

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli* EN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)
COMERCIALIZADA EN MERCADOS DEL MUNICIPIO DE SAN SALVADOR

TRABAJO DE GRADO
MODALIDAD TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR
OSCAR LUIS RODRÍGUEZ AMAYA
CARLOS DANIEL SOLANO VIDAL

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN QUÍMICA Y FARMACIA

JULIO 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD

LICENCIADO CARLOS ALBERTO BUENDÍA RIVAS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA DE ÁREA DE MICROBIOLOGÍA:

DOCTORA TANIA ETHEL CUADRA ZELAYA

ASESORA:

LICENCIADA ZENIA IVONNE ARÉVALO DE MÁRQUEZ

DOCENTE ASESOR:

MAESTRO GUILLERMO EMILIO ALVARENGA MARROQUÍN

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso por habernos instruido, brindándonos fortaleza y confianza para lograr nuestros propósitos y culminar exitosamente nuestra carrera.

A nuestros padres quienes sacrificaron gran parte de su vida para educarnos y formarnos a lo largo de nuestras vidas, nos han apoyado y motivado a nuestra formación académica.

A nuestros docentes asesores: Lic. Carlos Alberto Buendía Rivas, y Msc. Guillermo Emilio Alvarenga Marroquín, por la paciencia y responsabilidad al apoyarnos en este arduo proceso.

Al tribunal evaluador: Dra. Tania Ethel Cuadra Zelaya y Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, por su tiempo empleado en el proceso de calificación de esta investigación, su comprensión y pericia para la guía de desarrollo de este proceso.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por prestarnos sus instalaciones y permitirnos desarrollar nuestro trabajo de investigación.

Finalmente, un sincero agradecimiento a la Universidad de El Salvador, por el alma mater que guió y proveyó de su alimento intelectual para esta causa.

Oscar y Carlos

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso por darme la oportunidad de llegar hasta este punto de mi vida, por permitirme tener el respaldo de una familia maravillosa, por forjarme como un hombre sabio y disciplinado a través de tantas pruebas a lo largo de mi vida y llevarme a culminar cada objetivo que me he propuesto cumplir.

Principalmente a mi madre Evelyn Amaya de Rodríguez, que siempre lo ha dado todo por mí, por su esfuerzo, su apoyo y su amor que año tras año han nutrido mis raíces hasta convertirme en un sólido hombre de bien. A mi padre Oscar Rodríguez, Dr. en Química y Farmacia, quien partió hacia la presencia del creador hace ya varios años, sus enseñanzas y su amor aportaron cosas invaluable a mi juventud que, sin duda, contribuyeron siempre a alcanzar mi éxito personal, a luchar por mis sueños y despertaron mi amor por esta maravillosa carrera profesional.

A mis docentes, por su ayuda y su esfuerzo, ya que gracias a ellos fue posible adquirir todo el conocimiento que hoy en día nos rige en el ámbito laboral, la ética y la profesionalidad.

Oscar Luis Rodríguez Amaya

DEDICATORIA

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de manera significativa a la realización de este trabajo de investigación. En primer lugar, a Dios, que sin el nada somos, mi familia por su amor, apoyo y sacrificios incondicionales. Sin su constante aliento, este logro no habría sido posible.

A mi asesor de tesis, Lic. Carlos Buendía, por su orientación experta, paciencia y apoyo incondicional a lo largo de todo este proceso. Sus consejos y sugerencias fueron fundamentales para la culminación de este proyecto.

Agradezco también a todos mis demás docentes cuya perspicacia y conocimientos fueron una fuente constante de inspiración. Sus comentarios críticos fueron invaluable para dar forma y mejorar este trabajo.

Agradezco sinceramente a mis compañeros de clase y amigos por su estímulo y comprensión durante los momentos desafiantes de esta investigación. Sus puntos de vista y discusiones fueron esenciales para mi desarrollo académico y personal.

Este trabajo está dedicado a todos aquellos que creyeron en mí y me brindaron su apoyo a lo largo de este viaje académico.

¡Gracias!

Carlos Daniel Solano Vidal

ÍNDICE GENERAL

	Pág N°
RESUMEN	
CAPÍTULO I	
1.0 INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULO II	
2.0 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo general:	
2.2 Objetivos específicos:	
CAPÍTULO III	
3.0 MARCO TEÓRICO	20
3.1. <i>Oreochromis niloticus</i>	20
3.1.1 Características taxonómicas	20
3.1.2 Cultivo de <i>Oreochromis niloticus</i>	21
3.2 Microbiota intestinal de <i>Oreochromis niloticus</i>	22
3.3 Inocuidad	22
3.3.1 Inocuidad en el pescado	22
3.4 Contaminación biológica de peces de agua dulce	23
3.5 Fuentes de contaminación del pescado	24
3.6 <i>Escherichia coli</i>	24
3.6.1 Estructura antigénica de <i>E. coli</i>	24
3.7 <i>E. coli</i> y <i>Oreochromis niloticus</i>	25
3.8 Epidemiología	25
3.9 Patología	26
3.10 Importancia clínica de <i>E. coli</i> e incidencia en la salud pública	26
3.11 Factores de desarrollo de <i>E. coli</i> en pescado	27
3.12 Buenas prácticas en la manipulación del pescado	28
3.13 Acondicionamiento del pescado post-captura o postcosecha	29
3.14 Métodos de conservación	30
3.15 Transporte y distribución del pescado	32
3.16 Características para la exhibición y venta de alimentos marinos y acuícolas para un puesto de venta (lo ideal para su funcionamiento) en mercados municipales	32
CAPÍTULO IV	
4.0 DISEÑO METODOLÓGICO	35
4.1 Tipo de estudio	35

4.2 Investigación bibliográfica	37
4.3 Investigación de campo:	37
4.4 Parte experimental	42
4.4.1 Metodología para la guía de observación	42
4.4.2 Selección y recolección de la muestra	43
4.4.3 Identificación de las muestras	43
4.5 Procedimiento de aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i> en las muestras de carne de <i>Oreochromis niloticus</i>	43
4.5.1 Preenriquecimiento de la muestra	43
4.5.2 Determinación de <i>E. coli</i> en muestras de músculo de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).	43
4.5.3 Prueba completa para <i>E. coli</i> .	44
4.5.4 Criopreservación de colonias confirmativas de <i>E. coli</i> .	45
4.5.5 Pruebas complementarias para <i>E. coli</i>	45
4.5.6 Identificación bioquímica para colonias positivas de <i>Escherichia coli</i> con API 20E	46
4.6 Estandarización de cepas control.	47
4.7 Cepa control positivo ATCC 8739 de <i>Escherichia coli</i>	48
4.8 Cepa control negativo ATCC 10031 de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	48
4.9 Control de medio	48
CAPÍTULO V	
5.0 RESULTADOS	50
5.1 Resultados y discusión de resultados.	50
5.2 Identificar el grado de aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia	50
5.2.2 Establecer la presencia o ausencia de <i>Escherichia coli</i> a través de medios de cultivo selectivos, diferenciales y pruebas bioquímicas API 20E	56
5.3 Evaluar la frecuencia de la presencia de <i>Escherichia coli</i> en tilapias (<i>Oreochromis niloticus</i>) comercializados en los mercados del municipio de San Salvador en el periodo de los meses de agosto y septiembre del año 2023.	79
5.4 Proporcionar los resultados obtenidos al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador	82
CAPÍTULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	84
CAPÍTULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	87
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Morfología externa de <i>O. niloticus</i>	21
2	Morfología interna de tilapia <i>O. niloticus</i>	22
3	Espécimen de Tilapia Nilótica	22
4	Gráfico de porcentaje de cumplimiento e incumplimiento de buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia por mercado	58
5	Recuento de <i>E. coli</i> en medio VRBA MUG, para la muestra código 20230821-5	65
6	Tubos de caldo EC con formación de turbidez y gas	67
7	Colonias características de <i>E. coli</i> en medio de cultivo EMB	69
8	Bacterias color rosado con forma de bacilos o bastoncillos, morfología característica de <i>E. coli</i> , observadas al objetivo 100x en microscopio	74
9	Comparación de los resultados de la galería API 20E para la muestra 20230821-02 y el control positivo <i>E. coli</i> ATCC 8739	76
10	Gráfico de número de muestras con presencia de <i>Escherichia coli</i> y otros patógenos frente al total de muestras correspondientes a cada mercado seleccionado además del respectivo total	77
11	Porcentaje de muestras positivas de <i>E. coli</i> frente al total de muestras por mercado	80
12	Frecuencia relativa porcentual de identificación de <i>E. coli</i>	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Bacterias patógenas transmitidas por pescados de agua dulce	25
2	VARIABLES según objetivos planteados	38
3	Estratos, código, cantidad de puestos comercializadores de tilapia	40
4	Porcentaje de representatividad de los puestos	42
5	Cantidad de puestos a muestrear por estrato	43
6	Cantidad de muestras a tomar por estrato	44
7	Medios de cultivo utilizados en las pruebas complementarias para <i>E. coli</i>	48
8	Resumen de los resultados obtenidos mediante la guía de observación de los diferentes establecimientos inspeccionados en los mercados seleccionados	53
9	Porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) por mercado	57
10	Resultados obtenidos de recuentos de colonias presuntivas de <i>Escherichia coli</i> (fluorescentes en Agar VRBA-MUG)	60
11	Recuentos de colonias con producción de fluorescencia a la exposición de la luz UV en el medio VRBA-MUG	64
12	Resultados de colonias caldo EC	66
13	Resultados de la prueba completa de colonias presuntivas de <i>Escherichia coli</i> en agar EMB	68
14	Resultados en diferentes medios de cultivo selectivos y no selectivos de colonias presuntivas de <i>Escherichia coli</i>	71
15	Resultados de la morfología microscópica de las colonias aisladas analizadas	73
16	Resultados obtenidos en la identificación con API 20E	75
17	Resultados de muestras positivas para <i>E. coli</i> en el periodo de agosto a septiembre del 2023	81
18	Frecuencia relativa porcentual de la presencia de <i>E. coli</i> en tilapia por periodo de tiempo, calculadas según la fórmula	82

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Lista de cotejo o check list
- 2 Etiqueta para identificación de muestra
- 3 Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de la Pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados (RTCA 67.04.50:08)
- 4 Procedimiento de preenriquecimiento de la muestra
- 5 Determinación de *E. coli* en muestras de músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*)
- 6 Prueba completa para *E. coli*
- 7 Morfología de las muestras bajo el microscopio con tinción de Gram
- 8 Procedimiento para la criopreservación de las colonias positivas de *Escherichia coli*
- 9 Características positivas de *E. coli* en los medios de cultivo Selectivos y No selectivos seleccionados para la prueba complementaria
- 10 Procedimiento de identificación bioquímica para colonias positivas de *Escherichia coli*
- 11 Estandarización de las cepas ATCC control positivo para *Escherichia coli* ATCC 8739 y control negativo *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031
- 12 Muestreo en los mercados seleccionados para recolección de muestra
- 13 Resultados de las pruebas API 20E, lectura de bionúmero con APIWEB y tabla de lectura
- 14 Condiciones en la que se almacena y dispensa la tilapia en mercado La Tiendona
- 15 Procesamiento de las muestras
- 16 Muestras con fluorescencia positiva en medio VRBA MUG bajo cámara de luz UV
- 17 Tubos con crecimiento bacteriano en caldo EC, formando turbidez y gas
- 18 Muestras con características de *E. coli* en agar EMB

- 19 Aplicación de galerías API 20E a las muestras
- 20 Pruebas complementarias para *E. coli* utilizando diferentes medios selectivos y no selectivos.
- 21 Listas de cotejo utilizada en muestreo en los diferentes mercados
- 22 Procedimiento para la tinción de gram
- 23 Bitácora para la caracterización de *E. coli* en medios de cultivo selectivos y no selectivos
- 24 Ubicación geográfica e imagen del recinto
- 25 Fichas técnicas de medios de cultivo a utilizar
- 26 Informe brindado al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador

RESUMEN

En el año 2020 la Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) representó el mayor porcentaje de producción y comercialización en pescado de agua dulce de El Salvador. La tilapia forma parte de la dieta de los salvadoreños, ya que es una fuente proteica ideal por su bajo costo de producción y alto nivel nutricional, esta se distribuye y comercializa en altas cantidades en mercados y supermercados de todo el territorio nacional. En el Área Metropolitana de San Salvador los mercados municipales representan el 29% del comercio total del área y el centro urbano significa el 27% de la población total del país por lo que la cantidad de usuarios que registra estos recintos diariamente es muy grande siendo una problemática debido a que en estos mercados se han mantenido durante años malas prácticas de manipulación, almacenamiento y comercialización de los alimentos, precaria infraestructura que promueve la exposición de los pescados a agentes externos, contaminación cruzada y contaminación por el manipulador dando lugar a la transmisión de patógenos que provocan infecciones gastrointestinales como la *Escherichia coli* que posee una alta incidencia en infecciones intestinales en todos los estratos poblacionales.

Por ello con el propósito de evaluar la inocuidad de la tilapia comercializada en los mercados del municipio de San Salvador y determinar la presencia de *E. coli* como patógeno patrón de contaminación se llevó a cabo un diagnóstico acerca de la aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de los productos pesqueros a una muestra de puestos de venta utilizando una guía de observación, en los seis mercados muestreados se observaron deficiencias en la aplicación de las buenas prácticas en almacenamiento y distribución, lo que va en relación a que en el período de agosto a septiembre de 2023, se encontraron muestras contaminadas con *E. coli* en tres de los seis sitios de muestreo evaluados, además en cinco de estos lugares se detectaron otros organismos coliformes como *Serratia odorifera*, *Raoultella ornithinolytica* y *Enterobacter cloacae*. Solamente en el Mercado Central de San Salvador no se detectaron muestras contaminadas.

La frecuencia de la presencia de *E. coli* en las 45 muestras seleccionadas osciló entre las una y cinco muestras infectadas, siendo la semana del 21 al 26 de agosto del 2023 la de mayor frecuencia del patógeno. Ocho muestras se identificaron como *Escherichia coli*, fenotípicamente similares al control positivo a través de pruebas bioquímicas API 20E, representando un 18 por ciento del total de muestras analizadas.

Por lo que se recomienda que se contemple por parte de la Alcaldía correspondiente así como del Ministerio de Salud y de Agricultura la concientización a través de capacitaciones a los vendedores y distribuidores de tilapia de los mercados del Municipio de San Salvador acerca de las Buenas Prácticas de Manejo y Aseguramiento de la Calidad de Productos Pesqueros que recomienda el manual del Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador; también la implementación de planes de mejora de las condiciones de infraestructura de los locales donde se almacena y comercializa la tilapia .

Los resultados obtenidos fueron entregados al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador quienes los utilizarán como referencia y reflejo de la problemática ya que actualmente la información respectiva es escasa. Además, el conocimiento generado puede ser utilizado para la creación de marcos regulatorios o modificaciones de ley que puedan abonar en buscar garantizar la inocuidad de los alimentos.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

La tilapia (*Oreochromis niloticus*) forma parte de la dieta de los salvadoreños, ya que es una fuente proteica ideal por su bajo costo de producción y alto nivel nutricional, por su alta demanda y consumo, es imprescindible conocer su grado de inocuidad en la comercialización en los mercados del municipio de mayor concurrencia en todo el país.

Escherichia coli es una de las principales bacterias causante de enfermedades entéricas en el ser humano por el consumo de alimentos contaminados, posee una alta incidencia en infecciones intestinales, síndrome urémico hemolítico y septicemias en distintas poblaciones. *E. coli* es considerado el indicador más adecuado para contaminación fecal.

Mediante esta investigación se determinó la presencia de *Escherichia coli* aplicando un método propio, analizando muestras de músculo de tilapia recolectadas en los diferentes mercados del municipio de San Salvador donde se comercializa este producto en los meses de agosto y septiembre del 2023.

El número de mercados a muestrear se eligió por medio de un método estadístico no probabilístico por conveniencia, donde también se identificó a través de una hoja de cotejo el grado de inocuidad del alimento y se evaluaron sus condiciones de manejo y almacenamiento del producto. A diferencia del método oficial (Manual de Bacteriología Analítica de la FDA, capítulo 4) se utilizó solamente un caldo de pre-enriquecimiento, y se realizaron pases consecutivos en dos medios diferenciales, se verificaron reacciones indicativas en nueve medios de detección para *E. coli* y dos de detección para *Salmonella*, finalmente se realizó la identificación mediante kit de pruebas bioquímicas miniaturizadas. Las muestras recolectadas se procesaron en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador. Con los resultados obtenidos se demostró la presencia del patógeno en el alimento, se identificaron sus características bioquímicas y se evaluó su frecuencia en tilapia comercializada en los mercados del municipio de San Salvador en los meses de agosto y septiembre del 2023.

Los resultados obtenidos serán proporcionados al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador para que estos puedan servir como referencia y reflejo de la problemática ya que actualmente la información respectiva es escasa. Además, el conocimiento generado puede ser utilizado para la creación de marcos regulatorios o modificaciones de ley que puedan abonar en buscar garantizar la inocuidad de los alimentos.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general:

Determinar la presencia de *Escherichia coli* en tilapia (*Oreochromis niloticus*) comercializada en mercados del municipio de San Salvador.

2.2 Objetivos específicos:

- 2.2.1 Identificar el grado de aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en los diversos puestos de venta de los mercados del municipio de San Salvador.
- 2.2.2 Establecer la presencia o ausencia de *Escherichia coli* a través de medios de cultivo selectivos, diferenciales y pruebas bioquímicas API 20 E en muestras de tilapia (*Oreochromis niloticus*) recolectadas en los diferentes mercados del municipio de San Salvador.
- 2.2.3 Evaluar la frecuencia de la presencia de *Escherichia coli* en tilapias (*Oreochromis niloticus*) comercializados en los mercados del municipio de San Salvador en el periodo de los meses de agosto y septiembre del año 2023.
- 2.2.4 Proporcionar los resultados obtenidos al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1. *Oreochromis niloticus*

Es una especie de pez de la familia *Cichlidae* en el orden de los Perciformes.

Los machos pueden llegar alcanzar los 60 cm de longitud total y los 4.3 kg de peso.

Como es típico de la tilapia, los machos alcanzan un tamaño mayor y crecen más rápido que las hembras, son de color marrón o grisáceo en general.

3.1.1 Características taxonómicas

Presenta bandas negras verticales en la aleta caudal; pecho blanco; extremo de la aleta abdominal anterior al ano; aleta dorsal con 16 a 18 espinas duras y 12 a 13 restantes suaves. Se suma la aleta caudal con 3 espinas duras y restantes 8 a 11 suaves, 31 a 35 escamas a lo largo de la línea lateral, 5 escamas hacia arriba y 12 hacia abajo de la línea lateral. Cuando se reproducen, los machos se vuelven rojizos, especialmente en sus aletas.¹

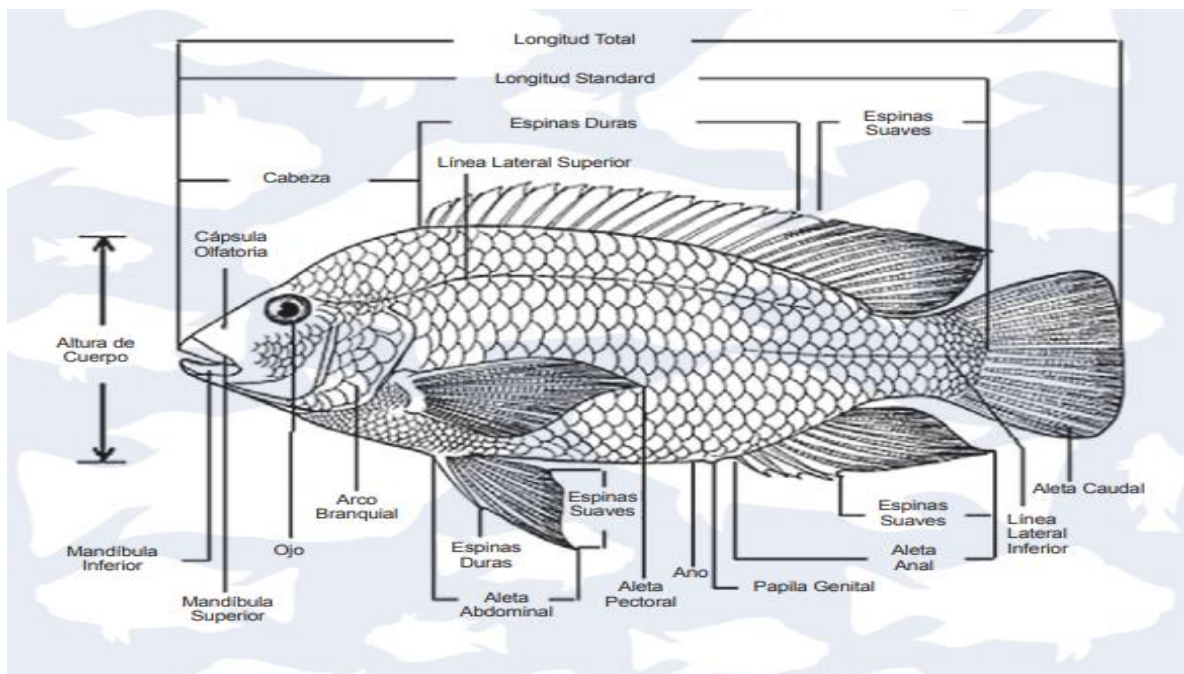


Figura N° 1 Morfología externa de *O. niloticus*¹

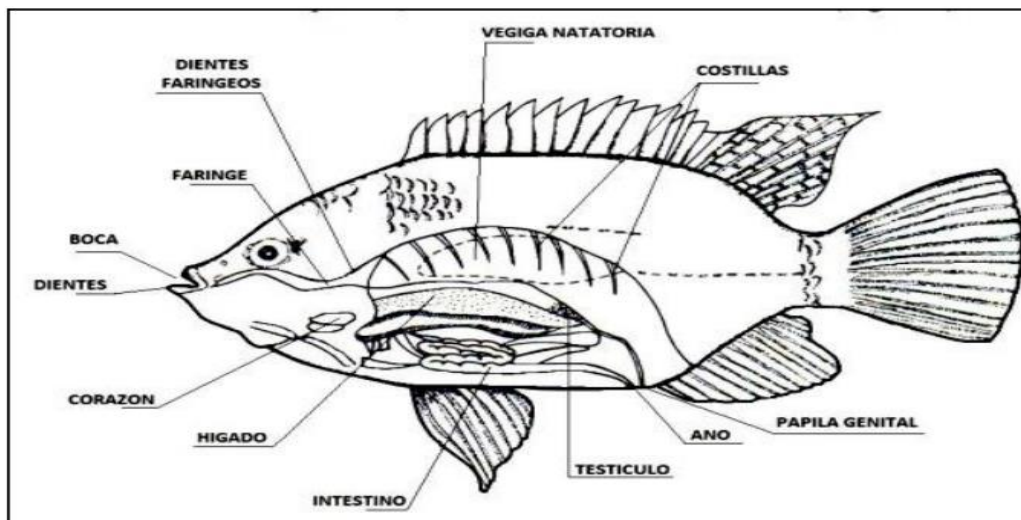


Figura N° 2 Morfología interna de tilapia *O. niloticus*¹



Figura N° 3 Especímen de Tilapia Nilótica¹

3.1.2 Cultivo de *Oreochromis niloticus*

Aunque se conocen más de 100 especies de tilapia en el mundo, sólo diez especies son de importancia económica y de producción de proteína animal para mejorar la alimentación de la población. Normalmente las 10 especies con potencial importante se producen en condiciones controladas en las aguas tropicales y subtropicales del mundo. Por sus características favorables

de adaptación, la tilapia es muy apropiada para la piscicultura. Tiene rápido crecimiento, es fácil su reproducción y tiene resistencia a enfermedades.

Otras bondades de la tilapia es su tolerancia para desarrollarse en condiciones de alta densidad, su habilidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno y soportar un amplio rango de salinidades, por las condiciones extremas del agua marina.

En El Salvador la tilapia es bastante cultivada, dicha actividad acuícola se lleva a cabo en los 14 departamentos del país. ¹

3.2 Microbiota intestinal de *Oreochromis niloticus*

De manera general los peces poseen ciertos filos bacterianos, las tilapias poseen *bacteroidetes*, proteobacterias como el orden de las *Bdellovibrionales*, *Firmicutes* y *Fusobacteriota*.

Las funciones de las comunidades microbianas intestinales dependen de su estructura, que está influenciada por varios elementos asociados con el huésped, como la composición genética, la estación, el estrés y la ubicación geográfica. La disponibilidad de recursos alimentarios en diferentes entornos geográficos es variable y, por tanto, afecta significativamente a la diversidad y composición de la microbiota intestinal del huésped. ²

3.3 Inocuidad

La inocuidad es el término utilizado para manifestar la garantía de que un alimento evidencia condiciones adecuadas y que a su vez no causará ningún daño al consumidor, en ninguna fase de la cadena productiva, además, es una condición necesaria para fomentar la seguridad alimentaria, que se alcanza cuando todas las personas, poseen acceso tanto físico, social y económico a alimentos con las condiciones higiénicas y nutritivas adecuadas, logrando satisfacer sus necesidades alimenticias sin ninguna afección irregular que genere problemas en su organismo. ³

3.3.1 Inocuidad en el pescado

La inocuidad en cuanto al pescado se contempla bajo la definición de un método que ejerce el buen manejo de los procesos de manipulación, preparación, elaboración, transporte y almacenamiento, previniendo enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). Además, se relaciona con la frescura y apariencia adecuada, cuando presenta ausencia de agentes perjudiciales, que generan deterioro en el alimento, por la acción de enzimas autolíticas. Denotando, que la mayoría de las veces la pérdida de inocuidad se presenta desde el momento

en que se genera la muerte del pescado, ya que aumentan los procesos microbianos, enzimáticos y químicos; los cuales se encuentran controlados por factores ambientales y procesos de manipulación inadecuados aumentando así las ETA en el consumidor. ³

3.4 Contaminación biológica de peces de agua dulce

En la tabla 1 se enlistan las bacterias que se encuentran de forma natural en el medio acuático como *Clostridium botulinum* tipo E, especies patógenas del género *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* y *Listeria monocytogenes*.

Estos patógenos pueden encontrarse en el pescado recién capturado. Sin embargo, no suelen constituir un riesgo importante porque están presentes en unos niveles no muy elevados. La excepción se produce cuando se genera una acumulación mayor de microorganismos.

La aparición de otras bacterias patógenas no autóctonas del medio acuático como *Salmonella*, *Shigella*, *E. Coli* o *Staphylococcus aureus* que aparecen en la segunda columna de la tabla 1 para las que el hombre y los animales funcionan como reservorio, es consecuencia de la contaminación por aporte de aguas residuales exógenas al pescado y a los productos de la pesca, o bien por la manipulación incorrecta en etapas posteriores al proceso de comercialización del pescado, es decir, en manos del consumidor final.

Las Enterobacterias como *E. coli* son habituales comensales del intestino de las tilapias; También estos microorganismos pueden llegar a puertas de entrada en el pez por medio de la contaminación fecal de las aguas o la falta de higiene en el procesamiento industrial. ⁴

Tabla No 1: bacterias patógenas transmitidas por pescados de agua dulce ⁴

Bacterias autóctonas	Bacterias no autóctonas
<i>Clostridium botulinum</i> <i>Vibrio sp.</i> <i>V. Cholerae</i> <i>V. Parahaemolyticus</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella</i> <i>E. coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

3.5 Fuentes de contaminación del pescado

Innatas: son los contaminantes químicos o biológicos que provienen de los propios pescados y mariscos, debido a alteraciones en su microbiota, o de toxinas que estos mismos producen.

Del hábitat: son los que provienen de algas y plancton (toxinas que producen), trazas de metales pesados, contaminantes orgánicos que forman parte de la contaminación de aguas dulces y marinas, aguas residuales y demás que interfieren en el hábitat donde se desarrolla el pez. También forman parte de esta fuente de contaminación los antimicrobianos, antiparasitarios y demás compuestos químicos utilizados en la acuicultura. ⁴

Humanas: contaminantes provenientes de la manipulación del pescado desde su captura, transporte, distribución, almacenamiento, comercialización hasta la elaboración de los alimentos, en esta fuente se incluye al manipulador, material de embalaje, equipos, maquinarias, instalaciones, agua y demás compuestos utilizados. ³

3.6 *Escherichia coli*

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, no esporulante, productor de indol a partir de triptófano, no utiliza citrato como fuente de carbono y no produce acetoina. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con la producción de gas. Esta bacteria coloniza el intestino del ser humano pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos.

