

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



**“EVALUACION DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE NIEVES ELABORADAS  
ARTESANALMENTE Y COMERCIALIZADAS EN LAS AFUERAS DE LOS  
CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS”**

Trabajo de Graduación Presentado por:

**Clarissa Esther Borja Orantes**

**David Eduardo Pineda Velásquez**

para optar al grado de

**LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA**

**Marzo de 2002**

**San Salvador, El Salvador, Centroamérica**



**© 2001, DERECHOS RESERVADOS**

**Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,  
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador**

**SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTORA**

Dra. María Isabel Rodríguez

**SECRETARIA GENERAL**

Lic. Lidia margarita Muñoz Vela

**FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

**DECANA**

Líc. María Isabel Ramos de Rodas

**SECRETARIA**

Lic. Ana Araceli Cáceres Magaña

**ASESORES**

Lic. Coralia Figueroa de Murillo

Lic. Coralia de los Angeles Gonzáles de Díaz

**JURADO CALIFICADOR**

Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos

Lic. Mercedes del carmen Gómez de Díaz

Lic. Nancy zuleyma González Sosa

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS TODO PODEROSO: por su infinito amor y sabiduría, por habernos dado la oportunidad de alcanzar nuestras metas.

A NUESTROS PADRES: Por su sacrificio y apoyo incondicional.

A NUESTROS ABUELITOS: Por su amor, ayuda y apoyo.

A NUESTROS HERMANOS: Por su ayuda y comprensión.

A NUESTROS MAESTROS: Por habernos formado con mucha dedicación en el transcurso de nuestra carrera.

A NUESTROS ASESORES: Lic. Coralia de Murillo y Lic. Coralia de Díaz por el apoyo y la orientación que nos brindaron en el transcurso de la realización de nuestra tesis.

A NUESTRO JURADO CALIFICADOR: Lic. Evelyn de Ramos, Lic. Gómez de Díaz y Lic. Nancy González, por la evaluación del presente trabajo.

AL SEÑOR COREAS Y A WILBER: Por la ayuda desinteresada que nos prestaron en el laboratorio.

A NUESTROS COMPAÑEROS: Por todos los buenos momentos que vivimos juntos.

A TODAS LAS PERSONAS: que directa o indirectamente colaboraron con la realización de este trabajo.

## **GRACIAS**

**CLARISSA Y DAVID.**

## **DEDICATORIA**

A DIOS TODO PODEROSO: por su infinito amor y sabiduría, por habernos dado la oportunidad de alcanzar nuestras metas.

A MARIA AUXILIADORA: por su intersección de madre siempre atenta, por habernos guiado, iluminado y fortalecido en cada día de estudio.

A NUESTROS PADRES: por brindarnos todo su apoyo, amor y confianza.

A NUESTROS ASESORES: por compartir con nosotros sus conocimientos científicos.

**CLARISSA Y DAVID**

## RESUMEN

Las nieves artesanales son productos de consumo popular y al igual que cualquier otro alimento, este debe cumplir con ciertos límites microbiológicos que garanticen su inocuidad al ser consumidos. En nuestro país estos límites han sido establecidos por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), En la Norma Salvadoreña obligatoria “Helados y Mezclas de Helados. Especificaciones.” (Anexo V) la cuál se tomó como base para la evaluación de la calidad microbiológica de nieves artesanales.

Para realizar dicha evaluación se recolectaron 31 muestras obtenidas de diferentes fuentes que comercializan su producto en las afueras de Centros Educativos del municipio de Mejicanos.

Los análisis realizados a las muestras fueron: Recuento de Microorganismos Mesófilos aerobios, recuento de *Staphylococcus aureus*, Identificación de *Escherichia coli* , Número más probable para coliformes totales (NMP), identificación de *Salmonella sp.*

Los resultados obtenidos indican que el 100% de las muestras analizadas no cumplen con las muestras establecidas por CONACYT; lo que hace que dicho alimento constituya un riesgo para la salud, por lo que se presentan recomendaciones encaminadas a mejorar las condiciones de elaboración, manipulación, comercialización que contribuyan a que las nieves artesanales cumplan con los límites microbiológicos establecidos.

## INDICE

	PAG.
INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	
CAPITULO I	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	4
1. DEFINICIÓN DE HELADOS O SORBETES.....	5
2. CLASIFICACION DE HELADOS O SORBETES.....	5
3. DEFINICIÓN DE NIEVE.....	6
4. COMPOSICIÓN GENERAL DE UNA NIEVE.....	6
5. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS.....	7
5.1. FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS .....	7
5.1.1. NUTRIENTES.....	8
5.1.2. AGUA DISPONIBLE.....	8
5.1.3.PH .....	8
5.1.4. CONCENTRACION DE OXIGENO.....	9
5.1.5. TEMPERATURA.....	9
5.2. FUENTES DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA.....	10
5.2.1. CONTAMINACION POR FRUTAS UTILIZADAS.....	10
5.2.2. CONTAMINACION A PARTIR DE LOS ANIMALES.....	11

5.2.3. CONTAMINACION POR EL SUELO.....	11
5.2.4. CONTAMINACION POR EL AGUA.....	12
5.2.5. CONTAMINACION POR MANIPULADORES.....	12
5.3. MICROORGANISMOS DE INTERES	
EN LA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS.....	13
5.3.1. MICROORGANISMOS INDICADORES.....	13
5.3.1.1. MICROORGANISMOS MESOFILOS	
AEROBIOS.....	13
5.3.1.2. COLIFORMES TOTALES.....	15
5.3.1.3. <i>Escherichia coli</i> .....	16
5.3.2. MICROORGANISMOS CAUSANTES	
DE ENFERMEDADES ALIMENTARIAS.....	17
5.3.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
5.3.2.2. <i>Salmonella</i> sp.....	20
5.3.2.2.1. FIEBRE INTESTINAL, FIEBRE TÍFICA O TIFOIDEA.....	21
5.3.2.2.2. BACTEREMIA CON LESIONES FOCALES.....	22
5.3.2.2.3. ENTEROCOLITIS.....	22
CAPITULO II	
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	24
1. INVESTIGACIÓN DE CAMPO.....	25



1.1.UNIVERSO.....	25
1.2.DISEÑO Y TAMAÑO DE MUESTRA.....	25
2. DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS.....	27
3. TRABAJO DE LABORATORIO.....	28
3.1. TOMA DE MUESTRA.....	28
3.2. PROCEDIMIENTO.....	28
3.2.1. DILUCION DE LA MUESTRA.....	28
3.2.2. RECUENTO TOTAL DE MICROORGANISMOS	
MESOFILOS AEROBIOS.....	29
3.2.3. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES	
E IDENTIFICACIÓN DE <i>Escherichia coli</i> .....	30
3.2.3.1. PRUEBA PRESUNTIVA PARA	
BACTERIAS COLIFORMES TOTALES.....	30
3.2.3.2. PRUEBA CONFIRMATIVA PARA	
BACTERIAS COLIFORMES TOTALES.....	31
3.2.3.3. IDENTIFICACION DE <i>Escherichia coli</i> .....	31
3.2.3.1.1. CONFIRMACION BIOQUÍMICA.....	32
3.2.4. RECUENTO DE <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
3.2.5. RECUENTO DE <i>Salmonella sp</i> .....	37
3.2.5.1. PRE-ENRIQUECIMIENTO.....	37

3.2.5.2. ENRIQUECIMIENTO.....	37	
3.2.5.3. AISLAMIENTO.....	38	
3.2.5.4. CONFIRMACION .....	38	
3.2.5.5. CONFIRMACION BIOQUÍMICA.....	39	
CAPITULO III		
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	40	
1. RESULTADO DEL MUESTREO REALIZADO EN LOS CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.....		41
2. RECUENTO TOTAL DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS.....		43
3. RESULTADO DE NMP PARA COLIFORMES TOTALES.....		44
4. RECUENTO DE Staphylococcus aureus.....		45
5. IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli.....		46
6. IDENTIFICACIÓN DE Salmonella sp.....		47
7. RESULTADO GENERAL DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO A LAS ESPECIFICACIONES DE LA NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA PARA HELADOS Y MEZCLA DE HELADOS.....		48
CAPITULO IV		
CONCLUSIONES.....	54	

## CAPITULO V

RECOMENDACIONES.....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXOS.....	65
ANEXO No I. LETRAS CLAVES PARA EL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	66
ANEXO No II. TABLA II-A PLANES DE MUESTREO SIMPLE PARA INSPECCION NORMAL (TABLA MAESTRA).....	67
ANEXO No III. CENTROS EDUCATIVOS DEL SECTOR PUBLICO.....	68
ANEXO No IV. CENTROS EDUCATIVOS DEL SECTOR PRIVADO.....	69
ANEXO No V. LIMITES MICROBIOLÓGICOS PARA HELADOS Y MEZCLAS DE HELADOS.....	70
ANEXO No VI. TABLA DE NUMERO MAS PROBABLE (NMP) DE COLIFORMES POR GRAMO DE NIEVE.....	71
ANEXO No VII. CONDICIONES EN LAS QUE SE COMERCIALIZAN LAS NIEVES ARTESANALES.....	72
ANEXO No VIII. AREA DE RECOLECCION DE MUESTRAS.....	73
ANEXO No IX. ESQUEMA DEL METODO DE ANÁLISIS.....	74
ANEXO No X. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS.....	80

ANEXO No XI. MATERIAL EQUIPO Y MEDIOS DE CULTIVO.....	92
ANEXO No XII. BOLETÍN “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN SORBETES DE CARRETÓN”.....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

	PAG
TABLA No I. RESULTADOS DEL MUESTREO REALIZADO EN LOS CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.....	41
TABLA No II. RECUENTO TOTAL DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS.....	43
TABLA No III. RESULTADO DE NMP PARA COLIFORMES TOTALES.....	44
TABLA No IV. RECUENTO DE <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
TABLA No V. IDENTIFICACIÓN DE <i>Escherichia coli</i> .....	46
TABLA No VI. IDENTIFICACIÓN DE <i>Salmonella sp.</i> .....	47
TABLA No VII. RESULTADO GENERAL DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO A LAS ESPECIFICACIONES DE LA NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA PARA HELADOS Y MEZCLAS DE HELADOS.....	48

**ÍNDICE DE GRAFICOS**

PAG

GRAFICO I. PORCENTAJE DE MUESTRAS NO CONFORMES OBTENIDOS EN LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS EN NIEVES ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.....	49
GRAFICO II. PORCENTAJE DE MUESTRAS CONFORMES OBTENIDOS EN LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS EN NIEVES ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.....	51
GRAFICO III. RESULTADO GENERAL DE MUESTRAS ANALIZADAS.....	53

## INTRODUCCION

Las nieves artesanales, son productos obtenidos a partir de mezclas batidas manualmente y refrigeradas, que contienen en su composición edulcorantes como el azúcar, saborizantes, colorantes naturales y artificiales, agua potable y el agregado de puré o base de frutas naturales.(13)

Dichos productos son de fácil obtención y bajo costo, por lo que son consumidas por un alto porcentaje de la población, especialmente menores de edad, siendo estos el sector de la población más susceptibles a adquirir enfermedades provocadas por una gran variedad de microorganismos, que se desarrollan comúnmente en este tipo de alimento, al ser elaborados sin tomar en cuenta prácticas higiénicas de elaboración, manipulación del producto y control de calidad del mismo.

En la presente investigación se evaluó la calidad microbiológica de nieves artesanales , comúnmente conocidas como “sorbetes de carretón” que son comercializadas en los alrededores de los centros educativos del municipio de mejicanos, dicha evaluación se realizó tomando en cuenta los límites establecidos por la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO:67.01.11:95 “Helados y mezclas de Helados. Especificaciones”, elaborada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Se determinó la conformidad o no de cada una de las muestras con la Norma Salvadoreña Obligatoria y en consecuencia el riesgo que implica el consumo de este alimento.

Debido a la gran popularidad que tiene este tipo de productos en la población en general y tomando en cuenta las deficientes condiciones higiénicas en que estos son elaborados y comercializados, se hace necesaria la presente investigación, con el objetivo de que sirva para el mejoramiento de la calidad de dichos productos y proteger la salud de los consumidores.



## **I. OBJETIVO**

### **1. Objetivo general**

Evaluar la calidad microbiológicas de nieves elaboradas artesanalmente comercializadas en las afueras de centros educativos del Municipio de Mejicanos.

### **2. Objetivos específicos**

2.1. Determinar en base a las especificaciones microbiológicas establecidas por la Norma Salvadoreña Obligatoria elaborada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) referente a helados y mezclas de helados NSO 67.01.11:95, si las muestras de nieves artesanales cumplen con dicha norma.

2.2. Proponer medidas higiénicas para la elaboración y manipulación de nieves que mejoren su calidad microbiológica

2.3. dar a conocer los resultados conocidos a los diferentes centros educativos involucrados en la investigación, así como al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para que tomen las medidas apropiadas.

MARCO TEORICO

## **MARCO TEÓRICO**

### **1. DEFINICIÓN DE HELADOS O SORBETES**

Son los productos obtenidos a partir de la mezcla pasteurizada , homogenizada, batida y refrigerada por medios manuales o mecánicos que tenga en su composición grasa butírica en forma de crema, mantequilla o en polvo, proteína láctea en forma de sólidos de leche, edulcorantes tales como azúcar , glucosa, dextrosa en forma líquida o sólida, estabilizantes y emulsificantes alimenticios, saborizantes, colorantes naturales y artificiales y agua potable.(13)

### **2. CLASIFICACION DE HELADOS O SORBETES**

Los helados o sorbetes se clasifican de acuerdo a su composición y al origen de sus ingredientes en los siguientes tipos (13):

- a. Helado o sorbete de leche
- b. Helado o sorbete de crema
- c. Helado de agua o paleta
- d. Nieve
- e. Sherbert
- f. Imitación de helado o sorbete de leche o crema (Mellorine)

### **3. DEFINICIÓN DE NIEVE**

Son los productos obtenidos a partir de las mezclas pasteurizadas, homogenizadas, batidas y refrigeradas mecánica o manualmente que llevan en su composición todos los ingredientes según se establece en la definición de helados o sorbetes, a excepción de ningún tipo de grasa butírica o vegetal, ni sólidos lácteos de leche y con el agregado de puré o base de frutas naturales (13).

### **4. COMPOSICIÓN GENERAL DE UNA NIEVE**

Los ingredientes que se emplean en la elaboración de nieves, deberán ser limpios, sanos y libre de contaminación; además deberán cumplir con las normas salvadoreñas correspondientes en su defecto con las normas del Codex Alimentarius de la FAO/OMS. Los principales ingredientes son los que se indican a continuación (13):

- a. Edulcorantes: Sacarosa, jarabe de maíz o glucosa, azúcar invertida, dextrosa, fructosa, lactosa, o mezcla de ellos.
- b. Agua potable.
- c. Frutas y productos derivados de las mismas.
- d. Otros productos alimenticios, tales como el café, cacao, miel de abeja, jengibre, almendras, nueces, licores.
- e. Colorantes artificiales: Se permitirá el uso de colorantes artificiales autorizados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social o por el Codex Alimentarius.

- f. Colorantes Naturales: El producto en cualquiera de sus tipos podrá ser adicionado de los siguientes colorantes naturales en la cantidad necesaria para obtener el efecto deseado: Alfa, Beta, Gamma Caroteno, Alfa, Beta, Gamma-8'-carotenal, Beta-apo 8' carotenoide, Cantavantina, Remolacha, Clorofila, Riboflavina, Cúrcuma, Cochinilla, cacao, caramelo, carbón, xantofila, annato, otros que son permitidos por el Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social.
- g. Saborizantes: los helados pueden elaborarse con saborizantes naturales y/o artificiales.
- h. Reguladores de pH. Para regular el pH de los helados y las mezclas para helados pueden usarse las siguientes sustancias: ácido acético, ácido cítrico y sus sales de sodio, potasio y calcio, ácido D1-láctico y sus sales de amonio, ácido L-láctico, ácido D1- málico, ácido L-málico, Ortofosfatos de sodio, potasio, calcio, polifosfato de sodio y potasio, bicarbonato de sodio, ácido L-tartárico y sus sales de sodio y potasio.

