle del puerto de La Libertad.

PARAMETROS A VERIFICAR EN LOS MANIPULADORES	SI	NO	OBSERVACIONES
Los manipuladores utilizan diferentes tipos de toallas para limpiar y secar los utensilios			
Los manipuladores presentan las siguientes características:			
◆ Uñas cortas, sin esmalte (en el caso de las mujeres)			
◆ Vestimenta limpia			
◆ Cabello recogido o gorro			
◆ Heridas a simple vista			
◆ Utilizan joyas (anillos, pulseras, reloj, entre otros)			
Utilizan, utensilios limpios para la manipulación del pescado y además estos son fácil de limpiar y desinfectar			
Utilizan diferentes utensilios para cada producto con el fin de evitar contaminación cruzada			
Utilizan tablas de plástico para picar			
¿Qué tipo de embalaje utilizan para la entrega del producto pesquero?			
◆ Periódico:			
◆ Bolsas plásticas:			

PARÁMETROS A VERIFICAR EN LOS PRODUCTOS	SI	NO	OBSERVACIONES
Los pescado se encuentra almacenado junto con otros productos			
Los pescado e encuentra a una temperatura adecuada (con hielo alrededor)			
Los pescados presentan algún daño físico o mucosidad excesiva en su superficie			
Los pescados se encuentran protegidos del sol, especifique.			
La superficie donde se manipulan los productos pequeros presenta las siguientes características:			
✓ Lisas			
✓ Plástico			
✓ Acero inoxidable			
✓ Madera			



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



**GUÍA DE OBSERVACION DE LAS
CONDICIONES SANITARIAS Y ALMACENAMIENTO DEL
PESCADO COMERCIALIZADO EN BARCOS DE PESCA ARTESANAL
<<LANCHAS>>.**



Objetivo: Conocer las condiciones sanitarias y de almacenamiento del pescado comercializado en los barcos de pesca artesanal.

PARAMETROS A VERIFICAR EN EL PRODUCTO	SI	NO	OBSERVACIONES
Se dispone de hielo para mantener una temperatura adecuada los productos pesqueros.			
Los productos pesqueros se encuentran almacenados con otros productos.			
El personal coloca los pescados en recipientes adecuados como por ejemplo: Hielera.			
Los productos pesqueros han sufrido alguna alteración en sus características organolépticas (color, olor, textura, entre otros).			

PARAMETROS A VERIFICAR EN EL TRANSPORTE DE LANCHAS	SI	NO	OBSERVACIONES
La superficie donde se manipulan los productos pesqueros presentan las siguientes características			
◆ Lisas			
◆ Plástico			
◆ Acero inoxidable			
◆ Madera			
◆ Fibra de vidrio			
La zona destinada para el almacenamiento del producto pesquero está libre de sufrir una presión excesiva.			
El transporte (lancha) presenta ángulos cerrados el cual facilita acumulación de suciedad.			
Dentro de la lancha se encuentran objetos o sustancias que pueden causar alguna contaminación cruzada con el producto pesquero.			

ANEXO N° 4

Tabla N° 19. Etiqueta de identificación para muestras a analizar

 <p>UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA</p> <p>ETIQUETA DE IDENTIFICACION</p> 		
Fecha de muestreo:	Hora de muestreo:	N° de muestreo:
Nombre de la muestra:		Lugar de muestreo:
Cantidad de la muestra:		Código de muestra:
Nombre del analista que realiza el muestreo:		
Nombre del analista que verifica el muestreo:		
Observaciones:		

 <p>UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA</p> <p>ETIQUETA DE IDENTIFICACION</p> 		
Fecha de muestreo:	Hora de muestreo:	N° de muestreo:
Nombre de la muestra:		Lugar de muestreo:
Cantidad de la muestra:		Código de muestra:
Nombre del analista que realiza el muestreo:		
Nombre del analista que verifica el muestreo:		
Observaciones:		

ANEXO N° 5

DILUCIONES PARA COLIFORMES TOTALES

Procedimiento:

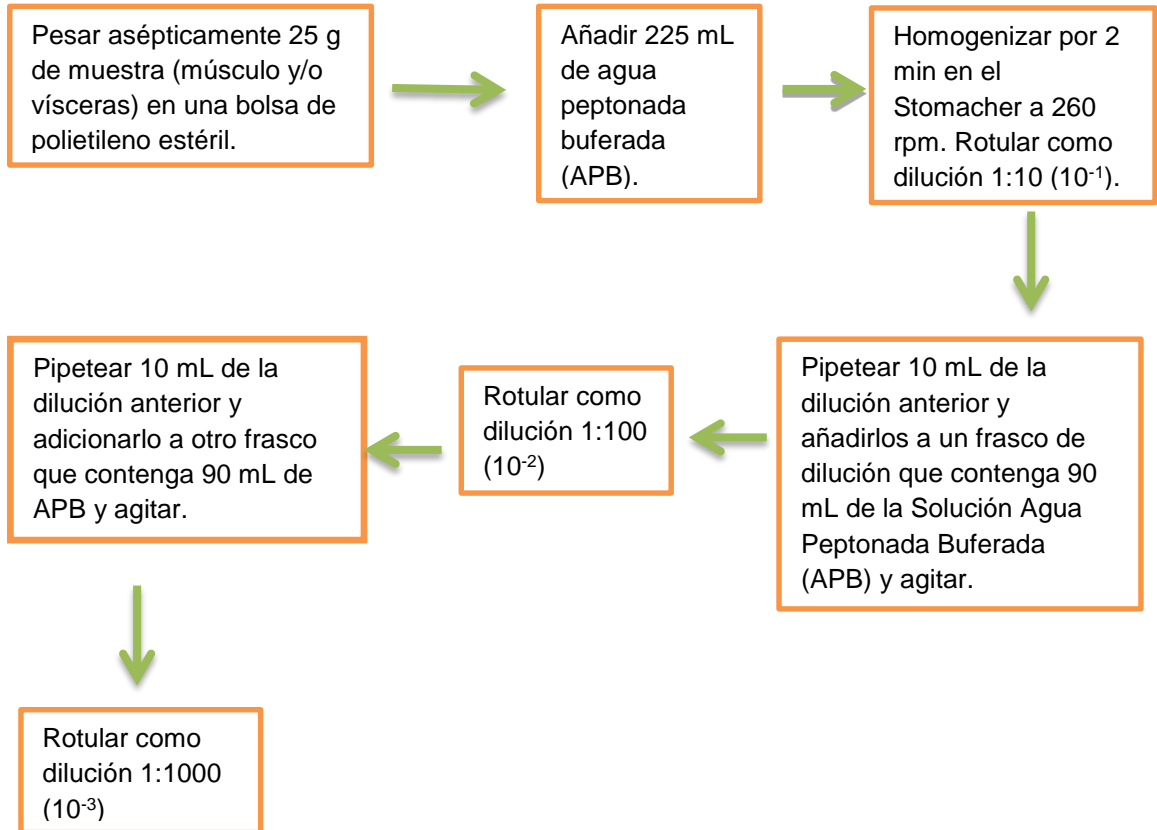


Figura N°35: Procedimiento para preparación de diluciones para Coliformes Totales.

ANEXO N° 6

DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE COLIFORMES TOTALES (3, 5,)

Procedimiento:

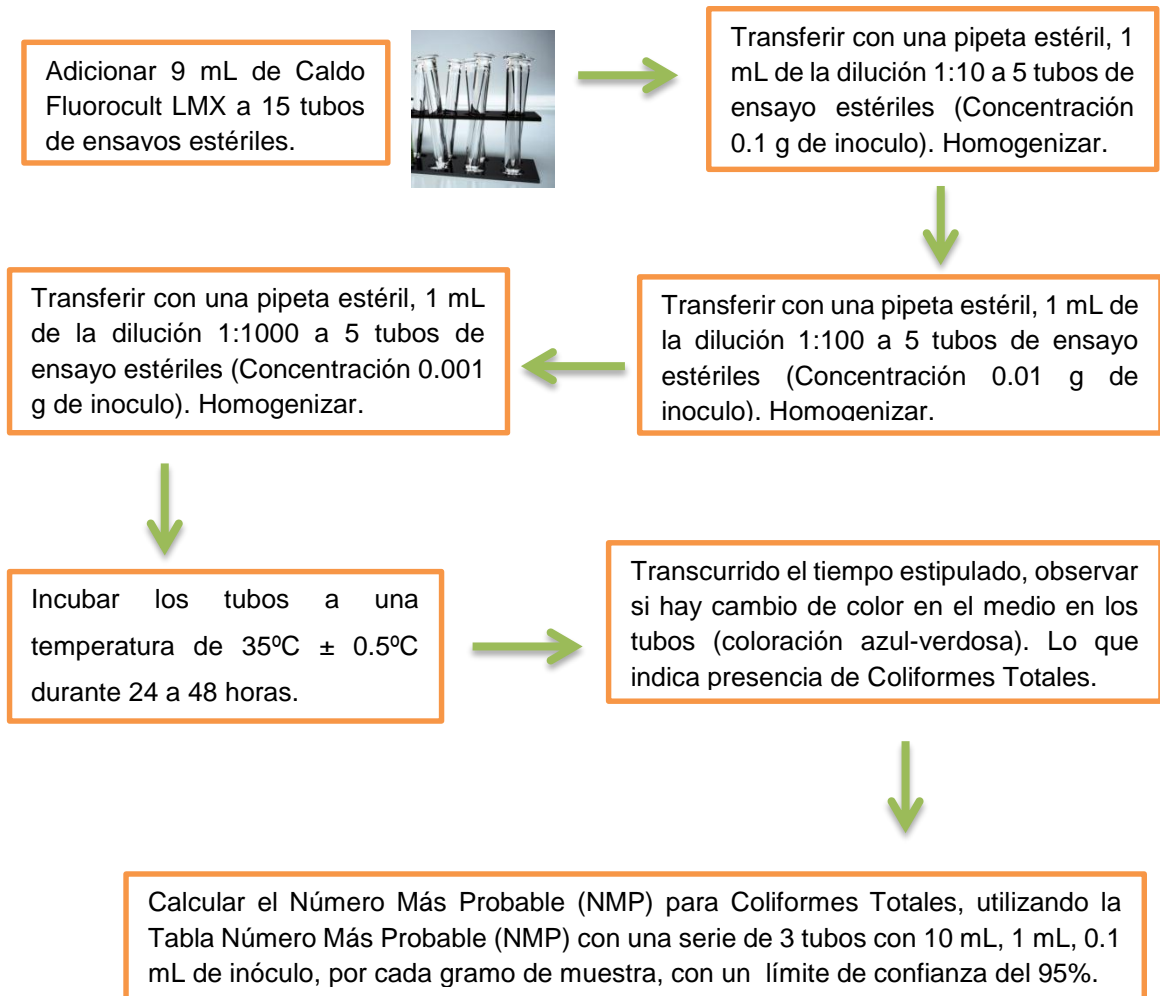


Figura N°36: Determinación y cuantificación de Coliformes Totales.

ANEXO Nº 7
DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE COLIFORMES FECALES Y
Escherichia coli

DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE COLIFORMES FECALES Y *Escherichia coli* (3, 5, 12)

Procedimiento:

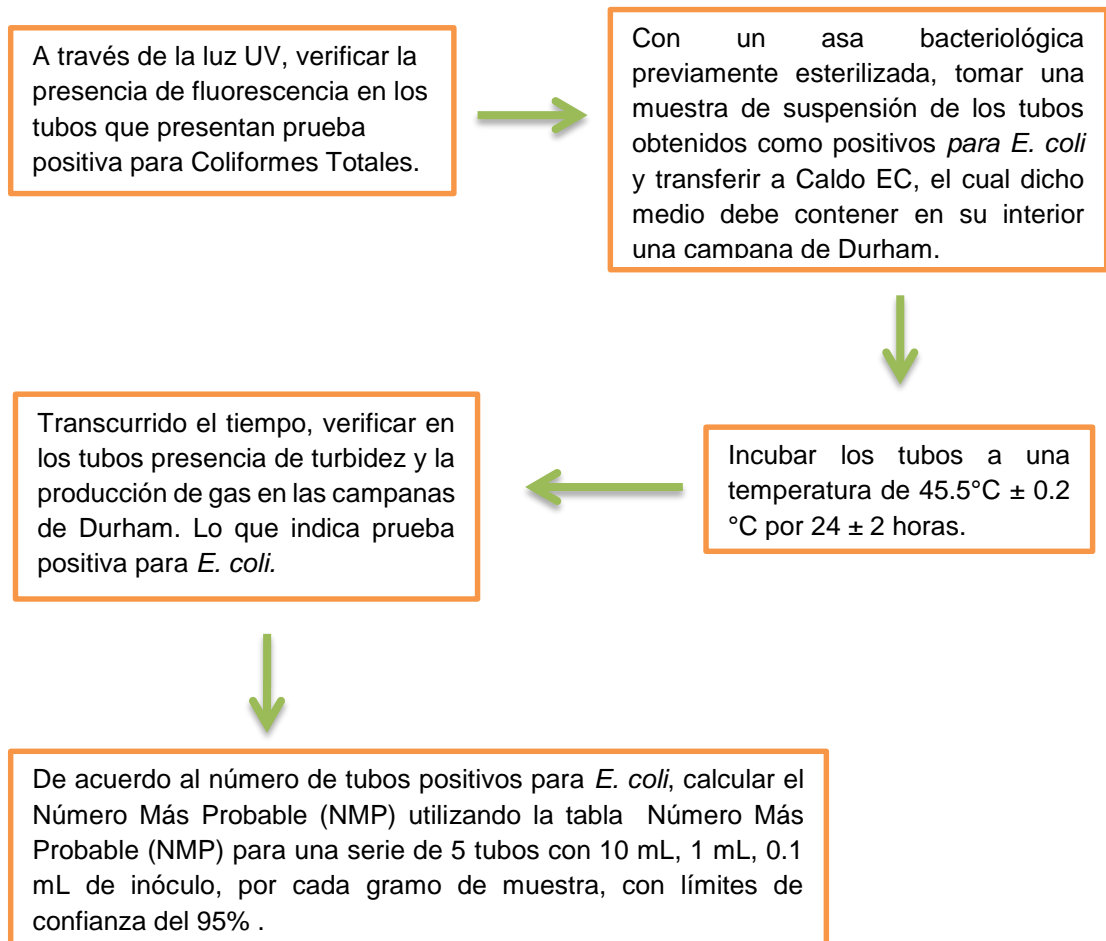


Figura N°37: Determinación y cuantificación de Coliformes Fecales.