La morfología microscópica de esta bacteria es bacilos rectos generalmente flagelados peritricos, móviles mientras que su morfología macroscópica en agar E.M.B (Eosina azul de metileno por sus siglas en inglés) es de 2 a 4 mm de diámetro, un centro grande de color oscuro e incluso negro, y tienen brillo verde metálico cuando se observan con luz refleja y en agar MacConkey se presenta con colonias color rojo con halo turbio. ⁵

3.6.1 Estructura antigénica de *E. coli*

E. coli así como las demás *Enterobacteriaceae* poseen los antígenos O que son la parte más externa de la pared de la célula bacteriana y constan de unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos O contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol, generalmente se detectan mediante aglutinación bacteriana. Los antígenos K son

antígenos O externos sobre algunas, pero no todas, las enterobacteriaceae. Algunos son polisacáridos, los antígenos K pueden interferir con la aglutinación por antisuero O, y a veces se asocian con virulencia.

Los antígenos H se localizan sobre los flagelos y se desnaturalizan mediante calor o alcohol. Estos antígenos H se aglutinan con anticuerpos H. Los determinantes de los antígenos H son una función de la secuencia de aminoácidos en la proteína flagelar. Los antígenos H sobre la superficie de la bacteria a veces interfieren con la aglutinación por anticuerpos anti-O. ⁶

3.7 *E. coli* y *Oreochromis niloticus*

Las Enterobacterias son habituales comensales del intestino de los animales y en ciertos casos son causantes de patologías graves y pueden contaminar con facilidad los alimentos, en especial la carne de tilapias; También estos microorganismos pueden llegar a puertas de entrada en el pez por medio de la contaminación fecal de las aguas o la falta de higiene en el procesamiento industrial. pueden ser transmitidos a los humanos por: la ingestión, manipulación de la carne contaminada y por heridas traumáticas que frecuentemente se presentan al estar en contacto con las evisceraciones del animal sacrificado.

Las bacterias más frecuentes en *Oreochromis niloticus* que pueden transmitirse a humanos son: *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* entre otras. ⁴

3.8 Epidemiología

En algunos casos probablemente la bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, pescado crudo o no cocinado debidamente, leche cruda, hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas; así mismo por contaminación cruzada debido a asepsia inadecuada de utensilios de cocina. La higiene deficiente, junto con la diseminación secundaria por contacto interpersonal, constituye otra vía de transmisión. La transmisión en personas sucede a baja dosis infectiva (50 – 100 UFC). ⁷

Dicha concentración microbiana de dosis infectiva es contemplada dentro del rango admisible que especifica el RTCA 67.04.50:08 para el grupo de los alimentos: Pescado, derivados y productos marinos que oscila entre las 10 y 100 UFC/g para la *E. coli* al tratarse de un alimento de la categoría 4, riesgo nivel A, y que fuera de los límites de la especificación del reglamento,

la tilapia no es apta para el consumo humano debido a que supera el umbral de la dosis infectiva de la *Escherichia coli*.²¹

La infección del torrente sanguíneo es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas en todo el mundo. *Escherichia coli* es el patógeno más comúnmente asociado a aquéllas adquiridas en la comunidad y en la población hospitalizada causa aproximadamente 30% de los casos de bacteriemia.

La bacteriemia por *E. coli* también se ha asociado a la prolongación de la estancia hospitalaria y a las dificultades del tratamiento con antibióticos debido a las cepas resistentes. Todos estos factores incrementan los costos de atención médica y tienen un impacto clínico y económico sustancial. Como resultado, ha habido una serie de iniciativas internacionales centradas en la lucha contra las infecciones por patógenos relacionados con la resistencia a los antibióticos. Uno de ellos es el reporte de resistencia antimicrobiana de la Organización Mundial de la Salud, que señala a América Latina como una región donde las bacteriemias por bacterias gramnegativas MDR representan hasta 40% de los casos. En cuanto a las infecciones por *E. coli*, en 48% de los casos eran BLEE y en 58% resistentes a fluoroquinolonas.⁸

3.9 Patología

Signos y síntomas

En general la infección comienza en forma aguda, con cólicos abdominales fuertes y diarrea acuosa, que puede transformarse en sanguinolenta dentro de las 24 h. Algunos pacientes perciben la diarrea como "toda sangre y nada de heces", lo que ha originado el nombre de colitis hemorrágica. La fiebre, que suele estar ausente o ser baja, en ocasiones alcanza los 39° C. La diarrea puede durar entre 1 y 8 días en infecciones no complicadas.⁸

El Ministerio de Salud salvadoreño reportan más de 3 mil casos de diarrea y gastroenteritis por cada 100 mil habitantes en el año 2022 y una prevalencia en la totalidad del territorio y estos cuadros clínicos se relacionan con la presencia de *Escherichia coli*.⁹

3.10 Importancia clínica de *E. coli* e incidencia en la salud pública

El síndrome hemolítico urémico, complicación frecuente en infecciones de esta bacteria se da en particular en los niños y presenta una elevada letalidad. La transmisión a través de los alimentos y la capacidad de producir brotes epidémicos junto a la gravedad de las

complicaciones de las enteritis confieren a este microorganismo una gran importancia en salud pública.

La bacteria es frecuente en países desarrollados, sin embargo, en países del tercer mundo como los latinos incluido El Salvador suele estar ligada a infecciones por consumo de carnes de res y cerdo, consumo de pescado, hortalizas, leche, frutas y aguas de consumo contaminadas; por lo tanto, es un agente infeccioso habitual al cual se le confiere gran interés.^{10,11}

3.11 Factores de desarrollo de *E. coli* en pescado

Los factores que influyen en el desarrollo de un microorganismo en pescados de agua dulce en donde se incluye a tilapia se clasifican de la siguiente manera:

Factores intrínsecos: Son aquellos que dependen de las características del sustrato de crecimiento. Se toman en cuenta parámetros químicos, tales como la cantidad de agua disponible (*aw*), los tipos y niveles de nutrientes disponibles, y las sustancias antimicrobianas naturales de la matriz alimentaria. Además, son importantes los factores biológicos intrínsecos, es decir, resultantes de la estructura de los tejidos de los alimentos. En el caso de *E. coli* la actividad de agua mínima para su crecimiento es de 0.95 mientras que el *aw* de las tilapias frescas es de 0.98 o superior.³

Factores de procesado: Son aquella consecuencia de los tratamientos aplicados durante la elaboración de los alimentos pesqueros, tanto a escala industrial como a escala doméstica, que modifican primariamente la composición de la microflora. Entre ellos: los tratamientos físicos que ocasionan la muerte de los microorganismos, por ejemplo, el calor y en el caso de las células de *Escherichia coli* que son resistentes a temperaturas de refrigeración y congelación, que solo se destruyen cuando son sometidas a temperaturas superiores a 71° C; los cambios similares llevados a cabo por la adición de compuestos químicos, por ejemplo, los cambios de pH, o por inoculación de organismos que producen ácidos, en el caso de la *E.coli* que puede proliferar hasta un pH de 4.4, o por las presiones selectivas creadas como consecuencia de la adición de agentes conservadores.³

Factores extrínsecos: La temperatura de almacenamiento, la humedad de la atmósfera y la composición de la fase gaseosa. En el caso de las tilapias cuyo almacenamiento adecuado es por cadena de frío desde su captura hasta la comercialización disminuye el riesgo del

crecimiento de *E. coli* ya que *Escherichia coli* crece a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C¹²

Factores implícitos: estos efectos dependen de la microflora particular dominante que inicialmente se desarrolla en respuesta a los factores intrínsecos, del tratamiento y extrínsecos. Los efectos implícitos pueden ser sinérgicos o antagónicos. Los efectos sinérgicos implican la alteración de las condiciones por un grupo de microorganismos de modo que otro grupo resulta favorecido.¹³

3.12 Buenas prácticas en la manipulación del pescado

Las personas dedicadas a la comercialización, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos están obligadas a cumplir una serie de requisitos y normas en cuanto a la higiene de los productos que comercializan. Un procedimiento clave a tener muy en cuenta, es la aplicación de buenas prácticas en la manipulación e higiene del producto.

Por la naturaleza de los productos pesqueros, es indispensable darle un buen manejo al pescado y mariscos, como garantía para obtener un alimento seguro, que también goce de buena apariencia comercial y calidad nutricional. Hablar de buena apariencia comercial, implica que el producto tenga un alto grado de frescura. Respecto a la calidad nutricional, se debe tener en cuenta que los pescados y mariscos mantengan sus propiedades nutricionales, mismas que son muy generosas.¹²

Buenas prácticas de manipulación básicas: El lavado de manos, antebrazos y uñas, antes y después de empezar la jornada laboral, evitar toser o estornudar en dirección a los productos manipulados. No comer, beber, mascar chicles o fumar durante la manipulación de alimentos. La ropa laboral debe ser ligera, amplia y lavable y deberá guardarse limpia y totalmente separada de la ropa de calle. El calzado debe ser el adecuado, antideslizante y también debe separarse de la ropa de calle, no llevar joyas y otros efectos personales que puedan estar en contacto con los alimentos a manipular. Evitar los perfumes, lociones de afeitar o cualquier producto que pueda transmitir olor a los alimentos, proteger las heridas.

Herramientas de trabajo: Para la manipulación del pescado se requiere la utilización de herramientas cortantes como tijeras o cuchillos. Estos utensilios deben ser limpiados y esterilizados tras finalizar la jornada y guardar en un lugar higiénico.

Salas de manipulación: El pescado es un alimento muy sensible a la descomposición por parte de las bacterias, por ello hay que manipularlo lo menos posible y a temperaturas muy bajas, evitando así la reproducción de microorganismos. Se recomienda que las salas de manipulación del pescado, marisco y crustáceos estén climatizadas o en su defecto utilizar depósitos con hielo, frigoríficos y hieleras.

Temperatura adecuada: La regulación de una temperatura adecuada es fundamental para evitar la reproducción de microorganismos. El pescado debe mantenerse a una temperatura en torno a los 0°C, mientras que el marisco y crustáceos a una temperatura entre los 4°C y 5°C. Los pescados congelados deben conservarse a una temperatura inferior a -18°C y deberán estar envueltos para evitar que se resequen y se quemem con el hielo.

Contaminación cruzada: para evitar la contaminación cruzada deben almacenarse correctamente por separado los productos procesados y sin procesar y los productos crudos de los cocidos o ahumados. Deben estar muy bien protegidos y separados del suelo, paredes y techos, permitiendo la circulación de aire.

Envasado el producto: El producto debe estar perfectamente envasado con una hermeticidad adecuada en el sellado y en los productos envasados al vacío hay que asegurarse la ausencia de burbujas de aire. ¹²

3.13 Acondicionamiento del pescado post-captura o postcosecha

Se lleva a cabo en seis pasos indistintamente si se trata de un proceso a gran escala comercial o doméstico:

- Lavado (eliminar suciedades y fango).
- Separación de agallas.
- Cuidadosa evisceración.
- Lavado en agua limpia para eliminar sangre, mucosidad, etc.
- Almacenamiento o estibado adecuado.
- Mantener la altura de estibas. En esta altura, alternando con hielo, el pescado no debe exceder los 45 centímetros en total. ¹²

3.14 Métodos de conservación

Básicamente, la conservación de los alimentos consiste en la aplicación de diferentes procesos físicos, químicos y biológicos que, realizados en forma adecuada, permiten prolongar la vida útil del alimento. La conservación permite mantener los alimentos bajo condiciones apropiadas de manejo y almacenamiento, por un determinado período de tiempo, sin que sufran alteraciones. La conservación se puede obtener mediante uno o varios métodos. Luego es asegurada por el uso de un empaque apropiado.¹²

Hielo: Es un medio portable de preservación o refrigeración, que puede ser fácilmente transportado y usado hasta el lugar que se requiere y en la cantidad necesaria. En el mercado existen varios tipos de hielo como el de escama o escarcha, picado, en marqueta o bloque. El de mayor uso y más eficiente es el de escama o escarcha, porque tiene mayor capacidad de contacto, es decir, mayor facilidad para cubrir más superficie, convirtiéndose en el más apropiado para un enfriamiento rápido. El intercambio de calor se realiza rápido y, por ende, hay un enfriamiento más eficaz.

Entre las ventajas del uso del hielo se tiene que:

- El hielo posee una gran capacidad de enfriamiento.
- No contamina, ya que es inocuo, siempre y cuando sea producido bajo esas condiciones.
- El hielo es relativamente barato.
- Al entrar en contacto directo con el pescado, el hielo lo enfría rápidamente.
- Se transporta con facilidad, convirtiéndose en un método de enfriamiento portátil.
- El agua derretida del hielo mantiene el pescado húmedo, lavado y de apariencia atractiva.

La relación adecuada de hielo, equivalente al manejo del pescado es 1-1. Es decir que para enfriar un kilo de pescado se requiere un kilogramo de hielo. La temperatura óptima de mantenimiento de la frescura y calidad del producto es no mayor a los 4 grados °C. Los pescados enteros deben estar rodeados y cubiertos de hielo, para mantenerse a temperaturas adecuadas (entre 0 y 4 grados centígrados).

Estiba de pescado con hielo: Se coloca una capa de hielo de 5 cm de espesor en la parte inferior de la caja, seguido de una capa de pescado. A continuación, se agrega otra capa de hielo, que se entremezcle con el pescado y lo cubra con 5 cm de espesor.

En el caso de los filetes de pescado, no pueden estar en contacto directo con el hielo, ya que estos pueden perder algunos nutrientes y sabor, además de producirse ablandamiento de la textura y la alteración del aspecto físico superficial. Un mal manejo del filete de pescado puede producir “un quemado” del mismo, que equivale a provocar una decoloración de la carne. Por las razones anteriores, es conveniente que los filetes se envuelvan en plástico y estén rodeados de hielo.

Almacenamiento en cámaras frigoríficas: Si bien es cierto que el aire frío ayuda a disminuir las temperaturas del pescado, se recomienda agregar hielo al producto, antes de ingresarlo a la cámara. De esta forma se previene que el producto no se deshidrate. Cerciorarse que la estiba se realice de forma adecuada. Los productos no deben estar pegados a la pared, ni apilados muy altos, ya que no permiten una circulación de aire adecuada. Los productos no deben estar en contacto directo con el piso. Se recomienda almacenarlos sobre pallets o tarimas de plástico o bien cajas vacías. Los mariscos deben almacenarse en un lugar fresco y evitar que el producto esté a temperaturas superiores de 8 grados centígrados o inferiores a dos grados centígrados. No junte mariscos con pescados, ni menos con filetes de pescados. Si se almacena pescado entero y filetes, se debe procurar que las cajas con filetes siempre estén sobre las cajas con pescado entero, y nunca al revés. Tome en consideración, el principio de rotación del producto, es decir, primero que entra, primero en salir.¹²

Salazón: Se trata de una antigua técnica de conservación muy popular, sobre todo en la región del Mediterráneo. El método de la salazón consiste en cubrir el pescado con sal, con el propósito de que éste absorba el agua y se produzca la deshidratación para impedir el desarrollo de gérmenes patógenos.

Ahumado: Es un método que se utiliza especialmente para el salmón, el bacalao y la trucha. Es una técnica que consiste en la conservación gracias al curado con humo. No es una técnica muy común en los hogares, sino que es una práctica más habitual en restaurantes y grandes empresas de alimentación.

En conserva: Como su propio nombre indica, es la técnica de conservación más popular. Para hacer conservas de pescado, se debe cocinar el pescado con escabeche, aceite u otra salsa y almacenarlo en un tarro de cristal con cierre hermético. Para asegurar que queda totalmente esterilizado, se coloca el recipiente cubierto en agua hirviendo durante 15-20 minutos y luego se introduce la conserva dentro del bote.

3.15 Transporte y distribución del pescado

Durante el transporte de productos pesqueros, se debe mantener la temperatura adecuada en ellos y garantizar que el hielo utilizado, mantendrá el producto a una temperatura de entre 0 y 4 grados centígrados, hasta llegar a su destino. Claramente depende del contenedor o nevera que se utilice. Se debe realizar el transporte según la capacidad, sin que haya excesivo sobrepeso de hielo o cualquier otro aislante sobre el producto. Así se evitará daños por la presión. El transporte de pescado debe ser en vehículos cerrados para prevenir su contaminación.

Antes de colocar el producto en las neveras o cajas isotérmicas, es preferible que se realice un preenfriamiento de estas, para lograr mantener la temperatura del producto y no causar altibajos. De esta forma, se previenen posibles choques térmicos, que van en detrimento de la calidad de los productos pesqueros. Durante el transporte de pescados y mariscos, es muy importante no romper con la cadena de frío, porque los productos son altamente perecederos; es imperativo mantener la temperatura óptima. En caso de que la operación no se realice en el propio lugar de desembarque, se debe trasladar el pescado lo más rápido posible, hacia las plantas o lugares de procesamiento o empaque.

Para el acarreo de productos, utilice neveras o hieleras, de material apropiado, que permitan el aislamiento del frío. El diseño de las neveras o hieleras tiene que prever llaves de drenado. El drenado posterior a la descarga, se debe realizar solo en sitios apropiados donde no se produzca contaminación ambiental, si en la unidad del transporte terrestre, la nevera o hielera está dividida en compartimentos, se recomienda prever entonces un colector común, la superficie de la nevera debe ser de material liso, impermeable, fácil de limpiar y desinfectar y con pintura libre de plomo y otros metales tóxicos, las dimensiones de la nevera deben permitir las operaciones desde fuera de la misma. Aproximadamente una altura interna de 1.20 m, Los bins y neveras, deben ser lavados y desinfectados después de cada operación. ¹²

3.16 Características para la exhibición y venta de alimentos marinos y acuícolas para un puesto de venta (lo ideal para su funcionamiento) en mercados municipales

- Espacio suficiente para albergar uno o dos vendedores.
- Cajas isotérmicas con pescado.
- Material de trabajo cuchillos, tableros para cortar.
- Material de empaque.

- Sin recovecos que dificulten las operaciones de limpieza y desinfección del piso - Instalaciones de agua y desagüe y un lavadero adecuado para lavar el pescado.
- Lugar iluminado con luz diurna o artificial, que permita una buena apreciación del pescado.
- La superficie de los mostradores debe ser de un material que fácilmente se limpie y desinfecte (acero inoxidable, plásticos de alta densidad, mayólicas de alto grado de dureza en perfectas condiciones).
- Pisos con terrazos o losetas, con resumideros al colector de desagüe, para que permita la eliminación de líquidos después de una operación de limpieza.
- En caso de tener alguna pared, debe ser recubierta por un material lavable y resistente (pinturas epóxicas, etc.) y de color claro.
- Ubicados en lugares protegidos contra moscas y otros insectos.
- En caso de existir espacio, se recomienda tener un exhibidor de pescado, que es una especie de mesa que tenga en la parte superior, un cajón preferiblemente de metal inoxidable, abierto e inclinado, donde se coloca el pescado entre una capa gruesa de hielo, este cajón deberá tener un drenaje para eliminar el hielo fundido. ¹²

Para los materiales y equipo utilizados:

- Tablas para cortar el pescado de polietileno de alta densidad (no usar madera).
- Cuchillos con hojas de 20 a 25 cm de largo y con mangos de material lavable, afiladores de cuchillos.
- Recipientes con tapa lavables para la recolección de desechos, vísceras y otros desperdicios.
- Balanzas electrónicas, de resortes u otro tipo, operativas y calibradas con capacidad por lo menos para 5 kilogramos.
- Baldes, escobas y escobillones para la limpieza de pisos.
- Detergentes y desinfectantes para la limpieza y desinfección de todas las superficies que entran en contacto con el pescado.
- Botiquín de primeros auxilios. ¹²

CAPÍTULO IV

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio

Transversal.

Se verificó la presencia de *E. coli* en muestras de tilapia comercializada en los mercados del municipio de San Salvador en el período comprendido entre los meses de agosto y septiembre del año 2023.

De campo.

Se visitaron las instalaciones donde se vende tilapia fresca en mercados municipales seleccionados del municipio de San Salvador. Donde también se verificaron las condiciones de manipulación y almacenaje de productos través de una hoja de cotejo.

Descriptivo.

Se realizaron una serie de procedimientos microbiológicos con el fin de identificar la presencia o ausencia de *E. coli* en las diferentes muestras de músculo y vísceras de tilapia recolectadas en los diferentes locales seleccionados de venta de los mercados del municipio de San Salvador.

En la siguiente tabla se observan las variables de cada objetivo específico y su clasificación según su tipo y como fueron medidas estas para constatar el cumplimiento del objetivo planteado.

Tabla N° 2: Variables según objetivos planteados

OBJETIVO	VARIABLE	TIPO	MEDICION
Identificar el grado de aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) en los diversos puestos de venta de los mercados del municipio de San Salvador.	Grado de aplicación de las buenas prácticas de manejo y almacenamiento de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).	Cualitativa	Se registró mediante la guía de observación de la persona que tomó la muestra (C) CUMPLE o (NC) NO CUMPLE con las buenas prácticas de almacenamiento y manejo del Manual de CENDEPESCA
Establecer la presencia o ausencia de <i>Escherichia coli</i> a través de medios de cultivo selectivos, diferenciales y pruebas bioquímicas API 20 E en muestras de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) recolectadas en los diferentes mercados del municipio de San Salvador.	Presencia de <i>E. coli</i>	Cualitativa nominal	Determinación por cambios en las características de los medios de cultivo selectivos y diferenciales y los cambios en el color y las condiciones en los depósitos de la galería API 20E
Evaluar la frecuencia de la presencia de <i>Escherichia coli</i> en tilapias (<i>Oreochromis niloticus</i>) comercializados en los mercados del municipio de San Salvador en el periodo de los meses de agosto y septiembre del año 2023.	Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> aislado de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Cualitativa nominal	Evaluación de la frecuencia de la presencia del patógeno.

Fuente: Elaboración propia

4.2 Investigación bibliográfica

Se realizó en libros y tesis, en las bibliotecas de:

- Facultad de Química y Farmacia, "Dr. Benjamín Orozco", Universidad de El Salvador.
- Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Escuela de Biología, Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.

Editoriales científicas consultadas:

- Science Direct
- Scielo
- Latindex
- Nature
- Journal of Biological Chemistry

4.3 Investigación de campo:

Universo

Todos los puestos de venta que comercializan tilapia en los mercados del municipio de San Salvador.

Diseño y tamaño de la Muestra.

El número de mercados muestreados se eligió por medio de un método estadístico no probabilístico por conveniencia, bajo criterios específicos, tomando únicamente así los mercados que comercializan tilapia fresca en el municipio de San Salvador. Por lo tanto, se tomaron muestras únicamente de 6 mercados, a lo cual corresponde: Mercado la Tiendona, Central, San Miguelito, Tinetti, Montserrat, San Jacinto.

Posteriormente se realizó un muestreo estratificado para determinar la cantidad de puestos comercializadores en cada mercado mencionado anteriormente, de la cantidad de puestos anteriores, se procedió a seleccionar las muestras de músculo de tilapia y se realizó un muestreo aleatorio simple para determinar el número total de muestras a tomar por cada mercado.

El muestreo estratificado se realizó clasificando los mercados en orden de relevancia según las referencias conocidas, teniendo en cuenta afluencia de personas y tamaño de este, asignándole un código a cada uno de los 6 estratos. ¹⁴

En la siguiente tabla se clasifican los mercados asignándoles un número de estrato según su grado de relevancia y a su vez asignándoles un código, también se muestra información acerca de la cantidad de puestos que comercializan tilapia en cada mercado.

Tabla N°3: Estratos, código, cantidad de puestos comercializadores de tilapia.

L= Estrato	Relevancia	Mercado	Código	Ni o número de puestos que comercializan tilapia
1	1°	Tiendona	LTA	5
2	2°	Central	CL	4
3	3°	S. Miguelito	SM	4
4	4°	Tinetti	TI	3
5	5°	San Jacinto	SJ	1
6	6°	Montserrat	MT	1
		N=		18

Fuente: Elaboración propia

Para seleccionar el número de puestos a muestrear por estrato, se utilizó un muestreo aleatorio simple, en donde fue elegido al azar.

Se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$n = \frac{NZ^2p(1-p)}{e^2(N-1) + Z^2p(1-p)} \quad (1)$$

Donde:

n = muestra

Z = Estadístico al 95%

p = Proporción de individuos con la característica

N = Población

e = Error muestral máximo permisible en la investigación

(se utilizó la incidencia del 5% debido a que es el más adecuado para un estudio microbiológico ya estos son estudios no exactos).

Así tenemos que:

$$\text{Así tenemos: } n = \frac{(18)(1.96)^2 (0.05) (1-0.05)}{(0.05)^2(18-1)+(1.96)^2 (0.05)(1-0.05)} \quad (2)$$

$$n = 15$$

Número de puestos a muestreados

El porcentaje representativo de cada estrato se representa así:

$$\% = \frac{N_i}{N} \times 100 \quad (3)$$

Donde:

N_i = Número de puestos por estrato

N = Número de puestos en el universo

Así tenemos:

Estrato 1

$$\% = 5/18 \times 100 = 27.77\%$$

Tabla N°4: Porcentaje de representatividad de los puestos.

Estrato	Cálculo	Porcentaje
1	$\% = 5/18 \times 100$	27.77
2	$\% = 4/18 \times 100$	22.22
3	$\% = 4/18 \times 100$	22.22
4	$\% = 3/18 \times 100$	16.66
5	$\% = 1/18 \times 100$	5.55
6	$\% = 1/18 \times 100$	5.55
TOTAL		100

Fuente: Elaboración propia

La unidad muestreada por cada estrato se obtuvo de la siguiente forma:

$$n_i = n(N_i/N) \quad (4)$$

Donde:

Ni: Número de puestos por estrato

N: Número de puestos en el universo

n: Tamaño de muestra

ni: Número de puestos a muestrear por estrato

Así por estrato 1, tenemos:

$$n_i = 15(5/18) = 4 \text{ puestos a muestreados en el estrato 1.}$$

Tabla N°5: Cantidad de puestos muestreados por estrato

Estrato	Calculo	Cantidad
1	$n_i = 15(5/18)$	4
2	$n_i = 15 (4/18)$	3
3	$n_i = 15 (4/18)$	3
4	$n_i = 15 (3/18)$	3
5	$n_i = 15 (1/18)$	1
6	$n_i = 15 (1/18)$	1
Total		15

Fuente: Elaboración propia

Para conocer la cantidad de muestras de músculo y vísceras de tilapia que se tomó por cada estrato se desarrolló la siguiente fórmula.

Se utilizó la siguiente ecuación:

$$n = \frac{NZ^2p(1-p)}{e^2(N-1) + Z^2p(1-p)} \quad (5)$$

Donde:

n = muestra

Z = Estadístico al 95%

p = Proporción de individuos con la característica

N = Población del estrato

d = Error muestral máximo permisible en la investigación.

Para el estrato 1

$$\text{Así tenemos: } n = \frac{(4)(1.96)^2 (0.05) (1-0.05)}{(0.05)^2(4-1)+(1.96)^2 (0.05)(1-0.05)} = 3.84 = 4 \quad (6)$$

Se tomaron 4 muestras de tilapia por puesto.

Así tenemos, en el estrato 1 que se tomaron 4 puestos:

$n_T = n \times \text{número de puestos por estrato}$

$$n_T = 4 \times 4 = 16$$

$n_T = 16$ muestras de tilapia

Se tomaron 16 muestras de tilapia en el estrato 1, es decir, 4 muestras de tilapia por cada uno de los 4 puestos.

Tabla N°6: Cantidad de muestras tomadas por estrato

Estrato	Muestras de tilapia por estrato
1	16 muestras
2	9 muestras
3	9 muestras
4	9 muestras
5	1 muestras
6	1 muestras

Fuente: Elaboración propia

Interpretación de cálculos:

Se declara que cada muestra estuvo representada por un pescado. Los números de muestras tomadas según el estrato o mercado fueron los siguientes; 16 muestras en Mercado La Tiendona, 9 en Mercado Central, 9 en Mercado San Miguelito, 9 en Mercado Tinetti, 1 en Mercado San Jacinto, 1 en mercado Montserrat, sumando un total de 45 muestras recolectadas en todo el muestreo.

4.4 Parte experimental

4.4.1 Metodología para la guía de observación

Se realizaron visitas a los diferentes mercados mencionados anteriormente y se verificaron las condiciones higiénicas haciendo uso de una lista de chequeo (Ver Anexo N°1) para evaluar el grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Almacenamiento y Comercialización de los puestos de venta y sus condiciones higiénicas entre las cuales se comercialice la tilapia específicamente la especie *Oreochromis niloticus*.