## **5. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS**

### **5.1 Factores que afectan el crecimiento de microorganismos en los alimentos.**

En un alimento se encuentran diferentes factores que afectan el crecimiento microbiano, entre los cuales están: Nutrientes, agua disponible ( $A_w$ ), pH, concentración de oxígeno y Temperatura.

### **5.1.1. Nutrientes.**

Los microorganismos requieren para su metabolismo y multiplicación nutrientes básicos, como son carbono y nitrógeno, factores de crecimiento como vitaminas, minerales y agua. Todos estos nutrientes se encuentran presentes en los alimentos, los cuales son aprovechados por los microorganismos utilizando enzimas apropiadas que degradan a los carbohidratos, proteínas y lípidos, hasta obtener nutrientes más simples, obteniendo de ellos energía para la síntesis de sus propios elementos celulares (5).

### **5.1.2 Agua disponible.**

Es el agua que se encuentra disponible en los alimentos para que los microorganismos puedan desarrollar sus funciones metabólicas. El agua disponible es medida en términos de actividad del agua ( $A_w$ ). Esta representa la razón de la humedad relativa de el aire sobre la solución a prueba comparada con el agua destilada. La mayoría de las bacterias tienen un  $A_w$  óptimo de 0.98, existiendo además para cada microorganismo un valor mínimo y máximo. Al agregar soluto (sal o azúcar) a un alimento, se reduce el  $A_w$  y con ello se inhibe el crecimiento microbiano al ser deshidratados por las condiciones hipertónicas (5,9).

### **5.1.3. pH**

La mayoría de las bacterias requieren un pH óptimo para su desarrollo, el cuál es generalmente alrededor de 7.0. Algunas bacterias productoras de ácido, como los lactobacilos

y estreptococos crecen mejor a pH 5.5-6.0 , mientras que los mohos y las levaduras se desarrollan mejor a pH ácido, entre 4.5 y 5.5. El pH del alimento junto con otros factores, determinará el tipo de microorganismo que pueda desarrollar sobre determinado alimento (5).

#### **5.1.4. Concentración de oxígeno**

Los microorganismos se clasifican en aerobios o anaerobios según su tolerancia al oxígeno. En un alimento la atmósfera que lo rodea determinará el tipo de microorganismo que se desarrolle en él así como si este crece en la superficie o en el fondo del alimento (14).

#### **5.1.5. Temperatura**

La temperatura es uno de los factores de mayor importancia para el crecimiento de los microorganismos, existiendo para cada uno, temperaturas mínimas, óptimas y máximas para realizar sus actividades metabólicas y de multiplicación. Las bacterias se clasifican según esta característica en bacterias psicrófilas, psicrótrofas, mesófilas y termófilas (8).

Las bajas temperaturas retardan el crecimiento microbiano, alargando el período de almacenamiento en un alimento. Aunque algunos microorganismos son muy sensibles a las bajas temperaturas y su número se ve reducido, estas no generan un decremento significativo sobre la totalidad de la población microbiana de un alimento.

Esto debido a que los rangos de temperaturas para una especie en particular no son rígidos y pueden variar dependiendo de factores externos como son el pH y la disponibilidad de nutrientes. Lentos crecimientos microbianos se han descrito a temperaturas inferiores a los  $-10^{\circ}\text{C}$ , particularmente en jugos de frutas concentrados, helados y algunas frutas.(9)

Así tenemos a microorganismos clasificados como mesófilos que son capaces de multiplicarse a bajas temperaturas, como por ejemplo *Staphylococcus aureus* el cual puede multiplicarse y producir toxinas a temperaturas de  $4^{\circ}\text{C}$  y *Salmonella sp* que puede soportar temperaturas de congelación por largos períodos de tiempo.(7)

## **5.2. FUENTES DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA**

### **5.2.1. Contaminación por las frutas.**

La superficie de las plantas posee su propia flora microbiana normal, la cual incluye especies de *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Micrococcus*, así como especies de coliformes y bacterias lácticas. Además la parte superficial de la planta se ve expuesta a la contaminación por el suelo, el aire, el agua, animales, incorporando microorganismos procedentes de estas fuentes. Estos microorganismos pueden incrementar su número al encontrar condiciones apropiadas de crecimiento, esto ocurre generalmente después de la recolección. Se ha comprobado que algunas frutas albergan en su interior microorganismos viables (5,8).



### **5.2.2. Contaminación a partir de los animales.**

Los animales constituyen una fuente importante de contaminación de los alimentos ya que estos depositan sus excretas , al suelo, al agua y a las plantas que habitan estos medios, introduciendo a estos una gran cantidad de bacterias *coliformes* y *enterococos*, muchos animales causan daños físicos a las frutas incorporando de esta forma microorganismos, iniciando el proceso de contaminación microbiana (5).

### **5.2.3. Contaminación por el suelo**

El suelo contiene la mayor variedad de microorganismos, procedentes de todas las fuentes de contaminación, el polvo del suelo es arrastrado por el aire y las partículas pueden alcanzar la superficie de los alimentos o el agua con la que se elaboran y de esta manera contaminarlos.

Entre los microorganismos más importantes que habitan el suelo se encuentran mohos y levaduras y bacterias como *Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* y algunas bacterias superiores como Actinomicetos y bacterias ferruginosas (5).

#### **5.2.4 Contaminación por el agua**

El agua contiene no solo su propia flora microbiana sino también microorganismos procedentes del suelo, animales y de aguas residuales. Al ser este el ingrediente principal en la elaboración de muchos alimentos, se debe tomar en cuenta su calidad microbiológica. El agua utilizada en el lavado y elaboración de los alimentos es generalmente agua procedente de tuberías la cual presuntamente ha sido previamente potabilizada, aunque al ser utilizada no se puede garantizar su calidad microbiológica ya que también puede ser contaminada en el proceso de distribución, así como en su recolección y almacenamiento por lo que resulta fundamental realizar el control microbiológico de esta .

Además puede ser fuente de contaminación al ser utilizada como hielo para la preservación de algunos alimentos, especialmente si no se conoce el origen y la forma de elaboración de este. Entre la flora bacteriana del hielo utilizado para conservar los alimentos están especies de los géneros *Corynebacterium*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* y *cocos* (5,14).

#### **5.2.5 Contaminación por manipuladores**

La contaminación de los alimentos se puede producir durante su manipulación al ser elaborados o distribuidos, cuando no se tienen las condiciones higiénicas adecuadas, para evitar dicha contaminación, el personal que entra en contacto directo con el alimento deben

estar libres de enfermedades infecto-contagiosas, especialmente de la piel y contar con el equipo necesario para evitar en lo posible el contacto con el alimento reduciendo la posibilidad de contaminación (14).

### **5.3. MICROORGANISMOS DE INTERES EN LA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS**

#### **5.3.1. Microorganismos indicadores.**

Cada alimento posee su propia flora microbiana sin que esto implique necesariamente un riesgo para el consumidor. Los alimentos únicamente constituyen un riesgo para la salud al ser elaborados sin las condiciones básicas de higiene. En el análisis de un alimento resultaría caro y poco práctico, buscar la presencia de microorganismos patógenos o sus toxinas. Por lo que se ha preferido trabajar con grupos o especies de microorganismos que indiquen al estar presentes en el alimento dentro de ciertos rangos numéricos que este ha sido expuesto a condiciones que pueden introducir microorganismos patógenos y permitir que se multipliquen o sean capaces de elaborar sus toxinas (14).

##### **5.3.1.1. Microorganismos mesófilos aerobios**

Los microorganismos mesófilos aerobios son aquellos que requieren oxígeno como aceptor terminal de electrones y no proliferan en condición de anaerobiosis y que poseen una temperatura óptima de crecimiento de 30-40° C. La mayor parte de los microorganismos se

encuentran dentro de esta categoría, incluyendo todos los microorganismos patógenos para los humanos. Debido a esto las fuentes de contaminación son muy diversas y pueden ser el agua, aire, suelo, superficies y equipos sucios, malas condiciones de almacenamiento y comercialización etc.

El objetivo de este recuento es determinar la vida útil de un alimento almacenado a temperatura ambiente, condiciones de higiene de superficies y maquinarias, calidad de la materia prima (7).

El recuento de microorganismos mesófilos aerobios provee la estimación del número de microorganismos presentes en un producto. se basa en la hipótesis que las células bacterianas que contiene la muestra mezclada en un medio de agar forman, cada una, colonias visibles y separadas. Para ello se mezclan diluciones decimales de la muestra con el medio. Incubando las placas a 35° C por 48 horas y se realiza el conteo de las colonias.

Este método como todos presenta limitaciones. Las células bacterianas pueden crecer en pares, racimos o células individuales que pueden no estar bien distribuidas. Por consiguiente cada colonia que se forma puede proceder de una célula o grupos de células, por lo que el computo de colonias se agrupa en el término “Unidades Formadoras de Colonias (UFC)”. (2)

### 5.3.1.2. Coliformes totales

Los microorganismos coliformes están comprendidos por los géneros *Escherichia*, *klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*. Estos presentan la característica común de fermentar la lactosa , con producción de gas. De estos únicamente *Escherichia coli* y dos biotipos del género *Enterobacter* son de origen fecal, los géneros *Citrobacter* y *klebsiela* se aíslan del ambiente y vegetales y no son de origen fecal.(7)

Las bacterias de este grupo presenta la capacidad de crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10° C hasta una temperatura próxima a los 46° C.(5)

El recuento de coliformes totales sirve como un indicador de, tratamiento térmico insuficiente de un alimento, contaminación posterior al tratamiento térmico, almacenaje del producto terminado a temperatura demasiado elevada, superficies y maquinarias en malas condiciones higiénicas (14).

El análisis de coliformes totales por el método de tubos múltiples es basado en formulas de probabilidad, estimado de la densidad promedio de coliformes en las muestras, y se realiza en dos pasos: Prueba presuntiva y prueba confirmativa. . (2)

Para la prueba presuntiva se utiliza caldo Laurilsulfato, el cual debido a su gran calidad nutritiva y a su tampón de fosfatos, garantiza el crecimiento rápido y la formación de gas, incluso en el caso de coliformes que fermentan lentamente la lactosa, el contenido de laurilsulfato inhibe en gran manera el crecimiento de flora acompañante.

La prueba confirmativa se realiza con caldo BRILA, el cual inhibe el crecimiento de flora acompañante por su contenido de bilis y verde brillante, La fermentación de la lactosa con formación de gas, es un indicativo de la presencia de *Escherichia coli*, pero coliformes no fecales también crecen en este medio, las cuales pueden presentar formación de gas en algunas ocasiones. (17)

### **5.3.1.3 *Escherichia coli***

*Escherichia coli*, es una bacteria gramnegativa, en forma de bacilo, con presencia de flagelos que le dan movilidad, no forman esporas y son aerobios facultativos, fermentan la lactosa con producción de gas a 45.5° C y produce Indol a partir de triptófano a 35° C. Su hábitat es el tracto digestivo del hombre y de otros animales de sangre caliente. La temperatura óptima de crecimiento del microorganismo es de 37° C, pero posee un intervalo de crecimiento que va de 10 a 40° C.(7,5)

Inicialmente solo se utilizó como indicador de contaminación fecal en agua, utilizándose posteriormente para determinar contaminación fecal también en los alimentos. La prueba es de utilidad para determinar la posible contaminación fecal de un alimento, lo que implica el riesgo de la posible contaminación con otras bacterias de origen entérico como *Salmonella* o *Shigella*. (7)

La identificación de *E. coli* se basa en las características morfológicas que presenta la bacteria en el Agar EMB, el cual gracias a los colorantes presentes en su formulación inhibe a la flora acompañante, especialmente bacterias gram-positivas, las colonias de *E. coli* presentan en el medio una coloración verdosa con o sin brillo metálico a la luz reflejada, con el centro negroazulado a la luz transmitida. Como método de confirmación se requiere realizar pruebas bioquímicas. (17)

### **5.3.2. Microorganismos causantes de enfermedades alimentarias**

Son microorganismos capaces de producir enfermedades, cuando estos se encuentran en cantidades y condiciones adecuadas para su multiplicación en un alimento volviendo al producto peligroso para el consumo humano.

La enfermedad alimentaria puede ser causada por una infección, en la cual el microorganismo se multiplica dentro del organismo huésped antes de iniciarse el cuadro

clínico, generalmente transcurren más de 24 horas entre la ingesta y la presencia de los síntomas. Otro mecanismo de acción es la intoxicación alimentaria en la cual el microorganismo produce toxinas cuando este se encuentra en el alimento, produciéndose los síntomas pocas horas después de su ingestión.

La gravedad de la enfermedad alimentaria va a depender de diferentes factores como son , la virulencia de la cepa, el número inicial de células, la cantidad de toxina elaborada antes de su ingestión, así como también la sensibilidad de la persona. Existen grupos de alto riesgo como son niños, ancianos y personas enfermas las cuales son más susceptibles de adquirir enfermedades alimentarias (14).

#### **5.3.2.1. *Staphylococcus aureus***

Son células esféricas grampositivas, no móviles y no forman esporas, los estafilococos producen catalasa, fermentan con lentitud muchos carbohidratos produciendo ácido láctico pero no gas, *St. aureus* es positivo a la coagulasa, es un patógeno de gran importancia para el ser humano y es el causante de muchas infecciones graves.

*St. aureus*, puede producir enfermedad tanto por su capacidad de multiplicarse y extenderse con amplitud por los tejidos, así como por su producción de muchas sustancias extracelulares. Es de gran utilidad como un indicador de contaminación de un alimento por



manipuladores, por ello es también importante la detección de *St. aureus* en las manos, nariz y garganta de los manipuladores de alimentos.(7)

Su multiplicación en un alimento depende de las condiciones ambientales y de la flora acompañante ya que son malos competidores frente a otros microorganismos. La producción de toxinas también depende de el tipo de cepa ya que no todas las cepas coagulasa positiva son toxigénicas.

El intervalo de temperaturas dentro del cual tienen lugar la multiplicación y la producción de toxina está comprendido entre los 4 y los 46° C.(5)

El cuadro de intoxicación alimentaria es producido únicamente cuando el microorganismo alcanza valores de  $10^5$  UFC/g o más en el alimento produciéndose con ello la cantidad de toxina necesaria para causar la intoxicación, la cual se presenta de 30 minutos a 8 horas después de haber consumido el alimento y se caracteriza por vómito, dolor abdominal e hipotermia, su duración puede variar entre uno a dos días (14).

La identificación de *St. aureus* se basa en las características morfológicas que presentan las colonias en el Agar selectivo para Estafilococos BAIRD-PARKER, el cual

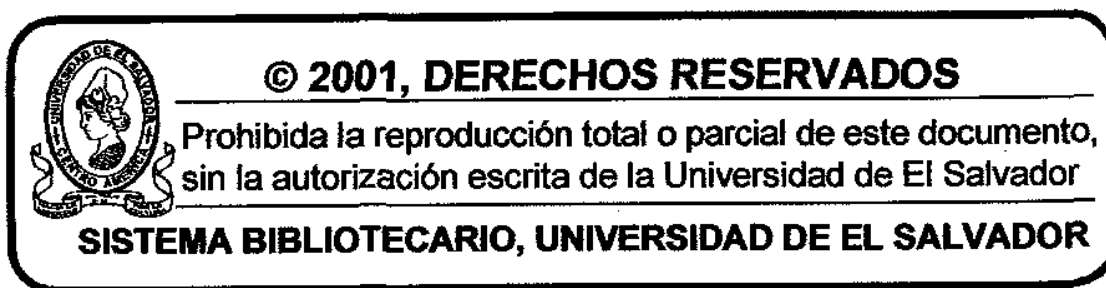
favorece selectivamente el crecimiento de estafilococos por su contenido de glicocola y piruvato e inhibe la flora acompañante gracias a su contenido de cloruro de litio y telurito.