Determinación de *Escherichia coli*. (5)

Procedimiento:

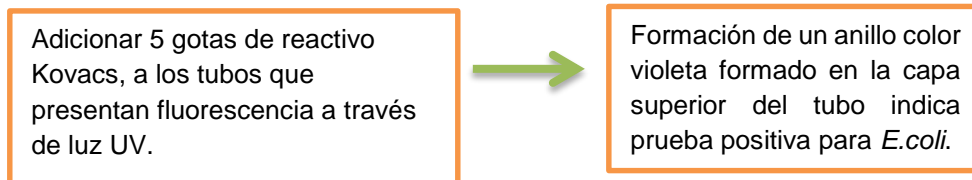


Figura N°38: Determinación de *Escherichia coli*.

Prueba confirmativa para *Escherichia coli*.

Procedimiento:

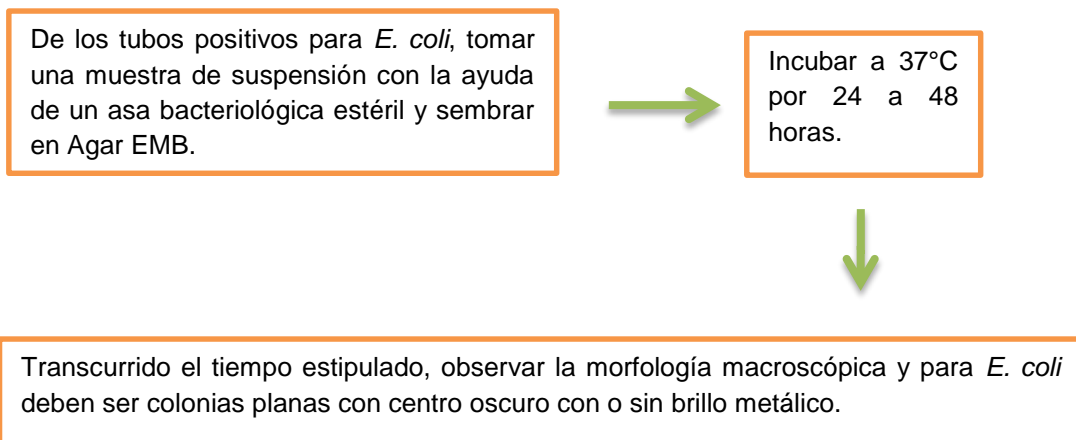


Figura N°39: Prueba confirmativa para *Escherichia coli*.

ANEXO N° 8
DETERMINACION DE *Salmonella spp*

DETERMINACION DE *Salmonella spp.* (6, 7)

Procedimiento:

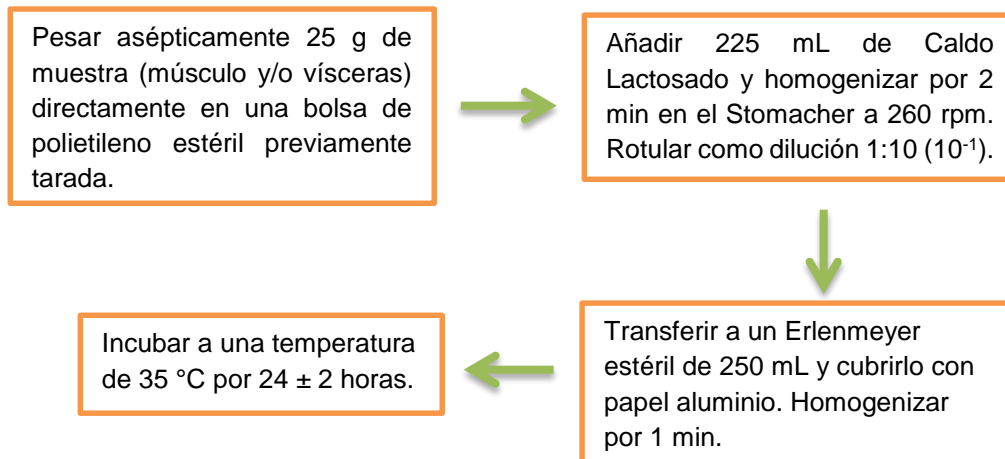


Figura N°40: Determinación de *Salmonella spp.*

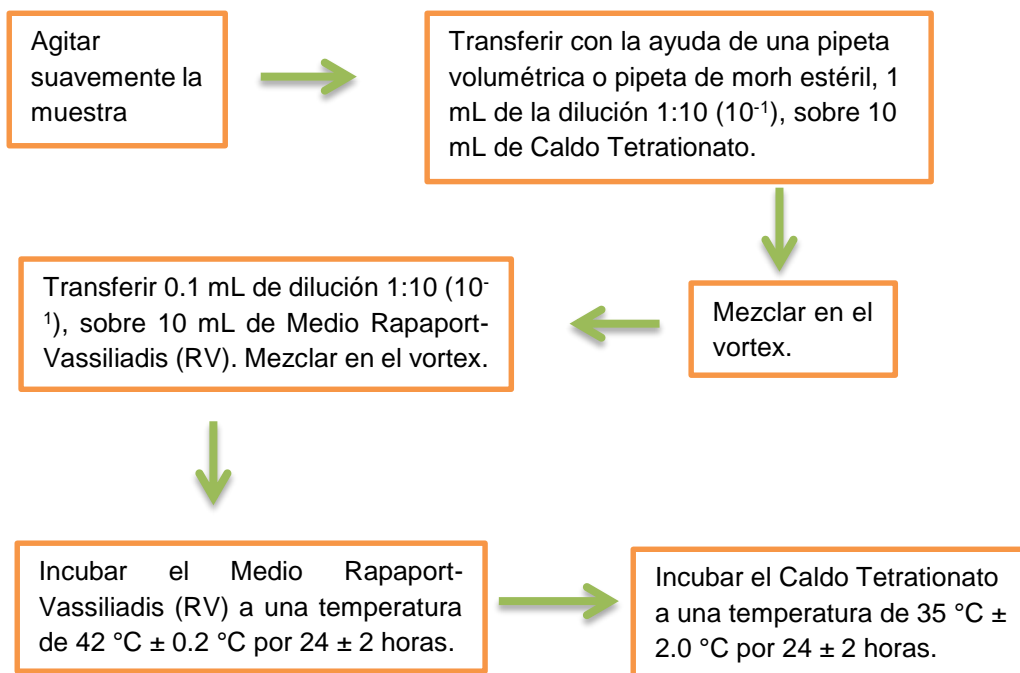


Figura N° 41: Enriquecimiento selectivo de *Salmonella spp.*

Procedimiento:

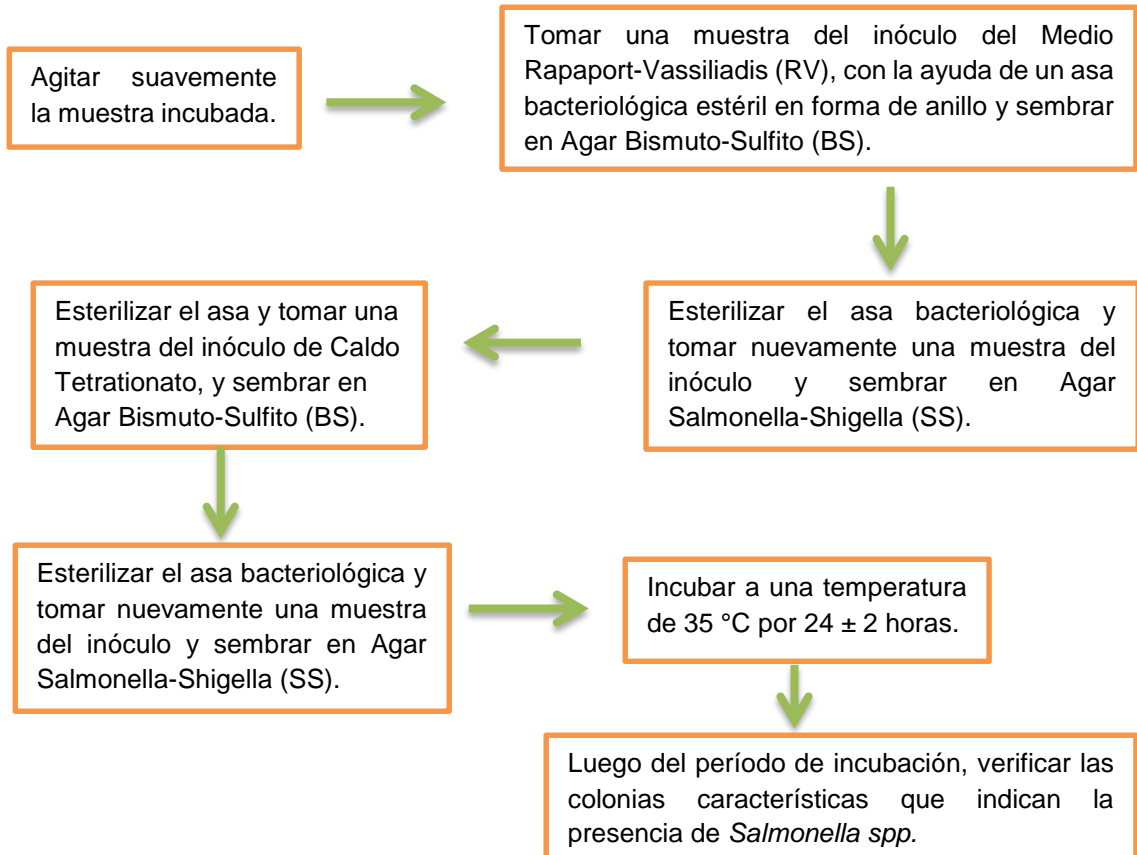


Figura N° 42: Aislamiento de *Salmonella spp.*

Pruebas confirmativas. Pruebas bioquímicas (1, 13)

Procedimiento:

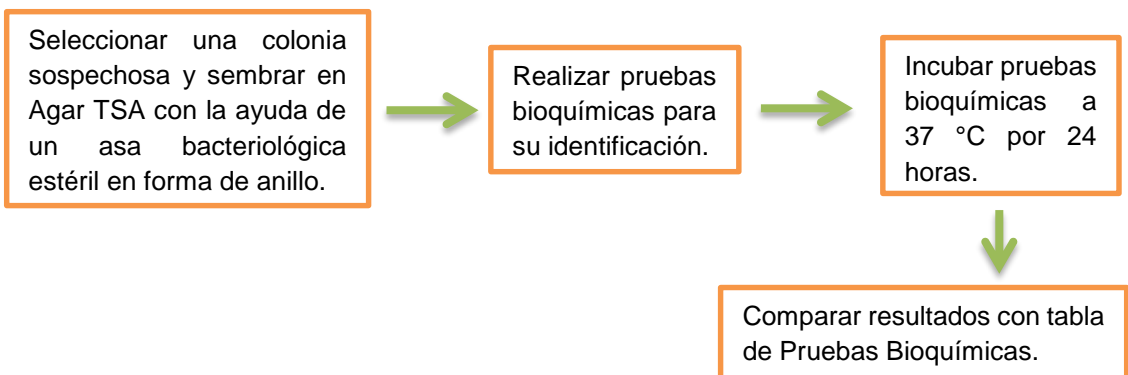


Figura N° 43: Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*

ANEXO N° 9

DETERMINACION DE *Vibrio cholerae*

Determinación de *Vibrio cholerae* (4, 8)

Procedimiento:

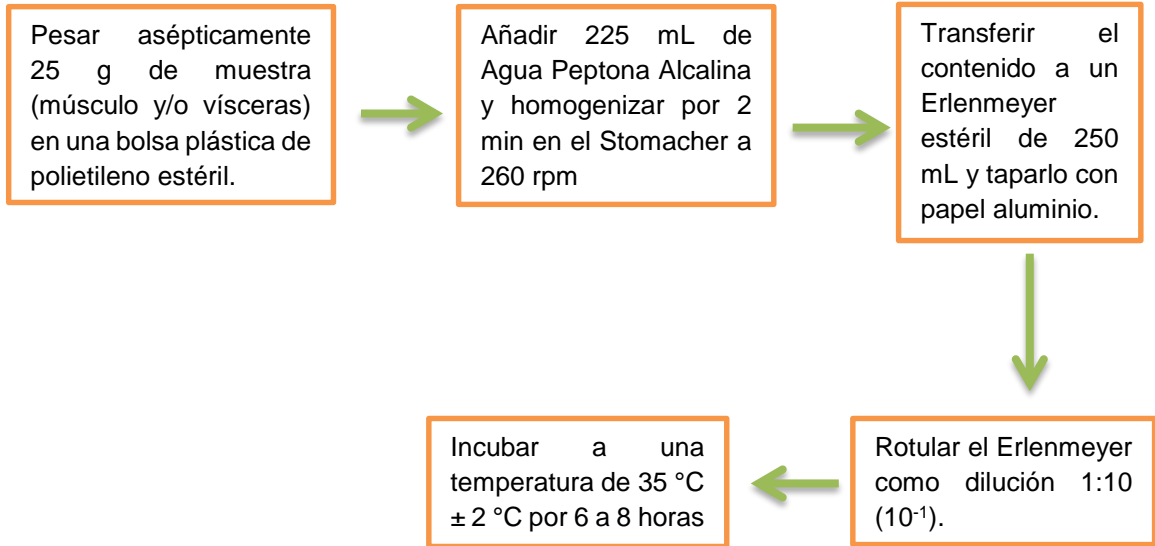


Figura N° 44: Enriquecimiento para *Vibrio cholerae*.