4.4.2 Selección y recolección de la muestra

Se recolectaron las muestras de pescados frescos debidamente identificadas y respetando la cantidad de muestras por mercado en cuestión de la siguiente manera:

- El vendedor dispensó el pescado fresco, entero, eviscerado y en buen estado en las bolsas estériles para muestreo.
- Se identificaron las muestras según etiqueta correlativa. (ver Anexo N°2)
- Se colocaron las muestras en una hielera para mantener la cadena de frío resguardándolos hasta su preparación no más de 6 horas a una temperatura de 4 a 8 °C.¹⁵

4.4.3 Identificación de las muestras

Las muestras se identificaron por medio de una etiqueta. Cada etiqueta con un código correlativo. (Ver Anexo N°2)

4.5 Procedimiento de aislamiento e identificación de *Escherichia coli* en las muestras de carne de *Oreochromis niloticus*

4.5.1 Preenriquecimiento de la muestra (Ver Anexo N° 3,4)⁵

- Con un cuchillo estéril se diseccionó al ejemplar y se extrajo el músculo de cada muestra, se colocó en bolsas plásticas estériles y se pesó un equivalente a 25.0 g de cada muestra.
- Se agregó un volumen de 225 mL de agua peptonada buferada,
- Homogenizó por 2 minutos a velocidad alta (aprox. 260 rpm) en el Stomacher
- Esta se considera la dilución 10^{-1} .
- Se tomó 10 mL de la dilución 10^{-1} y se añadió a 90 mL de agua peptonada buferada en un frasco de dilución para así preparar la dilución 10^{-2} .
- Se repitió el paso anterior para obtener la dilución 10^{-3} .

4.5.2 Determinación de *E. coli* en muestras de músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*). (Ver Anexo N°5)⁵

- Por cada una de las diluciones se vertió 1ml por duplicado en placas Petri vacías.
- Se agregó por vertido en placa aproximadamente 25 mL de Agar VRBA MUG a 48 °C y se homogenizó por medio de la técnica del ocho, se dejó solidificar.
- Para evitar el crecimiento superficial y la propagación de colonias, se cubrió con 5 ml de VRBA y se dejó solidificar.

- Se invirtieron las placas solidificadas e incubaron en aerobiosis a 35 °C de 18 a 24 horas.
- Se llevó a cabo el recuento de colonias color rosado rodeadas por una zona de ácidos biliares precipitados las cuales confirman la presencia de coliformes totales.
- Luego se expusieron las placas a la luz ultravioleta de longitud de onda de 366 nm, y se llevó a cabo el recuento de colonias con fluorescencia positiva las cuales confirman la presencia de *E. coli*.
- Se transfirió una colonia con producción de fluorescencia a un tubo que contenía caldo EC y una campana de Durham para confirmar las características de *E. coli*.
- Se incubó 24 a 48 h a 44.5 °C ± 0.2°C.
- La producción de gas y una turbidez del medio confirma la presunta identidad de la colonia seleccionada como *E. coli*.

4.5.3 Prueba completa para *E. coli*. (Ver Anexo N°6)⁵

Siembra en agar EMB

- De los tubos positivos en caldo EC para coliformes fecales se inoculó con asa y se estrió por el método de estrías en agar EMB.
- Se Incubaron a 35 °C ± 0.5°C durante 18-24 horas.
- colonias verdes con centro negro y brillo metálico confirma la presencia de *Escherichia coli*.
- Se transfirieron de las colonias positivas para *Escherichia coli* en Agar EMB a Agar TSA.

Siembra en agar TSA

- De las placas de EMB con colonias características, se inocularon con asa y se estriaron por el método de estrías en agar TSA.
- Se Incubaron a 35 °C ± 0.5°C durante 18-24 horas.
- colonias redondas, opacas, elevadas, suaves, lisas y blancas confirma la presencia de *Escherichia coli*.

Tinción de Gram. (Ver Anexo N°7) ⁵

- Se colocó una fina gota de agua sobre un portaobjeto.
- Luego del periodo de incubación se tomó una colonia del medio TSA con un asa previamente esterilizada y se extendió la colonia sobre la gota de agua.
- Se llevó el portaobjeto cerca de la llama para acelerar la evaporación pasando por encima de la llama tres veces y luego se dejó enfriar.
- Se tiñó con cristal violeta por 30 segundos.
- Se eliminó el exceso de colorante.
- añadió Lugol por un minuto.
- Se decoloró con alcohol-acetona al alrededor de 30 segundos.
- Se lavó con agua.
- Añadió Safranina y se esperó un minuto.
- Se lavó con agua.
- Se observó en el microscopio al objetivo de 100x.
- Bacilos color rosado (Gram negativos) presumen la presencia de *Escherichia coli*.

4.5.4 Criopreservación de colonias confirmativas de *E. coli*. (Ver Anexo N°8) ¹⁶

- Del crecimiento del medio TSA se transfirió una asada a 10 ml de Caldo Nutritivo y se incubó a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20-24 horas.
- Transfirió 0.5 ml de Caldo nutritivo incubado a un criovial.
- Se transfirió 0.5 ml de glicerol al 50% esterilizado por filtración por membrana de 0.2 micras al criovial.
- Se criopreservó a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en congelador.

4.5.5 Pruebas complementarias para *E. coli*

- Se transfirió una colonia del crecimiento del medio TSA del paso 2.5.3 mediante la técnica de estriado a los siguientes medios de cultivo sólidos y una colonia a los diferentes medios de cultivo líquidos (caldos), para constatar la pureza y viabilidad de las cepas aisladas de las muestras con presunta identidad de *E. coli*.

Tabla N° 7: Medios de cultivo utilizados en las pruebas complementarias para *E. coli*

SELECTIVOS		NO SELECTIVOS
SOLIDOS	CALDOS	SOLIDOS
EMB	LMX	SS
Chromocult	EC	BS
SMAC		
ENDO		
MacConkey		
VRB		
<i>E. coli</i> O157: H7		
VRBA-MUG		

Fuente: Elaboración propia

Los medios seleccionados y clasificados como SELECTIVOS y NO SELECTIVOS forman parte de nuestro propio protocolo (Ver Anexo N° 23) proyectado en el que se tomaron en cuenta los doce medios procurando un buen crecimiento y características esperables favorables para los SELECTIVOS o desfavorables para los NO SELECTIVOS de las colonias aisladas; Incluidos algunos medios utilizados en la determinación y prueba completa de *E. coli*.

- Se incubó de 18 a 24 horas a $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Y para el caso del caldo EC se incubó de 18 a 24 horas a $44.5\text{ °C} \pm 0.5\text{ °C}$.
- Se hicieron las lecturas correspondientes luego del periodo de incubación.

Se observaron las características específicas de cada medio de cultivo. (Ver Anexo N°9)

4.5.6 Identificación bioquímica para colonias positivas de *Escherichia coli* a través de API 20E. (Ver Anexo N°10)¹⁷

- Del agar TSA del paso 2.5.3 se transfirió a otro agar TSA y se incubó un máximo de 18 a 24 horas.
- Se agregó aproximadamente 5 mL de agua destilada a las cámaras de incubación.
- Se transfirió del medio TSA joven una colonia a un vial de incubación con 5 mL de agua destilada y se sometió a agitación en Vortex.
- Se sacó la galería de su envase y se colocó en la cámara de incubación.

- Se inoculó en cada una de las cámaras de incubación con ayuda de una micropipeta inclinando ligeramente la cámara de incubación hacia adelante para evitar la formación de burbujas.
- Para las pruebas CIT, VP, GEL se llenó hasta la cúpula.
- Para las otras pruebas se llenó únicamente los tubos, no las cúpulas.
- Para las pruebas ADH, LDC, ODC, A2S, URE crearon una atmósfera anaerobia llenando la cúpula con aceite de parafina.
- Se cierra la cámara de incubación.
- Se incubó a $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por 18 a 24 horas.
- Se realizaron las lecturas correspondientes y su requerimiento según tabla.
- Se obtuvo el perfil numérico y se identificó al microorganismo con la ayuda de la base de datos.

4.6 Estandarización de cepas control. (Ver Anexo N°11) ¹⁸

Para la cepa control positivo ATCC 8739 de *E. coli* y la cepa control negativo ATCC 10031 de *Klebsiella pneumoniae*, se realizó el procedimiento siguiente:

- Del vial inicial de cada cepa, se sembró en TSA y se incubó un máximo de 18 a 24 horas a $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.
- De la placa con crecimiento en TSA se transfirió a un tubo de fondo plano con 10 ml de solución salina 0.9% un número de colonias suficientes para generar una turbidez que alcanzara una transmitancia de 3% a la longitud de onda de 620 nm en el espectrofotómetro, esta sería la solución madre [10^{10}].
- De la solución madre se transfirió 100 μ l con micropipeta a 9.9 ml de solución salina 0.9% en un tubo de fondo plano y se homogenizó, esta sería la solución con concentración [10^8].
- De la solución con concentración [10^8] se transfirió 100 μ l con micropipeta a 9.9 ml de solución salina 0.9% en un tubo de fondo plano y se homogenizó, esta sería la solución con concentración [10^6].
- Se repitió el paso anterior hasta alcanzar solución con concentración [10^0].
- Se tomó 1 ml de la solución con concentración [10^8] a [10^0] por duplicado y se inoculó en una placa de VRBA MUG por medio de la técnica de vertido en placa.
- Se incubó un máximo de 18 a 24 horas a $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

- Para la cepa control positivo ATCC 8739 de *E. coli* y la cepa control negativo ATCC 10031 de *Klebsiella pneumoniae* se realizaron recuentos y lecturas correspondientes y se seleccionó la dilución en la cual se evidenciarán apropiadamente las características de los microorganismos coliformes. (Colonias color rosado rodeadas por una zona de ácidos biliares precipitados), y en la cual se pudiera llevar a cabo un recuento que permitiese comprobar la concentración de la solución madre.

4.7 Cepa control positivo ATCC 8739 de *Escherichia coli*

La cepa control positivo se analizó simultáneamente con la cepa aislada de las muestras de tilapia llevando a cabo los procedimientos descritos desde el punto 4.5.2 en la determinación de *E. coli* en donde a partir de la suspensión estandarizada que contiene entre 100 y 1000 UFC se inoculaba 1 ml por vertido en placa en Agar VRBA MUG por duplicado hasta el punto 4.5.6 en el cual se identificó bioquímicamente la cepa. ¹⁹

4.8 Cepa control negativo ATCC 10031 de *Klebsiella pneumoniae*

La cepa control negativo se analizó simultáneamente con la cepa aislada de las muestras de tilapia llevando a cabo los procedimientos descritos desde el punto 4.5.2 hasta 4.5.6 de igual forma que con el control positivo. ²⁰

4.9 Control de medio

Desde el punto 4.5.2 hasta 4.5.5 se realizó un control de medio para poder contrastar las características de un medio puro con un medio con crecimiento y a su vez para evidenciar la esterilidad de dicho medio.

CAPÍTULO V

5.0 RESULTADOS

5.1 Resultados y discusión de resultados.

5.2 Identificar el grado de aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en los diversos puestos de venta de los mercados del municipio de San Salvador.

5.2.1 Evaluación del grado de aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) de los diferentes establecimientos muestreados.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos mediante la aplicación de la guía de observación, donde se evaluaron las condiciones de almacenamiento y dispensación del producto, indumentaria de los vendedores, material y equipo utilizado por estos e instalaciones.

Tabla N°8: Resumen de los resultados obtenidos mediante la guía de observación de los diferentes establecimientos inspeccionados en los mercados seleccionados.

Mercado	LTA	CL	TI	SM	SJ	MT						
N° de establecimientos	4	3	3	3	1	1						
ALMACENAMIENTO												
Parámetro	C	N	C	N	C	N	C	N	C	NC	C	N
		C		C		C		C				C
¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?	0	4	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?	0	4	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?	0	4	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
INDUMENTARIA												
¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria básica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	2	2	3	0	2	1	0	3	1	0	1	0
MATERIAL Y EQUIPO												
¿Los utensilios utilizados (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1

Tabla N°8: (continuación)

¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?	4	0	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuando no se encuentran en uso?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
INSTALACIONES												
¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?	1	3	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?	3	1	0	3	1	2	0	3	0	1	0	1
¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?	1	3	0	3	0	3	1	2	0	1	0	1
DISPENSACIÓN DEL PRODUCTO												
¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1	0
¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1	0

Fuente: Elaboración propia.

Nota: Casilla de color rojo, representa los parámetros incumplidos

Casilla de color verde, representa los parámetros cumplidos

Las abreviaciones arriba escritas representan los distintos mercados en donde fueron obtenidos los datos, y se lee de la siguiente manera:

LTA: La Tiendona

CL: Central

TI: Tinetti

SM: San Miguelito

SJ: San Jacinto

MT: Monserrat

Además de las abreviaciones:

C: "cumple"

NC: "no cumple"

En la tabla N° 8 se resumen los resultados de los aspectos evaluados en la guía de inspección, donde se evalúan parámetros relacionados a las buenas prácticas en el manejo de tilapia (Ver Anexo N°21, N°1), que se llenó mediante lo observado durante el muestreo realizado a los mercados en estudio, se detallan los requisitos que establece el manual de buenas prácticas de manejo y aseguramiento de calidad de productos pesqueros del CENDEPESCA para un establecimiento comercializador de tilapia en cuanto a infraestructura, instalaciones, diseño y medidas higiénicas, equipo y utensilios, entre otros.

- Almacenamiento:

En los diferentes mercados visitados a lo largo de la investigación de campo se observaron condiciones de almacenamiento y manejo del producto deficientes.

Las condiciones en las que se mantiene el pescado a la venta son totalmente insalubres debido a que el producto se mantiene expuesto al ambiente sin ningún tipo de refrigeración eléctrica, ni el resguardo de este dentro de hieleras u aplicación de otro método que permita mantener la cadena de frío, exceptuando dos puestos de venta ubicados en el mercado central los cuales si almacenan sus productos dentro de una hielera hermética.

Dicha deficiencia en el almacenamiento permitió observar algunos pescados en mal estado, donde sus características físicas manifestaron mucus opaco, mal olor, ojos cóncavos lechosos, branquias amarillentas, dicho estado de descomposición incide directamente sobre el grado de inocuidad del producto, pudiendo desencadenar cualquier tipo de contaminación por patógenos infecciosos. (Ver Anexo N°12)

- Indumentaria:

Ninguno de los vendedores encargados de dispensar el pescado en los puestos de venta de los diferentes mercados porta la indumentaria adecuada e incluso básica, como por ejemplo guantes, delantal, gorro, mascarilla, pudo constatar que en todos los puestos dichos operadores dispensan y manipulan el producto con vestimenta común sin utilizar ninguna barrera física para proteger al producto de cualquier tipo de contaminación humana.

Cabe mencionar que no pudo observarse en ninguno de los puestos de ningún mercado, que el vendedor tuviese las manos limpias, ya que en la totalidad de los casos manipulaban más de un tipo de pescado, dinero, desechos, metales, utensilios, material de empaque, etc. Lo cual puede conducir a una propagación de distintos tipos de agentes infecciosos.

A su vez, es importante destacar el incumplimiento de un requisito establecido por la guía de inspección, por parte de algunos vendedores, el cual evalúa si el dispensador porta anillos, pulseras u otro tipo de objeto en las manos, ya que pudo identificarse el uso de estos en algunas personas. (Ver Anexo N°12)

- Material y Equipo:

No se observó en ninguno de los casos la implementación de utensilios de acero inoxidable involucrados en todo el proceso de comercialización del pescado y estos no se encuentran protegidos o resguardados de los agentes contaminantes externos, como, por ejemplo: moscas, humo de vehículos automotores, fluidos fisiológicos de clientes y dispensadores, contaminación cruzada de otros productos, etc.

Los únicos mercados en los cuales algunos puestos cuentan con recipientes almacenadores que poseen purga de agua fueron La Tiendona y Central, en el resto de estos mercados no pudo identificarse esa característica, lo cual por varios factores puede influir directamente en la inocuidad de los pescados almacenados dentro de estos, ya que los fluidos de estos y el agua estancada puede llegar a actuar como un factor importante de contaminación cruzada para los otros productos. (Ver Anexo N°12)

- Instalaciones:

No se observó en ninguno de los puestos alguna superficie dispensadora de acero inoxidable, dichas superficies donde se comercializaba el pescado eran en lavaderos plásticos, lavaderos de concreto, guacales plásticos, tablas, hieleras de durapax y plástico. Hay que aclarar que el pescado se encontraba aglomerado, en algunas ocasiones mezclados con algún otro tipo de mariscos, y en su mayoría el pescado fresco estaba en contacto con desechos de viseras de otros pescados.

Las fuentes de agua potable solo pudieron ser identificadas en dos mercados, La Tiendona y Tinetti, dichos puestos contaban con un grifo y una válvula corriente de donde se extraía agua a conveniencia. El resto de los puestos en los diferentes mercados utilizan la estrategia de almacenar agua en distintos recipientes, pero no puede comprobarse la potabilidad ni la procedencia de esta.

Los desagües lejos del producto pudieron ser observados únicamente en mercado La Tiendona y San Miguelito, donde en ambos casos se encontraban aproximadamente a 10 metros del

puesto comercializador, captando el agua de desechos en un tragante común, compartido con los demás puestos de la cercanía. (Ver Anexo N°12)

- Dispensación del producto:

Un punto a favor para la inocuidad del pescado que se observó es la utilización de bolsas plásticas nuevas para la dispensación de este, en la totalidad de los puestos evaluados, lo cual es un requisito de las buenas prácticas en el manejo de productos pesqueros.

En este apartado, también se contempla el contacto físico del cliente con el producto antes de comprarlo, y según lo observado en todos los puestos los clientes tienen contacto directo e incluso llegan a manipular con sus manos el producto antes de elegirlo, dicha mala práctica contribuye a la propagación de agentes patógenos infecciosos que tienen como vector al ser humano.

No fue observado ningún vendedor con síntomas visibles de alguna enfermedad contagiosa. (ver Anexo N°12)

Tabla N°9: Porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) por mercado.

MERCADO	% DE CUMPLIMIENTO
La Tiendona	26.39
Central	31.48
Tinetti	16.67
San Miguelito	12.96
San Jacinto	16.67
Monserrat	16.67

Fuente: Elaboración propia.

Los cálculos de los porcentajes de cumplimiento presentados en la tabla N°9 fueron obtenidos de la siguiente manera:

Para Mercado La Tiendona:

total de "Cumple"

18 parámetros observados por puesto X 4 puestos de venta = 72

“Cumple” obtenidos

19

% cumplimiento:

$19 / 72 \times 100 = 26.39\%$

Y así sucesivamente bajo el mismo calculo para el resto de Los mercados

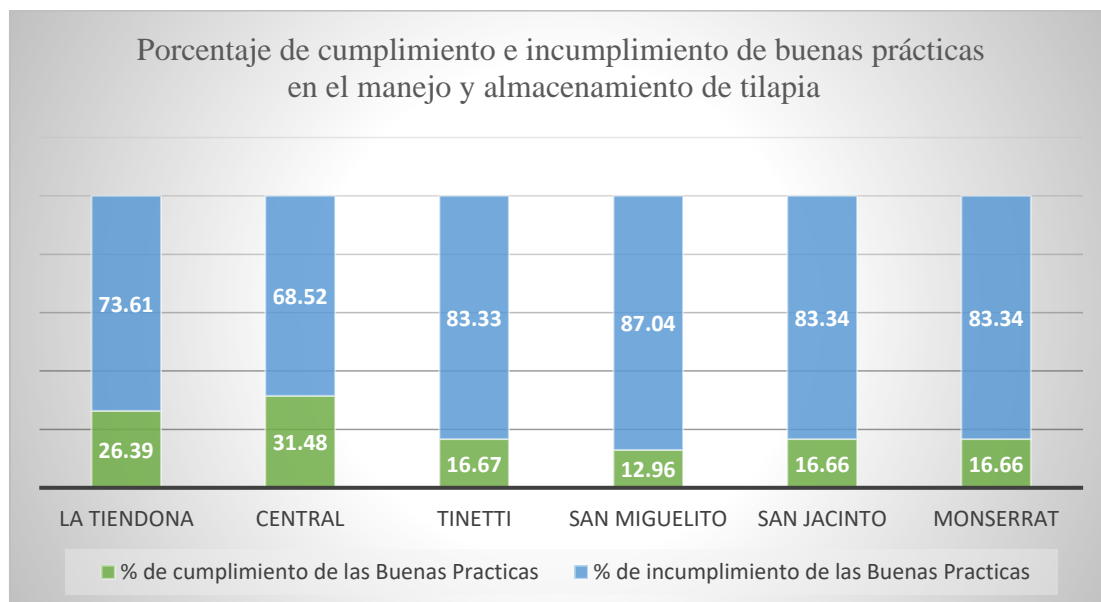


Figura N°4: Gráfico de porcentaje de cumplimiento e incumplimiento de buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia por mercado

Fuente: Elaboración propia.

En Figura N°4 puede observarse el porcentaje de cumplimiento por cada mercado de los requerimientos establecidos por CENDEPESCA, se observa que el mercado La Tiendona posee un grado de cumplimiento del 26.39%, el mercado Central 31.48 %, Tinetti con 16.67 %, San Miguelito con 12.96 %, y finalmente San Jacinto y Monserrat ambos con un 16.66 %.

Se debe tener en cuenta que el 100% del cumplimiento de los requisitos está determinado por el cumplimiento de los 18 parámetros de evaluación de la lista de inspección por cada uno de los puestos de venta.

5.2.2 Establecer la presencia o ausencia de *Escherichia coli* a través de medios de cultivo selectivos, diferenciales y pruebas bioquímicas API 20E en muestras de tilapia (*Oreochromis niloticus*) recolectadas en los diferentes mercados del municipio de San Salvador.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las diferentes pruebas microbiológicas realizadas a las muestras de tilapia (*Oreochromis niloticus*) recolectadas en los diferentes mercados para determinar la presencia o ausencia de *Escherichia coli*.

5.2.2.1 Recuentos de colonias en Agar selectivo VRBA-MUG

Tabla N° 10: Resultados obtenidos de recuentos de colonias presuntivas de *Escherichia coli* (fluorescentes en Agar VRBA-MUG)

MERCADO/ MUESTRA	TIENDONA	CENTRAL	SAN MIGUELITO	TINETTI	SAN JACINTO	MONSERRAT	C (+)	C (-)
MEDIDA	UFC/25g	UFC/25g	UFC/25g	UFC/25g	UFC/25g	UFC/25g	UFC/25g	UFC/25g
20230821-1	1.0 x 10 ²	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-2	8.5 x 10 ²	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-3	0	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-4	4.7 x 10 ²	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-5	4.4 x 10 ²	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-6	2.5 x 10 ²	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-7	0	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-8	0	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-9	7.7 x 10 ²	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230821-10	0	-	-	-	-	-	2.0 x 10 ²	0
20230828-11	0	-	-	-	-	-	3.0 x 10 ²	0
20230828-12	0	-	-	-	-	-	3.0 x 10 ²	0
20230828-13	0	-	-	-	-	-	3.0 x 10 ²	0
20230828-14	0	-	-	-	-	-	3.0 x 10 ²	0
20230828-15	0	-	-	-	-	-	3.0 x 10 ²	0

Tabla N°10 (continuación)

20230828-16	0	-	-	-	-	-	3.0×10^2	0
20230828-17	-	0	-	-	-	-	3.0×10^2	0
20230828-18	-	0	-	-	-	-	3.0×10^2	0
20230828-19	-	0	-	-	-	-	3.0×10^2	0
20230828-20	-	0	-	-	-	-	3.0×10^2	0
20230903-21	-	0	-	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-22	-	0	-	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-23	-	0	-	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-24	-	0	-	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-25	-	0	-	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-26	-	-	0	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-27	-	-	0	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-28	-	-	0	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-29	-	-	0	-	-	-	5.0×10^2	0
20230903-30	-	-	0	-	-	-	5.0×10^2	0
20230911-31	-	-	6.8×10^2	-	-	-	2.0×10^2	0
20230911-32	-	-	2.3×10^3	-	-	-	2.0×10^2	0
20230911-33	-	-	0	-	-	-	2.0×10^2	0
20230911-34	-	-	0	-	-	-	2.0×10^2	0
20230911-35	-	-	-	0	-	-	2.0×10^2	0
20230911-36	-	-	-	2.5×10^3	-	-	2.0×10^2	0
20230911-37	-	-	-	1.8×10^3	-	-	2.0×10^2	0
20230911-38	-	-	-	0	-	-	2.0×10^2	0
20230911-39	-	-	-	0	-	-	2.0×10^2	0
20230911-40	-	-	-	0	-	-	2.0×10^2	0

Tabla N°10 (continuación)

20230925-41	-	-	-	1.4×10^3	-	-	3.0×10^2	0
20230925-42	-	-	-	1.4×10^3	-	-	3.0×10^2	0
20230925-43	-	-	-	1.6×10^2	-	-	3.0×10^2	0
20230925-44	-	-	-	-	1.3×10^3	-	3.0×10^2	0
20230925-45	-	-	-	-	-	3.1×10^3	3.0×10^2	0
FECHA DE MUESTREO	21/08/23 28/08/23	28/08/23 03/09/23	03/09/23 11/09/23	11/09/23 25/09/23	-	25/09/23	-----	-----

Fuente: Elaboración propia.

Nota: las abreviaciones arriba descritas se leen de la siguiente manera:

C(+): control positivo *Escherichia coli* ATCC 8739

C(-) : control negativo *K.pneumoniae* ATCC 10031

Todas las medidas corresponden a UFC por cada 25 gramos de muestra de músculo.

El valor reportado de UFC/25g de muestra, corresponde al promedio de las 3 diluciones seriadas por duplicado 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} del paso 2.

En la tabla N°10 puede observarse el promedio de UFC por cada 25 gramos de músculo para las muestras que presentaron colonias con producción de fluorescencia a la exposición de luz ultravioleta en Agar VRBA-MUG, en donde de las 45 muestras, 15 presentaron recuentos positivos siendo estas las muestras: 20230821-1, 20230821-2, 20230821-4, 20230821-5, 20230821-6, 20230821-9, 20230911-31, 20230911-32, 20230911-36, 20230911-37, 20230925-41, 20230925-42, 20230925-43, 20230925-44, 20230925-45.

Las colonias con producción de fluorescencia y su posterior recuento de UFC por cada 25 gramos fueron comparadas con el control positivo de *E. coli* ATCC 8739 cuyos UFC oscilan entre los $2 - 5 \times 10^2$

También estos recuentos son comparados con los límites permisibles establecidos por el RTCA 67.04.50:08

Tabla N° 11: Recuentos de colonias con producción de fluorescencia a la exposición de la luz UV en el medio VRBA-MUG, cálculo para un gramo de muestra y su comparación frente al límite permisible del RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.²³

Muestras	Recuento de colonias con producción de fluorescencia
Especificación RTCA	10 ² UFC/g
20230821-1	4.0x10 ⁰ UFC/g
20230821-2	3.1x10 ¹ UFC/g
20230821-4	1.8x10 ¹ UFC/g
20230821-5	1.7x10 ¹ UFC/g
20230821-6	1.0x10 ¹ UFC/g
20230821-9	3.0x10 ¹ UFC/g
20230911-31	2.7x10 ¹ UFC/g
20230911-32	9.2x10 ¹ UFC/g
20230911-36	1.0x10 ² UFC/g
20230911-37	7.2x10 ¹ UFC/g
20230925-41	5.6x10 ¹ UFC/g
20230925-42	5.6x10 ¹ UFC/g
20230925-43	5.2x10 ⁰ UFC/g
20230925-44	5.2x10 ¹ UFC/g
20230925-45	1.2x10 ² UFC/g

Fuente: Elaboración propia

Nota: Casilla de color rojo, representa las muestras que sobrepasan las concentraciones permisibles del reglamento.

Casilla de color verde, representa las muestras con recuentos de *E.coli* por debajo del límite del reglamento.