Las colonias de *St. aureus* muestran sobre el medio opaco por su contenido en yema de huevo características diagnosticas por lipólisis y proteólisis, ya que estas producen halos y anillos característicos y debido a la reducción de telurito a telurio, se desarrolla una colonia negra. La reacción con la yema de huevo y el telurito se presentan en la mayoría de los casos en forma paralela con una reacción positiva a la prueba de la coagulasa, por lo tanto es necesario la realización de esta prueba como método de confirmación.(17)

### 5.3.2.2 *Salmonella sp.*

Todos los serotipos del género *Salmonella* son potencialmente patógenos para el hombre , existiendo aproximadamente 1600 serotipos diferentes. Son bacterias gramnegativas, en su mayoría móviles, crecen con facilidad en medios sencillos, casi nunca fermentan la lactosa o la sacarosa. Forman ácido y a veces gas a partir de glucosa y manosa. Suelen producir H<sub>2</sub>S, sobreviven a la congelación en el agua durante períodos prolongados. Son bacterias de origen intestinal que al ser excretadas por las heces pueden contaminar el suelo y el agua.

Aunque su temperatura óptima es de 37° C, el intervalo temperatura para el crecimiento de *Salmonella sp.* en los alimentos oscila de 6.7° C a 45.6° C.(5)



La enfermedad se transmite generalmente por la ingestión de alimentos de origen animal contaminados, así como por el consumo de agua contaminada con heces fecales. Otra vía menos frecuente es de un ser humano a otro. La dosis infecciosa media para producir infección clínica en el hombre es de  $10^5$  a  $10^8$  Salmonellas (de la especie *Salmonella typhi* basta con  $10^3$  microorganismos). Entre los factores que contribuyen a la resistencia de la infección por Salmonella se encuentran: acidez gástrica, flora microbiana intestinal normal, inmunidad intestinal local.(7)

Las *Salmonellas* producen tres tipos principales de enfermedades en el hombre: fiebre intestinal o tifoidea, bacteremia con lesiones focales y enterocolitis o gastroenteritis.

#### **5.3.2.2.1. Fiebre intestinal, fiebre tífica o tifoidea**

Los agentes etiológicos son solo algunos serotipos como *S. typhi* y *S. Paratyphi*, *A*, *B* ó *C*, las fuentes de contagio son principalmente las aguas servidas, posee un período de incubación de 10 a 14 días, después del cual aparecen fiebres, malestar general, cefalalgia, , bradicardia, con escasos síntomas intestinales. El cuadro puede durar de 2-3 semanas. Las personas que han padecido esta enfermedad son portadores durante algunas semanas (7).

### **5.3.2.2 Bacteremia con lesiones focales**

Puede ser causada por cualquier serotipo de *Salmonella*, después de la infección por vía bucal ocurre una invasión temprana de la sangre con posibles lesiones focales en pulmones, huesos, meninges, etc. A menudo no hay manifestaciones intestinales (7).

### **5.3.2.2.3. Enterocolitis (gastroenteritis)**

El agente causal puede ser cualquier serotipo de *Salmonella*, es la manifestación más común de infección por *Salmonella* en los E.U.A., los síntomas se producen de 8-48 horas después de la ingestión de los microorganismos, causando diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos, cefaleas y escaso aumento de la temperatura. Su duración va de 3 a 5 días y no hay portadores (7,14).

La identificación de *Salmonella sp.* Se basa en las características morfológicas que presentan las colonias de *Salmonella sp.* En medios selectivos como son Agar Salmonella-Shigella y Agar Bismuto Sulfito.

El Agar Salmonella-shigella inhibe considerablemente la flora acompañante por su contenido de verde brillante, bilis de buey y la elevada concentración de tiosulfato y piruvato. Las colonias de *Salmonella* son incoloras, transparentes y en algunas ocasiones con centro negro, *Shigellas* y *Proteus* poseen estas mismas características en el medio por lo que es

necesario la confirmación resemebrando las colonias sospechosas en Agar VRBL, en el cuál las colonias de *Salmonella sp.* crecen incoloras y transparentes debido a su incapacidad para fermentar la lactosa.(17)

En Agar Bismuto Sulfito las colonias de *Salmonella sp.* Presentan un centro negro, borde claro, precipitado negro con brillo metálico alrededor de las colonias (“ojo de conejo, ojo de pez”).

El verde brillante y el bismuto inhiben considerablemente a los gérmenes de acompañamiento. Las colonias de *Salmonella* H<sub>2</sub>S-positivas, presentan ennegrecimiento debido al sulfuro de hierro. La reducción de los iones bismuto a bismuto metálico produce brillo metálico alrededor de las correspondientes colonias.(17)

## CAPITULO II

# DISEÑO EXPERIMENTAL

## **METODOLOGIA**

### **1. INVESTIGACIÓN DE CAMPO**

#### **1.1. UNIVERSO**

El universo de la investigación está constituida por los vendedores de nieves elaboradas artesanalmente que comercializan su producto en los centros educativos (públicos y privados) del municipio de Mejicanos.

Debido a que ni el Ministerio de Salud publica y Asistencia Social, ni la municipalidad de Mejicanos cuenta con un control acerca de el número de vendedores de nieves artesanales, y ya que la investigación está enfocada en los vendedores que comercializan su producto en los alrededores de los centros educativos se determinó tomar como universo a la totalidad de centros educativos públicos y privados del municipio de Mejicanos.

#### **1.2. DISEÑO Y TAMAÑO DE MUESTRA**

El muestreo implementado en esta investigación corresponde al método establecido por la Norma Centroamericana No 4 011 “Procedimientos de muestreo y tablas para investigación por atributos. Planes de muestra simple, doble y múltiple con rechazo” publicada por el ICAITI.

El número de centros educativos considerados como representativos se obtuvo por medio de las tablas 1 y IIA de la norma (ver anexo I y II ), para lo cual se dividió el total de centros educativos (79 centros educativos), en centros públicos y centros privados con el objeto de mantener las características originales del universo, estos subgrupos quedaron constituidos por 48 centros privados y 31 centros públicos.

El plan de muestreo utilizado es el de tipo simple, en el cual se inspecciona una sola muestra del lote y sobre la base del resultado obtenido, se procede a la aceptación o rechazo de dicho lote.

Debido a que no se cuenta con ningún dato anterior referente a la calidad microbiológica de nieves artesanales la norma centroamericana indica que se debe realizar una inspección de tipo normal.

Para lo cual se buscó en la tabla 1 (Anexo I) la letra clave para el tamaño de la muestra, encontrando en la columna “tamaño de lote o partida” el rango en el que se encuentra el tamaño de cada subgrupo de centros educativos, procediendo a buscar la letra clave en la columna “II” de dicha tabla que corresponde a una inspección normal, tanto para centros públicos como privados se encontró que la letra clave correspondiente era “D”



Luego se encontró en la tabla II-A (Anexo II), el tamaño de muestra correspondiente a la letra clave encontrada, el tamaño de muestra obtenido correspondiente a la letra clave “D” es de 8 centros educativos. Por lo que el número de centros educativos a ser muestreados considerados como representativos según la norma centroamericana es de 16 centros educativos (8 públicos y 8 privados).

Debido a que se consideró que se tenía la posibilidad de realizar un muestreo más amplio que el establecido por la norma como representativo se decidió realizar el muestreo al 50% del total de centros educativos manteniendo la proporcionalidad de cada subgrupo.

Los diferentes centros educativos muestreados, se determinaron seleccionando aleatoriamente el 50% de centros educativos del total presente en cada una de las listas de centros públicos y privados. El número de centros educativos a muestrear es de 40 constituidos como se muestra en los Anexos III y IV.

## **2. DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS:**

Las determinaciones microbiológicas realizadas, fueron las planteadas por la norma Salvadoreña obligatoria sobre helados y mezclas de helados elaborada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). NSO 67.01.11:95. (Anexo V)

La metodología de análisis seguida se basa en los métodos establecidos en el “Bacteriological analytical manual” y en “Methods of analysis of the association of official analytical chemists” publicadas por la A.O.A.C.

### **3. TRABAJO DE LABORATORIO**

#### **3.1 Toma de muestra**

Se recolecto aproximadamente 50 g de muestra utilizando para ello bolsas plásticas de primer uso posteriormente fueron trasladadas al laboratorio en hieleras a una temperatura entre 0-4° C

#### **3.2 Procedimiento**

##### **3.2.1 Dilución de la muestra**

Dilución  $10^{-1}$ . Se pesó en forma aséptica, 25g de nieve previamente homogenizada, en un frasco de dilución estéril conteniendo 225 ml de la solución diluyente de peptona y posteriormente se homogenizó la muestra.

Dilución  $10^{-2}$ . Inmediatamente después de homogenizar, se tomó una alícuota de 10 ml de la dilución  $10^{-1}$  con una pipeta estéril y se agregó la porción a un frasco de dilución que contenía 90 ml de la solución diluyente estéril, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.

Dilución  $10^{-3}$ . Se transfirió con una pipeta 10 ml de la dilución ( $10^{-2}$ ) a otro frasco de dilución conteniendo 90 ml de la solución diluyente de peptona estéril, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.

Dilución  $10^{-4}$ . Se transfirió con una pipeta 10 ml de la dilución ( $10^{-3}$ ) a otro frasco de dilución conteniendo 90 ml de la solución diluyente de peptona estéril, evitando el contacto de la pipeta con el diluyente.

En cada una de las diluciones se mezclaron los líquidos hasta obtener una buena homogenización

### **3.2.2 Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios**

Con una pipeta estéril, se transfirió por duplicado 1 ml de cada una de las diluciones obtenidas, a cajas de petri estériles vacías. Empezando con la mayor dilución seleccionada y se procede hasta la menor. Posteriormente se vertió en cada placa 15 a 20 ml del medio de cultivo agar para recuento en placa fundido, enfriado previamente a una temperatura aproximadamente de 45° C.

Inmediatamente después de agregar el medio de cultivo se mezclaron en forma de 8 los contenidos de las placas en una superficie plana horizontal.

Se incubaron las placas a una temperatura de  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  durante  $24 - 48 \pm 2$  horas, posteriormente se procedió a realizar el recuento de colonias en cada una de las placas.

### **3.2.3 Detección de bacterias coliformes totales y *Escherichia coli***

#### **3.2.3.1. Prueba presuntiva para bacterias coliformes totales.**

De cada una de las diluciones de la muestra ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), se transfirió una alícuota de 1 ml a 3 tubos de fermentación que contenían 9 ml de caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST) con campanas Durham.

Se incubaron los tubos a  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  y se examinaron después de transcurridas  $24 \pm 2$  horas para detectar la posible formación de gas (tubos positivos), la cuál se evidencia por un desplazamiento del medio en la campana de Durham o por efervescencia cuando los tubos fueron agitados suavemente; se incubaron los tubos negativos por un período adicional de 24 horas y se examinan nuevamente para detectar la formación de gas.

Se sometieron al análisis confirmativo todos los tubos presuntamente positivos.

### **3.2.3.2. Prueba confirmativa para bacterias coliformes totales.**

Se agitó suavemente cada uno de los tubos de LST ( laurilsulfato triptosa ) que mostró formación de gas y, con el asa circular, se transfirió una porción de la suspensión a un tubo que contenía 10 ml de caldo verde brillante lactosa bilis 2% ( BGLB; BRILLA).

Se incubaron los tubos BGLB ( BRILLA ) a  $35 \pm 2^\circ$  C durante  $24-48 \pm 2$  h, pero examinándolo a las 24 horas y las 48 horas y se registran los tubos que evidenciaron formación de gas, los cuales servirán para determinar el número mas probable ( NMP ) de bacterias coliformes totales en la muestra ( ver anexo VI).

### **3.2.3.3. Identificación de *Escherichia coli***

De un tubo con caldo BGLB (BRILA) de cada dilución con formación de gas se extrajo una porción con el asa circular transfiriéndolo a un tubo conteniendo caldo EC, se incubaron  $24-48 \pm 2$  h a  $45 \pm 1^\circ$  C (B.M.).

Se registraron los tubos que evidenciaron formación de gas. De cada tubo que resultó positivo se extrajo una porción de la suspensión con el asa circular y se sembró en estrías sobre la superficie de placas de agar eosina azul de metileno ( EMB ).

Se incubaron las placas a  $35\pm 1^{\circ}$  C durante 24 horas y luego se examinaron para detectar las colonias sospechosas de *Escherichia coli*, caracterizada por un centro oscuro con o sin brillo metálico.

Las colonias sospechosas se sembraron nuevamente en placas de EMB incubándose por 24 h a  $35\pm 1^{\circ}$  C para obtener un cultivo puro, antes de realizar la confirmación bioquímica.

#### **3.2.3.3.1. Confirmación bioquímica.**

Se realizaron los siguientes análisis bioquímicos con todos los cultivos que se sospechaban ser de *Escherichia coli*.

**Producción de Indol:** Se inoculó un tubo que contenía caldo de triptófano y se incubó a  $35^{\circ}$  C durante  $24\pm 2$  h.; se detectó la presencia de Indol agregando 0.2 ml de reactivo de kovacs. El análisis positivo se evidencia por la aparición de un color rojo claro en la capa superior.

**Análisis de Voges-Proskauer (VP).** Se inoculó un tubo que contenga caldo MR-VP y se incubó a  $35^{\circ}$  C durante  $24 \pm 2$  h ; luego, a temperatura ambiente, se agrega 0.6 ml de la solución de alfa-naftol y 0.2 ml de la solución de Hidróxido de potasio al 40 %, agitando

luego de la adición de cada solución . El análisis VP es positivo cuando se desarrolla un color rosado.

**Análisis con rojo de metilo (MR).** Se inoculó un tubo que contenga caldo MR-VP y se incubó a 35° C durante  $24 \pm 2$  h ; luego, a temperatura ambiente, se agrega 0.3 ml de la solución indicadora de rojo de metilo. El análisis MR es positivo cuando aparece un color rojo claro

**Utilización de Citrato.** Con una porción mínima de la colonia se inoculó un tubo conteniendo agar citrato; Se incubó a 35° C durante  $24 \pm 2$  h y luego se observó si se desarrolló una coloración azul lo cual indica que el análisis es positivo. La coloración verde inicial del medio indica reacción negativa.

**Movilidad.** En un tubo conteniendo agar SIM , se introdujo en forma vertical un asa en punta conteniendo una porción mínima de colonia sospechosa, se incubó a 35° C durante  $24 \pm 2$  h y luego se observó si hubo un crecimiento únicamente en el área inoculada, o si el crecimiento se da en todo el medio de cultivo (movilidad positiva)

**Agar TSI.** Las colonias seleccionadas se sembraron utilizando un asa en punta en forma de estrías sobre la superficie de un tubo inclinado conteniendo el medio. Se incubaron los tubos inoculados durante 24h a  $37 \pm 1$ ° C y se interpretan los cambios en el medio:

### FONDO DEL MEDIO TSI

AMARILLO	FORMACIÓN DE ACIDO A PARTIR DE GLUCOSA (A)
ROJO	NO HAY FORMACIÓN DE ACIDO A PARTIR DE GLUCOSA (N)
NEGRO	FORMACION DE SULFURO DE HIDROGENO
BURBUJAS O GRIETAS	FORMACION DE GAS A PARTIR DE LA GLUCOSA

### SUPERFICIE DEL MEDIO TSI.

AMARILLO	FORMACION DE ACIDO A PARTIR DE LACTOSA, SACAROSA O AMBAS
ROJO	NO HAY FORMACION DE ACIDO A PARTIR DE SACAROSA, LACTOSA O AMBAS.