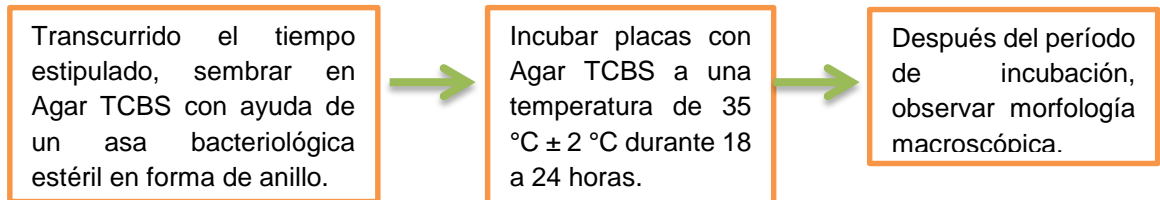


Figura N° 45: Aislamiento de *Vibrio cholerae*.

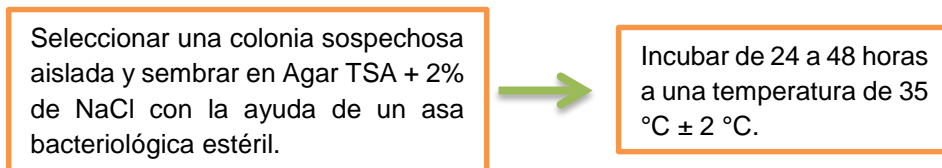


Figura N° 46: Prueba confirmativa de *Vibrio cholerae*.

Procedimiento:

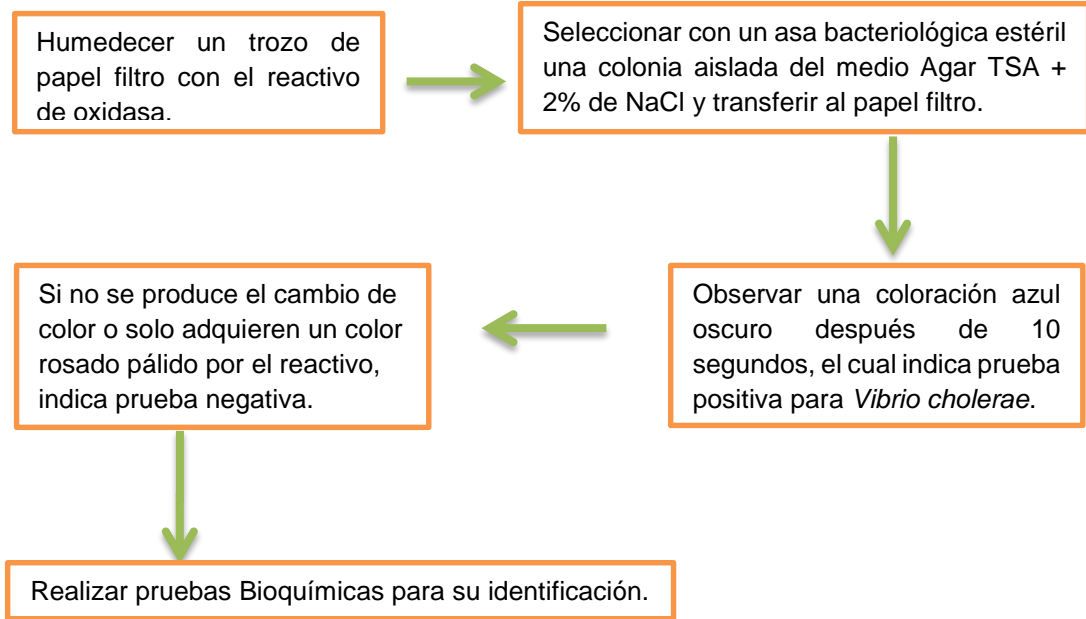


Figura N° 47: Prueba de oxidasa para *Vibrio cholerae*.

Procedimiento:

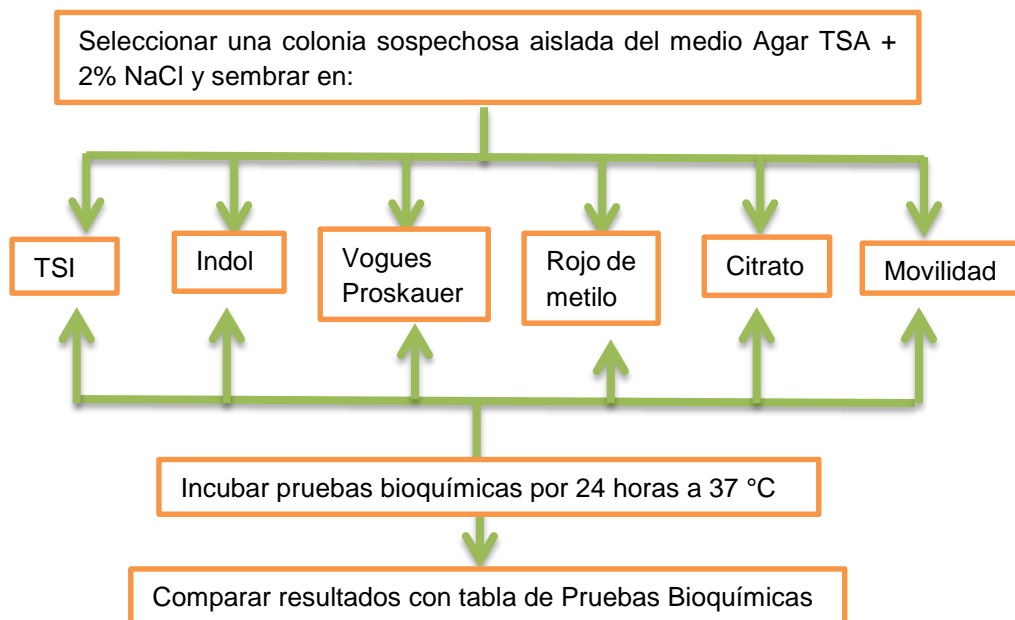


Figura N° 48: Pruebas bioquímicas para *Vibrio cholerae*.

ANEXO Nº 10

**DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE *Staphylococcus aureus*
POR EL METODO DE RECuento EN PLACA**

Determinación y cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el método recuento en placa (2, 9, 10)

Procedimiento:

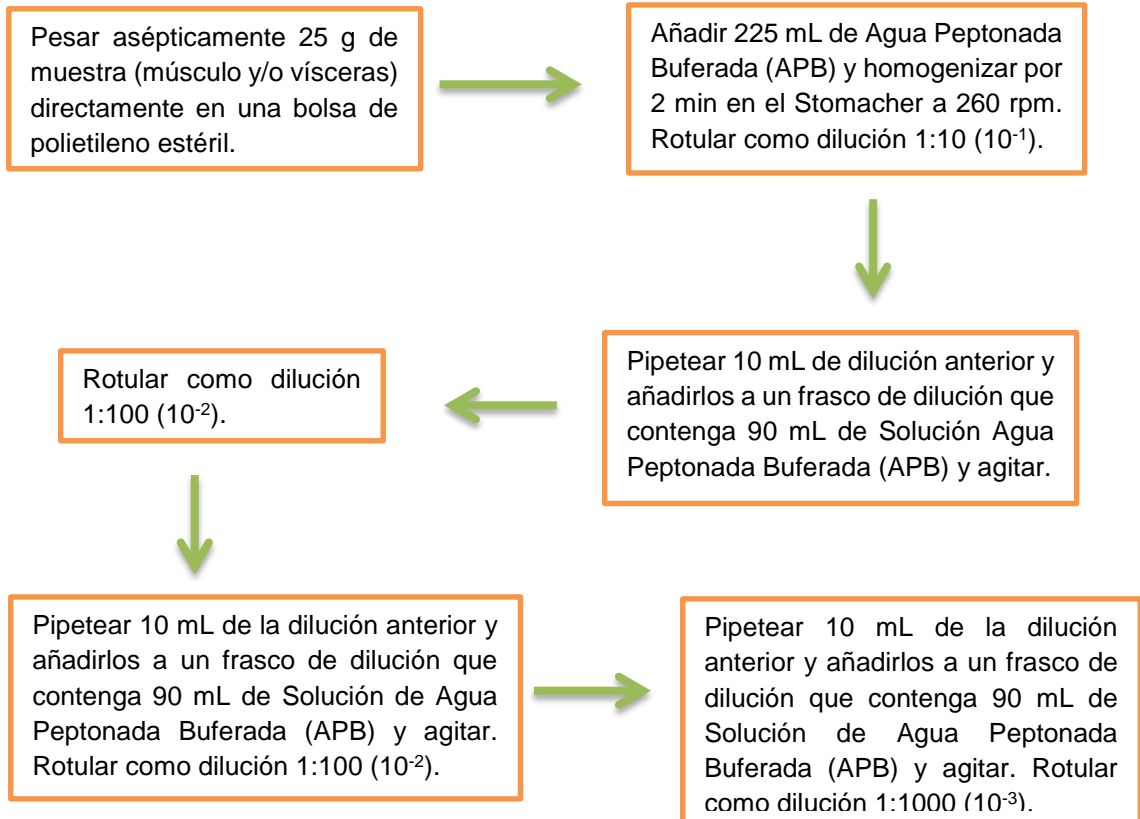


Figura N° 49: Determinación y cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el método recuento en placa.

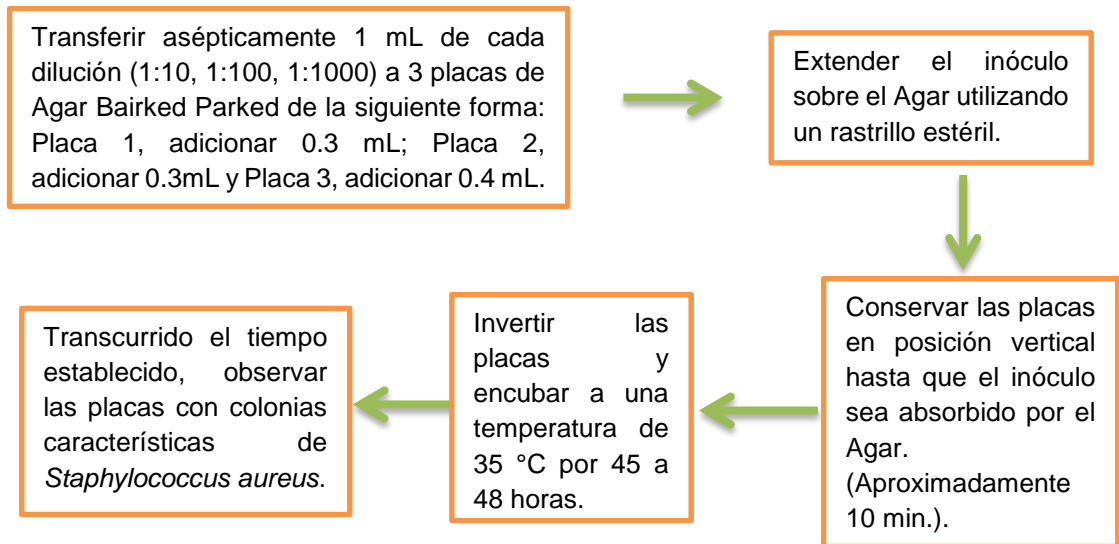


Figura N°50: Aislamiento de *Staphylococcus aureus*.

Cuantificación de *Staphylococcus aureus*

Procedimiento:

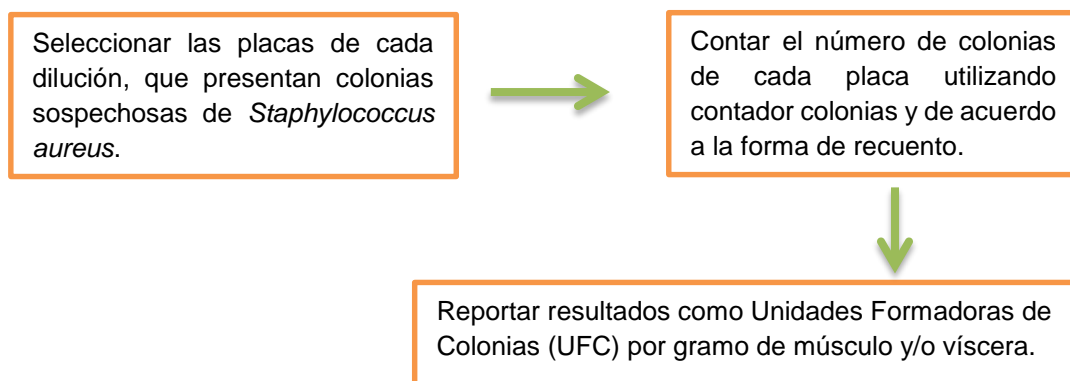


Figura N° 51: Cuantificación de *Staphylococcus aureus*.