Comparado con los límites microbiológicos permisibles por el RTCA que es de 100 UFC/g de muestra, por lo tanto 14 de las 15 muestras que presentaron fluorescencia en el agar VRBA MUG están dentro de los límites establecidos por el reglamento²¹ (Ver Anexo N°3)

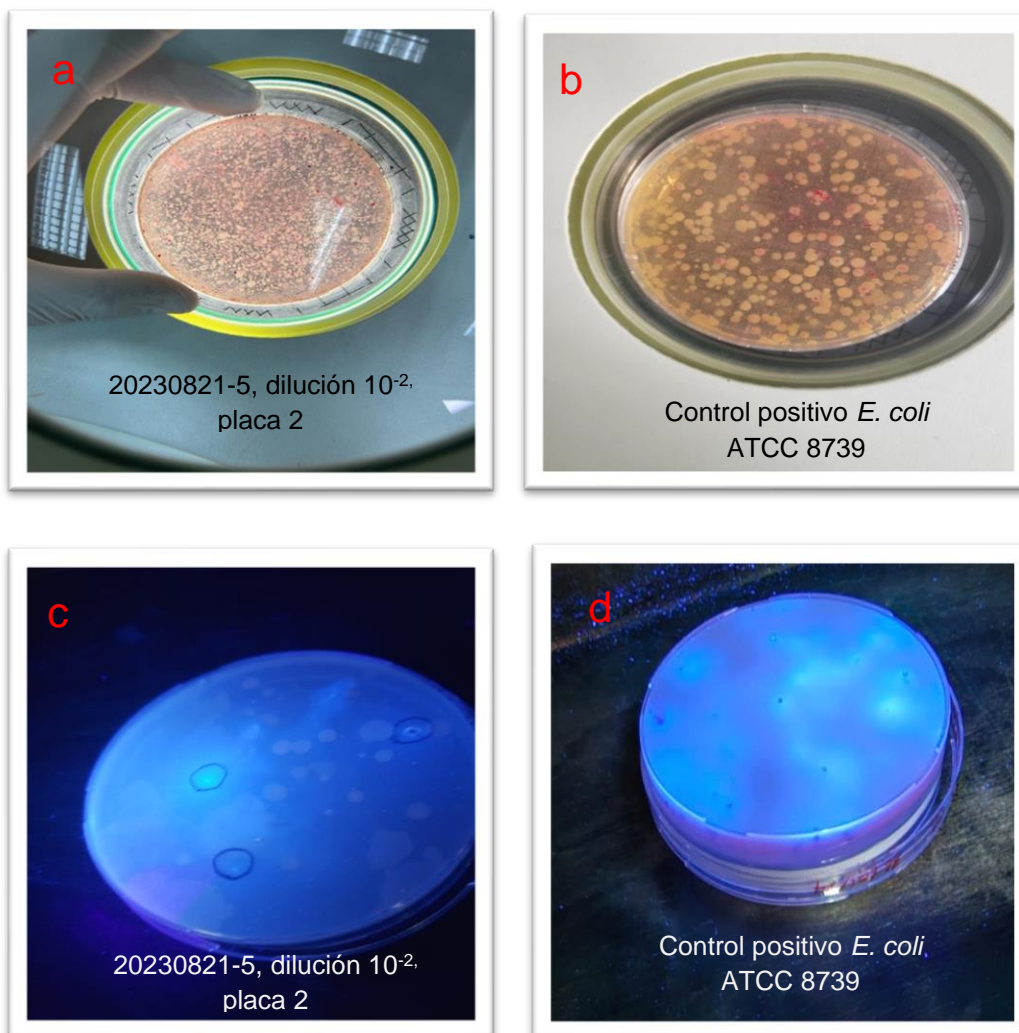


Figura N°5: Recuento de *E. coli* en medio VRBA MUG, para la muestra código 20230821-5, dilución 10-2.

- a,b) colonias color rosado sin la exposición a luz uv de la muestra y control positivo.
- c,d) colonias con fluorescencia bajo luz uv de muestra y control positivo.

Las colonias de las 15 muestras positivas presentaron una coloración rosada característica para *E. coli* en el medio VRBA MUG, como se observa en la figura 5a y 5b debido a que la bacteria en cuestión es fermentadora de lactosa y que normalmente forma un precipitado rojo de bilis. Posteriormente fue necesario utilizar una cabina de luz UV para revelar el número de estas colonias, que por su composición física y química permite evidenciar algunas características

fenotípicas y químicas de *E. coli*, que se traducen en una fluorescencia de cada colonia bajo los efectos lumínicos ultravioletas, como se observa en la figura 5c, debido a que estas cepas tienen actividad glucoronidasa y son capaces de metabolizar el 4-metilumbeliferil-B-D-glucoronido (MUG).²²

5.2.2.2 Prueba complementaria en caldo EC para las muestras con fluorescencia en medio de cultivo VRBA MUG.

Tabla N° 12: Resultados de colonias caldo EC

MUESTRA	DILUCIÓN 10 ⁻¹		DILUCIÓN 10 ⁻²		DILUCIÓN 10 ⁻³	
	Gas	Turbidez	Gas	Turbidez	Gas	Turbidez
20230821-1	+	+	+	+	+	+
20230821-2	+	+	+	+	+	+
20230821-4	+	+	+	+	+	+
20230821-5	+	+	+	+	+	+
20230821-6	+	+	+	+	+	+
20230821-9	+	+	+	+	+	+
20230911-31	+	+	+	+	+	+
20230911-32	+	+	+	+	+	+
20230911-36	+	+	+	+	+	+
20230911-37	+	+	+	+	+	+
20230925-41	+	+	+	+	+	+
20230925-42	+	+	+	+	+	+
20230925-43	+	+	+	+	+	+
20230925-44	+	+	+	+	+	+
20230925-45	+	+	+	+	+	+
C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	+	+	+	+	+	+
C(-) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-	-	-	-
Control de medio	-	-	-	-	-	-

Fuente: Elaboración propia

Nota: El signo (+) representa gas y turbidez observada en el interior del tubo, el signo (-) representa gas y turbidez ausente.

Casillas color verde representan características evaluadas positivas, casillas color rojo representan características evaluadas negativas.

En la tabla N°12 se presentan los tubos positivos para la presencia de turbidez y gas en caldo EC de las colonias procedentes con fluorescencia positiva en agar VRBA MUG, sometidos a incubación (37.5°C por 18-24h), donde se verificó si existía algún tipo de crecimiento bacteriano por medio de la manifestación de turbidez del medio junto con la formación de gas dentro del tubo Durham en donde todas las muestras presentaron turbidez y producción de gas, comparándose con el control positivo de *Escherichia coli* ATCC 8739 y con el control negativo de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

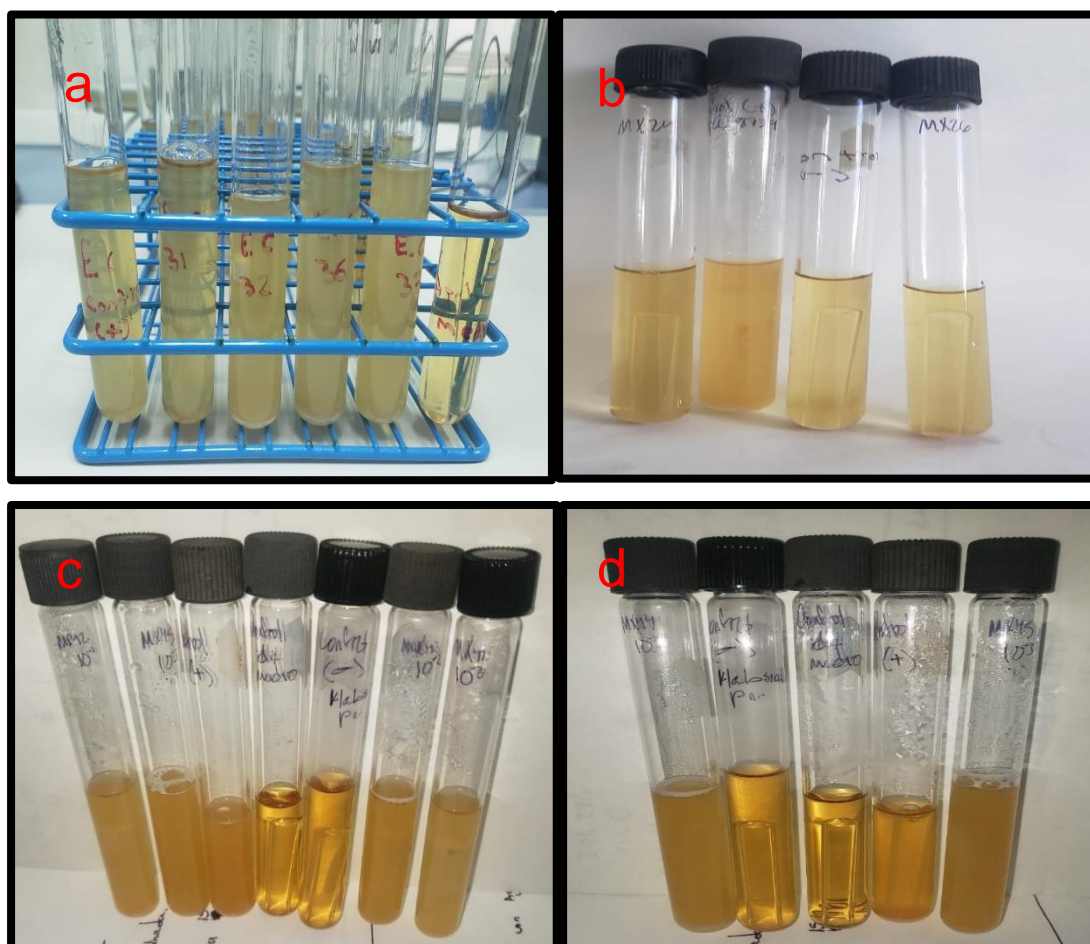


Figura N° 6: Tubos de caldo EC con formación de turbidez y gas.

- a) Control positivo *E. coli* ATCC 8739 y control de medio comparado con muestras positivas 20230911-31, 20230911-32, 20230911-36, 20230911-37
- b) Tubo con control positivo *E. coli* ATCC 8739, tubo con control negativo *K. pneumoniae* ATCC 10031 comparados con muestra 20230903-26.
- c) Control negativo, control positivo y control del medio comparado con muestras 20230925-41, 20230925-42, 20230925-43.
- d) Control negativo, control positivo y control del medio comparado con muestras muestra 20230925-44, 20230925-45

Después de la previa incubación las 15 muestras presentaron buena turbidez y formación de gas en el tubo Durham, tal y como muestra la figura 6a, cuyos inóculos tienen similares características al control positivo, consecuencia del metabolismo característico de *E. coli* en este caldo de cultivo, el cual genera como un metabolito secundario al CO₂, estas fueron comparadas con el control positivo *E. coli* ATCC 8739 el cual también presentó turbidez y gas y frente al control negativo *K. pneumoniae* (figura 6c) que carecía de la formación de turbidez y producción de gas, el control de medio corresponde a tubos con caldo EC sin inoculación (Figura N°6).

5.2.2.3 Prueba completa de *Escherichia coli*.**Tabla N°13:** Resultados de la prueba completa de colonias presuntivas de *Escherichia coli* en agar EMB

MUESTRA	AGAR EMB	
	Colonias negro azulado	Centro negro y brillo metálico
20230821-1	+	+
20230821-2	+	+
20230821-4	+	+
20230821-5	+	+
20230821-6	+	+
20230821-9	+	+
20230911-31	+	+
20230911-32	+	+
20230911-36	+	+
20230911-37	+	+
20230925-41	+	+
20230925-42	+	+
20230925-43	+	+
20230925-44	+	+
20230925-45	+	+
C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	+	+
C(-) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-
Control de medio	-	-

Fuente: Elaboración propia.

Nota: El signo (+) y color verde representa crecimiento de colonias color negro azulado con centro negro y característico brillo metálico, el signo (-) y color rojo representa colonias de diferente color o nulo crecimiento.

En la Tabla N°13 se observan los resultados obtenidos de la inoculación en agar EMB por el método de estrías, resultando positivas en este medio de cultivo las muestras 20230821-1, 20230821-2, 20230821-4, 20230821-5, 20230821-6, 20230821-9, 20230911-31, 20230911-32, 20230911-36, 20230911-37, 20230925-41, 20230925-42, 20230925-43, 20230925-44, 20230925-45, comparándolas con el control positivo *Escherichia coli* ATCC 8739, dichas muestras mostraron idénticas características frente al control positivo.

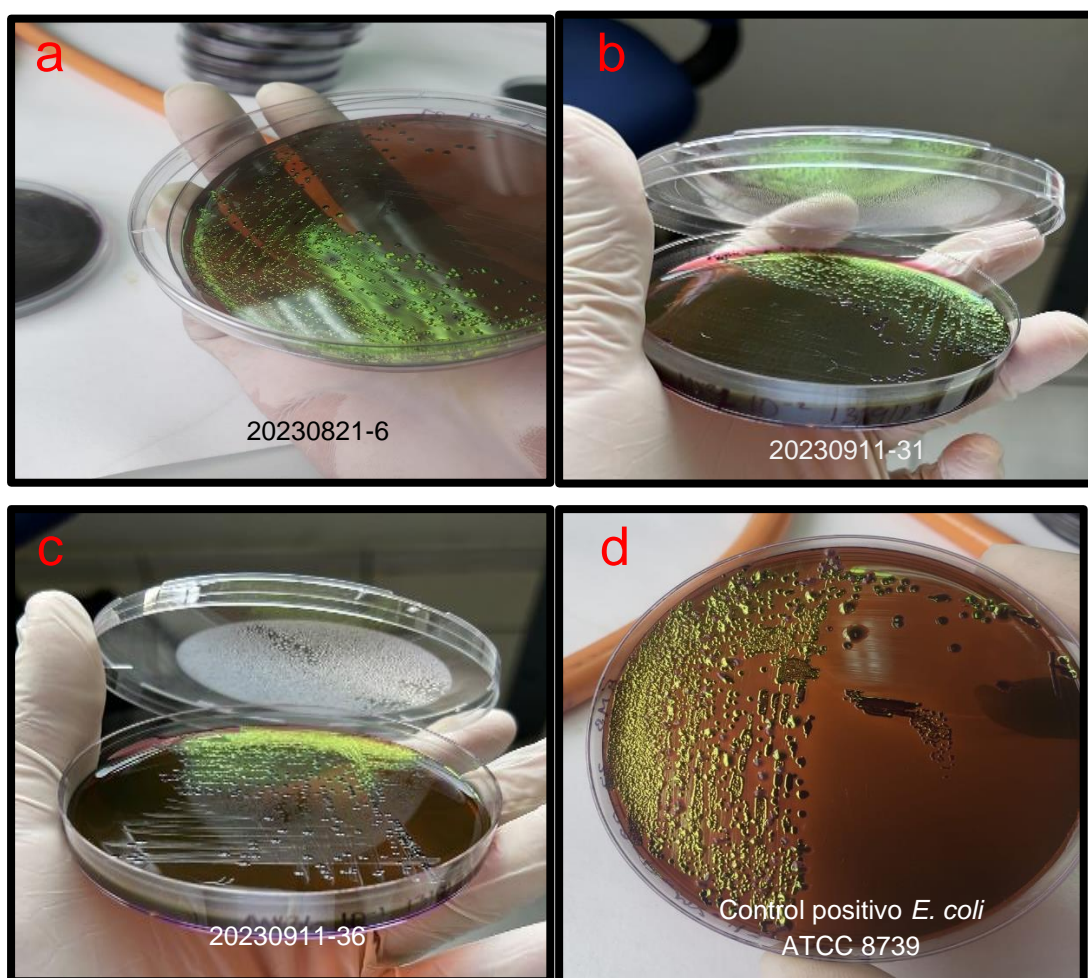


Figura N° 7: Colonias características de *E. coli* en medio de cultivo EMB, mostrando color negro azulado con centro negro y un peculiar brillo metálico.

- a) 20230821-6,
- b) 20230911-31,
- c) 20230911-36,
- d) Control positivo *E. coli* ATCC 8739.

En las 15 muestras inoculadas se observó crecimiento de colonias color negro azulado con centro negro y un característico brillo metálico como se evidencia en la muestra 20230821-6 (figura 7a), debido a la rápida fermentación de la lactosa del medio por parte de la presencia de *E. coli* en este medio especialmente, comparándose con el control positivo las características de las colonias son idénticas, observándose estas características del control positivo en la figura 7d.

5.2.2.4 Pruebas complementarias para *Escherichia coli* en diferentes medios de cultivo.**Tabla N°14:** Resultados en diferentes medios de cultivo selectivos y no selectivos de colonias presuntivas de *Escherichia coli*.

CLASIFICACIÓN DE MEDIO	MEDIO	PRIMER CARACTERÍSTICA DEL CRECIMIENTO Y MUESTRAS QUE LO PRESENTAN	SEGUNDA CARACTERÍSTICA DEL CRECIMIENTO Y MUESTRAS QUE LO PRESENTAN
SELECTIVOS	EMB	Violeta, brillo metálico 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Rojas sin precipitado y sin brillo metálico <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	CHROM OCULT	Azul oscuro 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Transparente <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	SMAC	Incoloro – rojo 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Rosada <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	ENDO	Rojo – Brillo metálico 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Rosada con mucosidad <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	MACCO NKEY	Rojo 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Rosada <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	VRB	Rojo 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Rosada <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>

Tabla N°14: (Continuación)

SELECTIVOS	<i>E. COLI</i> O157:H7	Incoloro – amarillo 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Azules <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	VRBA- MUG	Rojas – fluorescencia 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Blancas sin fluorescencia <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	CALDO LMX	Azul – fluorescencia 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739 <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>	-----
	CALDO EC	Turbidez y gas 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Sin turbidez ni gas <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
NO SELECTIVOS	BS	Marrón – verde 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	Negro – brillo metálico <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>
	SS	Rosado – rojo 20230821-1,2,4,5,6,9 20230911-31,32,36,37 20230925-41,42,43,44,45 C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739 <i>C(-) K. pneumoniae ATCC 10031</i>	-----

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla N°14 se presentan los resultados en cuanto a crecimiento y características de las colonias aisladas de las quince muestras presuntivas para *Escherichia coli* en diferentes medios de cultivo. De las quince muestras analizadas y comparadas con el control positivo *Escherichia coli* ATCC 8739, quince dieron positivas para todas las características presuntivas para

Escherichia coli en los diez medios target y dos no target (ver Anexo N°20) representando el 100% de las muestras que presentaban colonias presuntivas de *Escherichia coli*.

Así mismo en la columna segunda de la tabla N°14 se aprecia que ninguna muestra presentó reacciones indicativas no esperadas para la *Escherichia coli* (ver Anexo N°20) representando el 0.0 % de las muestras.

5.2.2.5 Tinción de Gram

Tabla N°15: Resultados de la morfología microscópica de las colonias aisladas analizadas.

MUESTRA	MORFOLOGÍA
	Forma: Bacilos cortos Gram (-)
20230821-1	+
20230821-2	+
20230821-4	+
20230821-5	+
20230821-6	+
20230821-9	+
20230911-31	+
20230911-32	+
20230911-36	+
20230911-37	+
20230925-41	+
20230925-42	+
20230925-43	+
20230925-44	+
20230925-45	+
C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	+
Control de medio	-

Fuente: Elaboración propia.

Nota: El signo (+) representa positivo para la morfología en forma de bacilos cortos Gram negativos.

La información presentada en la tabla anterior corresponde a las colonias aisladas de las diferentes muestras que presentaron morfología microscópica característica como se muestra en la figura 8 comparándola con el control positivo de *Escherichia coli* ATCC, mostraron bacilos cortos Gram negativos característicos de *Escherichia coli*, todas las colonias aisladas presentaron morfología microscópica similar a la del control positivo.

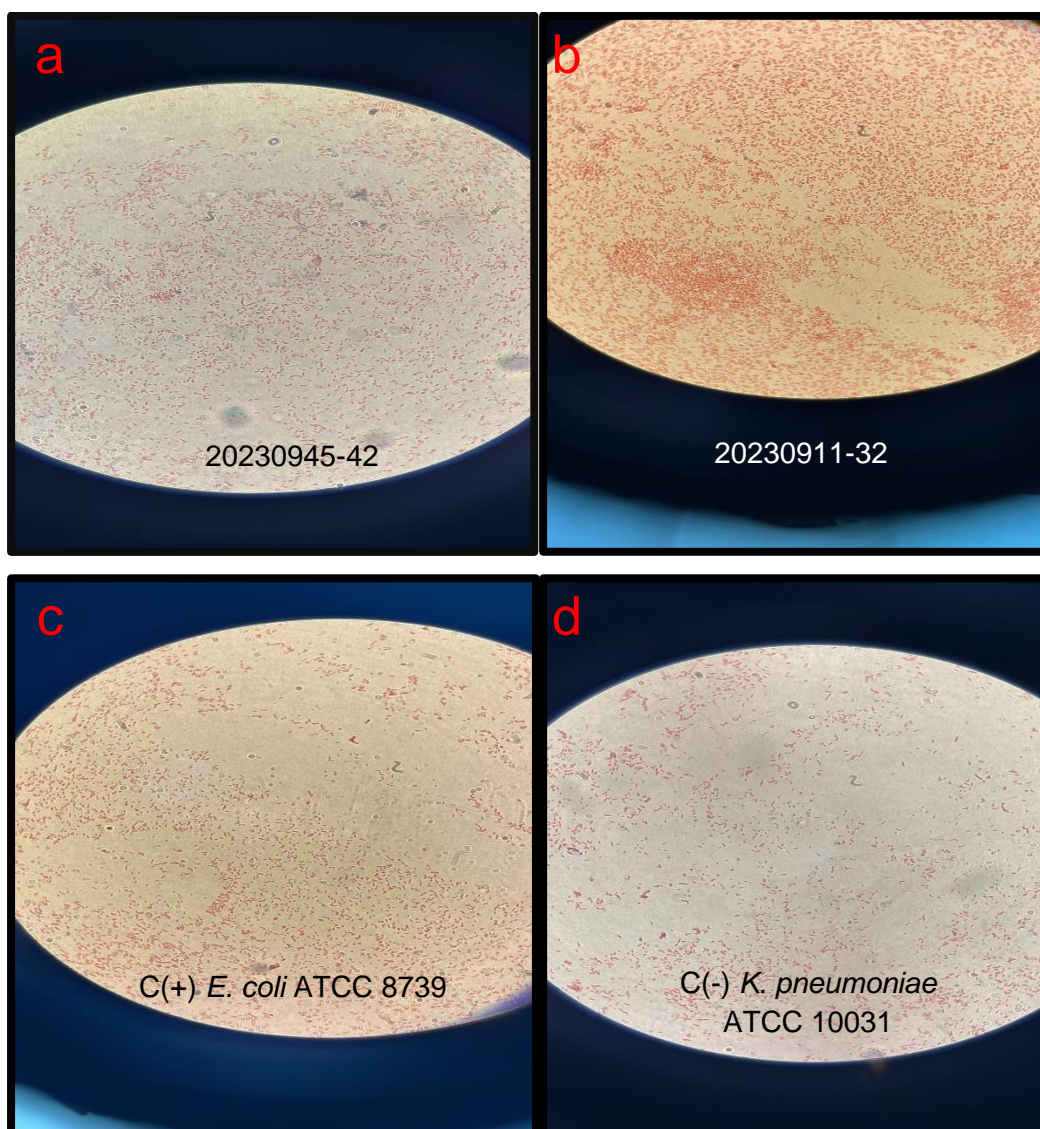


Figura N° 8: Bacterias color rosado con forma de bacilos o bastoncillos, morfología característica de *E. coli*, observadas al objetivo 100x en microscopio. a) 20230925-42, b) 20230911-32 c) C(+) *E. coli* ATCC 8739, d) C(-) *K. pneumoniae* ATCC 10031.

5.2.2.6 Identificación mediante pruebas bioquímicas API 20E

Tabla N°16: Resultados obtenidos en la identificación con API 20E

MUESTRA /CÓDIGO	MERCADO	BIONUMERO	% DE SIMILITUD	PATÓGENO
20230821-01	La Tiendona	5046553	99.4	<i>Serratia odorifera</i>
20230821-02	La Tiendona	5044553	99.6	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-04	La Tiendona	5144552	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-05	La Tiendona	5144552	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-06	La Tiendona	5044553	94.7	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-09	La Tiendona	5144553	66.7	<i>Escherichia coli.</i>
20230911-31	San miguelito	7345573	56.4	<i>Enterobacter cloacae</i>
20230911-32	San miguelito	5146572	87.7	<i>Escherichia coli.</i>
20230911-36	Tinetti	5346553	98.7	<i>Serratia odorifera</i>
20230911-37	Tinetti	5346573	99.6	<i>Serratia odorifera</i>
20230925-41	Tinetti	5044572	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230925-42	Tinetti	5044572	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230925-43	Tinetti	5345773	92	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
20230925-44	San Jacinto	7345773	90.5	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
20230925-45	Monserrat	5345773	92	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	-	5044553	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
C(-) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	1005773	99.9	<i>Klebsiella pneumoneae</i>

Fuente: Elaboración propia.

Nota: *Escherichia coli* está representada con el color verde, *Serratia odorifera* representada con el color amarillo, *Raoultella ornithinolytica* con color rojo, *Enterobacter cloacae* con color azul, *Klebsiella pneumoneae* con color agua

La tabla N° 16 refleja la identidad de las bacterias analizadas mediante las pruebas de galerías API 20E, las cuales tiene como fundamento las interacciones entre los diferentes substratos deshidratados contenidos en los 20 microtubos y las suspensiones bacterianas inoculadas dentro de estos, lo cual permite la reconstitución de los test, posteriormente en el periodo de incubación se llevan a cabo reacciones bioquímicas que se traducen en cambio de color espontáneos o revelados mediante la adición de reactivos. Mediante la tabla de lectura se lleva a cabo la identificación de los colores resultantes y su comparación, finalmente se obtiene el bionúmero utilizando el software especial para la prueba.



Figura N°9: Comparación de los resultados de la galería API 20E para la muestra 20230821-02 y el control positivo *E. coli* ATCC 8739.

Los resultados mostrados en la figura N°9 indican que 8 de las muestras presuntivas más el control positivo fueron positivos a las reacciones enzimáticas específicas de *E. coli*:

(ONPG): B-galactosidasa 2-nitro-fenil-BD-galactopiranosida

(LDC): Lisina Decarboxilasa

(IND): Producción de indol

(GLU): Fermentación de glucosa

(MAN): Fermentación de manitol

(SOR): Fermentación de sorbitol

(RHA): Fermentación de ramnosa

(SAC): Fermentación de sacarosa

(MEL): Fermentación de melibiosa

(ARA): Fermentación de arabinosa

Los resultados obtenidos de estas pruebas en la galería fueron utilizados para generar un código, el cual fue introducido en el software del fabricante para generar un informe (ver Anexo N°13) donde se especifican los porcentajes de similitud, tal y como se muestran en la tabla N°16. los resultados obtenidos de la galería, más los datos obtenidos en los recuentos en agar VRBA MUG, medios de cultivo selectivos y diferenciales y demás pruebas complementarias nos permitieron obtener la identificación de las bacterias aisladas.

Ocho de las quince muestras analizadas que presentaron colonias características y fluorescencia en agar VRBA-MUG siendo las muestras 20230821-2, 20230821-4, 20230821-5, 20230821-6, 20230821-9, 20230911-32, 20230925-41, 20230921-42, se identificaron como *Escherichia coli* comparándose con el control positivo ATCC 8739, tres muestras como *Serratia odorifera*, las cuales corresponden a 20230821-1, 20230911-36, 20230911-37. Tres como *Raoultella ornithinolytica* las cuales son 20230925-43, 20230925-44, 20230925-45 y una como *Enterobacter cloacae* la cual coreesponde a 20230911-31.

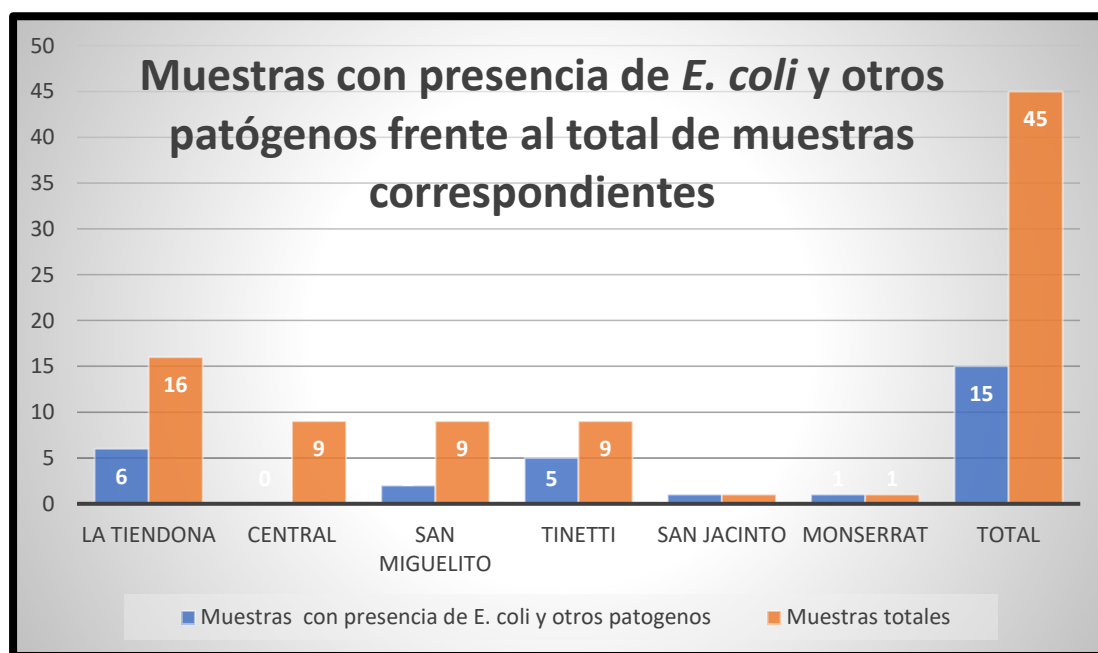


Figura N°10: Gráfico de número de muestras con presencia de *Escherichia coli* y otros patógenos frente al total de muestras correspondientes a cada mercado seleccionado además del respectivo total.