Se considera *E. Coli* todas las colonias con las siguientes características bioquímicas:

REACCION	RESULTADO
INDOL	POSITIVO O NEGATIVO
ROJO DE METILO	POSITIVO
VOGES-PROSKAUER	NEGATIVO
MOVILIDAD	POSITIVA O NEGATIVA
CITRATO	NEGATIVO
TSI (Formación de ácido en el fondo)	POSITIVO
TSI (Formación de ácido en la superficie)	POSITIVO O NEGATIVO
TSI (Formación de gas en el fondo)	POSITIVO O NEGATIVO
TSI (Formación de sulfuro de hidrógeno)	NEGATIVO

### 3.2.4 Recuento de *Staphylococcus aureus*

De cada una de las diluciones decimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), se transfirió asépticamente 0.4 ml, 0.3ml, 0.3 ml a cajas de petri con agar Baird Parker previamente secado.

Se extendió el inóculo sobre la placa utilizando un rastrillo en forma de “L” y se incubaron a  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  por 24-48 h.

Se seleccionan las placas que contienen colonias sospechosas y se procedió a realizar el recuento de dichas colonias, posteriormente se realizó la prueba de la coagulasa sobre por lo menos una colonia sospechosa.

En el medio agar Baird-Parker se deberá seleccionar las colonias negras y brillantes con bordes reducidos blancos y que aparecen rodeadas de zonas traslúcidas que contrastan con el medio opaco.

**Prueba de la coagulasa.** Se transfirieron las colonias sospechosas a tubos pequeños que contengan alrededor de 0.3 ml de caldo infusión cerebro corazón y se suspenden en forma cuidadosa.

Se incubaron los tubos de caldo durante 18 a 24 h a 35-37° C se agregan 0.5 ml de plasma a los tubos de caldo y se mezcla cuidadosamente. Se incuban a una temperatura de 35-37° C y se examina cada hora, para verificar la formación de coágulos, durante un intervalo de 6 h.

Se considera positiva la prueba cuando todo el contenido del tubo se coagula y no se desplaza cuando se invierte el tubo.

Si una colonia sospechosa da reacción positiva se considera que todas las colonias del mismo tipo son positivas. Posteriormente se procede a realizar el recuento de *Staphylococcus aureus* por gramo de muestra

Si no hay colonias coagulasa positiva en las placas de todas las diluciones tal situación se indica con la expresión “menos de 10 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo”

### **3.2.5 Detección de *Salmonella* sp.**

#### **3.2.5.1.Pre-enriquecimiento**

Se transfirieron 25 g de muestra a un frasco de dilución esteril conteniendo 225 ml de caldo lactosado (dilución  $10^{-1}$ ) y se homogenizó la muestra.

Se incubó el frasco a  $37 \pm 1^\circ$  C durante un tiempo no menor de 16 h ni mayor de 20 h.

#### **3.2.5.2 Enriquecimiento (Enriquecimiento selectivo)**

Después del período de incubación, se transfirieron 1 ml del frasco a cada uno de dos tubos conteniendo 9 ml del caldo tetrionato y 9 ml del caldo selenito.

Los caldos inoculados se incubaron por 24 h a una temperatura de  $37 \pm 1^\circ$ .

### **3.2.5.3 Aislamiento.**

Luego de un período de incubación de 24 h, se extrajo una porción de cada uno de los frascos incubados, usando un asa circular, y se sembró la superficie de las placas de agar Salmonella-Shiguella (S-S) y agar Bismuto Sulfito (BS), con el fin de obtener las colonias aisladas. Las placas fueron incubadas a  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  por 24 h.

Completado el período de incubación se examinaron las placas para detectar la presencia de colonias típicas de *Salmonella sp.* Las colonias típicas de *Salmonella* en el agar Salmonella-Shiguella son transparentes incoloras y en Agar Bismuto Sulfito son de coloración negras con brillo metálico y con halo de precipitado negro.

Si el crecimiento era muy pequeño y no se presentaban colonias típicas de *Salmonella*, se vuelven a incubar las placas a  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  por un período adicional de 20-24 h y se examinan nuevamente las placas para detectar colonias típicas de *Salmonella*.

### **3.2.5.4. Confirmación**

**Selección de colonias.** De cada placa de agar Salmonella-Shiguella (S-S), se seleccionaron 5 colonias típicas o sospechosas para confirmación.

Se extrajeron las colonias sospechosas y se sembraron en estrías sobre la superficie seca de placas de agar violeta-rojo neutro-bilis-lactosa (VRBL), luego se incubaron a  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  durante 20-24 h.

Se seleccionaron cultivos puros (lactosa negativa) para la confirmación bioquímica.

### 3.2.5.5 Confirmación bioquímica.

Las pruebas y metodología utilizadas para la confirmación bioquímica son las mismas que se mencionan en el numeral 3.2.3.4.

Se consideran como *salmonella* todas las colonias que muestran las siguientes características bioquímicas:

REACCIÓN	RESULTADO
TSI (Formación de ácido en el fondo)	POSITIVO
TSI (Formación de ácido en la superficie)	NEGATIVO
TSI (Formación de gas en el fondo)	POSITIVO
TSI (Formación de sulfuro de hidrógeno)	POSITIVO
VOGES-PROSKAUER	NEGATIVO
ROJO DE METILO	POSITIVO
CITRATO	POSITIVO
MOVILIDAD	POSITIVO
INDOL	NEGATIVO

**CAPITULO III**  
**DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## TABLA No I

### RESULTADO DEL MUESTREO REALIZADO EN LOS CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.

No. De identificación.	Centro Educativo	No. De muestras	Fecha de muestreo
1	Colegio Jardín	1	09/07/01
2	Centro Escolar Japón	1	09/07/01
3	Centro Escolar 22 de Junio	1	09/07/01
4	Centro Escolar Amalia Vda. De Menéndez	1	09/07/01
5	Centro Escolar Antonio Najarro/ Esc. Ed. Parv. Com. Jardín	1	09/07/01
6	Colegio Dr. Reinaldo Galindo Polh	1	09/07/01
7	Liceo San José	1	09/07/01
8	Centro Escolar el Progreso	1	09/07/01
9	Centro Esc. Rep. De Francia	0	09/07/01
10	Centro Esc. Finca Argentina	0	09/07/01
11	Centro Escolar República Oriental de Uruguay	1	16/07/01
12	Instituto Nacional Maestro Alberto Masferrer/ Liceo Cristiano Rev. Juan Bueno Zacamil	1	16/07/01
13	Centro Escolar Reino de Suecia	1	16/07/01
14	Colegio Cristiano Pan de vida	1	16/07/01
15	Colegio Donato Di Niccolo	1	16/07/01
16	Colegio Dr. Rafael García Castro	1	16/07/01
17	Colegio Bilingüe geniecitos	1	16/07/01
18	Escuela Parvularia Gloria de Borja Natán	0	16/07/01
19	Escuela San Alfonso	0	16/07/01

No. De identificación.	Centro Educativo	No. De muestras	Fecha de muestreo
20	Colegio Genesis	0	16/07/01
21	Colegio Julio Verne	1	21/07/01
22	Colegio Zander	1	21/07/01
23	Colegio Minerva	1	21/07/01
24	Centro Escolar San Simón	1	21/07/01
25	Centro Escolar San Mauricio	1	21/07/01
26	Colegio Horeb	1	21/07/01
27	Colegio Adler	1	21/07/01
28	Liceo Rosa Miriam de Castillo	1	21/07/01
29	Centro Escolar Prof. Fco. U. Panameño.	1	21/07/01
30	Coleg. Margarita Zaldivar de Wilson	0	21/07/01
31	Centro Escolar Rep. De Perú	1	13/08/01
32	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco	1	13/08/01
33	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez.	1	13/08/01
34	Coleg. Bradford	1	13/08/01
35	Coleg. Pedro Antonio Aparicio	1	13/08/01
36	Coleg. Cultural San Ramón	1	13/08/01
37	Coleg. Juan José Bernal	1	13/08/01
38	Coleg. San Juan de Dios	0	13/08/01
Número de Centros educativos en los que se encontraron vendedores de nieves artesanales		33	
Número de Centros educativos en los que no se encontraron vendedores de nieves artesanales		7	
Porcentaje de Centros educativos en los que se encontraron vendedores de nieves artesanales		82.5%	
Porcentaje de Centros educativos en los que no se encontraron vendedores de nieves artesanales		7.5%	



**TABLA No II**  
**RECUESTO TOTAL DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS .**

Limite Microbiológico*		Sugerido	Aceptado
Recuento total, por gramo		$2.5 \times 10^4$ (UFC)	$5 \times 10^4$ (UFC)
No. correlativo	Centro Educativo	Recuento UFC/g	Resultado de acuerdo a la norma
1	Col. Jardín	$2.6 \times 10^6$	No conforme
2	Centro Esc. Japón	$3.3 \times 10^5$	No conforme
3	Centro Esc. 22 de Junio	$8.2 \times 10^5$	No conforme
4	Centro Esc. Amalia Vda. De Menéndez	$3.2 \times 10^6$	No conforme
5	Centro Esc. Najarro/Esc. Parv. Jardín	$5.6 \times 10^5$	No conforme
6	Col. Dr. Reinaldo Galindo Polh	$1.7 \times 10^6$	No conforme
7	Liceo san José	$3.7 \times 10^6$	No conforme
8	Centro Esc. El Progreso	$2.6 \times 10^5$	No conforme
9	Centro Esc. Rep. Oriental de Uruguay	$2.5 \times 10^5$	No conforme
10	I.N.A.M./Liceo cristiano Rev. Juan Bueno	$1.4 \times 10^6$	No conforme
11	Centro Esc. Reino de Suecia	$4.7 \times 10^4$	Conforme
12	Col. Cristiano pan de Vida	$4.6 \times 10^6$	No conforme
13	Col. Donato di Niccolo	$9.5 \times 10^4$	No conforme
14	Col. Dr. Rafael García Castro	$1.8 \times 10^5$	No conforme
15	Col. Bilingüe geniecitos	$3.9 \times 10^6$	No conforme
16	Col. Julio Verne	$5.5 \times 10^5$	No conforme
17	Col. Zander	$2.7 \times 10^5$	No conforme
18	Col. Minerva	$1.1 \times 10^6$	No conforme
19	Centro Esc. San Simón	$6.6 \times 10^5$	No conforme
20	Centro Esc. San Mauricio	$1.5 \times 10^6$	No conforme
21	Col. Horeb	$1.0 \times 10^6$	No conforme
22	Col. Adler	$2.9 \times 10^4$	Conforme
23	Liceo Rosa Miriam de Castillo	$6.0 \times 10^4$	No conforme
24	Centro Esc. Prof. Francisco U. Panameño	$3.5 \times 10^5$	No conforme
25	Centro Esc. República de Perú	$1.9 \times 10^4$	Conforme
26	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco.	$1.0 \times 10^6$	No Conforme
27	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez	$4.4 \times 10^4$	Conforme
28	Col. Bradford	$1.6 \times 10^6$	No Conforme
29	Col. Pedro Antonio Aparicio	$7.2 \times 10^5$	No Conforme
30	Col. Cultural San Ramón	$2.1 \times 10^6$	No Conforme
31	Col. Juan José Bernal	$1.6 \times 10^6$	No Conforme
Número de muestras conformes			4
Numero de muestras no conformes			27
Porcentaje de muestras conformes			13%
Porcentaje de muestras no conformes.			87%

\* Límite microbiológico según Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.11:95 “Helados y mezclas de helados especificaciones”.

**TABLA No III**  
**RESULTADO DE NMP PARA COLIFORMES TOTALES**

Límite microbiológico*		Sugerido	Aceptado
Coliformes		10 NMP/g	100 NMP/g
No. correlativo	Centro Educativo	NMP/g	Resultado de acuerdo a la Norma
1	Col. Jardín	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
2	Centro Esc. Japón	1,100	No conforme
3	Centro Esc. 22 de Junio	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
4	Centro Esc. Amalia Vda. De Menéndez	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
5	Centro Esc. Najarro/Esc. Parv. Jardín	460	No conforme
6	Col. Dr. Reinaldo Galindo Polh	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
7	Liceo san José	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
8	Centro Esc. El Progreso	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
9	Centro Esc. Rep. Oriental de Uruguay	120	No conforme
10	I.N.A.M./Liceo cristiano Rev. Juan Bueno	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
11	Centro Esc. Reino de Suecia	150	No conforme
12	Col. Cristiano pan de Vida	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
13	Col. Donato di Niccolo	75	Conforme
14	Col. Dr. Rafael García Castro	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
15	Col. Bilingüe geniecitos	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
16	Col. Julio Verne	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
17	Col. Zander	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
18	Col. Minerva	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
19	Centro Esc. San Simón	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
20	Centro Esc. San Mauricio	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
21	Col. Horeb	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
22	Col. Adler	23	Conforme
23	Liceo Rosa Miriam de Castillo	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
24	Centro Esc. Prof. Francisco U. Panameño	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
25	Centro Esc. República de Perú	460	No conforme
26	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco.	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
27	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez	240	No conforme
28	Col. Bradford	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
29	Col. Pedro Antonio Aparicio	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
30	Col. Cultural San Ramón	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
31	Col. Juan José Bernal	$> 2.4 \times 10^3$	No conforme
Número de muestras conformes		2	
Número de muestras no conformes		29	
Porcentaje de muestras conformes		6%	
Porcentaje de muestras no conformes		94%	

\* Límite microbiológico según CODEX STAN 137-1981 "Norma del CODEX para helados comestibles y mezclas de helados.

**TABLA No IV**  
**RECUESTO DE *Staphylococcus aureus***

Limite microbiológico *		Sugerido		Aceptado
St. aureus		0 UFC/g		100 UFC/g
No. correlativo	Centro Educativo	UFC/g	Coagulasa	Resultado según la norma
1	Col. Jardín	2x10 <sup>5</sup>	+	No conforme
2	Centro Esc. Japón	<10	-	Conforme
3	Centro Esc. 22 de Junio	<10	-	Conforme
4	Centro Esc. Amalia Vda. De Menéndez	<10	-	Conforme
5	Centro Esc. Najarro/Esc. Parv. Jardín	3.5x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
6	Col. Dr. Reinaldo Galindo Polh	4.3x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
7	Liceo san José	1.3x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
8	Centro Esc. El Progreso	<10	-	Conforme
9	Centro Esc. Rep. Oriental de Uruguay	3.9x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
10	I.N.A.M./Liceo cristiano Rev. Juan Bueno	<10	-	Conforme
11	Centro Esc. Reino de Suecia	<10	-	Conforme
12	Col. Cristiano pan de Vida	<10	-	Conforme
13	Col. Donato di Niccolo	<10	-	Conforme
14	Col. Dr. Rafael García Castro	<10	-	Conforme
15	Col. Bilingüe geniecitos	1.2x10 <sup>4</sup>	+	No conforme
16	Col. Julio Verne	<10	-	Conforme
17	Col. Zander	2.9x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
18	Col. Minerva	1.3x10 <sup>2</sup>	+	No conforme
19	Centro Esc. San Simón	<10	-	Conforme
20	Centro Esc. San Mauricio	<10	-	Conforme
21	Col. Horeb	4.7x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
22	Col. Adler	<10	-	Conforme
23	Liceo Rosa Miriam de Castillo	<10	-	Conforme
24	Centro Esc. Prof. Francisco U. Panameño	1.4x10 <sup>3</sup>	+	No conforme
25	Centro Esc. República de Perú	<10	-	Conforme
26	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco.	<10	-	Conforme
27	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez	<10	-	Conforme
28	Col. Bradford	10x10 <sup>2</sup>	+	No conforme
29	Col. Pedro Antonio Aparicio	<10	-	Conforme
30	Col. Cultural San Ramón	<10	-	Conforme
31	Col. Juan José Bernal	1x10 <sup>2</sup>	+	Conforme
Número de muestras no conformes			11	
Número de muestras conformes			20	
Porcentaje de muestras no conformes			36%	
Porcentaje de muestras conformes			64%	

\* Límite microbiológico según Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.11:95 “Helados y mezclas de helados especificaciones”.