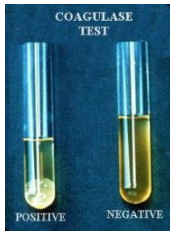
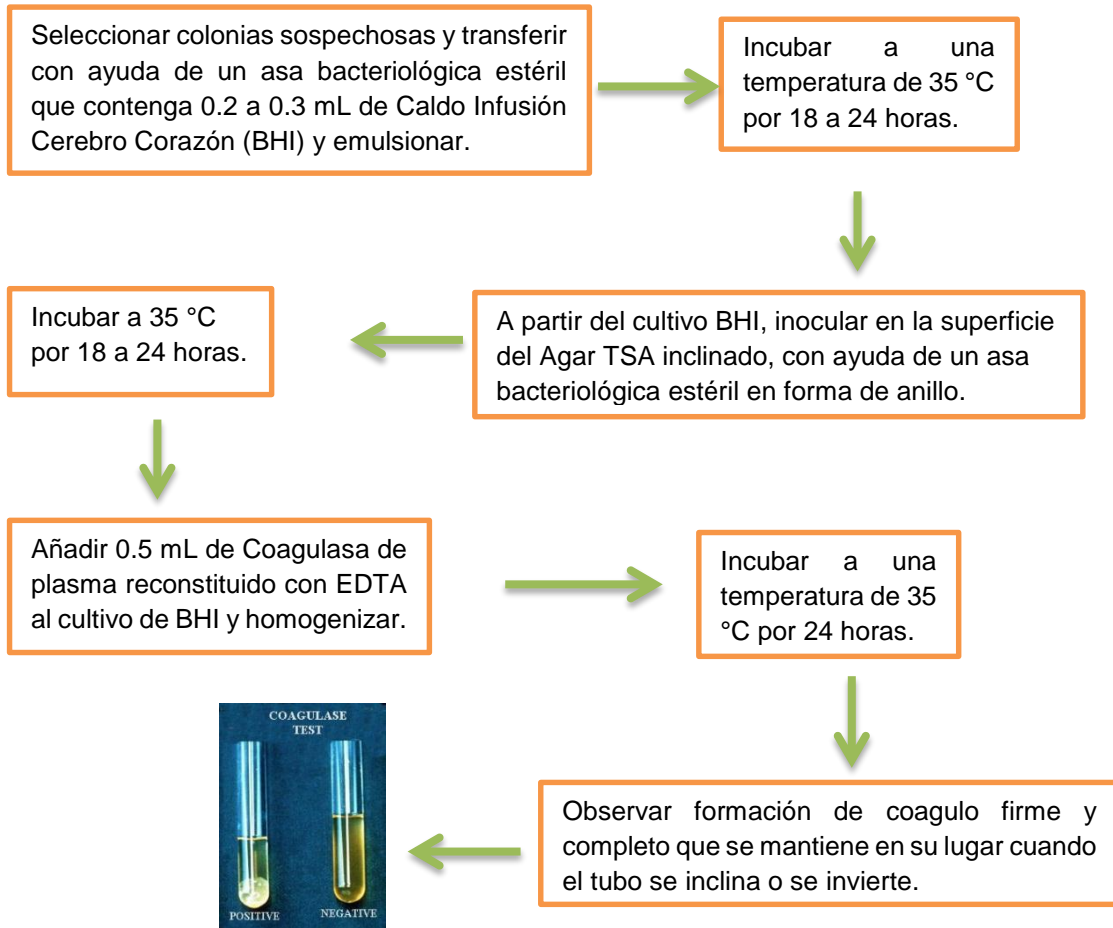


Figura N° 52: Prueba confirmativa para *Staphylococcus aureus*.

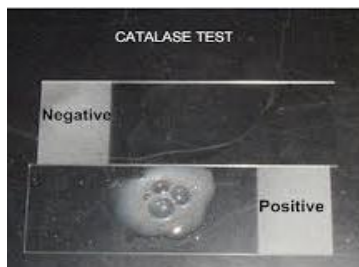
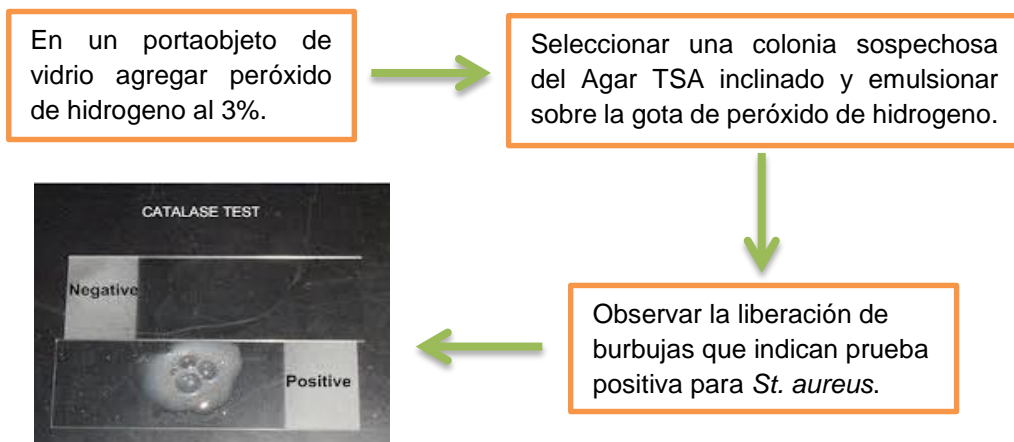


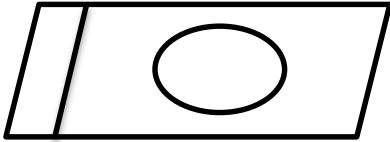
Figura N° 53: Prueba complementaria para *Staphylococcus aureus*.

ANEXO Nº 11
TINCION AL GRAM

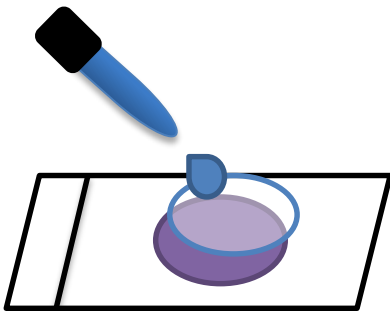
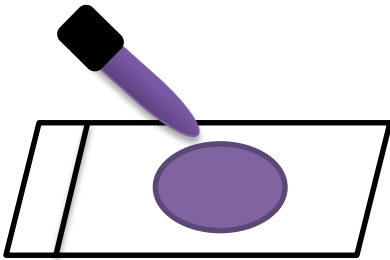
TINCION AL GRAM PARA *Staphylococcus aureus*

Procedimiento:

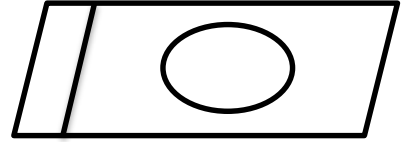
Bacterias Gram negativas



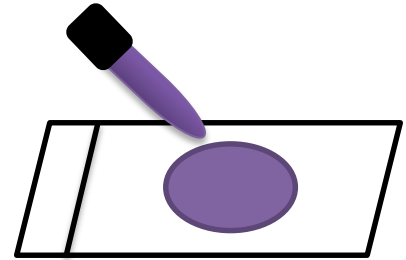
Bacterias fijadas por el calor



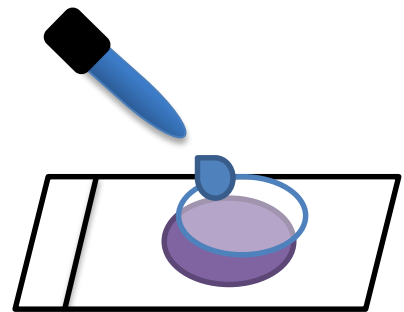
Bacterias Gram positivas



Bacterias fijadas por el calor



Todas se tiñen de azul



CRISTAL VIOLETA



1 minuto



Lavar con agua

LUGOL



1 minuto



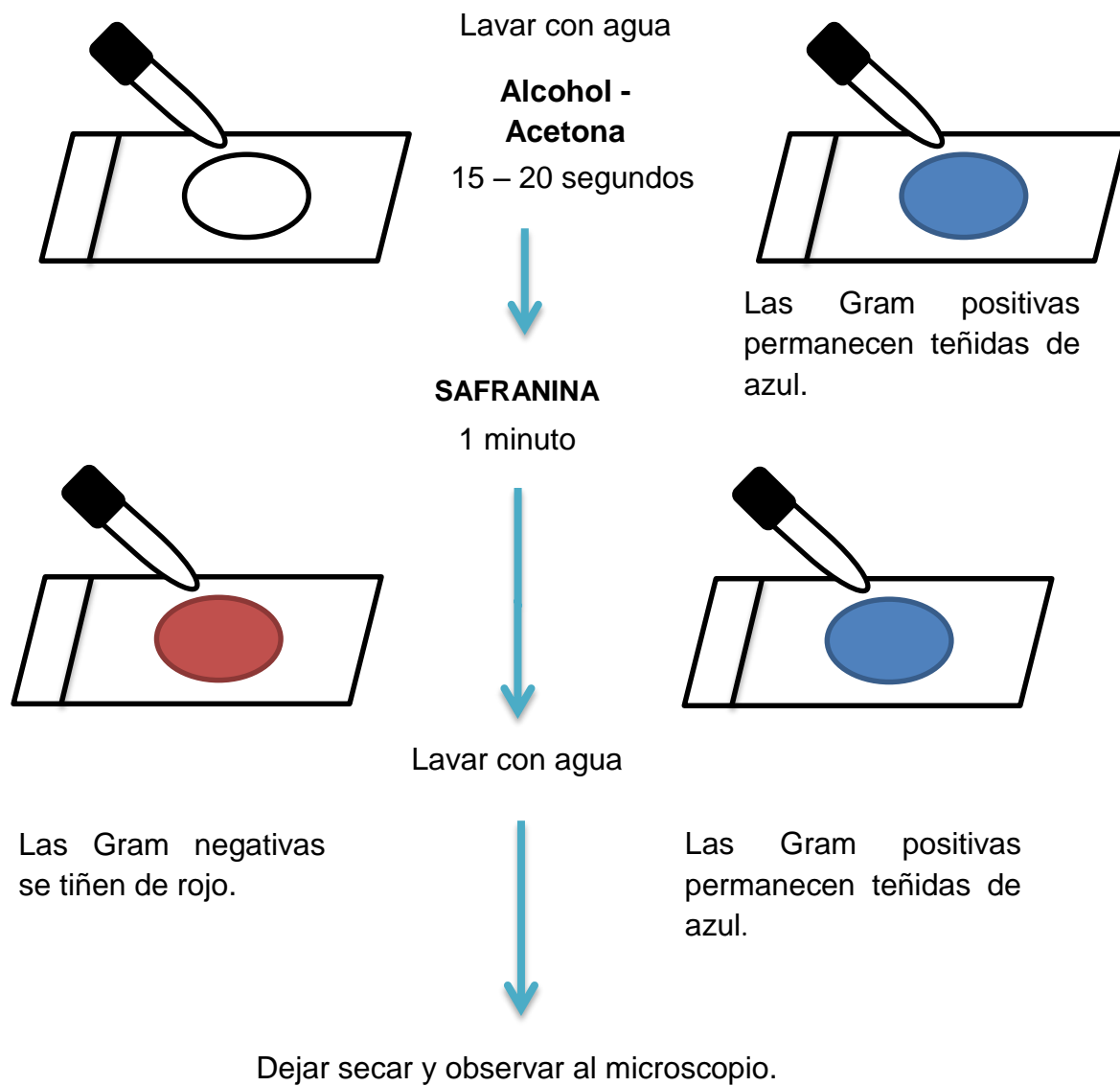


Figura Nº 54: Procedimiento de la tinción al GRAM

ANEXO Nº 12

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA *Salmonella spp* Y *Vibrio cholerae*

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae* (1, 2, 3,13, 14)

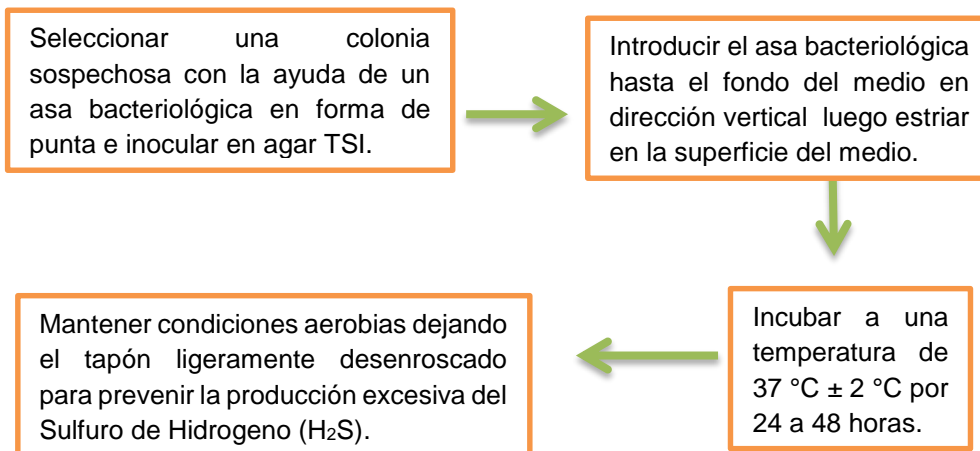
Agar triple azúcar y hierro (TSI)


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:





Transcurrido el tiempo estipulado, interpretar los resultados con tabla para pruebas en Agar TSI.

Figura N° 55: Pruebas bioquímicas. Agar triple azúcar y hierro (TSI).

Reacción de Indol

Fundamento:

El indol es uno de los productos de degradación del metabolismo del triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa crean una desaminación reductiva r del triptófano, y de este modo producir indol, ácido pirúvico y amonio. El triptófano se puede identificar mediante el desarrollo de la observación de un anillo color púrpura después de la adición de una solución que contiene *p*-dimetilaminobenzaldehído (reactivo de erlich o de kovac).

Procedimiento:

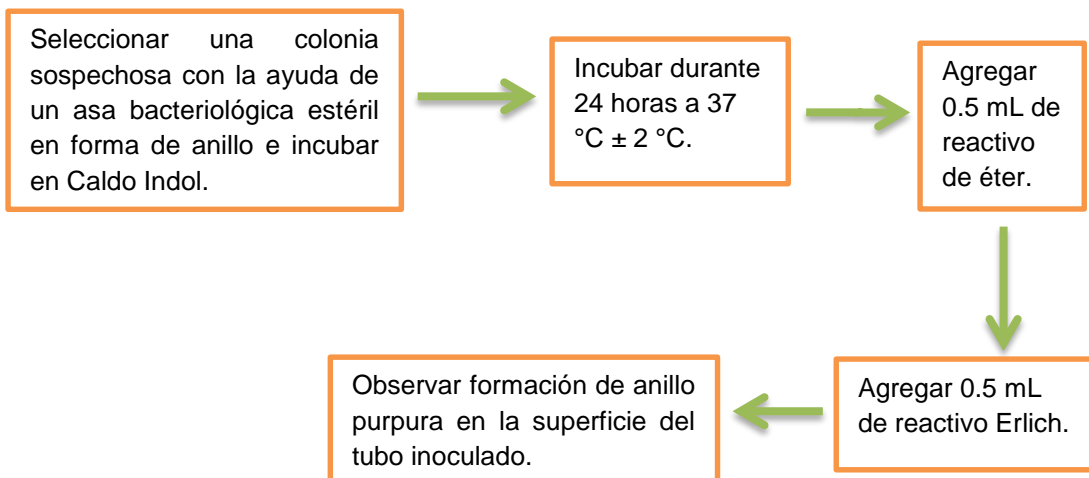


Figura N°56: Pruebas bioquímicas. Reacción de Indol.