Fuente: Elaboración propia

En la Figura N° 10 se observa el número de muestras con presencia de patógenos incluido *E. coli* por mercado determinados luego de las pruebas bioquímicas API 20E y las lecturas en medios de cultivo selectivos, diferenciales y demás pruebas complementarias.

A pesar de su especificidad, el medio diferencial de VRBA-MUG al haberse utilizado después del preenriquecimiento con APB el cual no fue selectivo para *E. coli* y sin un paso previo de aislamiento en algún medio selectivo pudo haber permitido el crecimiento de otros patógenos no deseados en las mismas colonias características debido a que para purificar estos aislados de las muestras se necesitaban más siembras en otros medios selectivos bajo la técnica de estriado, lo que posiblemente dio lugar a mezclas de colonias con diferentes entidades pero similar característica macroscópica en los medios lo que desembocó en la identificación de más coliformes y no solo de la *E. coli* en cuestión, esta situación se observó también en los porcentajes de similitud de algunas muestras en la prueba bioquímica de las galerías API 20E como la 20230821-09 y la 20230911-31 que poseen porcentajes bastante cercanos al 50% y en los que la segunda identidad del patógeno puede corresponder con la entidad que el proceso de aislamiento y purificación no fue capaz de inhibir debido a similitudes en metabolismo y características micro y macroscópicas ya que todos forman parte del grupo de las coliformes⁵

Para el mercado La Tiendona se observa que el 38% de las muestras correspondientes presentan patógenos siendo las muestras 20230821-02, 20230821-04, 20230821-05, 20230821-06, 20230821-09 positivos para *E. coli* y la muestra 20230821-01 positiva para *Enterobacter cloacae*.

Ambos patógenos presentes en estas 6 muestras denotan que existe un manejo deficiente de los alimentos en el mercado la Tiendona ya que dichos patógenos al formar parte del grupo de las Enterobacterias son indicadores directos de contaminación fecal. En paralelo, los resultados del grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas en el Manejo y Almacenamiento de la tilapia para este mercado son de apenas 26.39% y según la guía de observación se incumplen varios parámetros en cuanto al almacenamiento, manipulación, en todos los puestos donde se llevó a cabo el muestreo los clientes tienen contacto físico con el pescado o bien no utilizan los materiales o equipos adecuados lo que indica que la inocuidad se ve seriamente afectada, que su consumo no sea apto, a pesar que cumpla con los límites de RTCA²¹ y a su vez que los productos están expuestos a agentes infectocontagiosos provenientes de la pobre y desorganizada infraestructura o de la cadena de distribución del producto. Estas pésimas condiciones de almacenamiento y manejo influyen de manera directa en la calidad de productos,

lo que a su vez influye en la salud de los consumidores, debido a que las altas concentraciones de flora deterioradora como *E. coli*, responsable de infecciones gastrointestinales, aparecen cuando no existe una cadena de frío que resguarde el producto y hay contaminación cruzada de productos frescos con desechos y vísceras.¹²

Para el mercado Central cero por ciento de las muestras resultó contaminadas con patógenos, lo que está directamente relacionado con el grado de cumplimiento de las buenas prácticas del manejo y almacenamiento de productos pesqueros, el mercado Central posee el mayor grado de cumplimiento de todos los mercados seleccionados con un 31.48% y los puestos en los que se llevó a cabo el muestreo cumplen en mayor medida frente al resto de mercados los parámetros como los referidos al almacenamiento, a la indumentaria del dispensador y materiales utilizados.

En el caso del mercado San Miguelito el 22% de las muestras tienen presencia de patógenos siendo las muestras 20230911-31 que presenta a *Enterobacter cloacae* y 20230911-32 que es *E. coli* y dichas identificaciones tienen relación directa con el más bajo grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas en el Manejo y Almacenamiento de tilapia de todos los mercados seleccionados el cual es de apenas 12.96%, parámetros como los de almacenamiento y resguardo de la cadena de frío son incumplidos en su totalidad y a esto se le suma las dificultades en cuanto a parámetros relacionados a la instalaciones que posee el mercado debido a que opera en la intemperie mientras es remodelado tras un incendio que dejó inhabilitadas sus instalaciones.

Para el caso del mercado Tinetti que es el que presenta la mayor diversidad de patógenos siendo correspondientes a las muestras 20230911-36 y 20230911-37 para *Serratia odorífera*, 20230925-41 y 20230925-42, identificados como *E. coli* y 20230925-43 como *Raoultella ornithinolytica*. Dicha diversidad está ligada al muy bajo cumplimiento de Buenas Prácticas de Manejo de los alimentos en parámetros de almacenamiento; en el caso de *Serratia odorífera* la cual no demuestra tener potencial patógeno ni resistencia antimicrobiana, al no producir betalactamasa en la mayoría de cepas, pero que debe ser bastante vigilada debido al uso indiscriminado de antimicrobianos en la acuicultura y la resistencia que puedan llegar a desarrollar las cepas susceptibles²³, y que también los ambientes favorables de este patógenos son los reservorios pobres en nutrientes como el agua potable y las cañerías, pero sobre todo en la flora intestinal de los animales, su presencia directa en el músculo no indica mala calidad del pescado, sino más bien; un manejo inadecuado de los desechos y vísceras de este, lo que indica una clara contaminación cruzada²⁵, también la alta diversidad de patógenos del mercado Tinetti se debe a la indumentaria del personal dispensador que no utiliza el equipamiento correcto,

inexistente resguardo de la cadena de frío en el almacenamiento y el contacto físico de los clientes con el producto.

En el mercado San Jacinto se identificó a *Raoultella ornithinolytica* en la muestra 20230925-44, este patógeno está relacionado con contaminación fecal y se debe a las pobres condiciones de almacenamiento y dispensación del producto en este mercado, la guía de observación indica que ningún puesto donde se llevó a cabo el muestreo utiliza los materiales o recipientes adecuados para manipular a la tilapia, a su vez las instalaciones también son bastante deficientes conllevando a la proliferación de *R. ornithinolytica* y otros patógenos.

La muestra del mercado Monserrat 20230925-45 tiene presencia de *Raoultella ornithinolytica* y al igual que en el caso del Mercado San Jacinto se debe a las pobres condiciones de almacenamiento y dispensación del producto y al mínimo grado de aplicación de las Buenas Prácticas en el Manejo y Almacenamiento de los productos pesqueros. Las instalaciones son deficientes, no tienen áreas designadas para desechos y no poseen desagüe los recipientes utilizados. La presencia de este patógeno puede provocar intoxicaciones si sus concentraciones son muy altas, debido a que es capaz de producir histaminas ²⁴

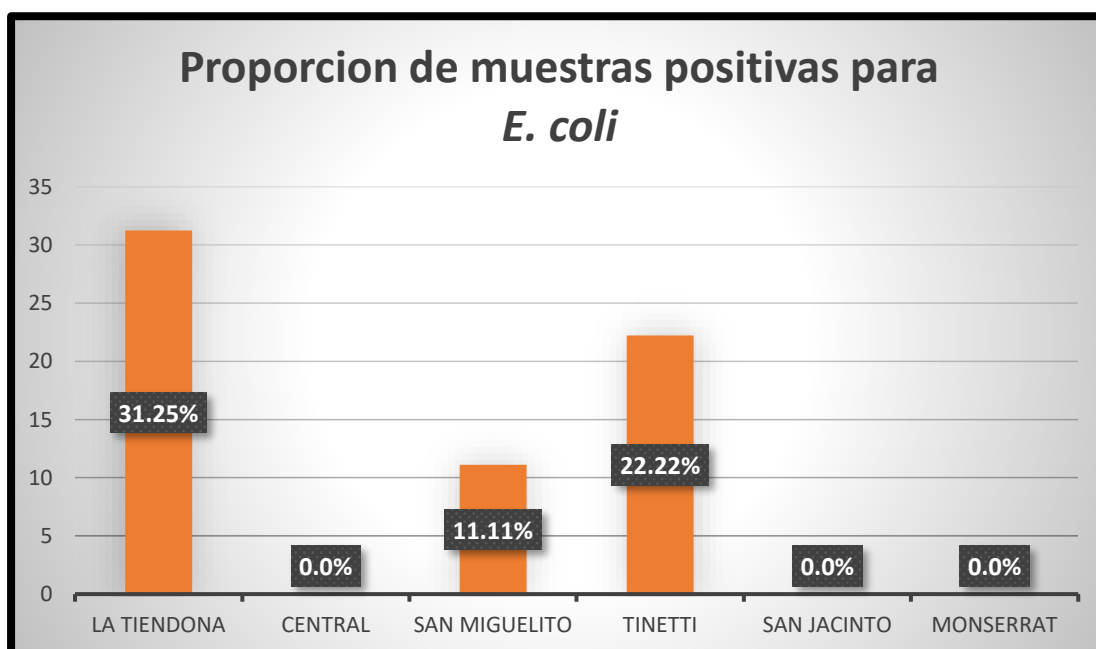


Figura N°11: Porcentaje de muestras positivas de *E. coli* frente al total de muestras por mercado.

Fuente: Elaboración propia

De las 45 muestras que fueron analizadas en la investigación, solamente 8 de ellas presentaron contaminación con *E. coli*, dichas muestras provinieron únicamente de 3 diferentes mercados. El 31.25% de las muestras positivas fueron recolectadas de mercado la Tiendona, siendo este

el mercado que mayores muestras con contaminación mostró, seguidamente por el mercado Tinetti, con un 22.22% de muestras positivas para la bacteria en cuestión y finalmente el mercado San Miguelito con el 11.11% de las muestras.

Los mercados La Tiendona, San Miguelito y Tinetti, debido a su bajo grado de cumplimiento de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de productos pesqueros, presentaron estos resultados con el patógeno en cuestión, el cual es un indicador directo de contaminación fecal, característica que coincide con las condiciones en las que se almacenaba y manipulaba el producto, las cuales son deficientes y afectan de manera drástica la calidad e inocuidad del producto. Por otro lado, el mercado central mostro un grado mayor de cumplimiento de las buenas prácticas, lo que se tradujo en que ninguna de sus muestras se encontrara *E. coli*.

Para el caso de mercado San Jacinto y Monserrat, a pesar de que *E. coli* no fue identificada, la única muestra que correspondía a cada uno presentó patógenos diferentes a *E.coli*, que también indican contaminación fecal y grado bajo de inocuidad.

5.3 Evaluar la frecuencia de la presencia de *Escherichia coli* en tilapias (*Oreochromis niloticus*) comercializados en los mercados del municipio de San Salvador en el periodo de los meses de agosto y septiembre del año 2023.

A continuación, se presentan los resultados de los cálculos para determinar la frecuencia de la presencia de *Escherichia coli* en tilapia comercializada en los diferentes mercados donde fueron recolectadas las muestras analizadas a lo largo de esta investigación.

Tabla N° 17: Resultados de muestras positivas para *E. coli* en el período de agosto a septiembre del 2023

Semana	1	2	3	4	5
Período	21/08/23 26/08/23	28/08/23 02/09/23	04/09/23 09/09/23	11/09/23 16/09/23	25/09/23 30/09/23
N° de muestras positivas	5	0	0	1	2
Códigos de las muestras positivas	20230821-02 20230821-04 20230821-05 20230821-06 20230821-09			20230911-32	20230925-41 20230925-42

Fuente: Elaboración propia.

Frecuencia relativa porcentual de *Escherichia coli*

Esta medida se calcula relacionando el número de muestras positivas a *Escherichia coli* (numerador) con el número total de muestras analizadas en una semana las cuales componen la población (denominador).²⁶

$$F_{\text{relativa porcentual}} = \frac{\# \text{ mx positivas}}{\# \text{ mx totales}} \times 100 \quad (7)$$

Frecuencia relativa porcentual con respecto al tiempo de la semana 1: lunes 21 agosto – sábado 26 agosto

$$F_r = 5 / 10 \times 100 = 50 \%$$

Tabla N° 18: Frecuencia relativa porcentual de la presencia de *E. coli* en tilapia por periodo de tiempo, calculadas según la fórmula 7

Semana	1	2	3	4	5
Período	21/08/23 26/08/23	28/08/23 02/09/23	04/09/23 09/09/23	11/09/23 16/09/23	25/09/23 30/09/23
N° de muestras positivas	5	0	0	1	2
Códigos de las muestras positivas	20230821-02 20230821-04 20230821-05 20230821-06 20230821-09			20230911-32	20230925-41 20230925-42
F _r porcentual por Semana	50 %	0 %	0 %	10 %	40 %

Fuente: Elaboración propia.

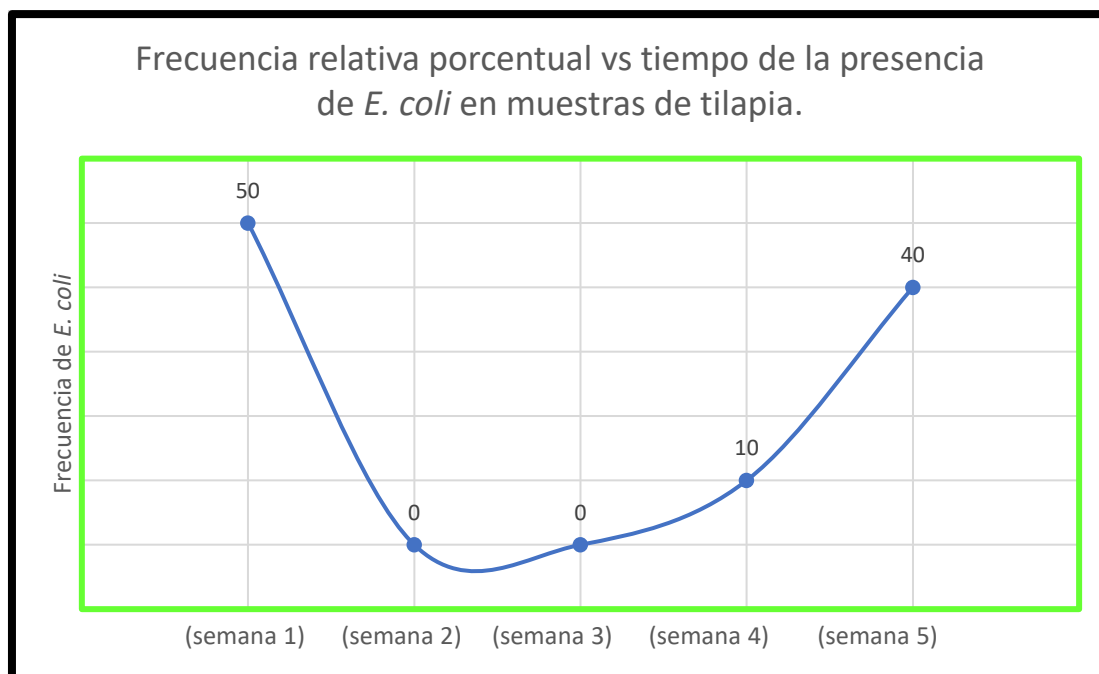


Figura N°12: Frecuencia relativa porcentual de identificación de *E. coli*

Semana 1 corresponde al período desde el 21/08/23 al 26/08/23

Semana 2 corresponde al período desde el 28/08/23 al 02/09/23

Semana 3 corresponde al período desde el 04/09/23 al 09/09/23

Semana 4 corresponde al período desde el 11/09/23 al 16/09/23

Semana 5 corresponde al período desde el 25/09/23 al 30/09/23

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N°18 se muestra la frecuencia relativa porcentual de la presencia de *Escherichia coli* en las muestras que fueron recolectadas, analizadas en las diferentes semanas de muestreo a través de las diferentes pruebas microbiológicas donde se comprobó la presencia de este patógeno y en la figura N°12 se muestra la tendencia por semanas de muestreo de la frecuencia relativa porcentual de la presencia del patógeno en las tilapias comercializadas, donde en la semana del 21 al 26 de agosto del 2023 se presentó el mayor porcentaje de contaminación por *Escherichia coli* en el producto que fue del 50% que representa de diez muestras de carne de tilapia analizadas, cinco estaban contaminadas con *Escherichia coli* y esto se debe a que las muestras provenían del mercado La Tiendona, recinto que mostró un grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas en el Manejo y Almacenamiento de productos pesqueros bastante deficiente, de la semana del 28 de agosto al 02 de septiembre y del 14 al 09 de septiembre no se obtuvo presencia del patógeno esto es debido a que dichas muestras provenían del Mercado Central en su gran mayoría y en menor parte de la Tiendona y San Miguelito. Cabe mencionar

que en el Mercado Central las condiciones de almacenamiento y manejo del producto pesquero son medianamente mejores que el resto de los recintos con un 31%; esto en concordancia a la nula presencia del patógeno contaminante en dicha semana de muestreo. Mientras que en la semana del 11 al 16 de septiembre se presentó una frecuencia porcentual del 10% es decir una muestra de 10 resultó estar contaminada. Para la semana del 25/09/23 al 30/09/23 la frecuencia porcentual fue del 40%, correspondientes a 2 muestras de 5, debido a que provenían del mercado Tinetti, en él pudo observarse un mal manejo en el almacenamiento y la manipulación de la tilapia.

La frecuencia de la presencia de *E. coli* con respecto a las cinco semanas de muestreo y respecto a la calidad e inocuidad del producto va más en relación a los recintos en los cuales se recolectaron las muestras y sus condiciones de almacenamiento y manejo en el proceso de comercialización de la tilapia que a condiciones ambientales, humedad, temperatura o precipitaciones que se hayan presentado en dichas semanas; ya que como se contempla desde los resultados anteriores, en esta investigación la inocuidad se ve directamente afectada por las pésimas condiciones de almacenamiento y precario manejo de los productos pesqueros.

5.4 Proporcionar los resultados obtenidos al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador

Los resultados obtenidos fueron entregados al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador quienes los utilizarán como referencia y reflejo de la problemática, ya que actualmente la información respectiva es escasa. Además, el conocimiento generado puede ser utilizado para la creación de marcos regulatorios o modificaciones de ley que puedan abonar en buscar de garantizar la inocuidad de los alimentos (Ver Anexo N°27).

CAPÍTULO VI

6.0 CONCLUSIONES

1. Con la guía de observación del grado de cumplimiento de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) se determinó que los mercados en estudio no cumplen con aproximadamente 68% al 88% de los parámetros definidos para este tipo de establecimientos, como: El almacenamiento, indumentaria, materiales y equipos, instalaciones, dispensación. Como consecuencia de ello se produce un aumento de carga bacteriana en la tilapia que se comercializa convirtiéndose en un peligro para los consumidores.
2. Se aislaron y se identificaron presuntivamente colonias de *Escherichia coli* en quince de cuarenta y cinco muestras de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*), fenotípicamente similares al control positivo de *Escherichia coli* atcc 8739 en los recuentos en agar VRBA MUG, agar EMB, medios de cultivos selectivos y diferenciales y tinción al Gram.
3. De las 15 muestras con presuntamente *E. coli* se confirmó la presencia de este patógeno en únicamente 8 de ellas y el resto correspondía a otros patógenos gramnegativos.
4. Se identificó la presencia de otros patógenos presentes en siete muestras de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) a través de la galería API 20E como son: *S. odorifera* en tres muestras, *R. ornitholytica* en tres muestras y *E. cloacae* en una muestra, todas estas representando el dieciséis por ciento del total de las muestras analizadas en la investigación.
5. Según datos obtenidos en la guía de observación juntamente con los análisis microbiológicos demuestran que las malas condiciones de almacenamiento e inadecuadas prácticas higiénicas de los manipuladores en algunos establecimientos de los mercados dan origen a fuentes de contaminación, influyendo en que la tilapia no sea un alimento inocuo y apto para consumo humano al ingerirse de manera cruda o poco cocida. A pesar de que los recuentos de *E. coli* no excedan los límites permisibles del RTCA 67.04.50:08 excepto 20230925-45 las muestras presentan diversos patógenos coliformes capaces de provocar infecciones gastrointestinales.

6. El Mercado La Tiendona fue el que dentro de sus locales o establecimientos de venta de tilapia presentó mayor contaminación con *Escherichia coli* en las muestras analizadas representado por un once por ciento del total de las muestras analizadas en la investigación.
7. El mercado que aparentemente cumplió con más requisitos según lo establecido en la guía de observación del grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas en el Manejo y Almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) fue el Mercado Central, ya que aunque este no cumplió con la totalidad de los requerimientos, pudo observarse una mejor higiene y orden respecto al almacenamiento, indumentaria del personal, materiales y equipos, instrumentos y dispensación del producto a comparación de los otros mercados evaluados, por tal razón puede observarse que ninguna de las muestras analizadas de este mercado resultó contaminada con ningún patógeno.
8. Se determinó que la mayor prevalencia de *Escherichia coli*, fue en el mercado la Tiendona, esto está relacionado directamente con las malas condiciones y deficiente higiene en los cuales se almacena y manipulan los productos pesqueros en este mercado, su exposición al ambiente y contaminantes externos, contacto con los clientes y presencia de desechos en las cercanías del producto.

CAPÍTULO VII

7.0 RECOMENDACIONES

Al Ministerio de Salud de El Salvador, a la Alcaldía de San Salvador, Defensoría del consumidor:

1. Contemplar la implementación de concientización a través de capacitaciones informativas utilizando material didáctico y contenido audiovisual a los vendedores y distribuidores de tilapia de los mercados del Municipio de San Salvador acerca de las Buenas Prácticas de Manejo y Aseguramiento de la Calidad de Productos Pesqueros que recomienda el manual del CENDEPESCA del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador.
2. Implementar un plan de mejora de las condiciones de infraestructura de los locales donde se almacena y comercializa la tilapia desde la organización estratégica de los puestos de venta en el edificio clasificando zonas dedicadas dependiendo el producto comercializado, designar un área para los desechos y proporcionar a todos los puestos de venta el acceso al agua potable para así reducir el riesgo de fuentes de contaminación al producto.
3. Establecer de manera periódica monitoreos de vigilancia y evaluación de la calidad de este producto para evitar posibles enfermedades a la salud de la población.
4. Seguir implementando programas de educación para la buena preparación y cocción de tilapia para evitar enfermedades provocadas por este patógeno.

A futuras investigaciones:

5. Realizar un estudio más amplio de todos los mercados del departamento de San Salvador donde se vende tilapia debido a la similitud de la pobre infraestructura y desorganización con la que cuentan estos recintos.
6. Que se contemple la posibilidad de ampliar la investigación a cadenas de supermercados para constatar que se están cumpliendo las buenas prácticas en manejo y aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros que comercializan.

7. Darle continuidad a la investigación evidenciando la resistencia antimicrobiana que puedan presentar estos patógenos aislados.
8. Que las futuras investigaciones contemplen la determinación de la temperatura de cocción adecuada para preparar los alimentos que contengan carne de tilapia, evidenciando la resistencia térmica que presentan los patógenos aislado, así como el tiempo y las condiciones de almacenamiento de estos alimentos, y la presencia de sustancias que no pueden ser eliminadas con la temperatura como las toxinas o las histaminas.
9. Que se tome en cuenta el uso de más y mejores técnicas de identificación, detección y cuantificación de microorganismos que aporten exactitud y precisión a las determinaciones como puede ser el uso de PCR o MALDI-TOF MS, ELISA y kits de pruebas rápidas y precisas de antígenos para *E. coli* y otros patógenos aislados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hsien-Tsang S, Quintanilla M, Manual sobre reproducción y cultivo de tilapia. CENDEPESCA, Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador. El Salvador. 2008
2. Bereded N. The gut bacterial microbiome of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from lakes across an altitudinal gradient. BMC Microbiology. Egipto. 2022
3. Educación en inocuidad de alimentos: Glosario de términos. Organización Mundial de la Salud. Estados Unidos. 2019
4. Leal, Y. Enteropatógenicidad de bacterias aisladas de peces, del agua y plancton de su entorno en Venezuela. Enteropatógenicidad Revista Científica. Venezuela. 2019
5. Feng P. *Escherichia coli* diarrea. Manual analítico bacteriológico (BAM) FDA. Estados Unidos. 2020
6. Brooks G.F. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick, Adelberg. Ed. El manual moderno, S.A. de C.V. México. 2005
7. Patógenos en alimentos: *E. coli* . Organización Mundial de la Salud. Estados Unidos. 2019
8. Khouri L. Epidemiología de las bacteriemias por *Escherichia coli* en dos hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. Anales Medicos. México. 2018
9. Boletines epidemiológicos 2022. Ministerio de Salud de El Salvador. El Salvador. 2022
10. Mattar S. *E. coli* O157:H7 Enterohemorrágico: un agente etiológico de diarrea en Colombia subestimado. Parte II, Revista MVZ-Córdoba . Colombia. 2016
11. Schwarz S, A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol and florfenicol. FEMS Microbiol Rev. Estados Unidos. 2004
12. Villalobos R. Manual de Buenas Prácticas de Manejo y Aseguramiento de la Calidad de Productos Pesqueros. CENDEPESCA, Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador, El Salvador. 2008
13. Mossel D.A.A. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia S.A de C.V. España 2020
14. Vivanco M, Muestreo Estadístico. Diseño y Aplicaciones, Universidad de Chile, Chile 2005
15. Manual de toma, manejo y envío de muestras de laboratorio. Ministerio de Salud de El Salvador, El Salvador. 2022

16. Perez R. Evaluación de la tolerancia de crioconservación de 2 cepas de *Escherichia coli* K12 de uso frecuente en biotecnología. Vaccimonitor. Cuba. 2010
17. Sistema de identificación de enterobacteriaceae, y otros bacilos gram negativos no exigentes. Biomerieux, SA. Francia. 2010
18. Serpas R. Manual para la conservación de cepas bacterianas de trabajo, Universidad de El Salvador, El Salvador. 2014
19. *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers 8739TM ATCC. Estados Unidos. 2020
20. *Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae (Schroeter)* (Migula) Castellani and Chalmers 10031TM ATCC. Estados Unidos. 2020
21. RTCA 67.04.50:08 criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de la Pesca. Pescados frescos refrigerados y congelados. El Salvador. 2009
22. Ficha tecnica Violet Red Bile Agar MUG.Italia. 2014
23. Singh, Bhoj R.; Metallo- β -lactamase and extended-spectrum- β -lactamase production by *Serratia* strains. Infection and Drug Resistance. India. 2020,
24. Hwang C. Histamine fish poisoning and histamine production by *Raoultella ornithinolytica* in milkfish surimi. Journal of Food Protection. Estados Unidos.2020
25. Kousar, R.. Assessment and incidence of fish associated bacterial pathogens at hatcheries of Azad Kashmir, Brazilian Journal of Biology. Pakistan. 2019
26. Canelo J. Medidas de frecuencia, asociación e impacto en investigación aplicada. ISSN España. 2008

ANEXOS

ANEXO N°1

LISTA DE COTEJO O CHECK LIST

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?			
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?			
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?			
4	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?			
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria básica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?			
6	1. ¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?			
7	2. ¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?			
Material y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?			
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?			
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?			
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?			

Instalaciones				
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?			
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?			
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?			
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?			
Dispensación del producto				
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?			
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?			
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?			

Figura N°1: Lista de cotejo o check list

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°2
ETIQUETA PARA IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA

Código de muestra:	
Mercado:	
Hora y Fecha de muestreo:	
Recolector de muestra:	Firma:
Observaciones:	

Figura N°2: Etiqueta para identificación de muestra

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 3

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA INOCUIDAD DE ALIMENTOS.