## TABLA No V

### IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*.

Límite microbiológico*		Sugerido	Aceptado
E. coli		Ausencia	Ausencia
No. correlativo	Centro Educativo	Identificación de E. Coli	Resultado de acuerdo a la norma
1	Col. Jardín	+	No conforme
2	Centro Esc. Japón	+	No conforme
3	Centro Esc. 22 de Junio	+	No conforme
4	Centro Esc. Amalia Vda. De Menéndez	+	No conforme
5	Centro Esc. Najarro/Esc. Parv. Jardín	+	No conforme
6	Col. Dr. Reinaldo Galindo Polh	+	No conforme
7	Liceo san José	+	No conforme
8	Centro Esc. El Progreso	+	No conforme
9	Centro Esc. Rep. Oriental de Uruguay	-	Conforme
10	I.N.A.M./Liceo cristiano Rev. Juan Bueno	+	No conforme
11	Centro Esc. Reino de Suecia	+	No conforme
12	Col. Cristiano pan de Vida	+	No conforme
13	Col. Donato di Niccolo	+	No conforme
14	Col. Dr. Rafael García Castro	-	Conforme
15	Col. Bilingüe geniecitos	-	Conforme
16	Col. Julio Verne	+	No conforme
17	Col. Zander	-	Conforme
18	Col. Minerva	+	No conforme
19	Centro Esc. San Simón	+	No conforme
20	Centro Esc. San Mauricio	+	No conforme
21	Col. Horeb	+	No conforme
22	Col. Adler	+	No conforme
23	Liceo Rosa Miriam de Castillo	+	No conforme
24	Centro Esc. Prof. Francisco U. Panameño	-	Conforme
25	Centro Esc. República de Perú	+	No conforme
26	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco.	+	No conforme
27	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez	+	No conforme
28	Col. Bradford	+	No conforme
29	Col. Pedro Antonio Aparicio	+	No conforme
30	Col. Cultural San Ramón	-	Conforme
31	Col. Juan José Bernal	+	No conforme
Número de muestras no conformes		25	
Número de muestras conformes		6	
Porcentaje de muestras no conformes		81%	
Porcentaje de muestras conformes		19%	

\* Límite microbiológico según Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.11:95 "Helados y mezclas de helados especificaciones".

## TABLA No VI

### IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella sp.*

Límite microbiológico*		Sugerido	Aceptado
Salmonella sp.		Ausencia	Ausencia
No. correlativo	Centro Educativo	Identificación de Salmonella sp.	Resultado de acuerdo a la norma
1	Col. Jardín	-	Conforme
2	Centro Esc. Japón	-	Conforme
3	Centro Esc. 22 de Junio	-	Conforme
4	Centro Esc. Amalia Vda. De Menéndez	-	Conforme
5	Centro Esc. Najarro/Esc. Parv. Jardín	-	Conforme
6	Col. Dr. Reinaldo Galindo Polh	-	Conforme
7	Liceo san José	-	Conforme
8	Centro Esc. El Progreso	-	Conforme
9	Centro Esc. Rep. Oriental de Uruguay	-	Conforme
10	I.N.A.M./Liceo cristiano Rev. Juan Bueno	-	Conforme
11	Centro Esc. Reino de Suecia	-	Conforme
12	Col. Cristiano pan de Vida	-	Conforme
13	Col. Donato di Niccolo	-	Conforme
14	Col. Dr. Rafael García Castro	-	Conforme
15	Col. Bilingüe geniecitos	-	Conforme
16	Col. Julio Verne	-	Conforme
17	Col. Zander	-	Conforme
18	Col. Minerva	-	Conforme
19	Centro Esc. San Simón	-	Conforme
20	Centro Esc. San Mauricio	-	Conforme
21	Col. Horeb	-	Conforme
22	Col. Adler	-	Conforme
23	Liceo Rosa Miriam de Castillo	-	Conforme
24	Centro Esc. Prof. Francisco U. Panameño	-	Conforme
25	Centro Esc. República de Perú	-	Conforme
26	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco.	-	Conforme
27	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez	-	Conforme
28	Col. Bradford	-	Conforme
29	Col. Pedro Antonio Aparicio	-	Conforme
30	Col. Cultural San Ramón	-	Conforme
31	Col. Juan José Bernal	-	Conforme
Número de muestras no conformes		0	
Número de muestras conformes		31	
Porcentaje de muestras no conformes		0%	
Porcentaje de muestras conformes		100%	

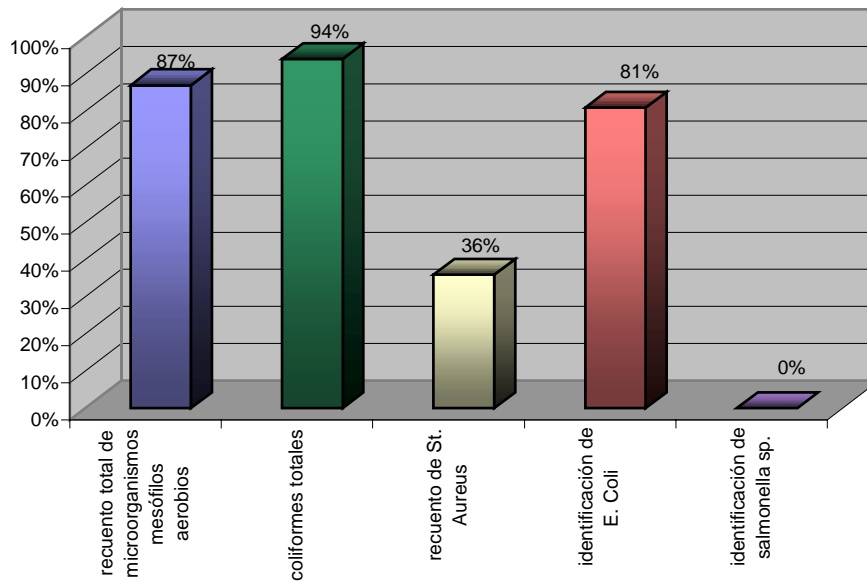
\* Límite microbiológico según Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.11:95 "Helados y mezclas de helados especificaciones".

## TABLA No VII

### RESULTADO GENERAL DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO A LAS ESPECIFICACIONES DE LA NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA PARA HELADOS Y MEZCLAS DE HELADOS.

No. correlativo	Centro Educativo	RESULTADO GENERAL
1	Col. Jardín	No conforme
2	Centro Esc. Japón	No conforme
3	Centro Esc. 22 de Junio	No conforme
4	Centro Esc. Amalia Vda. De Menéndez	No conforme
5	Centro Esc. Najarro/Esc. Parv. Jardín	No conforme
6	Col. Dr. Reinaldo Galindo Polh	No conforme
7	Liceo san José	No conforme
8	Centro Esc. El Progreso	No conforme
9	Centro Esc. Rep. Oriental de Uruguay	No conforme
10	I.N.A.M./Liceo cristiano Rev. Juan Bueno	No conforme
11	Centro Esc. Reino de Suecia	No conforme
12	Col. Cristiano pan de Vida	No conforme
13	Col. Donato di Niccolo	No conforme
14	Col. Dr. Rafael García Castro	No conforme
15	Col. Bilingüe geniecitos	No conforme
16	Col. Julio Verne	No conforme
17	Col. Zander	No conforme
18	Col. Minerva	No conforme
19	Centro Esc. San Simón	No conforme
20	Centro Esc. San Mauricio	No conforme
21	Col. Horeb	No conforme
22	Col. Adler	No conforme
23	Liceo Rosa Miriam de Castillo	No conforme
24	Centro Esc. Prof. Francisco U. Panameño	No conforme
25	Centro Esc. República de Perú	No conforme
26	Esc. Parv. Profa. Rafaela A. De Pacheco.	No conforme
27	Centro Esc. Raúl Rivas Vásquez	No conforme
28	Col. Bradford	No conforme
29	Col. Pedro Antonio Aparicio	No conforme
30	Col. Cultural San Ramón	No conforme
31	Col. Juan José Bernal	No conforme
	Número de muestras conformes	0
	Número de muestras no conformes	31
	Porcentaje de muestras conformes	0%
	Porcentaje de muestras no conformes	100%

**GRAFICO I**  
**PORCENTAJES DE MUESTRAS NO CONFORMES OBTENIDOS EN LOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS EN MUESTRAS DE NIEVES ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS**



### ANALISIS DE RESULTADOS

En el recuento de microorganismos mesófilos aerobios el 87% de las muestras analizadas presentaron recuentos superiores a  $5 \times 10^4$  UFC/g el cual es el límite aceptado por la Norma Salvadoreña Obligatoria por lo que dichas muestras se consideran no conformes.

Del total de muestras analizadas un 94% presentaron un NMP superior a 100 NMP/g el cual es el límite aceptado por la Norma para bacterias coliformes, considerándose muestras no conformes

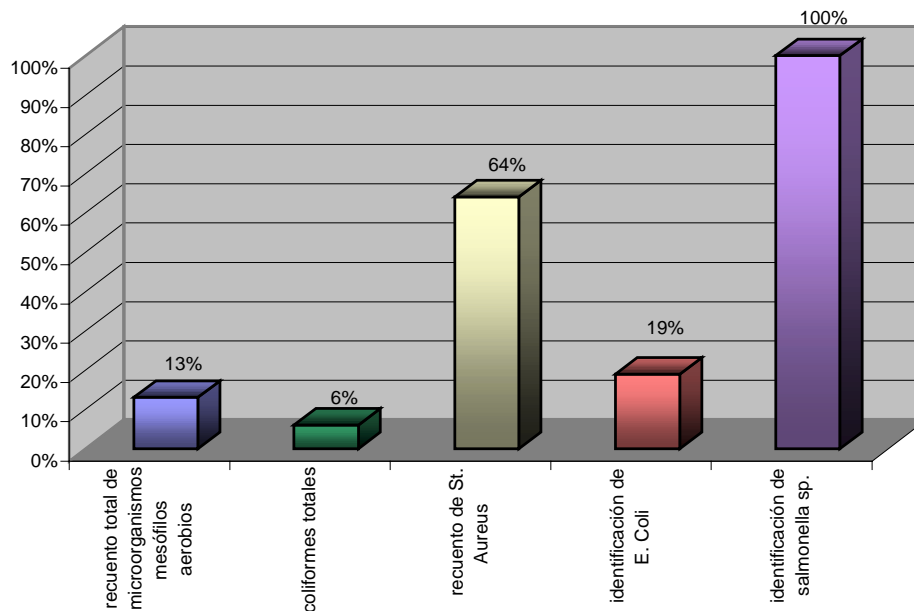
El 36% de las muestras obtuvieron recuentos de *St. aureus* superiores a 100 UFC/g siendo estas no conformes con la especificación de la norma.

En el 81% de las muestras analizadas se identificó la presencia de *E. Coli* considerándose como no conformes ya que la norma especifica la ausencia de este microorganismo para ser aceptado.

*Salmonella sp.* No fué identificada en ninguna de las muestras analizadas.



GRAFICO II  
PORCENTAJE DE MUESTRAS CONFORMES OBTENIDOS EN LOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS EN MUESTRAS DE NIEVES ARTESANALES COMERCIALIZADAS EN LOS CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.



### ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el recuento de microorganismos mesófilos aerobios el 13% de las muestras se consideran conformes con la norma ya que presentaron recuentos inferiores al límite aceptado.

El 6% de las muestras se consideran conformes a la especificación de la norma para bacterias coliformes ya que presentan un NMP inferior al límite aceptado.

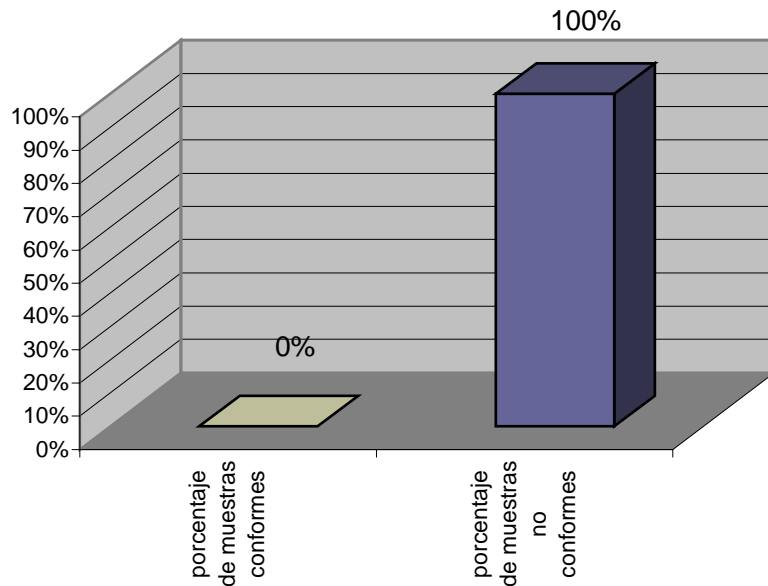
El 64% de las muestras resultan ser conformes según la especificación de la norma para *St. aureus*, dentro de estos, el 3% de las muestras, presentaron recuentos de *St aureus*

inferiores al especificado por la norma, y en el restante 61% no se identificó la presencia del microorganismo.

El 19% de las muestras analizadas se consideran conformes a la especificación de la norma para *E. coli* ya que no se identificó la presencia de este microorganismo.

En el 100% de las muestras analizadas no se identificó la presencia de *Salmonella sp.* Siendo conformes con la especificación de la norma.

**GRAFICO III  
RESULTADO GENERAL DE MUESTRAS ANALIZADAS.**



### ANÁLISIS DEL RESULTADO GENERAL

El 100% de las muestras analizadas no cumplen con las especificaciones de la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezclas de helados, algunas de las muestras presentan conformidad con ciertas especificaciones que establece la norma pero no con la totalidad de estas, por lo que se considera que ninguna de las muestras analizadas es conforme a la norma.

**CAPITULO IV**  
**CONCLUSIONES.**

## CONCLUSIONES

1. Las bajas temperaturas presentes en las nieves artesanales no implicó un decremento significativo en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios encontrando que el 87% de las muestras sobrepasan los límites establecidos por la norma, esto debido a que los rangos de temperatura para cada especie en particular no son rígidos y pueden variar dependiendo de factores externos como son el pH y la disponibilidad de nutrientes, así como a las características propias de cada microorganismo.
2. Se encontró que el 87% de las muestras analizadas presentan un recuento total de bacterias mesófilas aerobias, superior al especificado por la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados, lo que demuestra que el alimento ha sido expuesto a condiciones inadecuadas ya sea durante el proceso de elaboración como en su transporte y comercialización, lo que favorece al crecimiento de una gran variedad de bacterias.
3. El 94% de las muestras analizadas no cumple con los límites aceptados por la Norma Salvadoreña para coliformes totales, demostrando así deficiencia en las condiciones higiénicas para la elaboración, manipulación y almacenamiento del producto.

4. Se identificó la presencia de *E. Coli* en un 81% de las muestras lo que constituye un grave riesgo para el consumidor ya que la presencia de esta implica la posible contaminación del producto con bacterias patógenas de origen entérico.
5. Se realizaron recuentos superiores al límite aceptado para *Staphylococcus aureus* en un 36% de las muestras analizadas, esto indica la contaminación del producto por los manipuladores, y representa un riesgo para la salud del consumidor ya que dicho microorganismo es capaz de producir intoxicación alimentaria.
6. Aunque algunas de las muestras analizadas cumplen con parte de las especificaciones de la Norma Salvadoreña , ninguna de las muestras cumple con la totalidad de las mismas, por lo que el 100% de las muestras no es conforme a la Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados, constituyendo un peligro para la salud de los consumidores de Nieves artesanales.
7. Entre los posibles factores que contribuyen en la contaminación de las Nieves artesanales se encuentran, las condiciones en que son elaborados así como a la manipulación a la que son sometidos en su comercialización.