Reacción de Rojo de metilo

Fundamento:

Para el metabolismo del piruvato formado a partir de la fermentación de la glucosa se muestran solo dos caminos alternativos. Las bacterias que siguen en primer término la fermentación del ácido mixto con frecuencia producen suficiente ácido para mantener el pH por debajo de 4.4.

Procedimiento:

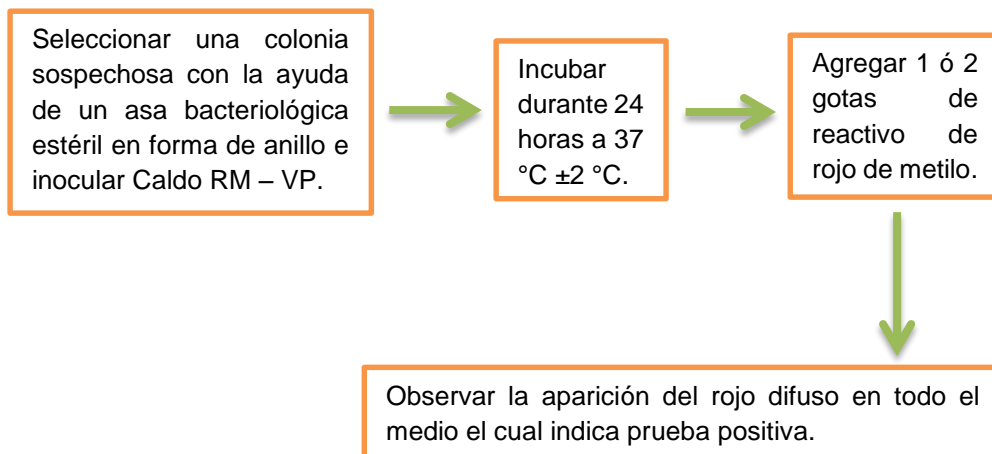


Figura N°57: Pruebas bioquímicas. Reacción de Rojo de Metilo.

Reacción de Voges Proskauer

Fundamento:

Esta prueba se basa en la conversión de acetil-metil-carbinol (acetoína) a diacetilo a través de la acción del hidróxido de potasio y el oxígeno atmosférico. El diacetilo se convierte en un complejo rojo bajo la acción catalítica del α -naftol y la creatinina. Las bacterias que usan este camino producen sólo pequeñas cantidades de ácidos mixtos, que pueden ser suficientes para producir un cambio de color.

Procedimiento:

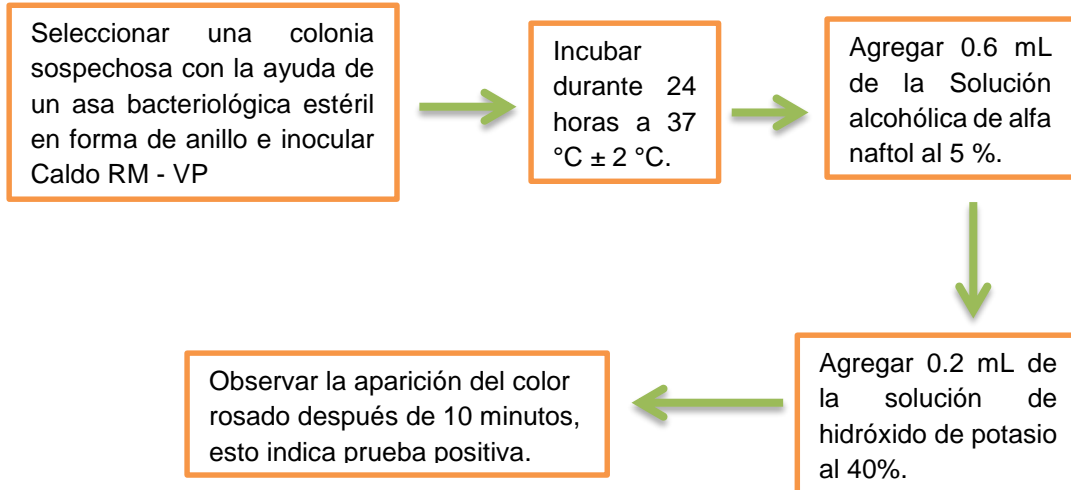


Figura N° 58: Pruebas bioquímicas. Reacción de Voges Proskauer.

Prueba de motilidad

Fundamento:

Permite determinar la capacidad de movimiento por parte de un microorganismo ya que se mueven por medio de flagelos cuyo número y localización varía entre diferentes especies.

Procedimiento:

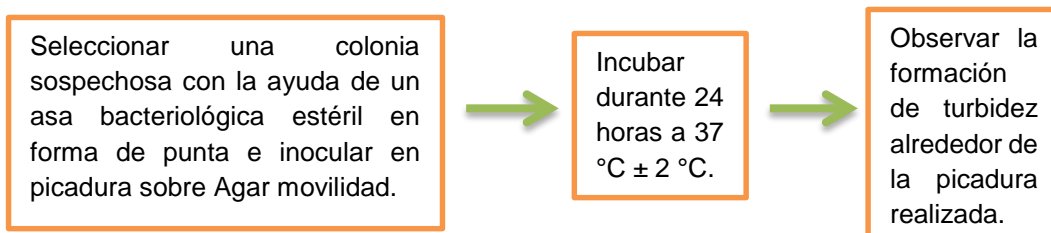


Figura N°59: Pruebas bioquímicas. Prueba de motilidad.

Prueba de Citrato

Fundamento:

El principio de la prueba de utilización del citrato es determinar la capacidad de un microorganismo para usar citrato de sodio como única fuente de carbono para el metabolismo y crecimiento. La producción de color azul en el medio indica la presencia de productos alcalinos y un resultado positivo de la prueba de citrato.

Procedimiento:

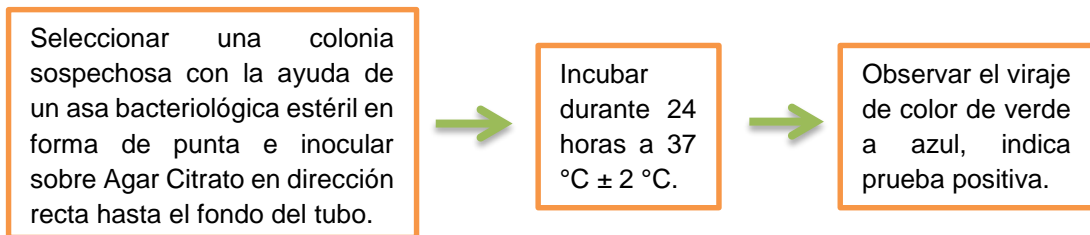


Figura N° 60: Pruebas bioquímicas. Prueba de citrato.

Prueba de Urea

Fundamento:

Los microorganismos que poseen la enzima ureasa hidrolizan la urea, con lo cual se libera amonio y se produce un cambio de color rosado-rojo en el medio.

Procedimiento:

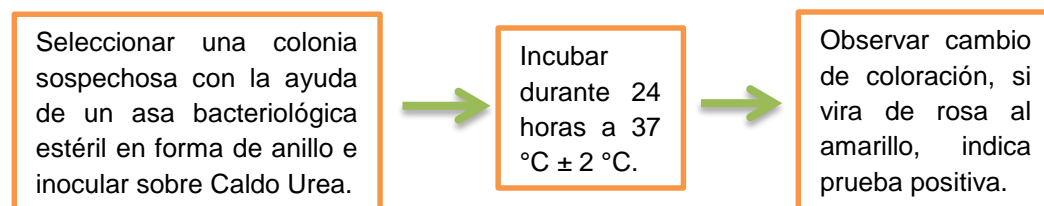


Figura N°61: Pruebas bioquímicas. Prueba de urea.

ANEXO N° 13

Tabla N° 20: Tabla comparativa para resultados de pruebas bioquímicas de *Salmonella spp.* y *Vibrio cholerae*.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS / BACTERIAS		<i>Salmonella spp</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
TSI	Bisel	K	K
	Fondo	A	A
	Gas	+/-	-
	H₂S	+	-
Urea		-	No se realizó
Indol		-	+
Rojo de Metilo		+	No se realizó
V-P		-	+/-
Citrato		+/-	-
Motilidad		+	+

Dónde:

K: color rosa

A: color amarillo

En Pruebas positivas se observa lo siguiente:

Gas: producción de burbujas

H₂S: ennegrecimiento

Urea: color púrpura intenso

Indol: formación de un anillo en la superficie del medio

Rojo de metilo: Formación de color rojo

Vogues-Proskauer (P-V): Formación de color rojo

Citrato: Coloración azul

Motilidad: Crecimiento alrededor del inóculo.

ANEXO N° 14

Tabla N° 21: Tabla del Número Más Probable (NMP) para diluciones seriadas de tres tubos. ⁽¹¹⁾

Pos. Tubes			MPN/g	Conf. lim.		Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

ANEXO N° 15

Cuadro N° 6. Criterios microbiológicos para la vigilancia de pescado fresco según Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos criterios microbiológicos para la Inocuidad de alimento. Sub grupo 9.1 Pescados y productos pesqueros frescos, congelados incluidos moluscos, crustáceos, equinodermos, empacados)

Parámetros	Tipo de riesgo	Limite	
		Mínimo	Máximo
Coliformes Fecales	A	3 NMP/g	460 NMP/g
<i>Escherichia coli</i>		-----	< 3 NMP/g
<i>Staphylococcus aureus (Solo para pescados)</i>		10 UFC/g	10 ² UFC/g
<i>Salmonella spp/25 g</i>		-----	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes/25g (solo para producto crudo listo para consumo, ejemplo sushi y ceviche)</i>		-----	Ausencia
<i>Vibrio cholerae O₁</i>		-----	Ausencia
<i>Vibrio parahaemolyticus (moluscos bivalvos crudos)</i>		10 ² UFC/g	10 ³ UFC/g

ANEXO N° 16
COMPARACION DE DATOS EPIDEMIOLOGICOS EN EL SALVADOR

Tabla N° 22: Comparación de datos epidemiológicos en El Salvador hasta semana 22/2015 ⁽³²⁾

No	Evento	Semanas		Acumulado 2014	Acumulado 2015	(%)	Tasa por 100000.0 habitantes
		<u>Epidemiológicas</u>				Diferencial	
		21	22			para 2015	
1	Infeción Respiratoria Aguda	44276	41567	1021580	905258	(-11)	14013
2	Dengue sospechosos	530	493	11769	5778	(-51)	89
3	Chikungunya	1210	1030	-	12187	-	189
4	Diarrea y Gastroenteritis	9844	9825	147280	181935	(24)	2816
5	Parasitismo Intestinal	5731	5447	96863	97397	(1)	1508
6	Conjuntivitis Bacteriana Aguda	1472	1319	31342	31236	(-0)	484
7	Neumonías	873	818	16477	16384	(-1)	254
8	Hipertensión Arterial	393	407	10784	10009	(-7)	155
9	Mordido por animal trans. de rabia	429	404	10435	9032	(-13)	140
10	Diabetes Mellitus (PC)	274	228	5740	5970	(4)	92

Se presenta en la tabla N° 13 una comparación de datos recopilados entre la semana 21 y 22 del año 2015, además de una comparación de datos acumulados de la semana 22 del año 2014 y semana 22 del año 2015, presentado un porcentaje diferencial entre ellos; siendo en este caso los de mayor interés las diarreas y gastroenteritis.

Tabla N° 23: Hospitalizaciones por Enfermedad diarreica aguda (EDA) hasta semana 22/2015 registradas por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El Salvador. ⁽³²⁾

Hospitalizaciones por EDA

Egresos, fallecidos y letalidad por Diarrea Semana 22			
Año	Egresos	Fallecidos	% de Letalidad
2015	7,834	31	0.40
2014	5,865	25	0.43

Fuente: SIMMOW: datos preliminares (al 9 de junio 2015, 10:30 horas) sujetos a digitación de egresos.

Tabla N° 24: Número de casos consignados según la edad, por Enfermedad diarreica aguda (EDA) hasta semana 22/2015 registrados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El Salvador.