PRODUCTOS DE LA PESCA. PESCADOS FRESCOS-REFRIGERADOS Y

CONGELADOS (RTCA 67.04.50:08)

<p>9.0 Grupo de Alimento: Pescado, derivados y productos marinos. Esta amplia categoría se subdivide en categorías para el pescado fresco y para diversos productos marinos elaborados. Se incluyen en ella los vertebrados acuáticos y mamíferos acuáticos (p. ej., ballenas), los invertebrados acuáticos (p. ej., medusas), los moluscos (p. ej., almejas y caracoles), los crustáceos (p. ej., camarones cangrejos, langostas). Los productos marinos se pueden recubrir, p. ej., con glaseados o especias, antes de su comercialización para el consumo (p. ej., filetes de pescado congelados y glaseados). En el SCA esto se indica con una anotación relativa al “uso como glaseado o recubrimiento (tratamiento de superficie)”</p>			
<p>9.1 Subgrupo del alimento: Pescado y productos marinos frescos, congelados, incluidos moluscos, crustáceo y equinodermos, empacados.</p>			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	4	A	10 ² UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i> (solo para pescados)	7		10 ³ UFC/g
<i>Salmonella ssp</i> /25 g	10		Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g (solo para producto crudo listo para consumo, ejemplo sushi y ceviche)	10		Ausencia
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (solo para moluscos bivalvos)	8		10 ³ UFC/g

Figura N°3: Límites microbiológicos permisibles del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) para los productos pesqueros frescos

Fuente: RTCA 67.04.50:08

ANEXO N°4

PROCEDIMIENTO DE PREENRIQUECIMIENTO DE LA MUESTRA

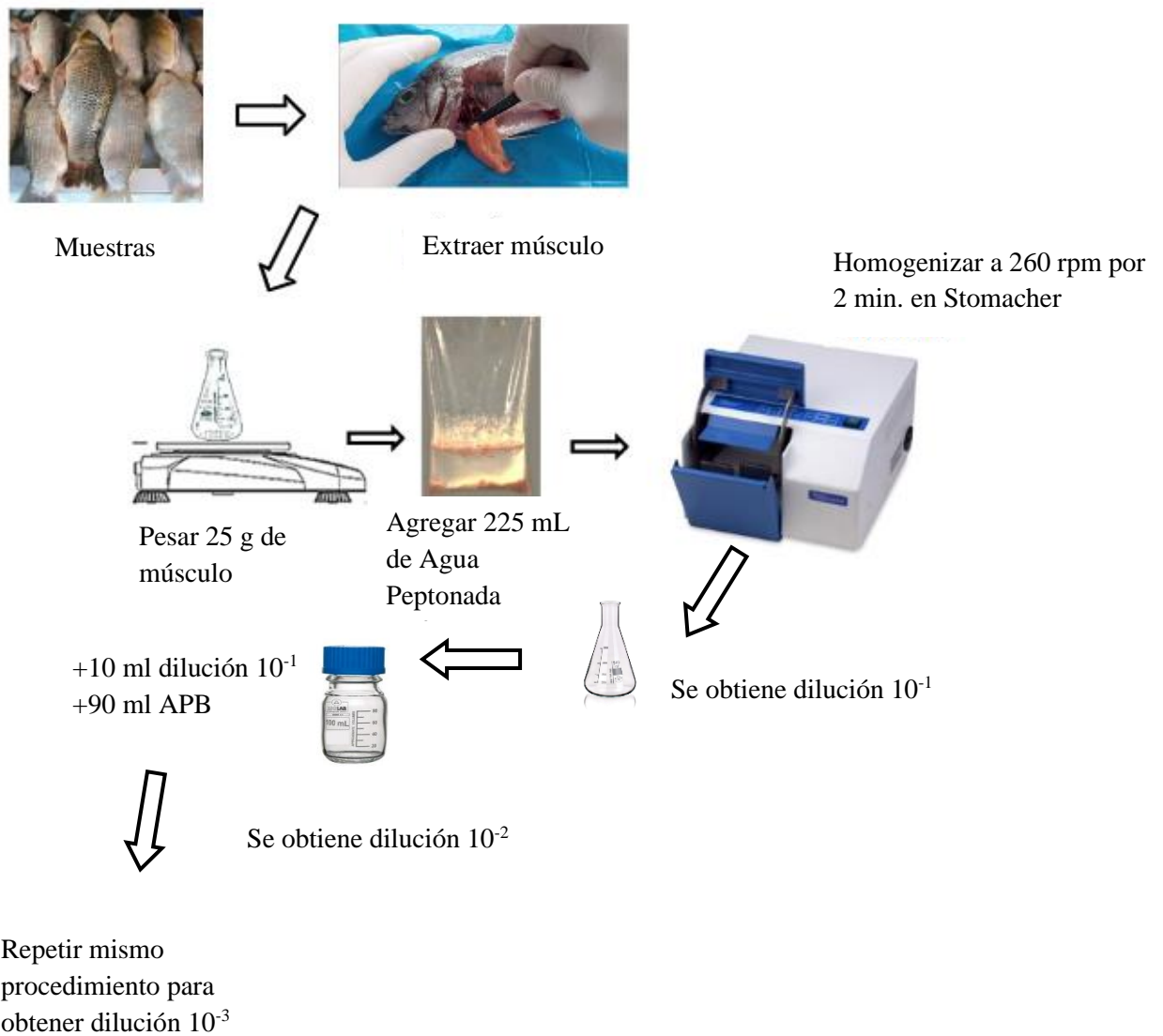


Figura N° 4: Preenriquecimiento de las muestras

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°5

DETERMINACION DE *E. coli* EN MUESTRAS DE MÚSCULO DE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*).

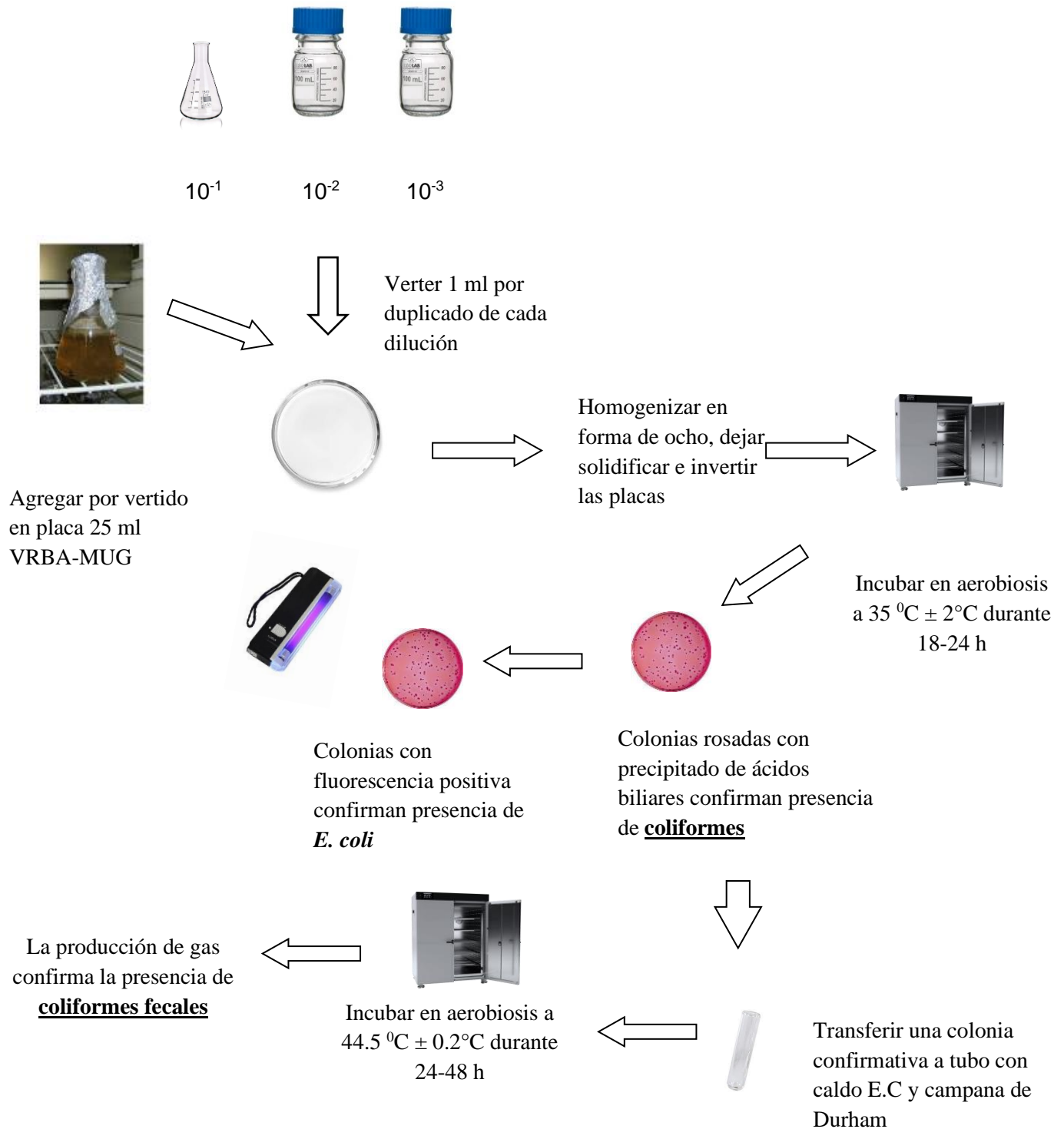


Figura N° 5: Determinación de *E. coli* en muestras de músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 6

PRUEBA COMPLETA PARA *E. coli*

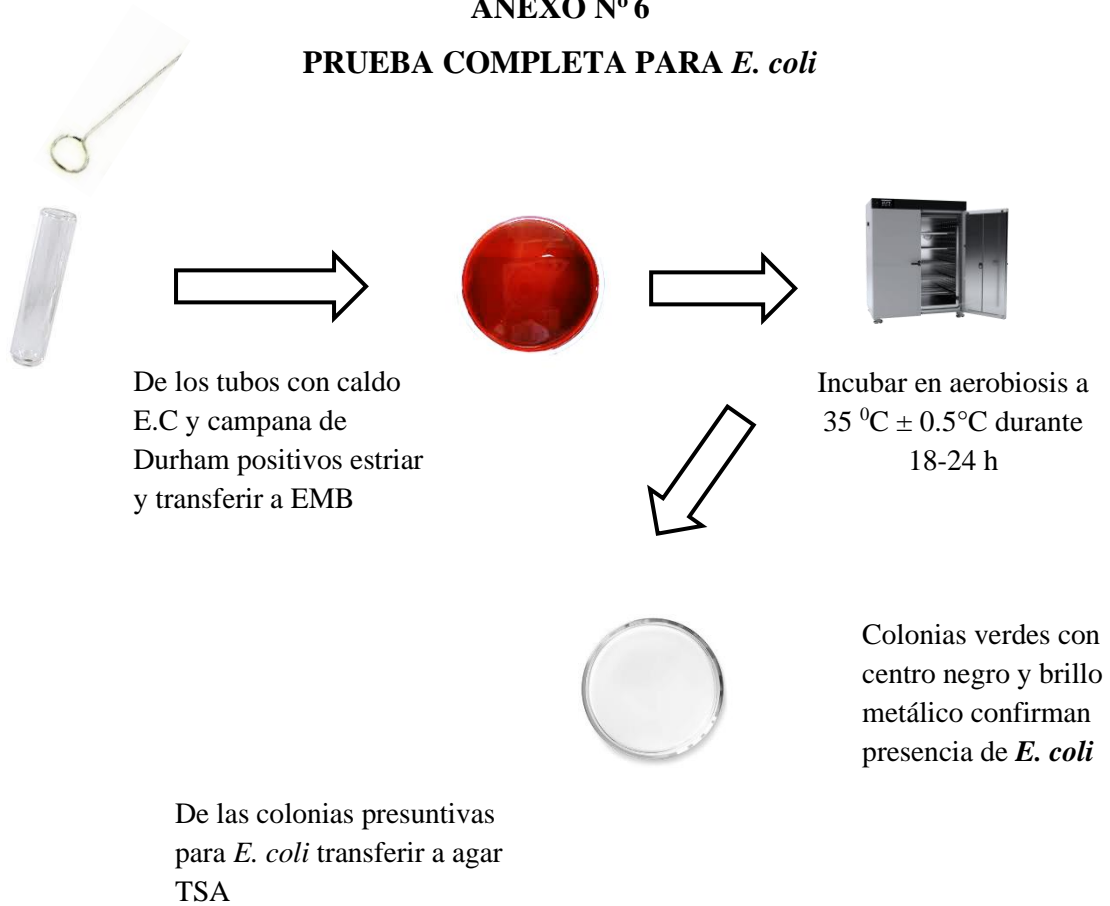


Figura N° 6: Prueba completa para *E. coli*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 7

PROCEDIMIENTO PARA LA TINCIÓN DE GRAM

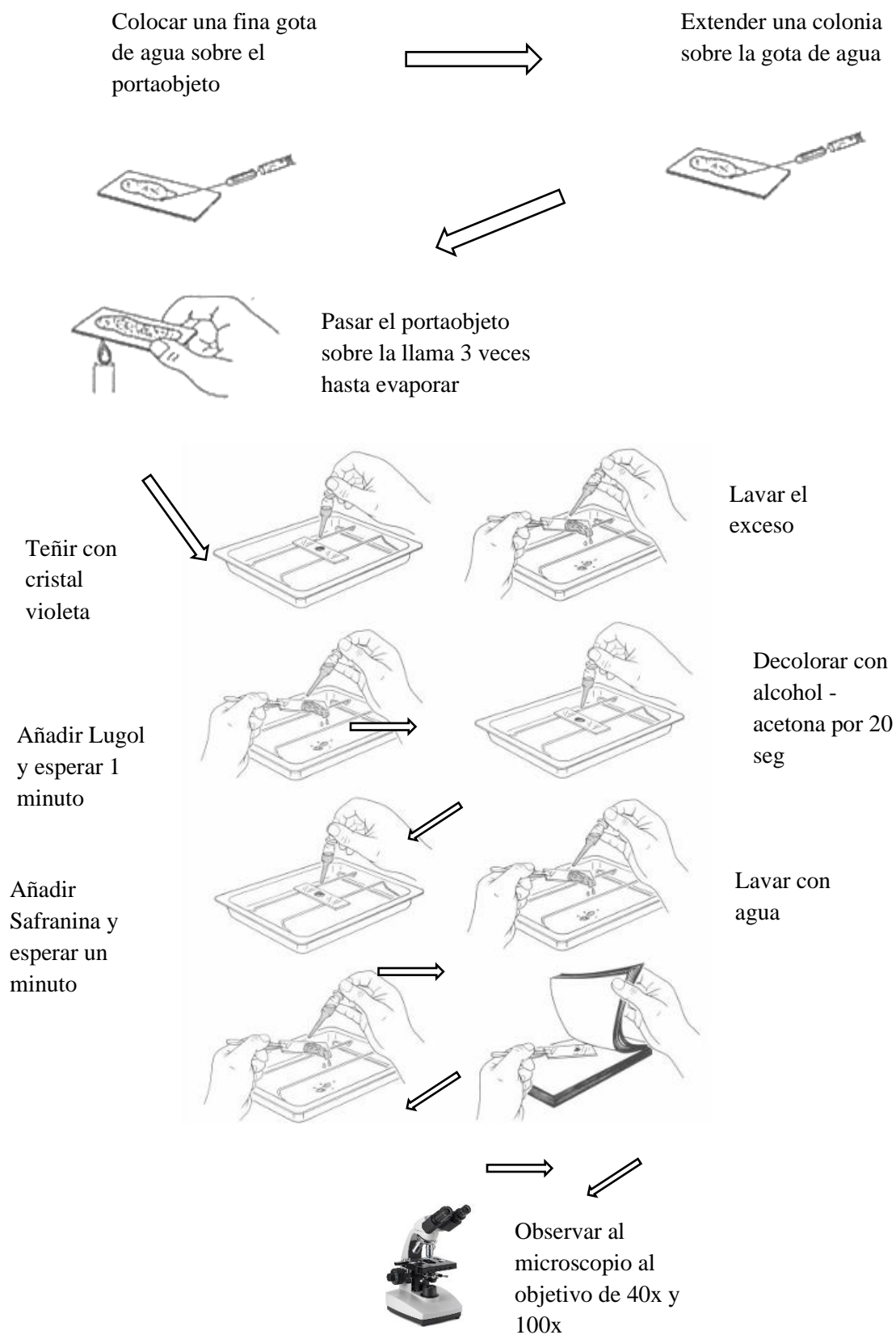


Figura N° 7: Tinción de Gram para colonias positivas de *Escherichia coli*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 8

PROCEDIMIENTO PARA LA CRIOPRESERVACIÓN DE LAS COLONIAS POSITIVAS DE *Escherichia coli*

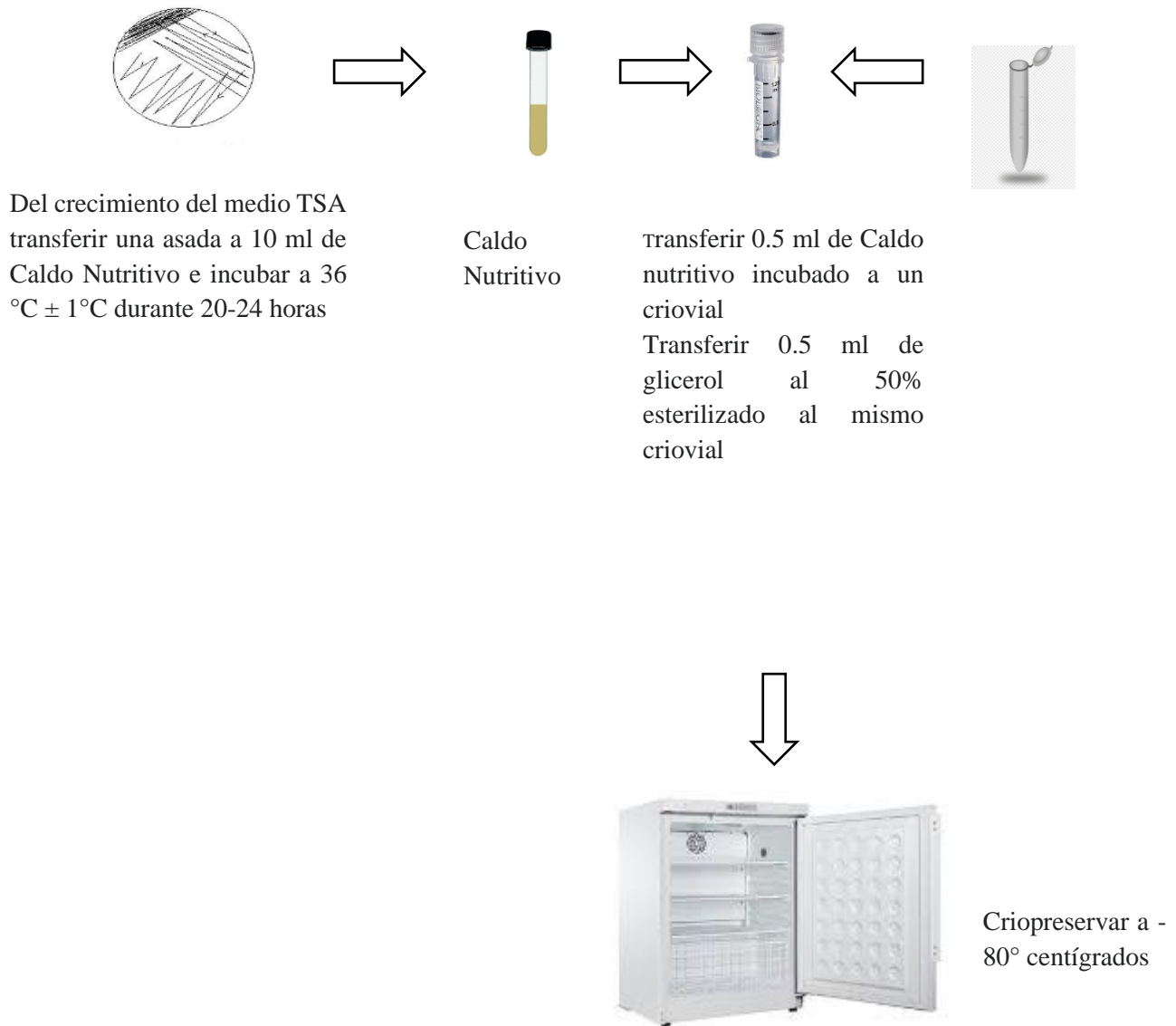









Figura N° 8: Criopreservación de las colonias positivas de *Escherichia coli*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°9
CARACTERÍSTICAS POSITIVAS DE *E. coli* EN LOS MEDIOS DE CULTIVO
SELECTIVOS Y NO SELECTIVOS SELECCIONADOS PARA LA PRUEBA
COMPLEMENTARIA

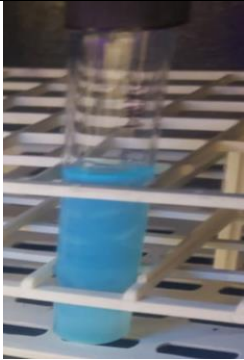
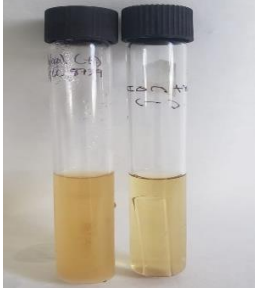
Tabla N°1: Características positivas de E. coli en los medios de cultivo Selectivos.

MEDIO	características positivas	imagen
EMB	Violeta, brillo metálico	
CHROMOCULT	Azul oscuro	
SMAC	Incoloro-rojo	
ENDO	Rojo brillo metálico	
MACCONKEY	Rojo	

VRB	Rojo	
<i>E. COLI</i> O157:H7	Incoloro amarillo	
VRBA-MUG	Roja Fluorescencia	



Fuente: Elaboración propia

Tabla N°2: Características positivas de E. coli en caldos de cultivo Selectivo

MEDIO	CARACTERÍSTICAS POSITIVAS	IMAGEN
LMX	Azul Fluorescencia	
EC	Gas Turbidez	

Fuente: Elaboración propia

Tabla N°3: Características positivas de E. coli en los medios de cultivo no selectivos

MEDIO	CARACTERÍSTICAS POSITIVAS	IMAGEN
BS	Café Verde	
SS	Rosado Rojo	

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 10

PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA PARA COLONIAS POSITIVAS DE *Escherichia coli*

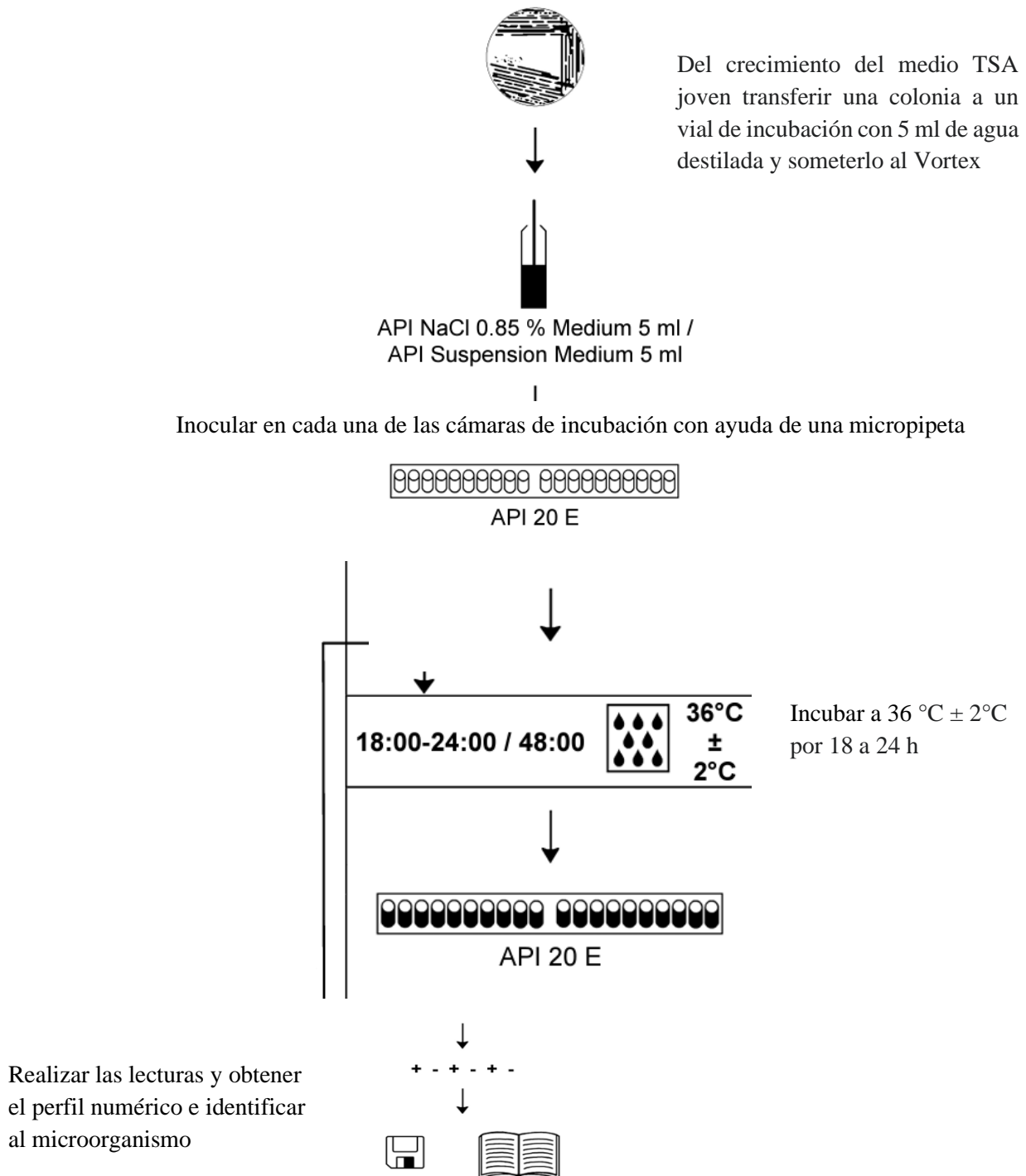


Figura N° 9: Procedimiento de identificación bioquímica para colonias positivas de *Escherichia coli*

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 11

**ESTANDARIZACIÓN DE LAS CEPAS ATCC CONTROL POSITIVO PARA
Escherichia coli ATCC 8739 Y CONTROL NEGATIVO *Klebsiella pneumoniae* ATCC
10031**

Estandarización de la cepa ATCC control positivo para *Escherichia coli* ATCC 8739

Tabla N°4: Recuentos de UFC por cada dilución seriada proveniente de la solución madre de *Escherichia coli* ATCC 8739

CONCENTRACIÓN	[10 ⁸]	[10 ⁶]	[10 ⁴]	[10 ²]	[10 ⁰]
Crecimiento en medio VRBA-MUG	DNPC	DNPC	DNPC	P1: 324 P2: 328	P1: 0, 0 P2: 0,0

Se realiza una lectura de la transmitancia de la solución madre en el espectrofotómetro a 620 nm (Ver figura N° 13) la cual alcanza un 3%, pudiendo de esta manera afirmar que se encuentra a una concentración de [10¹⁰] UFC, para comprobar dicha concentración se realizan recuentos de colonias con coloración rosada en el medio VRBA-MUG correspondientes a *E. coli* en diferentes diluciones seriadas que parten de la solución madre.

En la tabla anterior pueden observarse las concentraciones de estas diluciones seriadas. La dilución [10²] es la única en la cual fue posible realizar un recuento y tras los cálculos se puede confirmar que la solución madre posee una concentración de 3.2×10^{10} UFC, el control positivo es utilizado a la concentración de [10²] partiendo de la solución madre para realizar todas las comparaciones con las muestras analizadas.

Cálculo de Concentración de Solución Madre

Promedio de colonias a concentración [10²] o dilución 10⁻⁸:

P1: 324 UFC/ml

P2: 328 UFC/ml

Promedio: 326 UFC/ml

Cálculo de UFC:

$326 \times 10^8 = 3.2 \times 10^{10}$ UFC en la solución madre

Estandarización de la cepa ATCC control negativo para *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

Tabla N°5: Recuentos de UFC por cada dilución seriada proveniente de la solución madre de *Escherichia coli* ATCC 8739

CONCENTRACIÓN	[10 ⁸]	[10 ⁶]	[10 ⁴]	[10 ²]	[10 ⁰]
Crecimiento en medio VRBA-MUG	DNPC	DNPC	DNPC	P1: 345 P2: 317	P1: 0, 0 P2: 0,0

Al igual que con el control positivo de *E. coli* ATCC 8739 se realiza una lectura de la transmitancia de la solución madre en el espectrofotómetro a 620 nm (Ver figura N° 13) la cual alcanza un 3%, consiguiendo la concentración de 10¹⁰ UFC y también se llevan a cabo los recuentos de colonias con coloración rosada en el medio VRBA-MUG correspondientes a *K. pneumoniae* en diferentes diluciones seriadas que parten de la solución madre.