8. El uso de instrumentos y recipientes inadecuados para su almacenamiento y distribución, incrementan las posibilidades de contaminación, ya que si no cuentan con buenas condiciones higiénicas, estos constituyen una importante fuente de contaminación microbiológica al estar en contacto directo con el alimento.
9. El agua utilizada para la elaboración de las nieves artesanales, es un factor importante para la contaminación del mismo, ya que si este no cuenta con una buena calidad microbiológica puede contribuir a la contaminación de la nieve.
10. Los lugares seleccionados por los vendedores para la comercialización de su producto pueden aumentar la probabilidad de contaminación de las nieves, ya que muchas veces se encuentran ubicados cerca de promontorios de basura, lugares de mucho tráfico u otros lugares que pueden favorecer la contaminación del alimento.
11. Los hábitos higiénicos del vendedor son determinantes para asegurar la calidad de las nieves, ya que estos no han tenido ninguna orientación referente a la correcta manipulación de los alimentos, generalmente no se toma en cuenta la importancia de la limpieza tanto personal como del equipo utilizado.

**CAPITULO V**  
**RECOMENDACIONES.**



## **RECOMENDACIONES**

1. Que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, cree un reglamento para el control de ventas ambulantes y de esta manera poder tener un registro de los vendedores de nieves artesanales, permitiendo así realizar inspecciones periódicas que aseguren el cumplimiento de las normas higiénicas.
2. Que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social realice programas de educación, encaminados en dar a conocer las correctas medidas de higiene para la elaboración y manipulación de los alimentos.
3. Se deben realizar futuras investigaciones encaminadas a determinar la calidad microbiológica de las diferentes materias primas utilizadas en la elaboración de nieves artesanales, como son el agua y las frutas; así como también a los utensilios utilizados en la comercialización de dicho producto.
4. Dar a conocer a la Municipalidad correspondiente y al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social el resultado del presente trabajo para que tome las acciones necesarias encaminadas al mejoramiento de la calidad microbiológica de las nieves artesanales.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASOCIATION  
“Compendium of methods for the microbiological examination of foods”, 3<sup>rd</sup> edition,  
1992, Washington DC.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS  
“Bacteriological analytical manual”, 8<sup>th</sup> edition, A.O.A.C. International Gaithersburg  
MD.1995.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS  
“Methods of analysis of the association of official analytical chemists”. Editor William  
Horwitz, 20<sup>th</sup> edition, Washington, 1975.
4. BAENA PAZ, GUILLERMINA  
“Instrumentos de investigación” 9<sup>a</sup> edición, Editores Mexicanos Unidos, 1982, México  
D.F.
5. FRAZIER, W.C.,  
“Microbiología de los alimentos”, 4<sup>a</sup> edición , Editorial Acribia, Zaragoza España,  
1993.

6. ICMSF.

“ Microorganismos de los alimentos VOL. II, métodos de muestreo para análisis microbiológicos.”, primera edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España.

7. JAWETS E.

“Manual de microbiología medica”, 14ª edición, Editorial El Manual Moderno, S. A. , México D.F., 1992

8. PELCZAR, M.J.

“MICROBIOLOGIA”, 4ª edición, Editorial Mc Graw-Hill de México S.A. de C.V., 1982.

9. PRESCOTT M., HARLEY P., KLEIN A.

“Microbiology” , third edition, Wm. C. Brown Publishers, chapter 43, Printed in the United States of America, 1996

## TRABAJOS DE GRADUACIÓN

### 10. MENENDEZ GUIDOS,REINA

“Determinacion de bacterias coliformes en muestras de hielo recolectadas en lugares de ventas populares de minutas y refrescos”, Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, 1995.

### 11. ESPINOZA ALEMAN, CLAUDIA

“Evaluación de la calidad microbiológica de ensaladas frescas elaboradas artesanalmente en los comedores de los mercados del área de San Salvador y Antiguo Cuscatlan”, Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, 1999.

## OTRAS REFERENCIAS

### 12. CODEX ALIMENTARIUS

“CODEX STAN 137-1981 “Norma del CODEX para helados comestibles y mezclas de helados”. 1981.

### 13. CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)

“Norma Salvadoreña NSO 67.01.11:95 “Helados y mezclas de helados especificaciones”. Editada por CONACYT, El Salvador, C.A. 1995.

14. FUNDACIÓN SALVADOREÑA PARA EL DESARROLLO ECONÓMICO Y SOCIAL (FUSADES)

Curso teórico práctico “Microbiología de leche y productos lácteos” , El Salvador, 1996

15. FACULTAD DE MEDICINA

“Manual de laboratorio de diagnóstico bacteriológico”, Departamento de microbiología ciclo I, Universidad de El Salvador, 1992-93.

16. INSTITUTO CENTROAMERICANO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA INDUSTRIAL, ICAITI.

“Norma ICAITI No 4 011 “procedimientos de muestreo y tablas para inspección por atributos. planes de muestra simple doble y múltiple, con rechazo”. Impresos industriales, Guatemala C.A. 1986.

17. MERCK

“Manual de medios de cultivo”, impreso en Darmstadt, Alemania, 1994.

18. UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR/ CENTRO DE DEFENSA PARA EL  
CONSUMIDOR.

“Investigación de la calidad microbiológica de diversas marcas de sorbetes elaboradas  
en El Salvador” San Salvador, Enero de 1997.

# **ANEXOS**

## ANEXO No I

### LETRAS CLAVE PARA EL TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Tamaño del lote o partida	Niveles generales de inspección		
	I	II	III
2 a 8	A	A	B
9 a 15	A	B	C
16 a 25	B	C	D
26 a 50	C	D	E
51 a 90	C	E	F
91 a 150	D	F	G
151 a 280	E	G	H
281 a 500	F	H	J
501 a 1200	G	J	K
1201 a 3200	H	K	L
3201 a 10000	J	L	M
10001 a 35000	K	M	N
35001 a 150000	L	N	P
150001 a 500000	M	P	Q
500001 a mayores	N	Q	R

FUENTE: Norma Centroamericana ICAITI 4 011 “ Procedimientos de muestreo y tablas para inspección por atributos. Planes de muestra simple, doble y múltiple, con rechazo”.



## ANEXO II

### TABLA II-A PLANES DE MUESTREO SIMPLE PARA INSPECCIÓN NORMAL .

Tabla II-A Planes de Muestreo simple para inspección normal .

Letra clave para el tamaño de muestra	Tamaño de la muestra	Niveles de calidad aceptable (Inspección normal)									
		0.010	0.015	0.025	0.040	0.065	0.10	0.15	0.25		
		Ac Re	Ac Re	Ac Re	Ac Re	Ac Re	Ac Re	Ac Re	Ac Re		
A	2										
B	3										
C	5										
D	8										
E	13										
F	20										
G	32										
H	50										
J	80									0	1
K	125									0	1
L	200					0	1			1	2
M	315				0	1				2	3
N	500			0	1			1	2	2	3
P	800		0	1			1	2	2	3	4
Q	1250	0	1			1	2	2	3	4	5
R	2000			1	2	2	3	3	4	5	6
										7	8
										8	9
										9	10
										10	11

↓ = Debe usarse el primer plan de muestreo bajo la flecha. Si el tamaño de la muestra es igual o mayor que el tamaño del lote o de la partida, se debe hacer inspección 100%.

↑ = Debe usarse el primer plan de muestreo sobre la flecha.

Ac.= Número de aceptación

Re.= Número de rechazo.

FUENTE: Norma Centroamericana ICAITI 4 011 “ Procedimientos de muestreo y tablas para inspección por atributos. Planes de muestra simple, doble y múltiple, con rechazo”.

## ANEXO No III

### CENTROS EDUCATIVOS DEL SECTOR PUBLICO

No	CENTRO EDUCATIVO
1	Escuela parvularia Profa. Rafaela A. de Pacheco
2	Escuela parvularia Gloria de Borja Natán
3	Centro Escolar Prof. Fco. U. Panameño
4	Centro Escolar Raúl Rivas Vásquez
5	Centro escolar Rep. Oriental del Uruguay
6	Centro Escolar Reino de Suecia
7	Centro Escolar colonia San Mauricio
8	Instituto Nacional Maestro Alberto Masferrer
9	Esc. De Educ. parv. Com. Jardín.
10	Centro Escolar Amalia Vda. de Menéndez
11	Centro escolar Col. San Simón
12	Centro escolar comunidad Finca Argentina
13	Centro Escolar Antonio Najarro
14	Centro Escolar Japón
15	Centro Escolar 22 de Junio
16	Centro Escolar Rep. del Perú
17	Centro Escolar El Progreso
18	Centro Escolar República de Francia.

## ANEXO No IV

### CENTROS EDUCATIVOS DEL SECTOR PRIVADO

No	CENTRO EDUCATIVO
1	Escuela San Alfonso
2	Coleg. Margarita Zaldivar de Wilson
3	Coleg. Julio Verne
4	Liceo Crist. Rev. Juan Bueno Zacamil.
5	Colegio Génesis
6	Colegio Dr. Rafael García Castro
7	Coleg. Pedro Antonio Aparicio
8	Coleg. Cristiano Pan de Vida
9	Coleg. Cultural San Ramón
10	Coleg. San Juan de Dios
11	Coleg. Bradford
12	Coleg. Cristiano Horeb
13	Coleg. Donato Di Niccolo
14	Coleg. Juan José Bernal
15	Coleg. Jardín Infantil Minerva
16	Coleg bilingüe Geniecitos
17	Centro de Estudios Alfred Adler
18	Liceo Rosa Miriam de Castillo
19	Colegio Jardín
20	Colegio doctor Reinaldo Galindo Polh
21	Colegio Elena Boegoyen de Zander
22	Liceo San José

## ANEXO No V

### LIMITES MICROBIOLÓGICOS PARA HELADOS Y MEZCLAS DE HELADOS

MICROORGANISMOS	SUGERIDO	ACEPTADO
Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios	$2.5 \times 10^4$ UFC/g	$5 \times 10^4$ UFC/g
Coliformes totales*	10 NMP/g	100 NMP/g
Salmonella	0 UFC/g	0 UFC/g
Staphylococcus aureus	0 UFC/g	100 UFC/g
Escherichia coli	0 UFC/g	0 UFC/g

FUENTE: Norma Salvadoreña Obligatoria para Helados y Mezcla de Helados 67.01.11:95

\* De acuerdo a la investigación bibliográfica realizada se determinó que las unidades con la que se presentan los límites para coliformes totales en la Norma Salvadoreña obligatoria para Helados y Mezclas de Helados son erróneas, por lo que se utilizó en la investigación los límites especificados para coliformes totales en la Norma del CODEX Stan 137-1981 “Norma del Codex para helados comestibles y mezclas de helados”, de la cual se basa la Norma Salvadoreña.

## ANEXO No VI

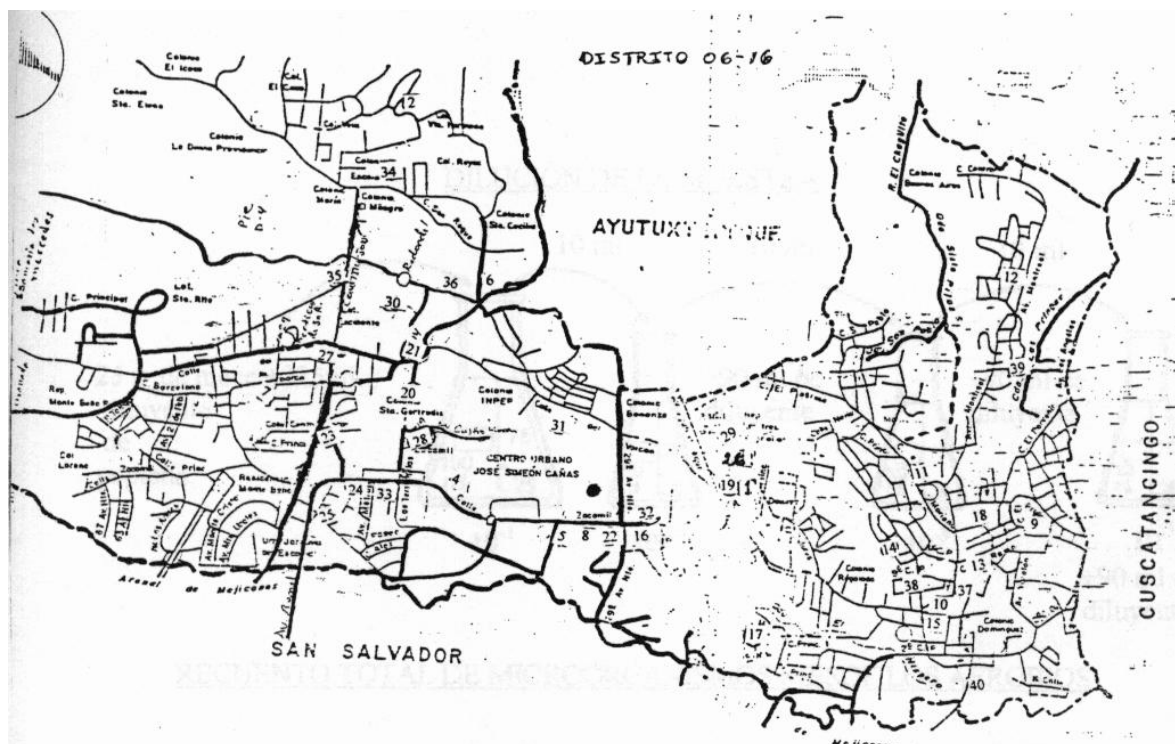
TABLA DE NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) DE COLIFORMES POR GRAMO  
DE NIEVE

(para diluciones sucesivas  $10^{-1}$   $10^{-2}$   $10^{-3}$  , utilizando tres tubos para cada dilución).

Combinación de tubos positivos			NMP por gramo	Combinación de tubos positivos			NMP por gramo	Combinación de tubos positivos			NMP por gramo
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
0	0	0	<3	1	1	1	11	2	2	2	35
0	0	1	3	1	1	2	15	2	2	3	42
0	0	2	6	1	1	3	19	2	3	0	29
0	0	3	9	1	2	0	11	2	3	1	36
0	1	0	3	1	2	1	15	2	3	2	44
0	1	1	6	1	2	2	20	2	3	3	53
0	1	2	9	1	2	3	24	3	0	0	23
0	1	3	12	1	3	0	16	3	0	1	39
0	2	0	6	1	3	1	20	3	0	2	64
0	2	1	9	1	3	2	24	3	0	3	95
0	2	2	12	1	3	3	29	3	1	0	43
0	2	3	16	2	0	0	9	3	1	1	75
0	3	0	9	2	0	1	14	3	1	2	120
0	3	1	13	2	0	2	20	3	1	3	160
0	3	2	16	2	0	3	26	3	2	0	93
0	3	3	19	2	1	0	15	3	2	1	150
1	0	0	4	2	1	1	20	3	2	2	210
1	0	1	7	2	1	2	27	3	2	3	290
1	0	2	11	2	1	3	34	3	3	0	240
1	0	3	15	2	2	0	21	3	3	1	460
1	1	0	7	2	2	1	28	3	3	2	1100
								3	3	3	>2400

FUENTE: Manual de Análisis Bacteriológico. (BAM)

## ANEXO No VIII AREA DE RECOLECCION DE MUESTRAS



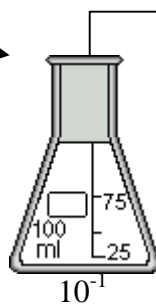
- |  |   |
|--|---|
| 1. Escuela parvularia Profa. Rafaela A. de Pacheco | 21. Coleg. Julio Verne                    |
| 2. Escuela parvularia Gloria de Borja Natán        | 22. Liceo Crist. Rev. Juan Bueno Zacamil. |
| 3. Centro Escolar Prof. Fco. U. Panameño           | 23. Colegio Génesis                       |
| 4. Centro Escolar Raúl Rivas Vásquez               | 24. Colegio Dr. Rafael García Castro      |
| 5. Centro escolar Rep. Oriental del Uruguay        | 25. Coleg. Pedro Antonio Aparicio         |
| 6. Centro Escolar Reino de Suecia                  | 26. Coleg. Cristiano Pan de Vida          |
| 7. Centro Escolar colonia San Mauricio             | 27. Coleg. Cultural San Ramón             |
| 8. Instituto Nacional Maestro Alberto Masferrer    | 28. Coleg. San Juan de Dios               |
| 9. Esc. De Educ. parv. Com. Jardín.                | 29. Coleg. Bradford                       |
| 10. Centro Escolar Amalia Vda. de Menéndez         | 30. Coleg. Cristiano Horeb                |
| 11. Centro escolar Col. San Simón                  | 31. Coleg. Donato Di Niccolo              |
| 12. Centro escolar comunidad Finca Argentina       | 32. Coleg. Juan José Bernal               |
| 13. Centro Escolar Antonio Najarro                 | 33. Coleg. Jardín Infantil Minerva        |
| 14. Centro Escolar Japón                           | 34. Coleg bilingüe Geniecitos             |
| 15. Centro Escolar 22 de Junio                     | 35. Centro de Estudios Alfred Adler       |
| 16. Centro Escolar Rep. del Perú                   | 36. Liceo Rosa Miriam de Castillo         |
| 17. Centro Escolar El Progreso                     | 37. Colegio Jardín                        |
| 18. Centro Escolar República de Francia            | 38. Colegio doctor Reinaldo Galindo Polh  |
| 19. Escuela San Alfonso                            | 39. Colegio Elena Boegoyen de Zander      |
| 20. Coleg. Margarita Zaldivar de Wilson            | 40. Liceo San José                        |