⁽³²⁾

Tasas de EDA por grupo de edad

Evento	Tasas por 100,000 habitantes					
	< 1 año	1 a 4	5 a 9	10 a 19	20 a 59	> 60
Diarrea y gastroenteritis	16135	10517	2761	947	2238	1712

Tabla N°25: Datos epidemiológicos consolidados por departamento hasta semana 23/2015 registrados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El Salvador. ⁽³³⁾

No.	Diagnóstico	Ahuachapán	Santa Ana	Sonsonate	Chalatenango	La Libertad	San Salvador	Cuscatlán	La Paz	Cabañas	San Vicente	Usulután	San Miguel	Morazán	La Unión	Total
1	Parálisis Flácida Aguda	2	1	0	3	0	7	0	0	0	0	0	3	0	0	16
2	Sospecha de Sarampión	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Sospecha de Meningitis Meningocócica	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
4	Infecciones Respiratorias Agudas	45247	69258	68823	41728	104975	323986	28650	42909	20899	29457	52438	60038	28649	30136	947193
5	Neumonías	1527	1507	697	762	915	4065	584	630	441	744	1413	2202	724	1006	17217
6	Diarrea y Gastroenteritis	5015	13679	10591	6511	25844	79436	5995	7626	3996	4734	8644	10848	4419	4602	191940
7	Sospecha de Cólera	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Intoxicación Alimentaria Aguda	1	1	2	13	42	97	1	5	0	0	5	6	0	0	173
9	Intoxicación Paralizante o Neurotóxica por mariscos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	Hepatitis Aguda Tipo A	14	71	38	33	35	76	8	26	26	26	59	59	10	29	510
11	Mordidos Por Animales Transmisores de Rabia	342	659	602	320	1066	3670	221	456	127	176	534	723	273	299	9468
12	Sospecha de Rabia Humana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Sospecha de Leptospirosis	0	4	11	3	1	69	0	21	0	7	1	4	0	0	121
14	Sospecha de Dengue Grave	5	10	18	1	7	19	1	0	0	0	3	18	1	20	103
15	Sospecha de Dengue	112	598	374	281	416	1984	364	256	330	388	172	736	161	271	6443
16	Sospecha de Paludismo	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
17	Sospecha de Conjuntivitis Hemorrágica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	Conjuntivitis Bacteriana Aguda	1833	3235	2886	731	3104	10620	1305	1483	879	942	1508	2285	1085	918	32814

Datos preliminares

Fuente: Vigilancia epidemiológica de El Salvador (VIGEPES)

Tabla N° 26: Datos epidemiológicos consolidados por grupos de edad y sexo hasta semana 23/2015 registrados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El Salvador. (33)

No.	Diagnóstico	GRUPOS DE EDAD																				Total acumulado
		< 1 año		1 a 4 años		5 a 9 años		10 a 19 años		20 a 29 años		30 a 39 años		40 a 49 años		50 a 59 años		60 a más años		Acumulado por sexo		
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
1	Parálisis Flácida Aguda	0	0	3	2	1	2	2	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	9	7	16
2	Sospecha de Sarampión	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Sospecha de Meningitis Menigocócica	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1	3
4	Infecciones Respiratorias Agudas	46830	42125	117522	110775	72865	73014	39575	54810	38493	69208	31539	63300	25006	51926	16759	35299	21471	36676	410060	537133	947193
5	Neumonías	3416	2181	3730	2772	643	535	245	242	119	170	111	183	113	206	148	311	922	1170	9447	7770	17217
6	Diarreas y Gastroenteritis	11871	9751	28948	25167	9026	8076	5817	7476	11758	14657	9093	12066	6395	9224	4027	6358	4660	7570	91595	100345	191940
7	Sospecha de Cólera	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Intoxicación Alimentaria Aguda	1	1	19	8	18	13	12	9	14	14	6	15	4	14	4	10	5	6	83	90	173
9	Intoxicación Paralizante o Neurotóxica por mariscos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	Hepatitis Aguda Tipo A	8	3	55	37	95	99	70	59	17	13	3	11	11	10	1	7	4	7	264	246	510
11	Mordidos por Animales Transmisores de Rabia	9	18	436	300	718	520	999	791	594	593	466	525	411	629	387	546	661	865	4681	4787	9468
12	Sospecha de Rabia Humana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Sospecha de Leptospirosis	4	1	15	4	7	6	12	13	12	15	7	6	6	1	3	3	3	3	69	52	121
14	Sospecha de Dengue Grave	2	2	13	14	12	11	10	14	9	7	1	2	2	2	0	0	0	2	49	54	103
15	Sospecha de Dengue	227	204	580	500	669	582	893	794	467	491	227	246	119	125	64	76	77	102	3323	3120	6443
16	Sospecha de Paludismo	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	1	5	6
17	Sospecha de Conjuntivitis Hemorrágica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	Conjuntivitis Bacteriana Aguda	2332	1993	3774	3345	1984	1839	1369	1658	1470	1964	1412	1974	1124	1671	731	1322	1228	1624	15424	17390	32814

Tabla N° 27: Número de intoxicaciones desarrolladas en el período de 2002 - 2006 según Informe Epidemiológico Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El Salvador

Diagnóstico		2002	2003	2004	2005	2006
Intoxicaciones o envenamamiento	Alimentaria bacteriana aguda	408	276	278	563	503
	Alimentaria no bacteriana *	1 153	777	1 021	s.d.	s.d.
	Paralítica por mariscos o crustáceos	0	0	0	s.d.	s.d.
	Por alcohol (metanol)	202	205	102	s.d.	s.d.

ANEXO Nº 17

**GRAFICO PORCENTUAL DE MUESTRAS QUE CUMPLEN Y NO
CUMPLEN PARA *Salmonella spp***

Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Salmonella spp*

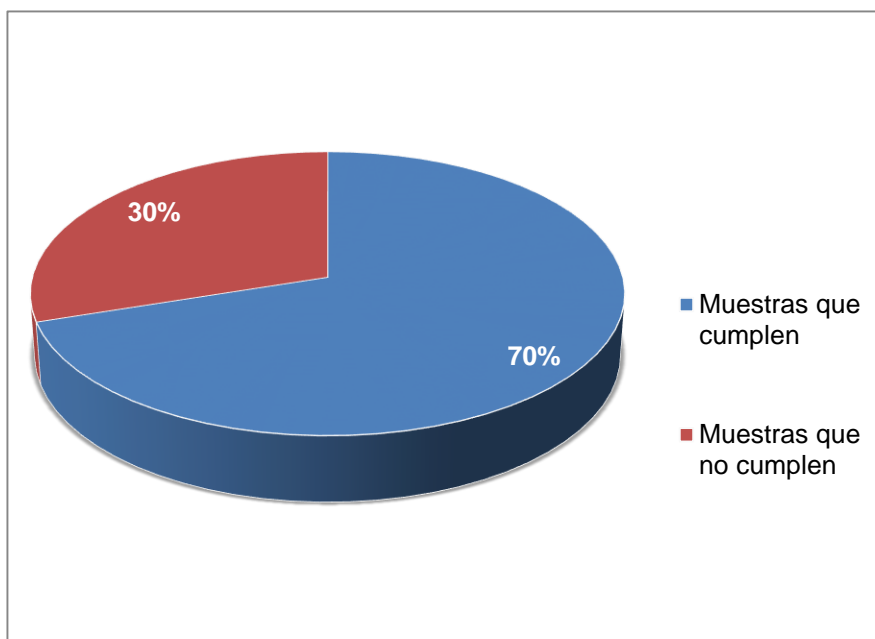


Figura N° 62: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras que cumplen y no cumplen con RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp*.

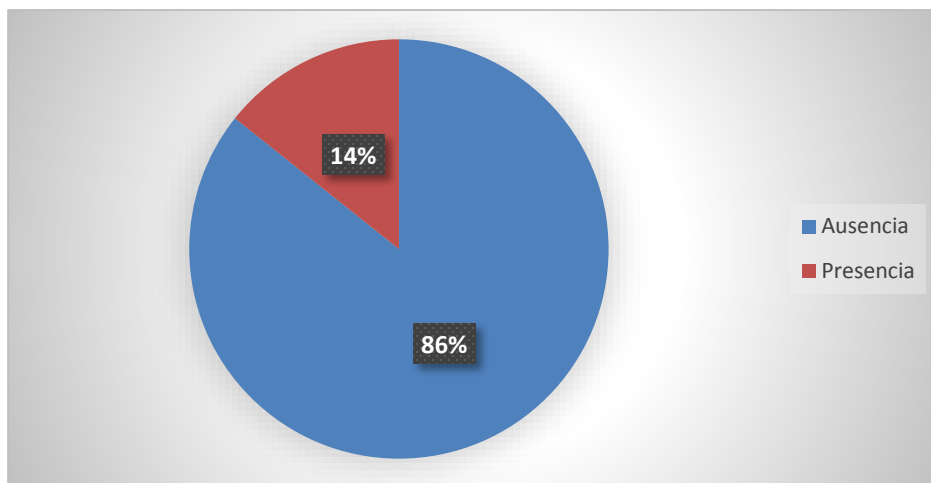


Figura N° 63: Porcentaje de resultados de muestras de musculo que cumplen y no cumplen con especificación de RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp*. Etapa 1

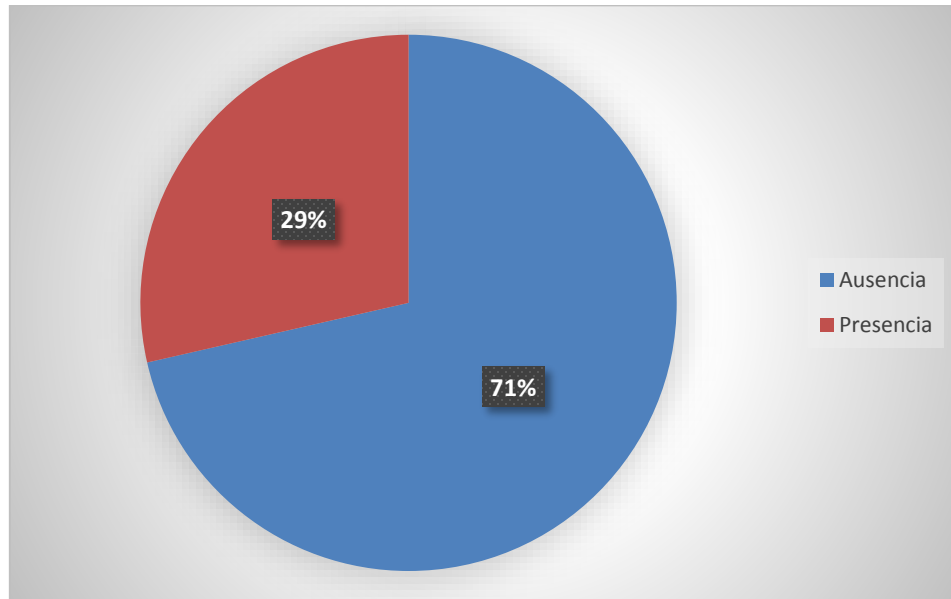


Figura N° 64: Porcentaje de resultados de muestras de vísceras que cumplen y no cumplen con especificación de RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp.* Etapa 1

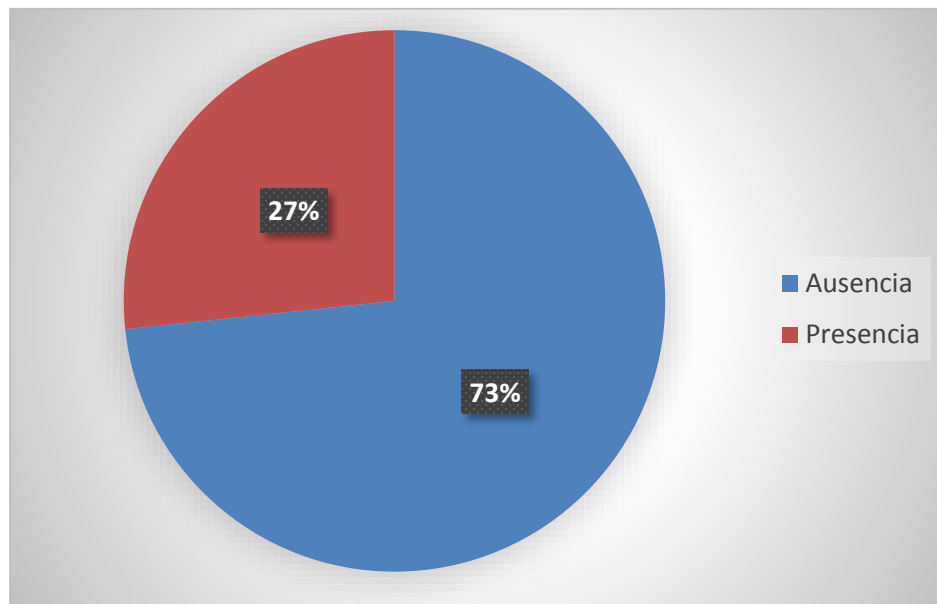


Figura N° 65: Porcentaje de resultados de muestras de musculo que cumplen y no cumplen con especificación de RTCA 67.04.50:08 para *Salmonella spp.* Etapa 2

ANEXO Nº 18

Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Vibrio cholerae*

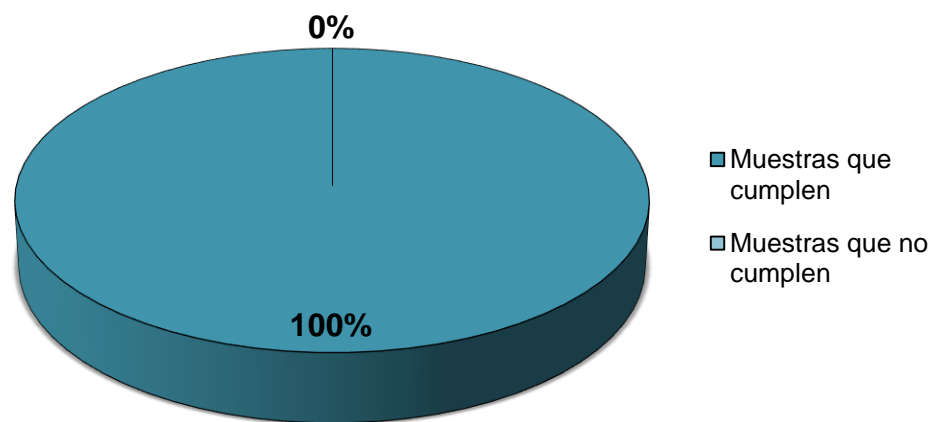


Figura Nº 66: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras que cumplen y no cumplen con *Vibrio cholerae* según RTCA 67.04.50:08

ANEXO N° 19

Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Staphylococcus aureus*

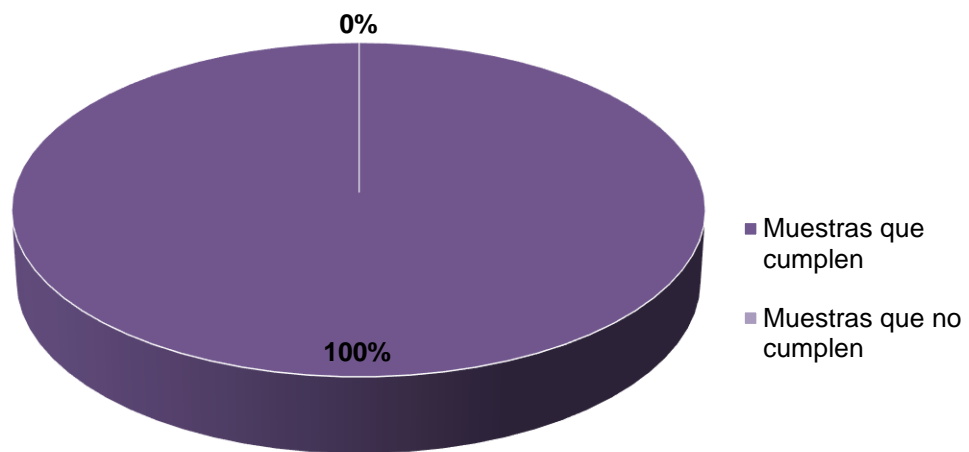


Figura N° 67: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras que cumplen y no cumplen con *Staphylococcus aureus* según especificaciones de RTCA 67.04.50:08