Cálculo de Concentración de Solución Madre

Promedio de colonias a concentración [10²] o dilución 10⁻⁸:

P1: 345 UFC/ml

P2: 317 UFC/ml

Promedio: 331 UFC/ml

Cálculo de UFC:

$331 \times 10^8 = 3.3 \times 10^{10}$ UFC en la solución madre

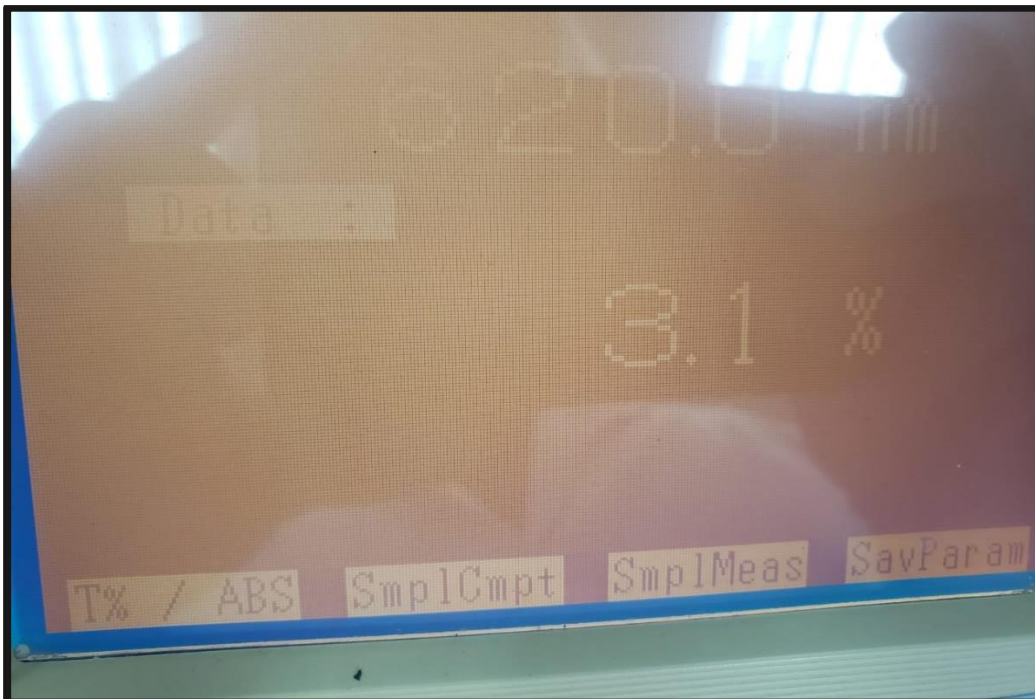


Figura N° 10: Espectrofotómetro y la lectura a 620 nm de la suspensión madre de ambos controles

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°12

MUESTREO EN LOS MERCADOS SELECCIONADOS PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRA

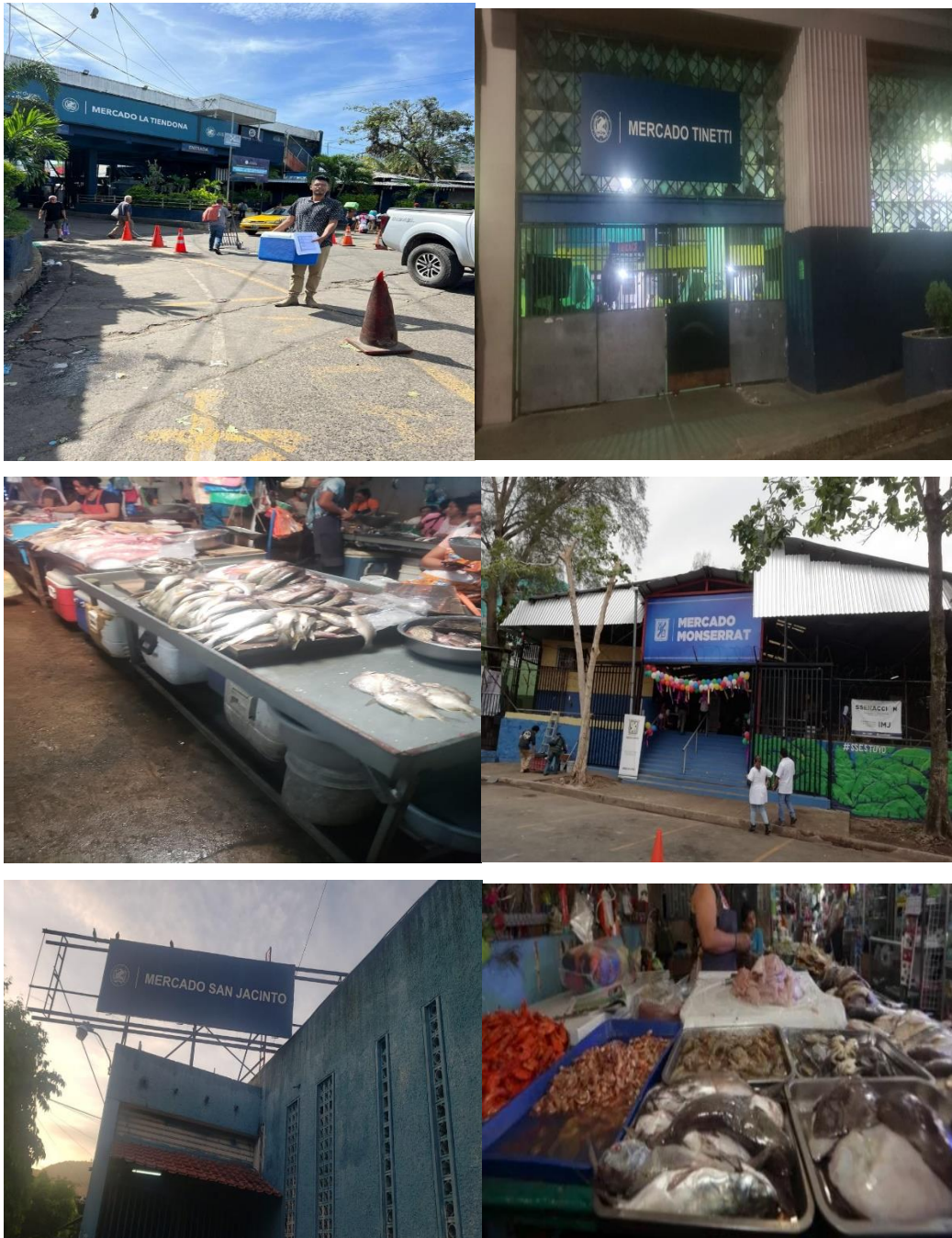


Figura N° 11: Muestreo en los mercados seleccionados para recolección de muestra.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 13
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS API 20E, LECTURA DE BIONÚMERO CON
APIWEB Y TABLA DE LECTURA.

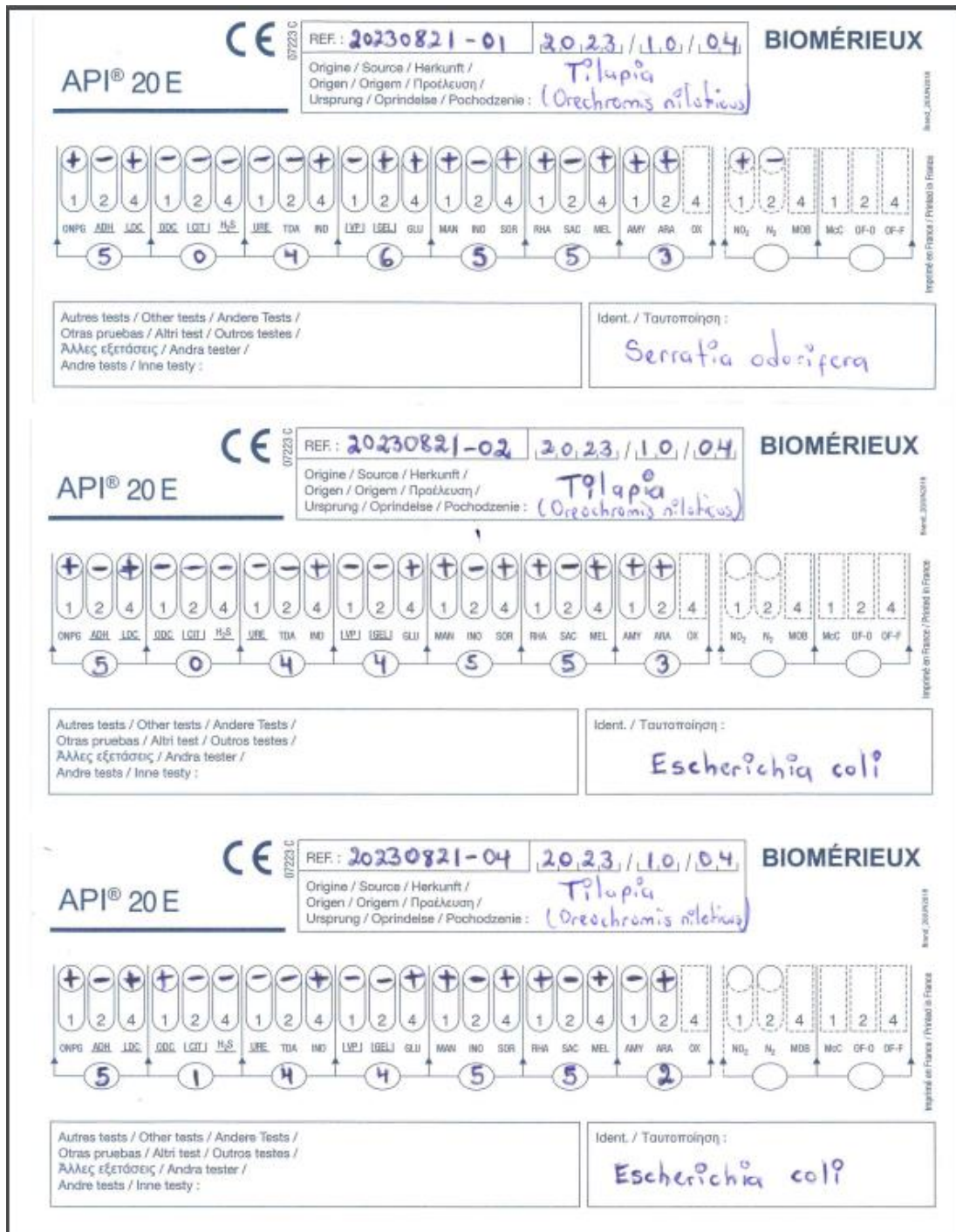


Figura N°12: Ficha de resultados de identificación de la tabla de lectura API 20E para las muestras 20230821-01, 20230821-02, 20230821-04.

Fuente: Elaboración propia

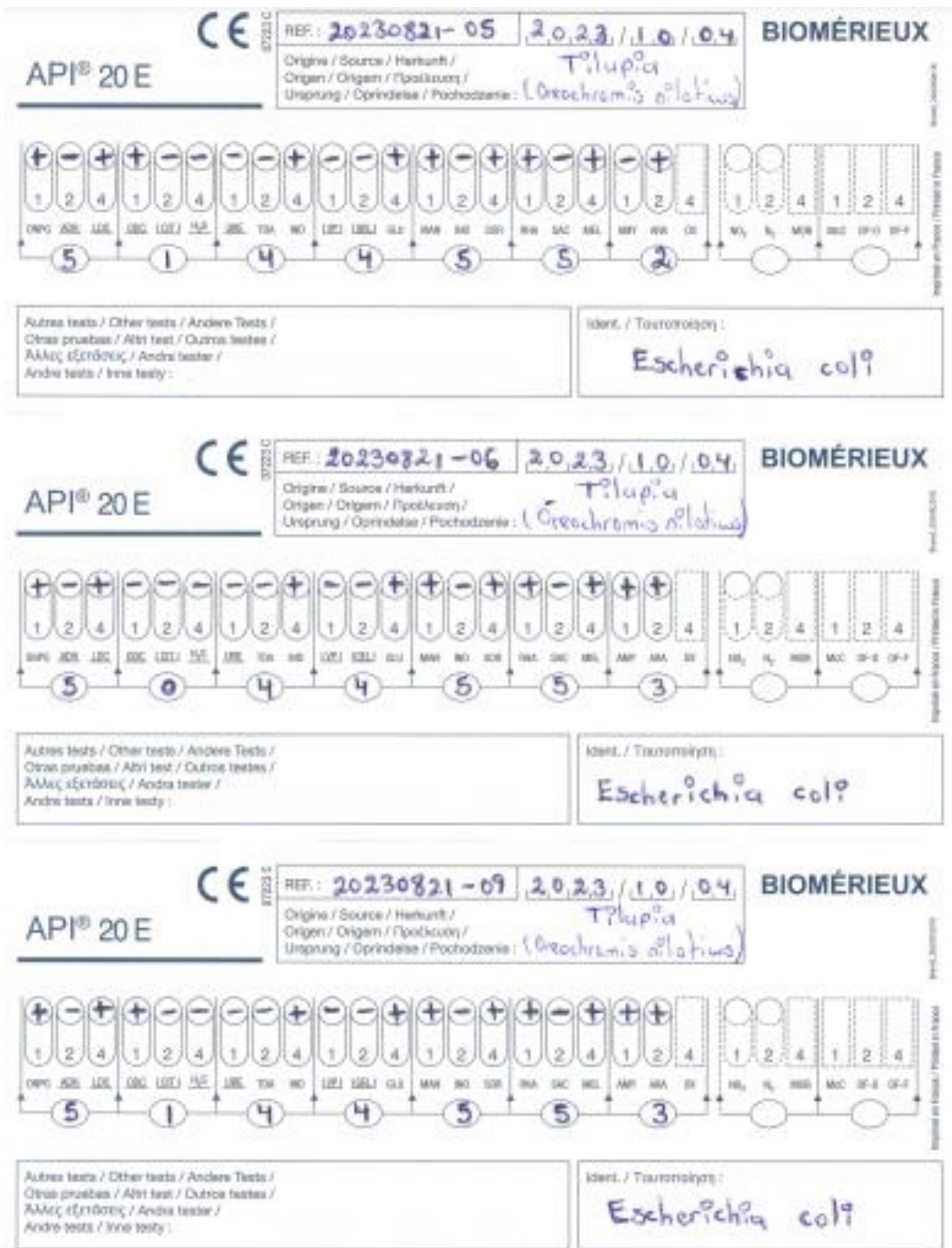


Figura N°13: Ficha de resultados de identificación de la tabla de lectura API 20E para las muestras 20230821-05, 20230821-06, 20230821-09.

Fuente: Elaboración propia

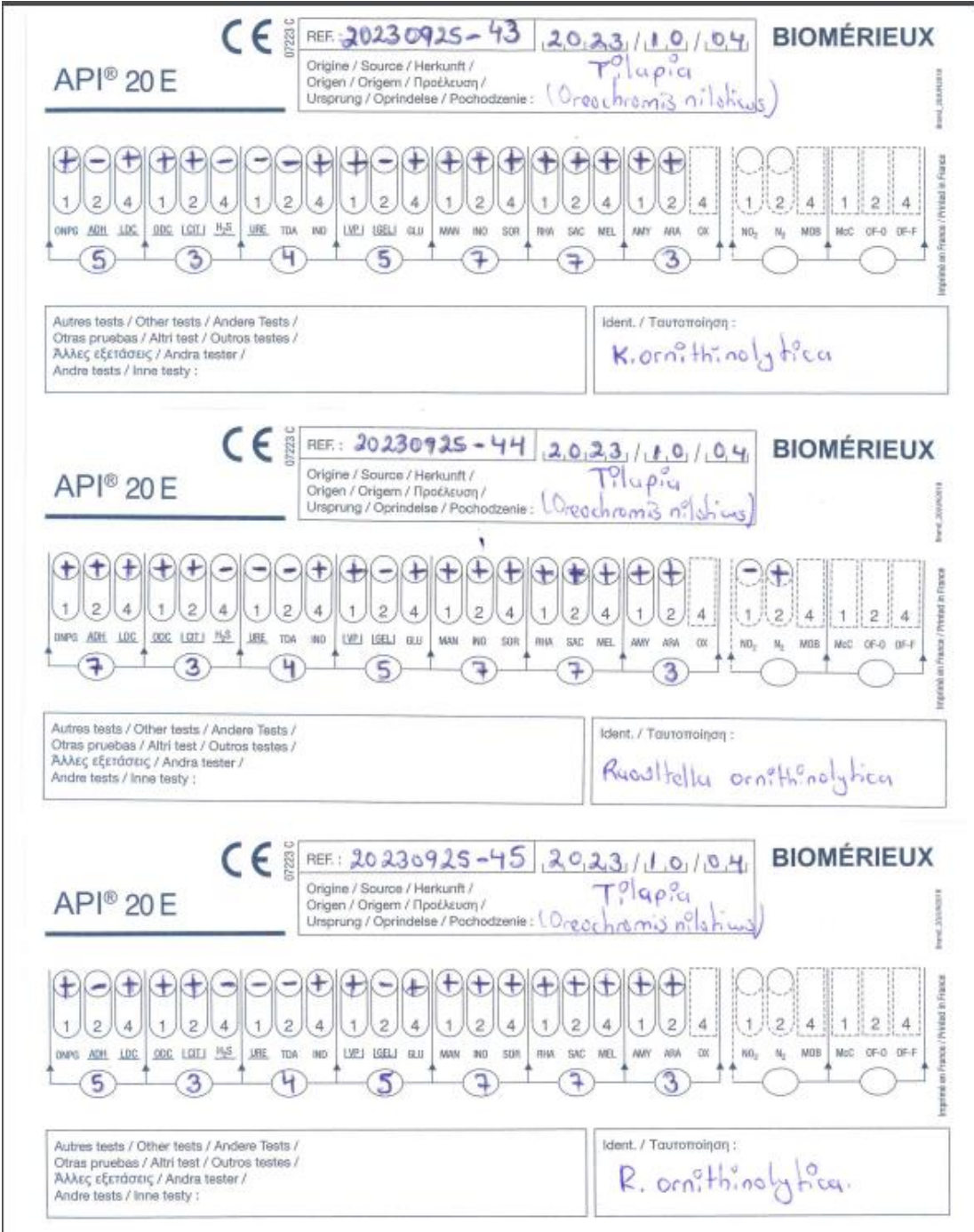
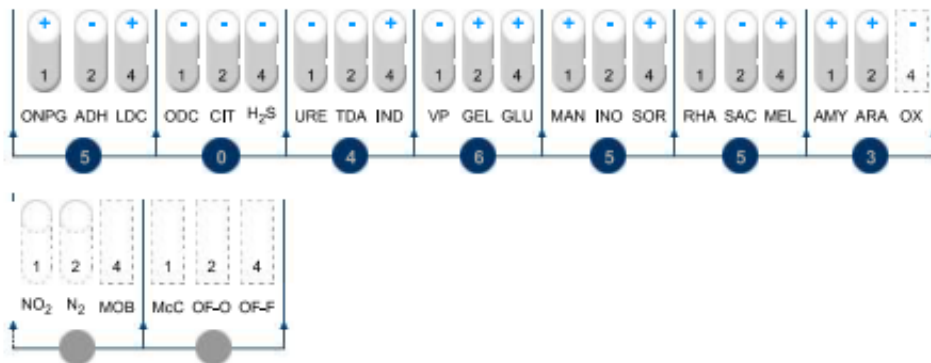


Figura N°16: Ficha de resultados de identificación de la tabla de lectura API 20E para las muestras 20230925-43, 20230925-44, 20230925-45.

Fuente: Elaboración propia

API 20 E V5.0



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

COMENTARIO

Muestra 20230821-01 de mercado La Tiendona.

MUY BUENA IDENTIFICACION

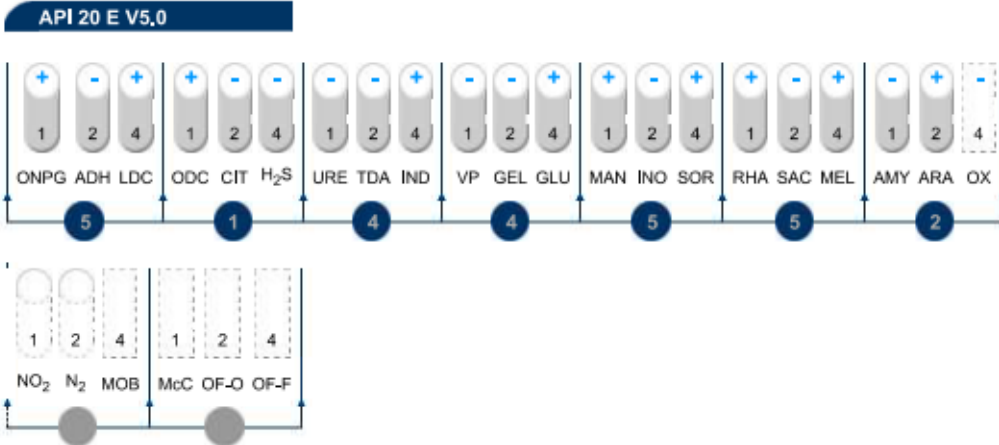
Galería	API 20 E V5.0
Perfil	5 0 4 6 5 5 3
Nota	

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra		
Serratia odorifera 2	99.4	0.52	CIT	95%	INO 99%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra		
Escherichia coli 1	0.3	0.19	GEL	0%	AMY 3%

Figura N°18: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230821-01

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

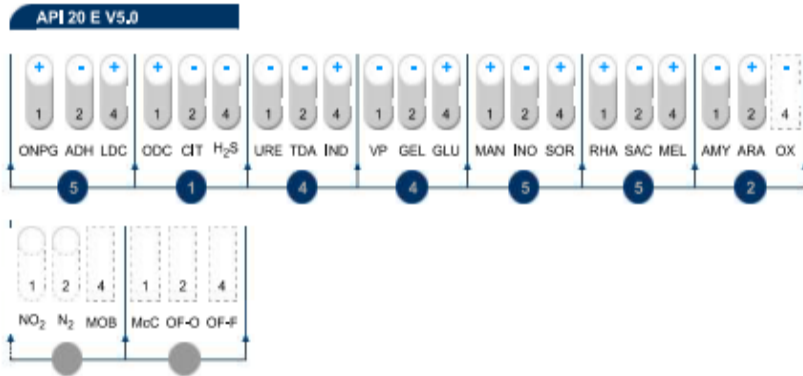
COMENTARIO

Muestra 20230821-04 de mercado La Tiendona.

EXCELENTE IDENTIFICACION			
Galeria	API 20 E V5,0		
Perfil	5 1 4 4 5 5 2		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Escherichia coli 1	99.9	1.0	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Kluyvera spp	0.1	0,38	LDC 25% SOR 25% SAC 89% AMY 99%

Figura N°19: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230821-04

Fuente: Elaboración propia



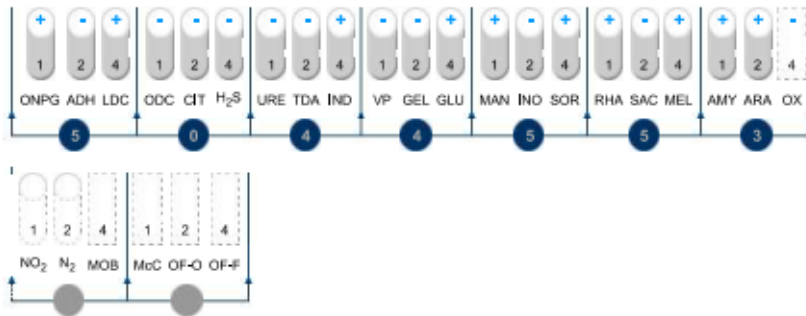
REFERENCIA: Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD
 FECHA: 26/10/23
 COMENTARIO: Muestra 20230821-05 de mercado La Tiendona.

EXCELENTE IDENTIFICACION						
Galeria	API 20 E V5.0					
Perfil	5 1 4 4 5 5 2					
Nota						
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Escherichia coli 1	99,9	1,0				
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Kluyvera spp	0,1	0,38	LDC 25%	SOR 25%	SAC 89%	AMY 99%

Figura N°20: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230821-05

Fuente: Elaboración propia

API 20 E V5.0



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

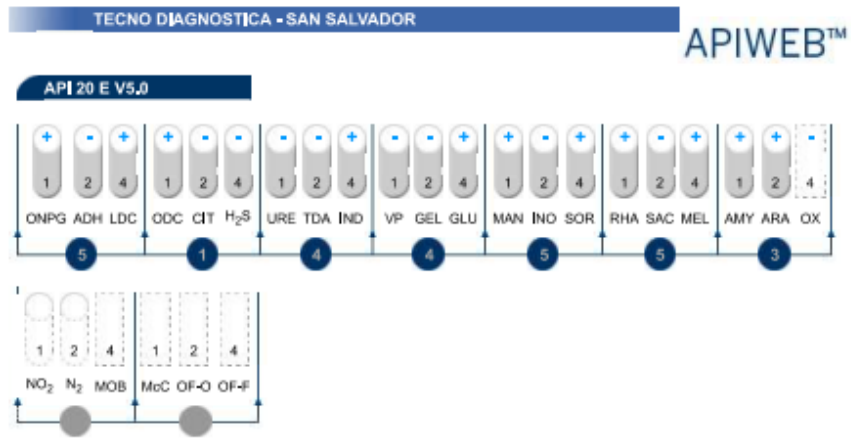
COMENTARIO

Muestra 20230821-06 de mercado La Tiendona.

BUENA IDENTIFICACION	
Galeria	API 20 E V5.0
Perfil	5 0 4 4 5 5 3
Nota	
Taxón significativo	% ID T Pruebas en contra
Escherichia coli 1	94,7 0,69 AMY 3%
Taxón siguiente	% ID T Pruebas en contra
Kluyvera spp	2,1 0,38 LDC 25% ODC 99% SOR 25% SAC 89%

Figura N°21: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para las muestras 20230821-06

Fuente: Elaboración propia

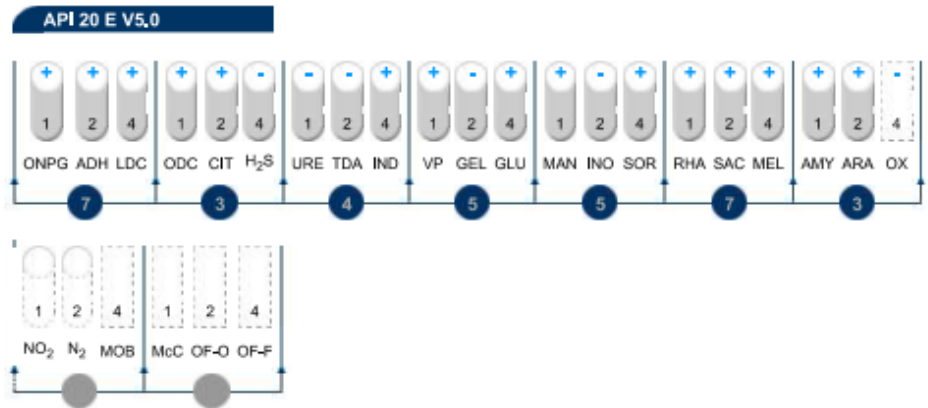


REFERENCIA: Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD
 FECHA: 26/10/23
 COMENTARIO: Muestra 20230821-09 de mercado La Tiendona.

BAJA DISCRIMINACION				
Galería	API 20 E V5.0			
Perfil	5 1 4 4 5 5 3			
Nota				
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra	
<i>Escherichia coli</i> 1	66,7	0,75	AMY 3%	
<i>Kluyvera</i> spp	32,8	0,67	LDC 25%	SOR 25% SAC 89%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra	
<i>Citrobacter koseri</i> /farmeri	0,1	0,22	LDC 0%	SAC 99%
Pruebas complementarias(s)	CELac	ASCORB ₂ c	MDGac	ESC (HYD ₂)
<i>Escherichia coli</i> 1	2%	NT	0%	20%
<i>Kluyvera ascorbata</i>	100%	+	98%	98%
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	100%	-	94%	100%

Figura N°22: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para las muestras 20230821-09

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

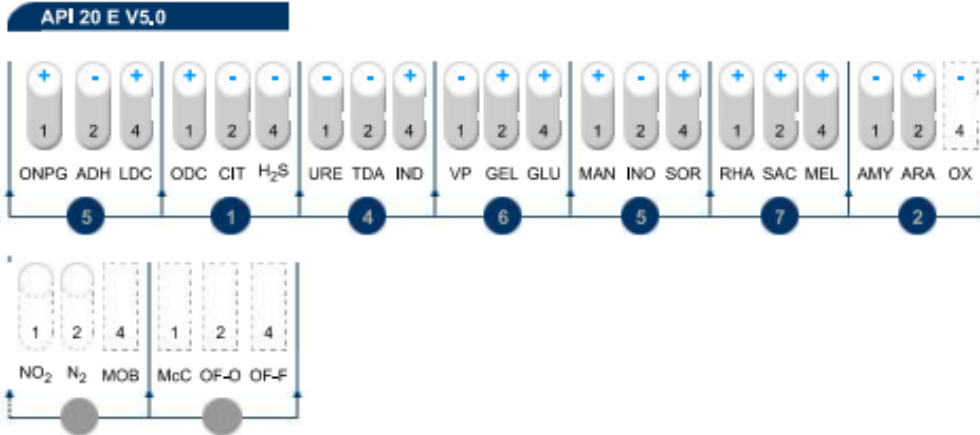
COMENTARIO

Muestra 20230911-31 de mercado San Miguelito.