## ANEXO No IX

## ESQUEMA DEL METODO DE ANÁLISIS

DILUCIÓN DE LA MUESTRA

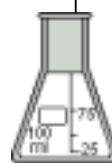
25 g de nieve +225ml  
diluyente de peptona



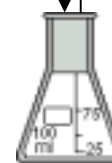
10 ml

10 ml

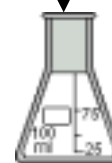
10 ml



+90ml de  
diluyente  
 $10^{-2}$



+90ml de  
diluyente  
 $10^{-3}$



+90 ml de  
diluyente  
 $10^{-4}$

RECuento TOTAL DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS

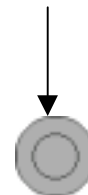
1ml x duplicado  
de cada dilución.



verter medio de cultivo



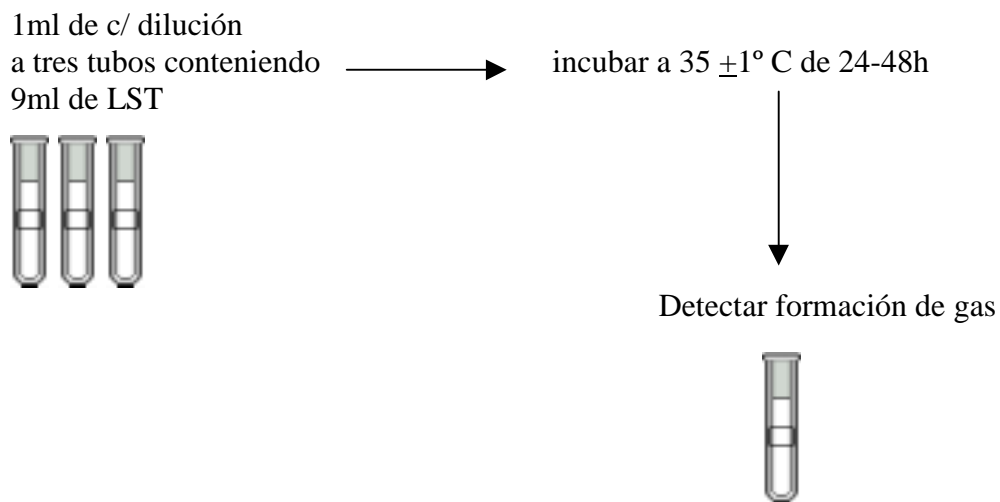
mezclar e incubar a T° de  
 $35 \pm 1^\circ \text{C}$  de 24-48 h.



Recuento de colonias

DETECCIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES Y *Escherichia coli*

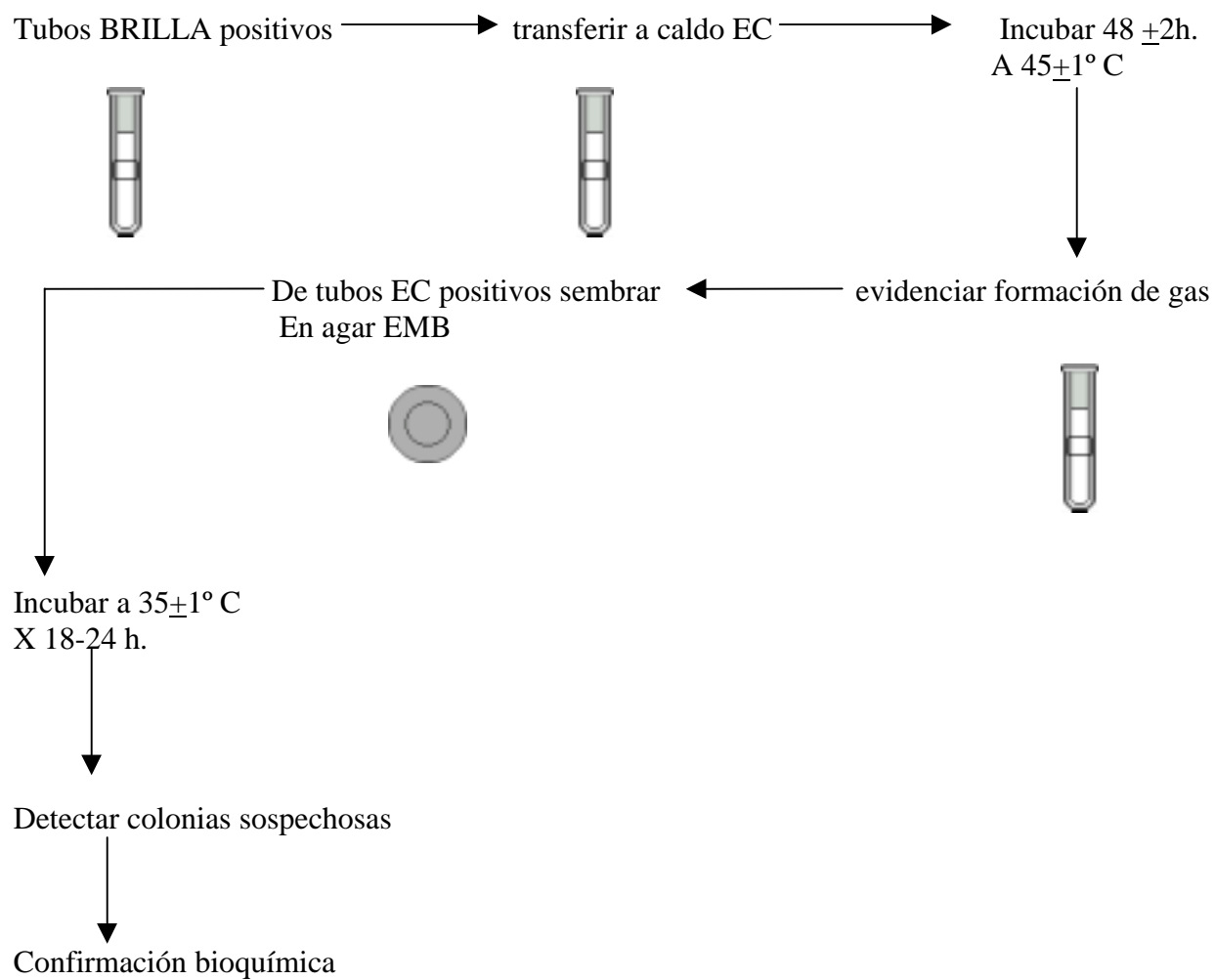
**PRUEBA PRESUNTIVA PARA BACTERIAS COLIFORMES TOTALES**



**PRUEBA CONFIRMATIVA PARA BACTERIAS COLIFORMES TOTALES**





**PRUEBA PARA *Escherichia coli*.**

### RECuento DE *Staphylococcus aureus*.

Transferir 1 ml de cada dilución  
A 3 cajas de petri con agar BP



0.4ml    0.3 ml    0.3 ml.

Extender inóculo con rastrillo



Incubar a  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  x48h.  
Contar número de colonias  
Sospechosas y realizar prueba  
De la coagulasa.

### PRUEBA DE LA COAGULASA

Colonias sospechosas



transferir a 0.3 ml de  
Caldo BHI

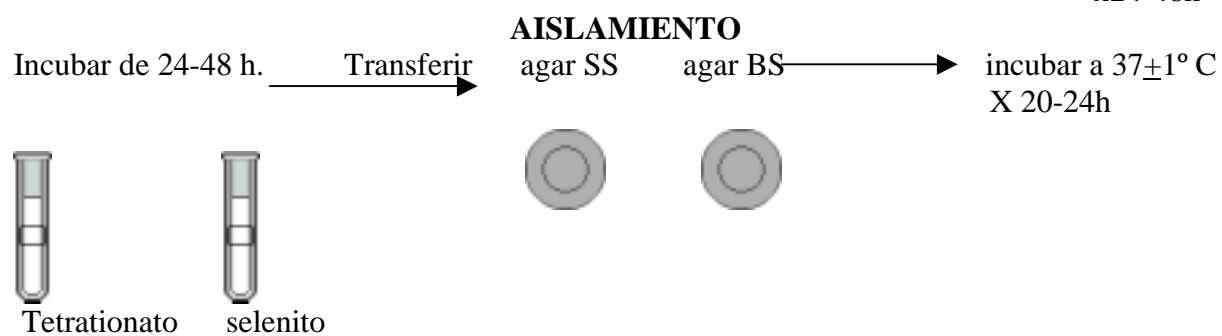
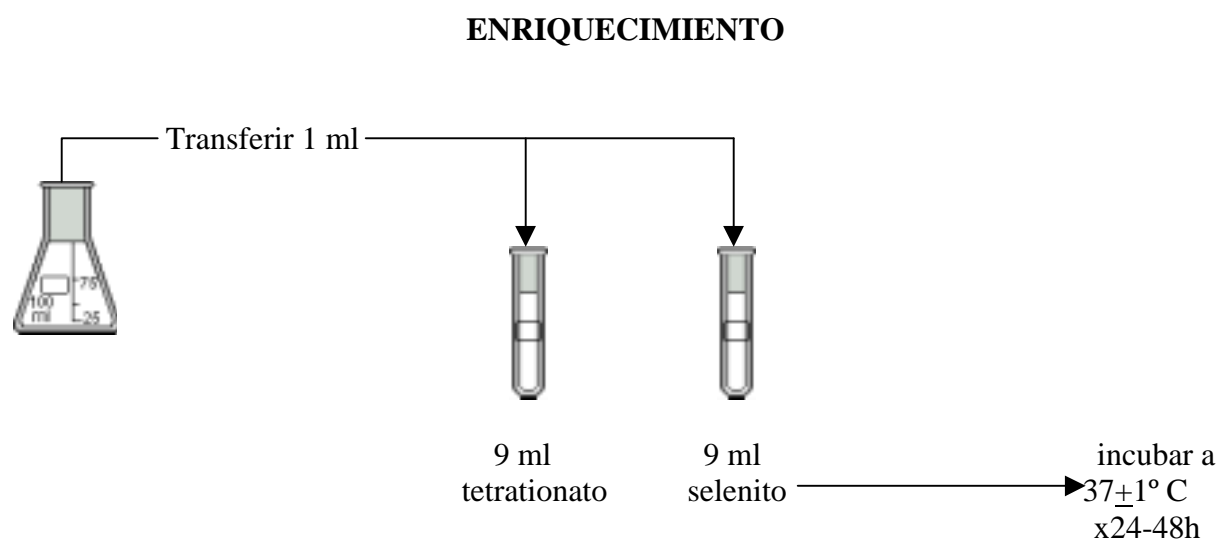
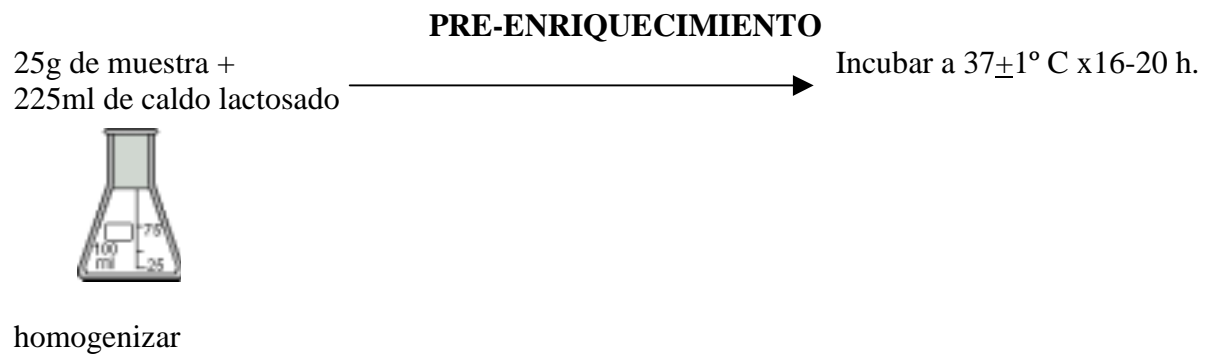


incubar a  $35-37^\circ \text{C}$   
x18-24h.

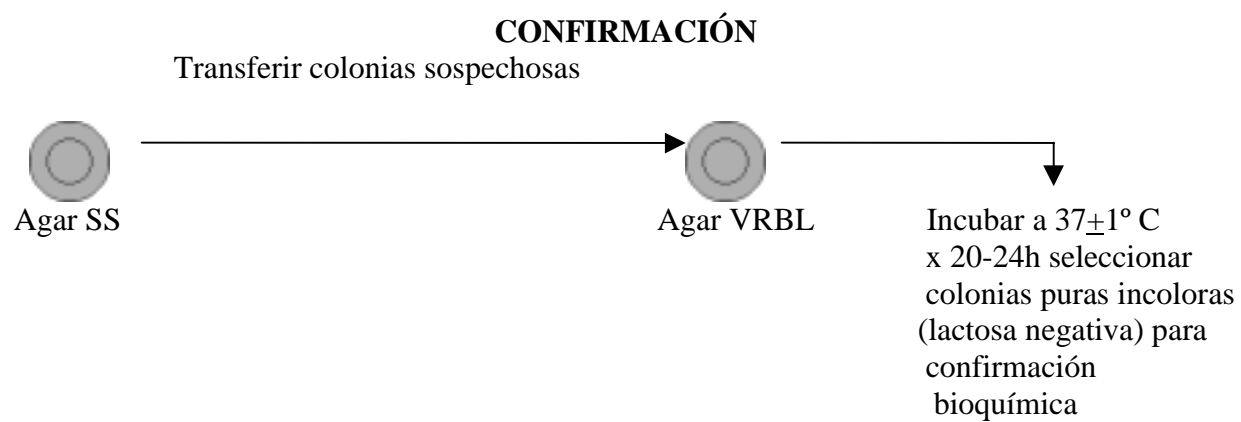
Agregar 0.5 ml de plasma  
Y mezcla

Incubar a  $35-37^\circ \text{C}$  y examinar cada hora  
Para verificar formación de coagulo

## DETECCIÓN DE *Salmonella* sp.



**NOTA: Repetir el procedimiento a las 48 h de incubación de los tubos.**



**ANEXO No X****MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS.**

## 1. Solución diluyente de peptona

Peptona	1.0g
Cloruro de sodio	8.5g

Se disuelven los componentes en 1000 ml de agua destilada. Se ajusta el pH de forma que después de la esterilización sea  $7.0 \pm 0.1$  a 20° C. Se distribuye en frascos y se esteriliza en autoclave.

## 2. Agar plate count ( Agar peptona de caseína-glucosa-extracto de levadura)

Peptona de caseína	5.0g
Extracto de levadura	2.5g
D(+)-glucosa	1.0g
Agar-agar	14.0g

Se disuelven 22.5g en 1000 ml de agua destilada y se esteriliza en autoclave (15 min. A 121° C).