ANEXO N° 20

**GRAFICO PORCENTUAL DE MUESTRAS QUE CUMPLEN Y NO
CUMPLEN PARA COLIFORMES FECALES**

Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para Coliformes Fecales

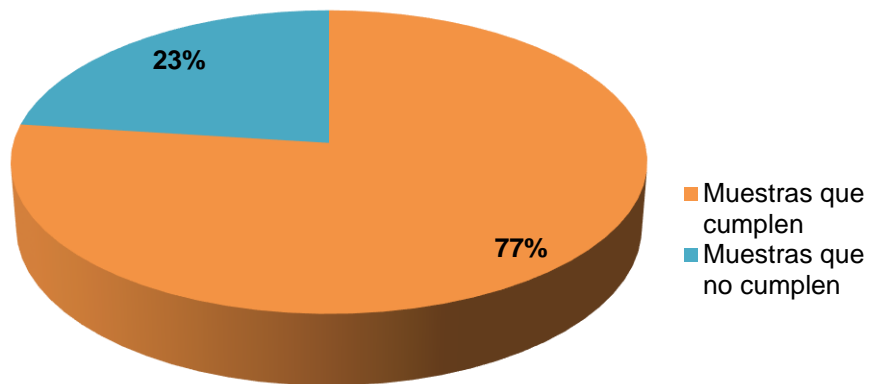


Figura N° 68: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras que cumplen y no cumplen para Coliformes fecales según especificaciones en RTCA 67.04.50:08

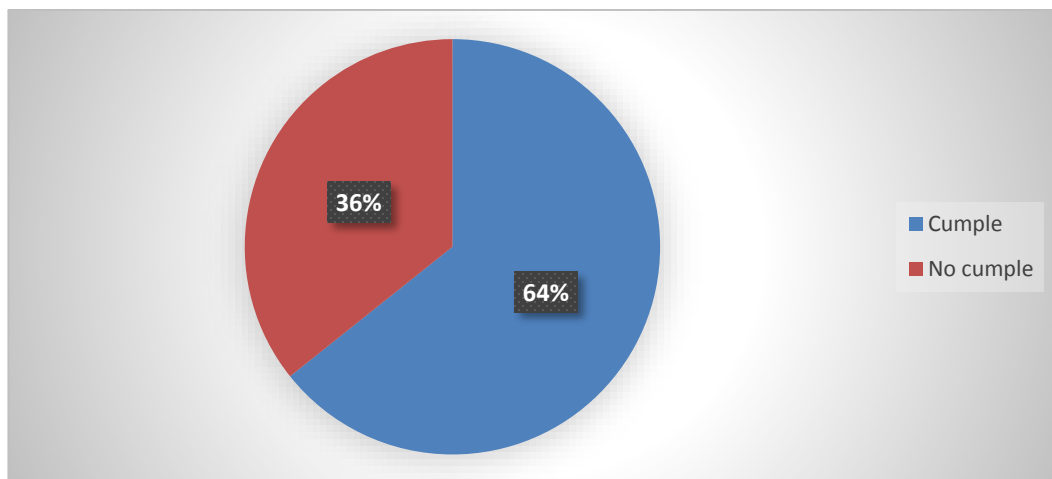


Figura N° 69: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras de músculo que cumplen y no cumplen para Coliformes fecales según especificaciones en RTCA 67.04.50:08. Etapa 1

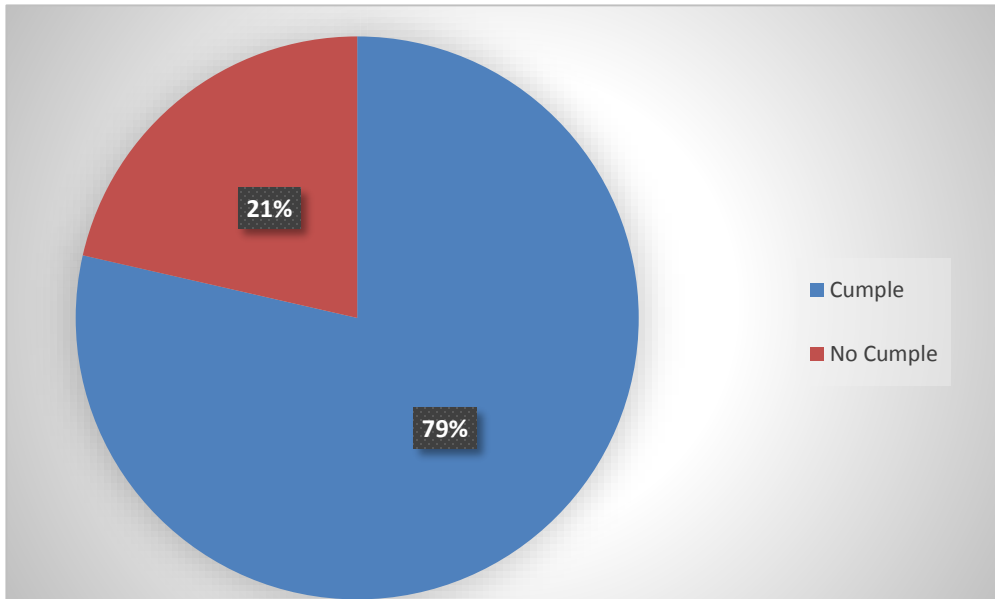


Figura N° 70: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras de vísceras que cumplen y no cumplen para Coliformes fecales según especificaciones en RTCA 67.04.50:08. Etapa 1

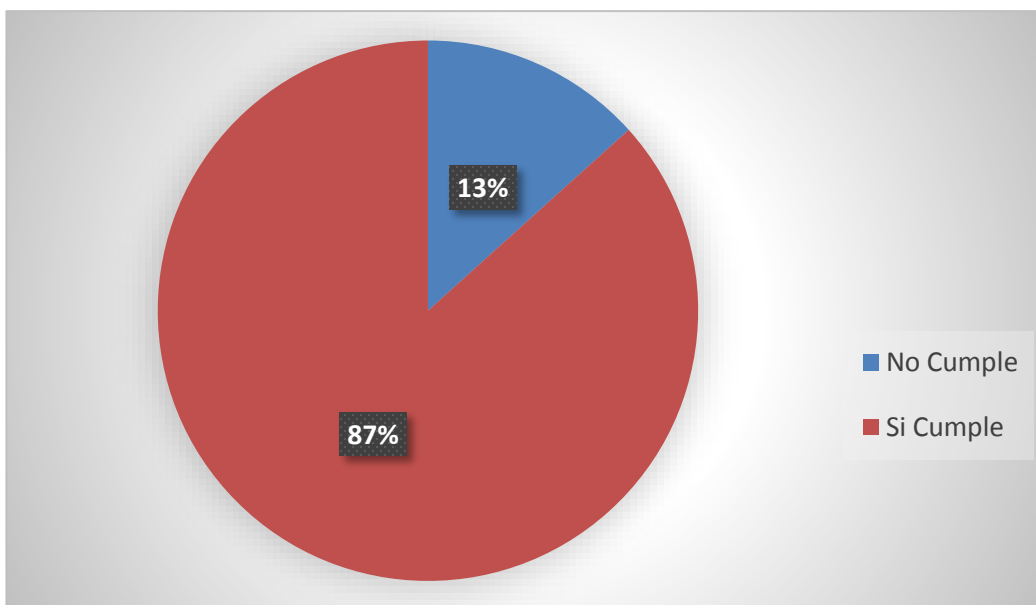


Figura N° 71: Gráfico de porcentaje de resultados de muestras de musculo que cumplen y no cumplen para Coliformes fecales según especificaciones en RTCA 67.04.50:08. Etapa 2

ANEXO N° 21

Gráfico porcentual de muestras que cumplen y no cumplen para *Escherichia coli*

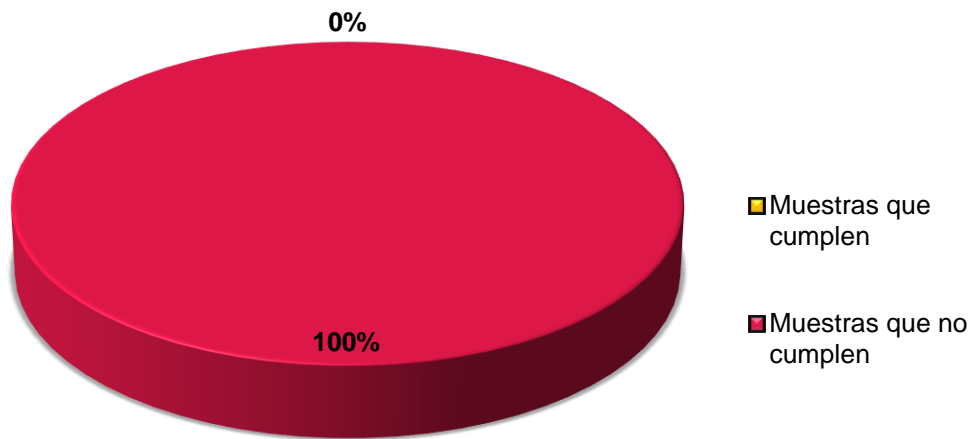


Figura N° 72: Gráfico de porcentaje de muestras de músculo y vísceras que cumplen y no cumplen con *Escherichia coli* según RTCA 67.04.50:08

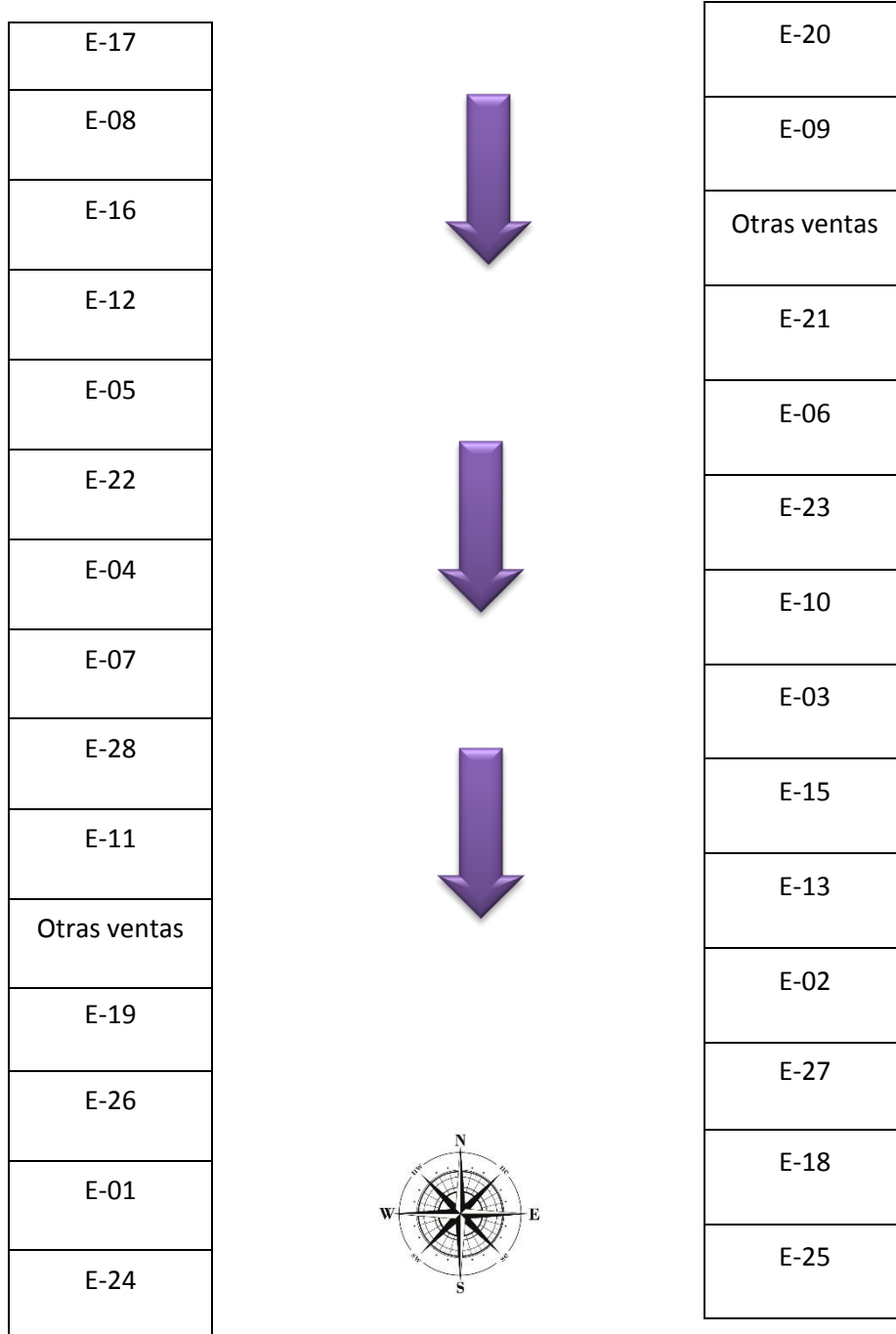
ANEXO N° 22

Tabla N° 28: Porcentaje de Cloruro de Sodio en los que crecen las diferentes especies de *Vibrio* ⁽⁴⁾

% NaCl	<i>V. alginoly ticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. fumiissii</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnk ovi</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyt icus</i>	<i>V. vulnific us</i>
0%	-	+	-	-	-	-	+	-	-
3%	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6%	+	-	+	+	+	+	-	+	+
8%	+	-	+/-	+	-	+/-	-	+	-
10%	+	-	-	-	-	-	-	-	-

*V: Vibrio; (+): Hay crecimiento; (-): No hay crecimiento

ANEXO Nº 23



*E: Establecimiento; E-14 y E-29 corresponden a los establecimientos de referencia (Barco de Pesca Artesanal)

Figura Nº 73: Ubicación de los establecimientos fijos (muestreados) que comercializan pescado crudo en el Muelle del Puerto de La Libertad

ANEXO Nº 24

**DIFERENTES ESPECIES DE PESCADO CRUDO COMERCIALIZADAS
EN LOS ESTABLECIMIENTOS DE VENTA FIJA**

Diferentes especies de pescado crudo comercializadas en los establecimientos de venta fija.



Figura N° 74: Diferentes especies de pescado crudo comercializados en los establecimientos de ventas fijas



Figura N° 75: Desarrollo de la Guía de Observación y de inspección de las diferentes especies de pescado crudo que son comercializadas en el Muelle



Figura N° 76: Especie de pescado seleccionado (Queen)



Figura N° 77: Manipulador realizando el proceso de descamación



Figura N° 78: Embalaje que utilizan los comerciantes para sus productos



Figura N° 79: Barco de Pesca Artesanal seleccionado









Figura N° 80: Especies de pescado fresco comercializadas en Barco de Pesca Artesanal

ANEXO Nº 25

**ESPECIES DE PESCADO SELECCIONADAS DE LOS
ESTABLECIMIENTOS MUESTREADOS**

Especies de pescado crudo seleccionadas al azar

	<p>ROBALO</p>
	<p>BOCA NEGRA</p>
	<p>QUEEN</p>
	<p>PICUDA</p>
	<p>LONJA DE TIBURON</p>
	<p>BAGRE</p>

	<p>TAMALITO</p>
	<p>LUNA</p>
	<p>LENGUADO</p>
	
	<p>CORVINA</p>
	<p>LONJA DE RAYA</p>



	<p>BOCA COLORADA</p>
	<p>MOJARRA</p>

Figura N° 81: Diferentes especies de pescado crudo seleccionadas al azar de los establecimiento

ANEXO Nº 26
INFORME DE RESULTADOS PRESENTADO A LA DEFENSORIA DEL
CONSUMIDOR



**Facultad de Química y Farmacia
Universidad de El Salvador**



San Salvador, Enero, 2016
Lic. Yancy Urbina
Presidenta de la Defensoría del Consumidor
Presente.

Reciba un cordial saludo deseándole éxito en su labor diaria.

El motivo de la presente es para presentar a usted los resultados del análisis microbiológico realizado a 43 muestras de pescado crudo obtenidas de los 27 establecimientos que comercializan pescado crudo en el Muelle del Puerto de la Libertad, para darle cumplimiento a uno de nuestros objetivos específicos de nuestro trabajo de graduación titulado **“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PESCADO CRUDO COMERCIALIZADO EN EL MUELLE DEL PUERTO DE LA LIBERTAD”**.

Cabe mencionar que anexo a los resultados, se incluyen los parámetros microbiológicos para pescado fresco según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 del sub grupo de alimentos 9.1 *“Pescado y productos pesqueros frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos, empacados”*, el cual se ha tomado como parámetro para comparar los resultados del estudio.

Agradeciendo de antemano su atención.

Atentamente.

F

F

Berta Liliana Martínez Ronquillo

María Sandra Dinorah Romero Angulo

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

Para llevar a cabo dicha investigación se contó con 29 establecimientos fijos que comercializan pescado crudo en el Muelle del Puerto de la Libertad; realizando un muestreo aleatorio simple se seleccionaron 27 establecimientos al azar de las 29 ventas fijas. El análisis se realizó en dos etapas; la primera etapa se seleccionaron 13 ventas fijas y se analizaron muestras de músculo y vísceras de pescado crudo además se analizó una muestra de referencia proveniente del barco de pesca artesanal; en la segunda etapa se seleccionaron 14 establecimientos y se analizaron muestras de músculo de pescado crudo a su vez se analizó una muestra de referencia. Obteniéndose al final 27 establecimientos fijos y dos barco de pesca artesanal como referencia de frescura.

Las determinaciones que se le realizaron a cada una de las muestras son:

Determinación de presencia o ausencia de microorganismos patógenos como *Salmonella spp.* y *Vibrio cholerae*; *Staphylococcus aureus* mediante el método de recuento en placa y una cuantificación mediante el Método del Numero Más Probable de microorganismos indicadores de contaminación como Coliformes Fecales y *Escherichia coli*, todo ello de acuerdo a las especificaciones establecidas por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.

Tabla N° 18: Resumen de resultados obtenidos de las muestras de músculo y vísceras de pescado crudo y muestras de referencia

RESUMEN DE RESULTADOS ETAPA 1												
Especie	Código	Especificación según RTCA 67.04.50:08					Código	Especificación según RTCA 67.04.50:08				
		Salmo	Vc	S. a.	C. T.	E. coli		Salmo	Vc	S. a.	C. T.	E. coli
		A	A	10 -10 ² UFC/g	3 - 460 NMP/g	< 3 NMP/g		A	A	10-10 ² UFC/g	3 - 460 NMP/g	< 3 NMP/g
Corvina	M0101	A	A	< 10	290	1100	V0102	P	A	< 10	29	240
Robalo	M0203	A	A	< 10	460	1100	V0204	A	A	< 10	1100	150
Boca colorada	M0305	P	A	< 10	1100	1100	V0306	A	A	< 10	28	460
Mojarra	M0407	A	A	< 10	1100	>1100	V0408	A	A	< 10	>1100	28
Corvina	M0509	P	A	< 10	64	460	V0510	A	A	< 10	29	150
Bagre	M0611	A	A	< 10	>1100	460	V0612	P	A	< 10	1100	150
Tamalito	M0713	A	A	< 10	240	460	V0714	P	A	< 10	150	93
Queen	M0815	P	A	< 10	150	>1100	V0816	A	A	< 10	7.4	>1100
Corvina	M0917	A	A	< 10	150	1100	V0918	A	A	< 10	20	1100
Robalo	M1019	A	A	< 10	93	75	V1020	A	A	< 10	23	>1100
Boca negra	M1121	A	A	< 10	28	21	V1122	A	A	< 10	11	>1100
Barbona	M1223	A	A	< 10	>1100	210	V1224	P	A	< 10	36	>1100
Queen	M1325	A	A	< 10	1100	120	V1326	P	A	< 10	21	20
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 1												
Boca colorada	M1427	A	A	< 10	20	210	V1428	P	A	< 10	20	210

A: Ausencia; P: Presencia; M: Músculo; V: Vísceras; Salmo: *Salmonella sp*; V. c.: *Vibrio cholerae*; S. a.: *Staphylococcus aureus*; C. T.: *Coliformes Totales*; E. coli: *Escherichia coli*.

Tabla N° 18 (Continuación)

RESULTADOS ETAPA 2						
Especie	Código	Especificación según RTCA 67.04.50:08				
		<i>Salmo</i>	<i>V. c.</i>	<i>S. a</i>	<i>C. T</i>	<i>E. coli</i>
		A	A	10-10 ² UFC/g	3-460 NMP/g	< 3 NMP/g
Lonja de raya	M1529	A	A	< 10	1100	20
Queen	M1630	A	A	< 10	27	1100
Luna	M1731	P	A	< 10	210	28
Lonja de Tiburón	M1832	A	A	< 10	210	29
Bagre	M1933	A	A	< 10	3	11
Picuda	M2034	P	A	< 10	11	460
Tamalito	M2135	A	A	< 10	6.2	150
Lenguado	M2236	A	A	< 10	28	28
Boca Colorada	M2337	A	A	< 10	3	28
Corvina	M2438	P	A	< 10	21	1100
Queen	M2539	A	A	< 10	11	28
Filete de Corvina	M2640	A	A	< 10	28	1100
Robalo	M2741	A	A	< 10	21	210
Bagre	M2842	A	A	< 10	11	28
Resultados obtenidos en Muestra de Referencia ETAPA 2						
Corvina	M2943	A	A	< 10	1100	1100

A: Ausencia; P: Presencia; M: Músculo; *Salmo*: *Salmonella sp*; *V. c.*: *Vibrio cholerae*; *S. a.*: *Staphylococcus aureus*; *C. T.*: *Coliformes Totales*; *E. coli*: *Escherichia coli*

De acuerdo con los resultados obtenidos de las 43 muestras analizadas en total, ninguna cumple con las especificaciones establecidas por Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 debido que todas las muestras sobrepasan los límites máximos permisibles para *Escherichia coli* siendo este un contaminante de origen fecal es decir su hábitat es el intestino por lo tanto se puede encontrar en las heces del ser humano o de animales por lo cual su fuente de contaminación es el agua del mar ya que en el desembocan diferentes ríos que están contaminados con descargas fecales además los manipuladores arrojan las vísceras de los pescados y otros desperdicios, agregando las malas prácticas higiénicas de manipulación y almacenamiento del producto; el conjunto de todos estos malos hábitos higiénicos contribuye al crecimiento de otras bacterias en los alimentos que afecta directamente la salud del consumidor por lo tanto no son aptas para consumo humano.

En algunas muestras, se logró determinar la presencia de Coliformes Totales, *Pseudomonas spp*, *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp* y *Klebsiella spp* (excepto en los códigos V0102, M0305, M0509, V0713, V0714, M0815, V1224, V1326, V1428, M1630, M2034, M2438, M2640 que se determinó la presencia de *Salmonella spp*).

En conclusión:

1. Debido a la falta de conocimiento por parte de los comerciantes sobre las Buenas Prácticas higiénicas y de almacenamiento, se comercializa diversidad de productos pesqueros en condiciones inadecuadas, según datos obtenidos en la guía de observación y de inspección, lo cual influye en que los alimentos no sean inocuos y aptos para consumo humano.
2. En la determinación de *Salmonella spp* el 30% de las muestras analizadas presentan este microorganismo por lo que indica que hay contaminación

cruzada, mala higiene de los manipuladores y además el hielo utilizado para mantener la temperatura se desconoce su procedencia.

3. El 100% de las muestras analizadas de pescado crudo y la muestra de referencia dieron como resultado ausencia para *Staphylococcus aureus*, representado en los resultados con un valor <10 UFC/g de muestra por lo que cumple con los parámetros establecidos del RTCA 67.04.50:08, esto es debido a que los manipuladores no presentaban heridas visibles, síntomas de gripe o manipulación de la mucosa nasal.
4. El 100% de las muestras analizadas cumple con lo especificado en el RTCA 67.04.50:08 para *Vibrio cholerae* ya que presenta ausencia, además se sospecha la presencia de otros vibrios, lo que indica que la principal fuente de contaminación es el agua del mar, debido que en este lugar desemboca muchos ríos que contienen descargas fecales además las vísceras de los pescado son arrojados al mar y de igual manera los desechos que se generan de todos los productos pesqueros.
5. Para Coliformes Fecales el 37% de las muestras analizadas presentan valores >460 NMP/g por lo que no cumplen con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08 y el 100% sobrepasan los límites máximos permisibles para *Escherichia coli* por lo tanto las muestras analizadas no son aptas para consumo humano, debido a las malas prácticas de manipulación, de almacenamiento, las condiciones de captura, especie de pescado, tipo de alimentación y condiciones fisiológicas.
6. Al comparar los establecimientos de Ventas fijas y ventas en barco de pesca artesanal se tiene que estos establecimientos no cumplen con las buenas prácticas de manipulación, higiene y almacenamiento debido que

las condiciones son insalubres por lo tanto esto afecta que los alimentos no cumplan con las especificaciones del RTCA 67.04.50:08.

7. En general los resultados obtenidos se tiene que de la totalidad de las muestras analizadas no cumplen con los parámetros establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 debido que sobrepasan los límites máximos permisibles para el “*Sub grupo de alimento: 9.1 de pescado y productos pesqueros frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos, empacados*” por lo que estos productos no son aptos para consumo humano debido a que ponen en riesgo la salud del consumidor.
8. La presencia de otras bacterias como Coliformes Totales: *Citrobacter spp* (Corvina, Boca colorada, Mojarra, Bagre, Tamalito, Queen, Robalo, Boca negra, Barbona, Lonja de raya, Luna, Lonja de tiburón y Lenguado), *Enterobacter spp* (Robalo), *Klebsiella spp* (Boca negra, Boca colorada y Corvina), *Proteus spp* (Corvina y Robalo), *Pseudomona spp* (Boca negra y Queen), confirman que hay contaminación de origen fecal en las muestras analizadas debido a la manipulación inadecuada del producto, hielo de procedencia desconocida, descarte incorrecto de las vísceras, utensilios sucios, entre otros.
9. En el desarrollo de la investigación se analizaron las vísceras extraídas de las diferentes especies en la etapa 1; debido que estas son una fuente de contaminación ya que las bacterias se encuentran principalmente en el tracto intestinal, además de otras bacterias que se encuentran en las branquias y el moco superficial que pueden causar contaminación cruzada en el momento de la evisceración por lo tanto afecta la calidad microbiológica del pescado.

Debido a los resultados antes mencionados se recomienda que:

1. Que la defensoría del consumidor monitoree los establecimientos de venta fijas y barcos de pesca artesanal para verificar el cumplimiento de las buenas prácticas de manipulación, almacenamiento de los productos pesqueros.
2. Gestionar a través de la alcaldía de La Libertad para que se realicen campañas de limpieza en el muelle del puerto de la libertad y de esta manera disminuir fuentes de contaminación.
3. Gestionar al Ministerio de Salud por medio de la cooperativa de pescadores, para que se realice un control de calidad microbiológico del hielo que abastece a todos los comerciantes y pescadores.
4. Que la defensoría del consumidor imparta capacitaciones sobre las Buenas prácticas de Manipulación, almacenamiento, limpieza y desinfección de áreas y equipos a la cooperativa de pescadores, y a su vez esta última entidad transmita la información a todos los comerciantes y pescadores del Muelle.
5. Que la cooperativa suministre a los pescadores hieleras de material de plástico para sus barcos y así facilitar la limpieza y desinfección del área.