### 3. Caldo lauril Sulfato Triptosa (LST)

Triptosa (Peptona de caseina)	20.0g
Lactosa	5.0g
Hidrogenofosfato dipotasico	2.75g
Dihidrogenofosfato potasico	2.75g
Cloruro de sodio	5.0g
Laurilsulfato de sodio	0.1g

Se disuelve 35.5g del caldo en 1000 ml de agua destilada y se distribuye en volúmenes de 10 ml en tubos que contienen campanas de Durham . Se esterilizan en autoclave.

### 4. Caldo verde brillante lactosa bilis

Peptona	10.0000g
Lactosa	10.0000g
Bilis de buey desecada	20.0000g
Verde brillante	0.0133g

Se disuelven 40g en 1000 ml de agua destilada, y se distribuyen en tubos de ensayo que contienen campanas Durham y se esteriliza en autoclave.

## 5. Caldo EC

Peptona de caseína	20.0g
Lactosa	5.0g
Mezcla de sales biliares	1.5g
Cloruro sódico	5.0g
Hidrógeno fosfatodipotásico	4.0g
Dihidrógenofosfatopotásico	1.5g

Se disuelven 37 g en 1000 ml de agua destilada, y se distribuye en tubos conteniendo campanas Durham y se esteriliza en autoclave (15 min. A 121° C).

## 6. Agar EMB (Agar Eosina azul de metileno)

Peptona	10.00g
Hidrógenofosfatodipotásico	2.00g
Lactosa	5.00g
Sacarosa	5.00g
Eosina amarillenta	0.40g
Azul de metileno	0.07g
Agar-agar	13.50g

Se disuelven 36g en 1000 ml de agua destilada y se esteriliza en autoclave (15 min. A 121° C) posteriormente se vierte en placas.

7. Agar Baird Parker (Agar selectivo para Estafilococos seg. Baird Parker (base))

Peptona de Caseína	10.0g
Extracto de carne	5.0g
Extracto de levadura	1.0g
Piruvato sódico	10.0g
Glicina	12.0g
Cloruro de litio	5.0g
Agar-agar	15.0g

Se disuelven 63g en 950 ml de agua destilada y se esteriliza en autoclave (15 min. A 121° C), luego se enfría a 45-50° C, y se añade mezclando 50 ml de emulsión de yema de huevo telurito, y verter en placas.

8. Emulsión de yema de huevo telurito

Yema de huevo	50.0ml
Solución salina	50.0ml



Telurito de potasio	3.0ml
---------------------	-------

Se mezclan los componentes hasta obtener una solución homogénea, se toman 50 ml y se incorporan a 950 ml de Agar base Baird Parker.

#### 9. Caldo Lactosado

Peptona de gelatina	5.0g
---------------------	------

Extracto de carne	3.0g
-------------------	------

Lactosa	5.0g
---------	------

Se disuelven 13.0g en 1000ml de agua destilada, se distribuye en frascos y se esterilizan en autoclave (15 min. A 121° C).

#### 10. Caldo de enriquecimiento Selenito-Cistina

Peptona de caseina	5.000ml
--------------------	---------

L(-)-cistina	0.001ml
--------------	---------

Lactosa	4.000ml
---------	---------

Fosfato sódico	2.000ml
----------------	---------

Hidrogenoselenito sódico	4.000ml
--------------------------	---------

Se disuelven 23g en 1000ml de agua destilada, y calentar brevemente, distribuir en tubos estériles.

#### 11. Caldo de enriquecimiento Tetrionato.(base)

Peptona de Caseína	2.5g
Peptona de carne	2.5g
Mezcla de sales biliares	1.0g
Carbonato cálcico	10.0g
Tiosulfato sódico	30.0g

Disolver 46g en 1000 ml de agua destilada, calentar a ebullición brevemente y enfriar. No esterilizar en autoclave

#### Medio completo

Al medio previamente enfriado se adiciona 20 ml de solución de yodo y yoduro de potásico por cada 1000 ml de caldo de enriquecimiento.

## 12. Agar SS (Agar para Salmonella y Shigella)

Peptonas	10.0000g
Lactosa	10.0000g
Bilis de buey, desecada	8.5000g
Citrato sódico	10.0000g
Tiosulfato sódico	8.5000g
Citrato de amonio y hierro(III)	1.0000g
Verde brillante	0.0003g
Rojo neutro	0.0250g
Agar-agar	12.0000g

Se disuelven 60g en 1000ml de agua destilada y verter en placas. (No esterilizar en autoclave).

## 13. Agar bismuto-sulfito

Extracto de carne	5.000g
Peptona de carne	10.000g
D (+)-Glucosa	5.000g
Hidrógeno fosfato disódico	4.000g

Sulfato ferroso	0.300g
Verde brillante	0.025g
Indicador bismuto sulfito	8.000g
Agar-agar	15.000g

Se disuelve n 47.5g en 1000ml de agua destilada, verter en placas. No debe ser esterilizado en autoclave.

#### 14. Agar violeta cristal – rojo neutro – bilis – lactosa (VRBL)

Extracto de levadura	3.000g
Peptona	7.000g
Sales biliares	1.500g
Lactosa	10.000g
Cloruro de sodio	5.000g
Rojo neutro	0.030g
Violeta cristal	0.002g
Agar	12.000g

Se disuelven en agua hirviendo los componentes. Se transfiere a placas de petri estériles. No es necesario esterilizar en autoclave.

## 15. Agar Citrato Simmons

Sulfato de magnesio	0.20g
Dihidrogeno fosfato de amonio	1.00g
Hidrógeno fosfato dipotásico	1.00g
Cloruro de sodio	5.00g
Citrato de sodio	2.00g
Azul de bromotimol	0.08g
Agar	13.00g

Se disuelven los componentes en 1000ml de agua destilada, distribuir en tubos y esterilizar en autoclave (121° C, 15 lbs de presión por 15 min.). Dejar solidificar los tubos en posición inclinada.

## 16. Reactivo de Voges-Proskauer

**Solución alcohólica al 5% de alfa- Naftol.**

Se prepara disolviendo 5.0g de alfa-naftol en 100ml de alcohol etílico absoluto.

**Solución al 40% de Hidróxido de potasio.**

Se prepara disolviendo 40g de Hidróxido de potasio en agua destilada y se completa el volumen a 100ml con agua.

## 17. Solución indicadora de Rojo de Metilo

Se prepara disolviendo 0.1g de rojo de metilo en 300ml de alcohol etílico al 95% V/V, y se lleva a volumen final de 500ml con agua destilada.

## 18. Agar TSI (Hierro – tres azucares)

Extracto de carne	3.000g
Extracto de levadura	3.000g
Peptona	20.000g
Cloruro de sodio	5.000g
Lactosa	10.000g
Sacarosa	10.000g
D (+)-Glucosa	1.000g
Citrato de amonio de hierro (III)	0.300g
Tiosulfato de sodio	0.300g

Rojo Fenol	0.024g
Agar	12.000g

Se disuelven todos los ingredientes en agua hirviendo. Se transfiere el medio a tubos de ensayo; se esterilizan los tubos en autoclave durante 15 minutos a 121° C. Dejar solidificar los tubos en posición inclinada.

#### 19. Agua de triptona

Peptona de caseína	10.0g
Cloruro sódico	1.0g

Se disuelven 15g en 1000ml de agua destilada, se distribuyen en tubos y se esteriliza en autoclave (15min. A 121° C)

#### 20. Reactivo de Erlich

Se prepara disolviendo 10.0g de paradimetilaminobenzaldehido en 50 ml de ácido clorhídrico concentrado y se mezcla con 150 ml de alcohol isoamílico.

## 21. Medio de cultivo SIM

Peptona de caseina	20.0g
Peptona de carne	6.6g
Citrato de amonio y hierro(III)	0.2g
Tiosulfato sódico	0.2g
Agar-agar	3.0g

Se disuelven 30.0g de medio en 1000ml de agua destilada, se distribuye en tubos hasta una altura de 4.0cm y se esteriliza en autoclave (15min. A 121° C). Se deja solidificar en posición vertical.



## **ANEXO No XI.**

### **MATERIAL, EQUIPO Y MEDIOS DE CULTIVO**

#### **MATERIAL**

- |                       |   |
|-----------------------|---|
| -Agitadores           | -Papel Kraft                              |
| -Algodón              | -Pipetas mohr despuntadas de 1, 10 y 5 ml |
| -Asas bacteriológicas | -Probetas de 500, 100 y 25 ml             |
| -Bolsas plásticas     | -Termómetros                              |
| -Cajas de petri       | -Tijeras                                  |
| -Campanas de Durham   | -Tirro                                    |
| -Frascos de dilución  | -Tubos de ensayo con rosca                |
| -Gasas                |   |

#### **EQUIPO**

- Autoclave Deutch & Newman
- Balanza granataria
- Baño de María automatizado Scientific Products modelo B7001-3
- Estufa
- Refrigeradora Supercold premium modelo S11B
- Incubadoras Napco modelo 332
- Mecheros Bunsen
- Contador de colonias Leica Québec Darkfield modelo 3325

## MEDIOS DE CULTIVO

- |                           |                      |
|---------------------------|----------------------|
| -Agar Baird-Parker        | -Caldo BHI           |
| -Agar Bismuto sulfito     | - Caldo BRILA        |
| -Agar Brilla              | - Caldo EC           |
| -Agar Citrato             | - Caldo Lactosado    |
| -Agar EMB                 | - Caldo LST          |
| -Agar Recuento en placa   | - Caldo selenito     |
| -Agar Salmonella-Shigella | - Caldo tetracionato |
| -Agar SIM                 | -Caldo Triptona      |
| - Agar TSI                | -Caldo VP-RM         |
| - Agar VRBL               | -Peptona             |

## ANEXO XII

### BOLETÍN “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN NIEVES ARTESANALES

#### RECOMENDACIONES

Los hábitos higiénicos son factores muy importantes para asegurar la calidad microbiológica de un alimento para esto se deben de tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

El agua utilizada en la elaboración de “Sorbetes de carretón” debe ser siempre agua potable preferiblemente hervida antes de su uso .



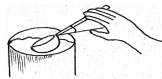
La fruta debe ser lavada y desinfectada antes de su procesamiento



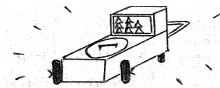
Las áreas en las que se elaboran los sorbetes deben permanecer siempre limpias, libres de posibles focos de contaminación, como basureros cercanos, acumulación de residuos de alimentos, polvo, etc. Por ello es necesario realizar una limpieza periódica de dichas áreas.



Los recipientes de almacenamiento, utensilios y carretones utilizados en la comercialización de los sorbetes de carretón deben mantenerse constantemente limpios y desinfectados.



El carretón en el que se transporta el sorbete debe de proteger al producto de la contaminación externa y los recipientes que lo contienen deben ser aislantes y fáciles de limpiar



El vendedor debe practicar buenos hábitos de higiene personal, para así evitar ser fuente de contaminación del alimento al entrar en contacto con él. Entre los hábitos higiénicos a considerar se encuentran: Baño diario, utilizar ropa limpia, lavarse las manos constantemente, evitar tocar excesivamente el alimento, evitar el contacto de las manos con la boca, nariz, oídos, etc.



El vendedor debe evitar en lo posible ubicarse en lugares que favorezcan la contaminación de los “sorbetes de carretón” como pueden ser: botaderos de basura, obras de alcantarillado, calles polvosas o de mucho tráfico.



“HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA”

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA.

#### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN “SORBETES DE CARRETÓN”

*El presente boletín se elaboró con el objetivo de dar a conocer los resultados del trabajo de graduación “Evaluación de la calidad microbiológica de nieves elaboradas artesanalmente y comercializadas en las afueras de los centros educativos del municipio de Mejicanos”, a la vez presentar una serie de recomendaciones que contribuyan a mejorar la calidad Microbiológica de las Nieves artesanales o “Sorbetes de Carretón”.*



## MOTIVO DE LA INVESTIGACION

Todos los alimentos que consumimos diariamente poseen una flora normal de microorganismos, los cuales no representan ningún riesgo para el consumidor si estos son elaborados y comercializados bajo condiciones higiénicas adecuadas, de lo contrario los microorganismos pueden obtener condiciones adecuadas para su proliferación y de esta manera alcanzar concentraciones tales que constituyan un riesgo para la salud del consumidor.

Los “Sorbetes de carretón” son elaborados artesanalmente y comercializados en ventas callejeras, estos por su bajo costo y su fácil obtención son muy populares, principalmente en menores de edad, por lo cual es común observar su venta en los alrededores de centros educativos.

Lo anterior motivó a realizar una investigación encaminada a determinar la calidad microbiológica de los “Sorbetes de carretón”.

## CARACTERÍSTICAS DE LA INVESTIGACION

La investigación fue realizada durante los meses de Julio-Agosto del año 2001, en la cual se muestrearon aleatoriamente, “Sorbetes de carretón”, que eran comercializados en las afueras de centros educativos del Municipio de Mejicanos. Los diferentes análisis se realizaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, tomando en cuenta límites microbiológicos establecidos por la Norma Salvadoreña obligatoria NSO 67.01.11:95 “Helados y mezclas de helados. Especificaciones”, elaborada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Se determinó mediante métodos microbiológicos la conformidad de cada una de las muestras con la Norma Salvadoreña obligatoria y en consecuencia el riesgo que implica a la salud, el consumo de este alimento.

## LIMITES MICROBIOLÓGICOS PARA HELADOS Y MEZCLAS DE HELADOS

MICROORGANISMOS	SUGERIDO	ACEPTADO
Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios	$2.5 \times 10^4$ UFC/g	$5 \times 10^4$ UFC/g
Coliformes totales*	10 NMP/g	100 NMP/g
Salmonella	0 UFC/g	0 UFC/g
Staphylococcus aureus	0 UFC/g	100 UFC/g
Escherichia coli	0 UFC/g	0 UFC/g

Límites utilizados en la investigación “sorbetes de carretón” comercializados en los centros educativos del Municipio de Mejicanos.

## RESULTADOS

**Microorganismos mesófilos aerobios**, Se encontró que el 87% de las muestras analizadas no cumplen con los límites establecidos, lo cual nos indica que estos productos son elaborados en condiciones inadecuadas de higiene ya que estos microorganismos pueden encontrarse en el agua, el aire, el suelo, cuerpo humano, superficies y equipos sucios.

**Coliformes totales**, un 94% de las muestras superan el límite aceptado por la norma, este análisis sirve como indicador de las condiciones de almacenamiento del producto así como las condiciones higiénicas de las superficies y equipos utilizados para su elaboración.

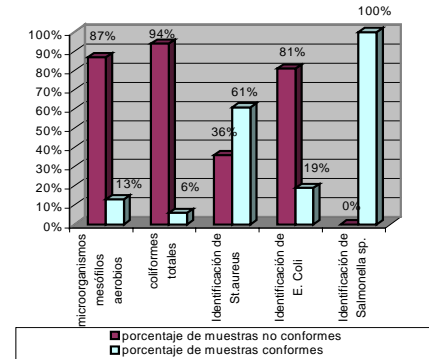
**Escherichia coli**, la presencia de este microorganismo se identificó en el 81% de las muestras analizadas, este microorganismo nos indica la posible contaminación del alimento con heces fecales.

**Staphylococcus aureus**, En el 36% de las muestras se identificó la presencia de este microorganismo, el cual es causante de intoxicación alimentaria, la fuente de contaminación de este microorganismo es el manipulador del alimento.

**Salmonella sp.**, Este microorganismo es causante de tres tipos de enfermedades en el hombre: fiebre intestinal o tifoidea, bacteremia con lesiones focales y enterocolitis o gastroenteritis.

En el análisis realizado no se encontró la presencia de este microorganismo en ninguna de las muestras.

RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO REALIZADO EN NIEVES ARTESANALES COMERCIALIZADAS EN LOS CENTROS EDUCATIVOS DEL MUNICIPIO DE MEJICANOS.



Ninguna de las muestras analizadas cumplieron con la totalidad de las especificaciones establecidas por la norma, por lo que el consumo de los “sorbetes de carretón” constituyen un riesgo para la salud de los consumidores.