PERFIL DUDOSO							
Galería	API 20 E V5.0						
Perfil	7 3 4 5 5 7 3						
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Enterobacter cloacae</i>						
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
<i>Enterobacter cloacae</i>	56,4	0,18	LDC	1%	IND	0%	
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	32,7	0,1	ADH	0%	URE	85%	INO 99%
<i>Cronobacter spp</i>	7,3	0,02	LDC	0%	IND	25%	INO 75% SOR 1%
<i>Serratia odorifera</i> 1	2,5	0,0	ADH	0%	GEL	99%	INO 99%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
<i>Kluyvera spp</i>	0,3	0,0	ADH	0%	LDC	25%	VP 0% SOR 25%
Pruebas complementarias(s)	DNAsa	AMARILLO	5KG	MOT			
<i>Enterobacter cloacae</i>	0%	0%	6%	94%			
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	0%	0%	100%	0%			
<i>Serratia odorifera</i>	100%	0%	0%	100%			
<i>Cronobacter spp</i>	0%	98%	0%	96%			

Figura N°23: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230911-31

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA
Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

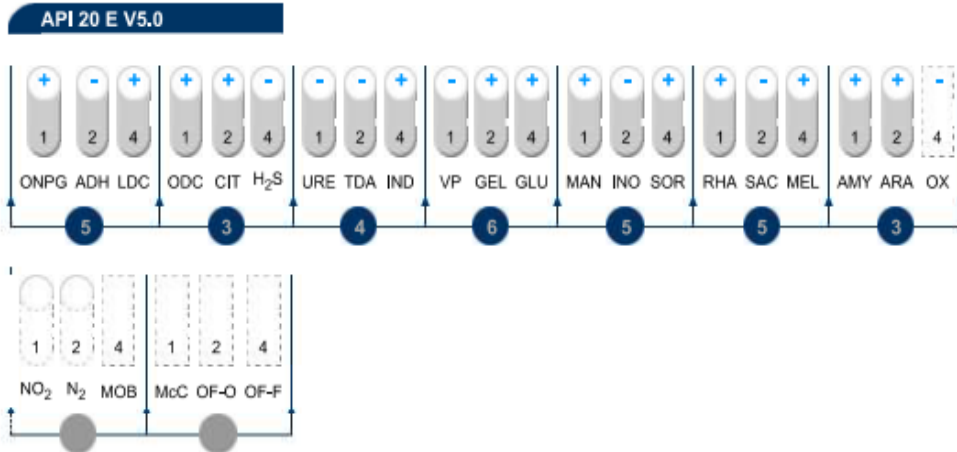
FECHA
26/10/23

COMENTARIO
Muestra 20230911-32 de mercado San Miguelito.

PERFIL DUDOSO						
Galería	API 20 E V5.0					
Perfil	5 1 4 6 5 7 2					
Nota						
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Escherichia coli</i> 1	87.7	0.46	GEL	0%		
<i>Serratia odorifera</i> 1	11.8	0.23	CIT	95%	INO	99% AMY 99%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Kluyvera</i> spp	0.3	0.03	LDC	25%	GEL	0% SOR 25% AMY 99%
Pruebas complementarias(s)	DNAsa	CELac				
<i>Escherichia coli</i>	0%	2%				
<i>Serratia odorifera</i>	100%	100%				

Figura N°24: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230911-32

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA
Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

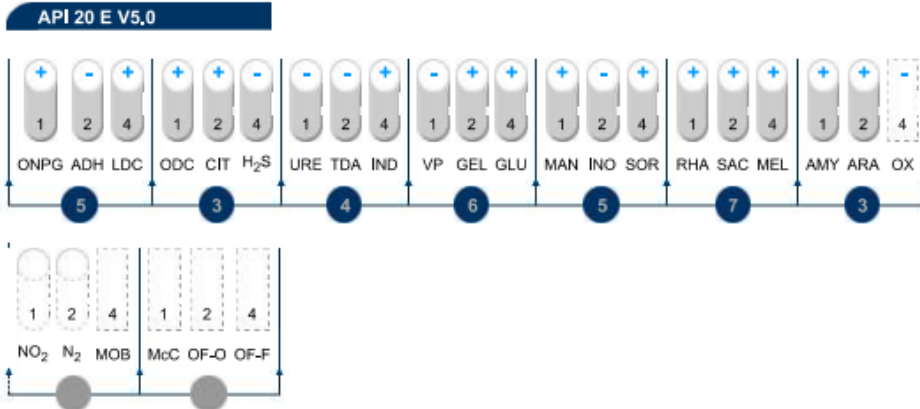
FECHA
26/10/23

COMENTARIO
Muestra 20230911-36 de mercado Tinetti.

BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO							
Galería	API 20 E V5.0						
Perfil	5 3 4 6 5 5 3						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Serratia odorifera 1	64,4	0,43	INO 99%	SAC 99%			
Serratia odorifera 2	34,3	0,39	ODC 1%	INO 99%			
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Kluyvera spp	1,2	0,2	LDC 25%	GEL 0%	SOR 25%	SAC 89%	

Figura N°25: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230911-36

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

COMENTARIO

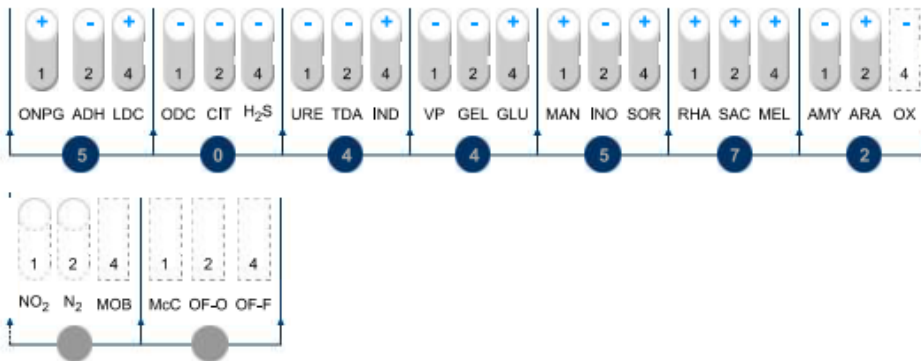
Muestra 20230911-37 de mercado Tinetti.

MUY BUENA IDENTIFICACION	
Galeria	API 20 E V5,0
Perfil	5 3 4 6 5 7 3
Nota	
Taxón significativo	% ID T Pruebas en contra
<i>Serratia odorifera</i> 1	99.6 0.72 INO 99%
Taxón siguiente	% ID T Pruebas en contra
<i>Kluyvera</i> spp	0.2 0.34 LDC 25% GEL 0% SOR 25%

Figura N°26: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230911-37

Fuente: Elaboración propia

API 20 E V5,0



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

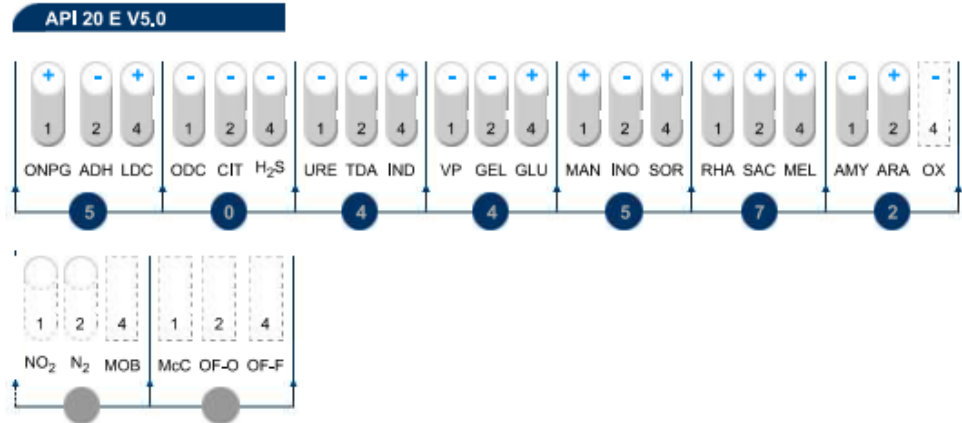
COMENTARIO

Muestra 20230925-41 de mercado Tinetti.

EXCELENTE IDENTIFICACION	
Galeria	API 20 E V5,0
Perfil	5 0 4 4 5 7 2
Nota	
Taxón significativo	% ID T Pruebas en contra
Escherichia coli 1	99.9 0.9
Taxón siguiente	% ID T Pruebas en contra
Kluyvera spp	0.1 0.25 LDC 25% ODC 99% SOR 25% AMY 99%

Figura N°27: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230925-41

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA
Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA
26/10/23

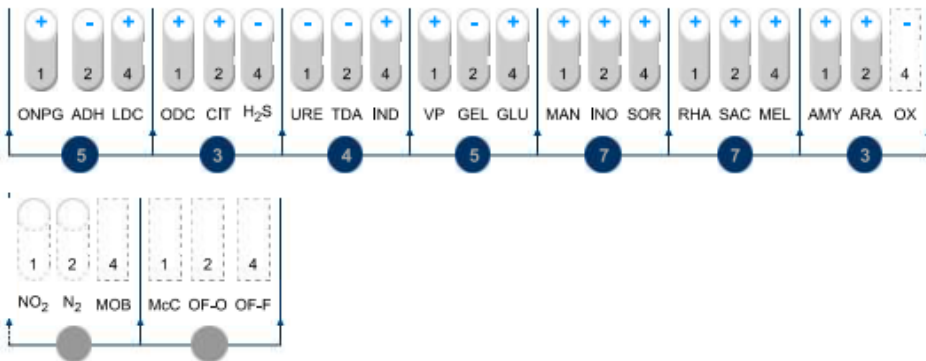
COMENTARIO
Muestra 20230925-42 de mercado Tinetti.

EXCELENTE IDENTIFICACION			
Galería	API 20 E V5,0		
Perfil	5 0 4 4 5 7 2		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Escherichia coli 1	99.9	0.9	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Kluyvera spp	0.1	0.25	LDC 25% ODC 99% SOR 25% AMY 99%

Figura N°28: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230925-42

Fuente: Elaboración propia

API 20 E V5,0



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

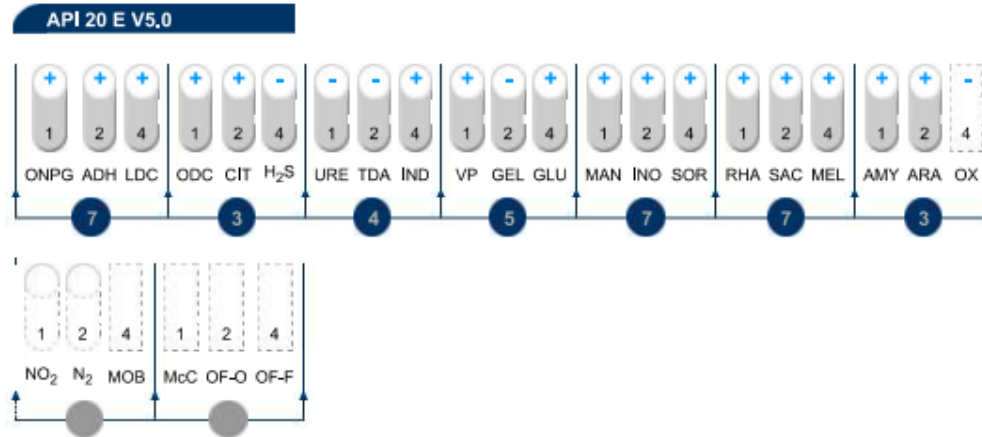
COMENTARIO

Muestra 20230925-43 de mercado Tinetti.

BUENA IDENTIFICACION			
Galería	API 20 E V5,0		
Perfil	5 3 4 5 7 7 3		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Raoultella ornithinolytica	92.0	0,88	URE 85%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Serratia odorifera 1	7.2	0,72	GEL 99%

Figura N°29: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230925-43

Fuente: Elaboración propia



REFERENCIA
Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA
26/10/23

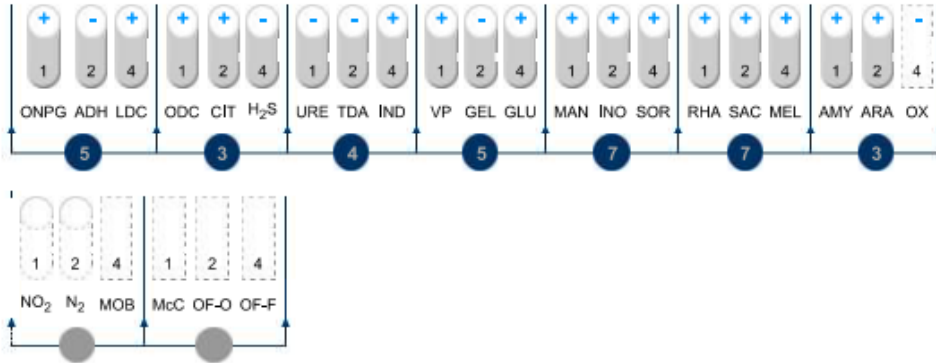
COMENTARIO
Muestra 20230925-44 de mercado San Jacinto.

PERFIL DUDOSO			
Galería	API 20 E V5.0		
Perfil	7 3 4 5 7 7 3		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	90.5	0.38	ADH 0% URE 85%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Serratia odorifera</i> 1	7.0	0.22	ADH 0% GEL 99%

Figura N°30: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230925-44

Fuente: Elaboración propia

API 20 E V5.0



REFERENCIA

Facultad de Química y Farmacia - CENSALUD

FECHA

26/10/23

COMENTARIO

Muestra 20230925-45 de mercado Monserrat.

BUENA IDENTIFICACION			
Galería	API 20 E V5,0		
Perfil	5 3 4 5 7 7 3		
Nota			
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Raoultella ornithinolytica	92.0	0.88	URE 85%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Serratia odorifera 1	7.2	0.72	GEL 99%

Figura N°31: Resultados de identificación APIWEB y generación de bionúmero para la muestra 20230925-45

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°14

**CONDICIONES EN LA QUE SE ALMACENA Y DISPENSA LA TILAPIA EN
MERCADO LA TIENDONA.**

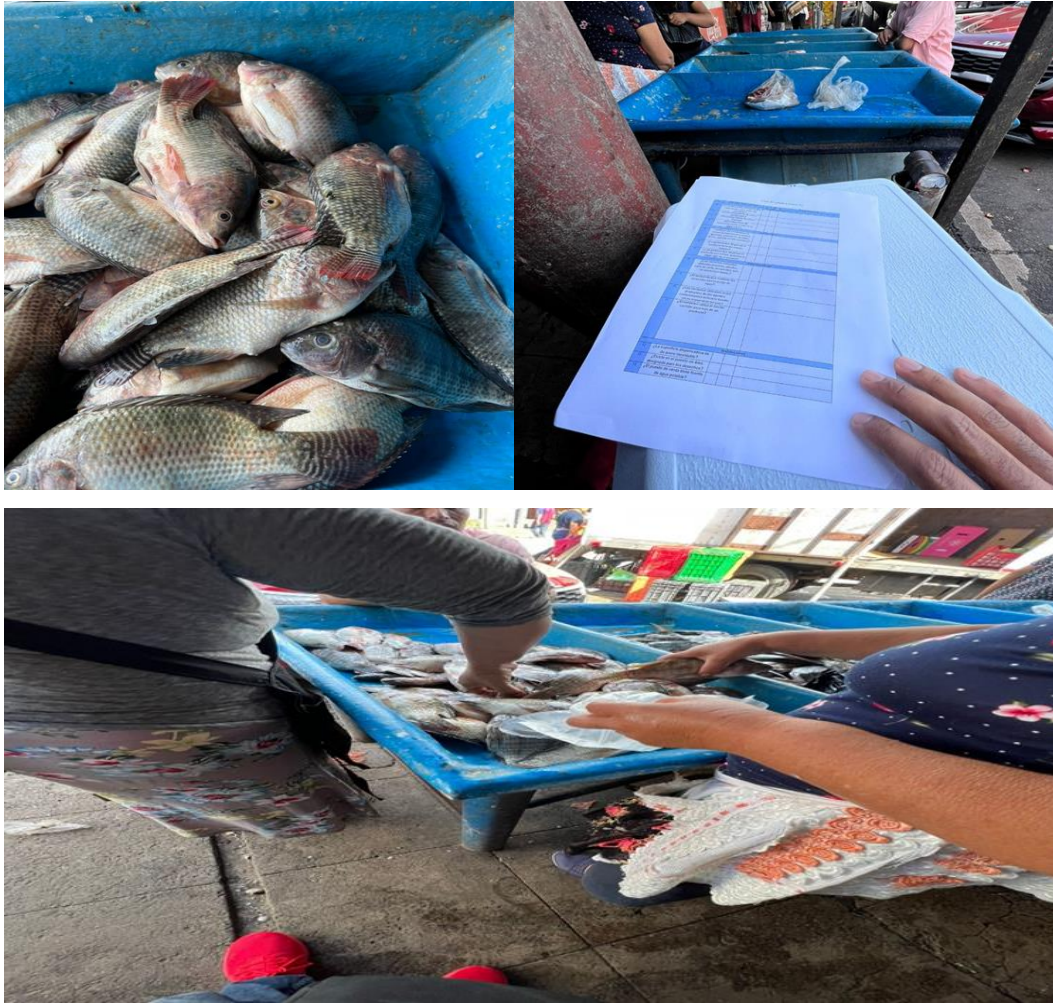


Figura N° 32: Condiciones de almacenamiento y dispensación de tilapia

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 15
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



Figura N° 33: Procesamiento de las muestras en el laboratorio de CENSALUD de la Universidad de El Salvador.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 16

MUESTRAS CON FLUORESCENCIA POSITIVA EN MEDIO VRBA MUG BAJO
CÁMARA DE LUZ UV

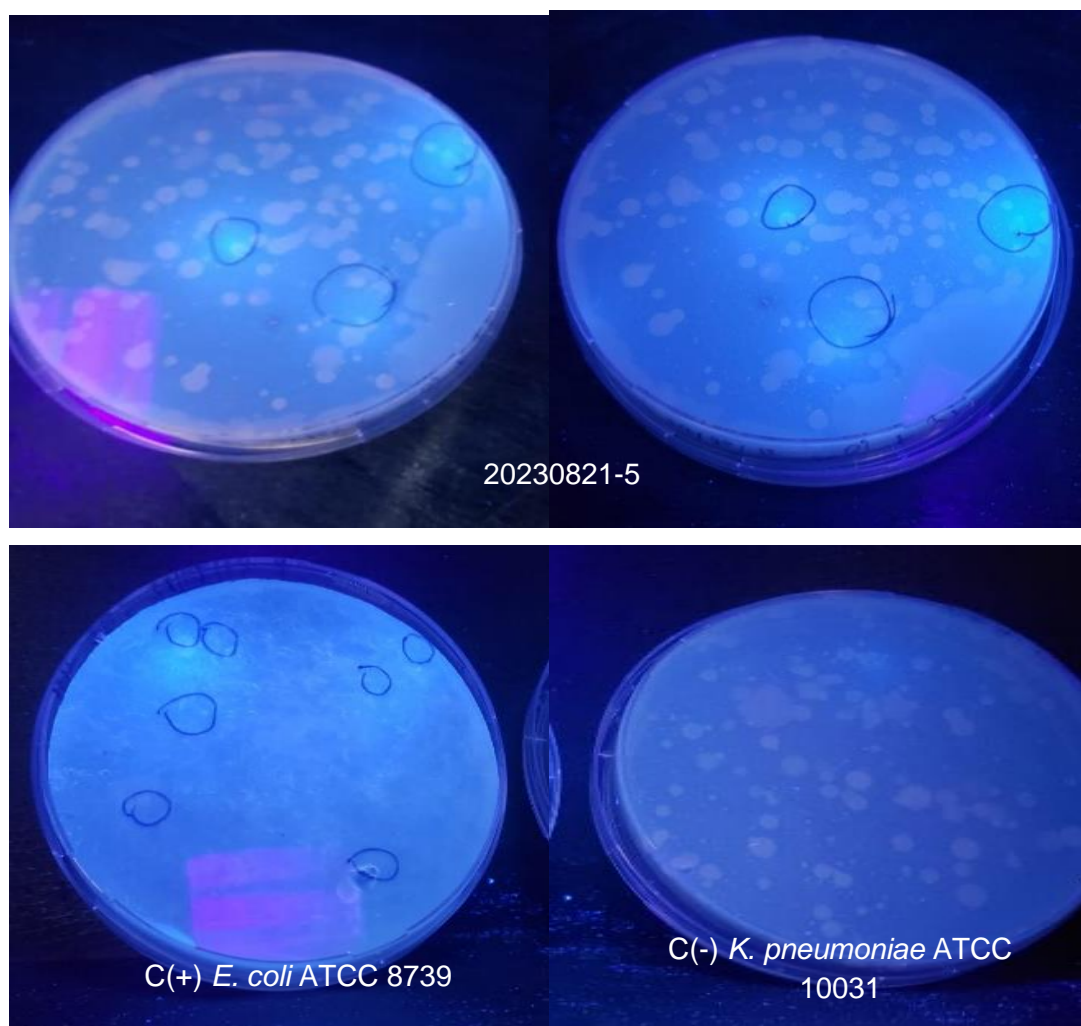


Figura N° 34: Muestra 20230821-5 con fluorescencia positiva en medio VRBA-MUG, C(+) *E. coli* ATCC 8739 Y C(-) *K. pneumoniae* ATCC 10031.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°17

TUBOS CON CRECIMIENTO BACTERIANO EN CALDO EC, FORMANDO TURBIDEZ Y GAS.

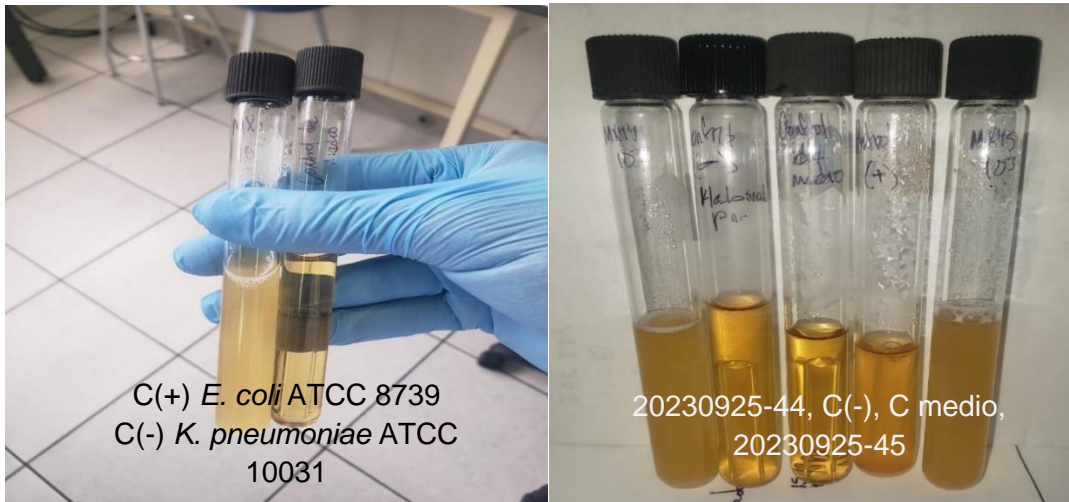


Figura N° 35: C(+) *E. coli* ATCC 8739, C(-) *K. pneumoniae* ATCC 10031, muestras 20230925-44, 20230925-45 positivas y C medio en caldo EC.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°18

MUESTRAS CON CARACTERÍSTICAS DE *E. COLI* EN AGAR EMB

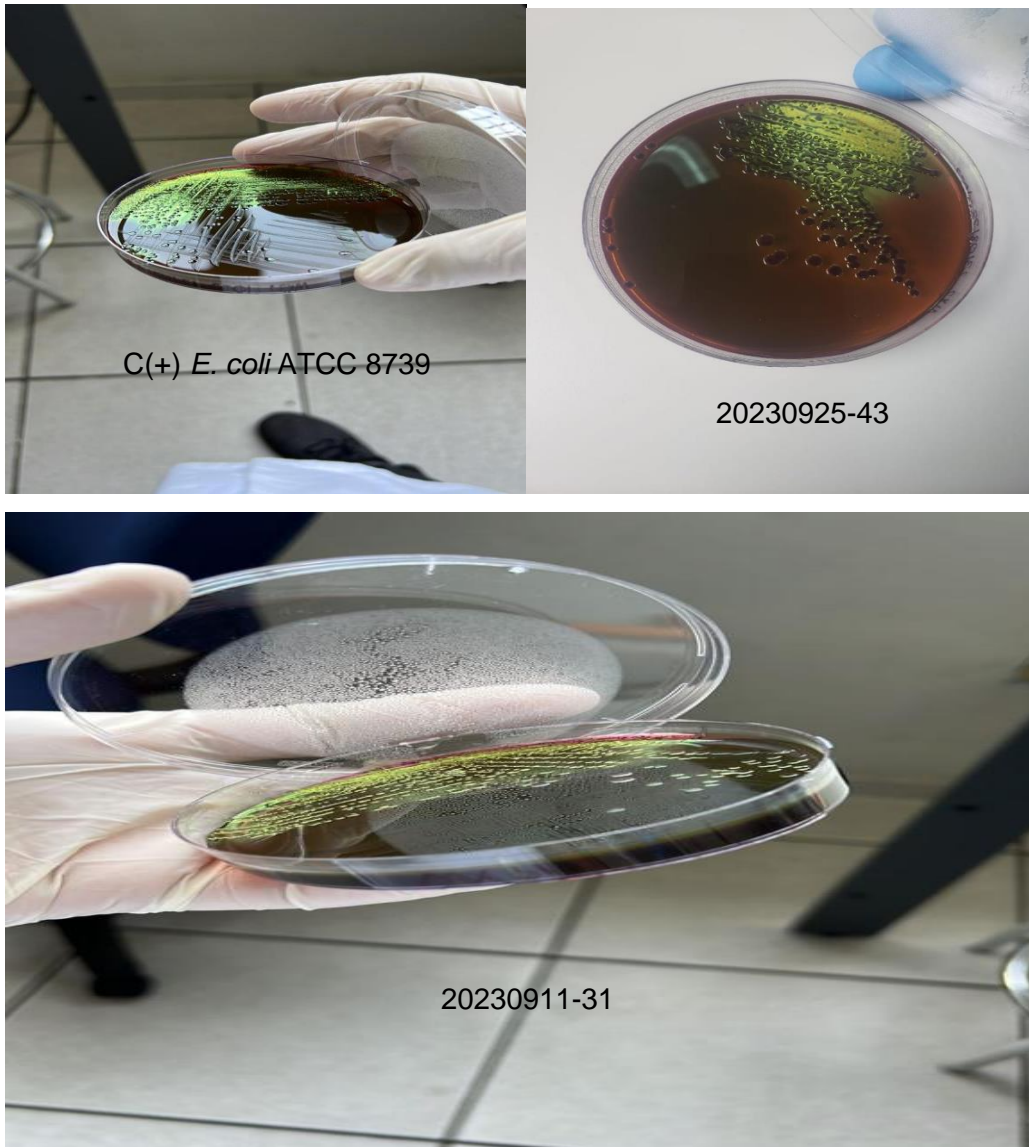


Figura N° 36: C(+) *E. coli* ATCC 8739, muestra 20230925-43 y 20230911-31 positiva en medio EMB.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 19
APLICACIÓN DE GALERÍAS API 20E A LAS MUESTRAS



Figura N°37: Aplicación de galerías API 20E a las muestras 20230821-01, 20230821-02, 20230821-04, 20230821-05

Fuente: Elaboración propia



Figura N°38: Aplicación de galerías API 20E a las muestras 20230821-06, 20230821-09, 20230911-31, 20230911-32

Fuente: Elaboración propia



Figura N°39: Aplicación de galerías API 20E a las muestras 20230911-36, 20230911-37, 20230925-41, 20230925-42

Fuente: Elaboración propia



Figura N°40: Aplicación de galerías API 20E a las muestras 20230925-43, 20230925-44, 20230925-45, C(+) *E. coli* ATCC 8739

Fuente: Elaboración propia



Figura N°41: Aplicación de galerías API 20E a control negativo *K. pneumoniae* ATCC 10031

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 20

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS PARA *E. COLI* UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS SELECTIVOS Y NO SELECTIVOS.



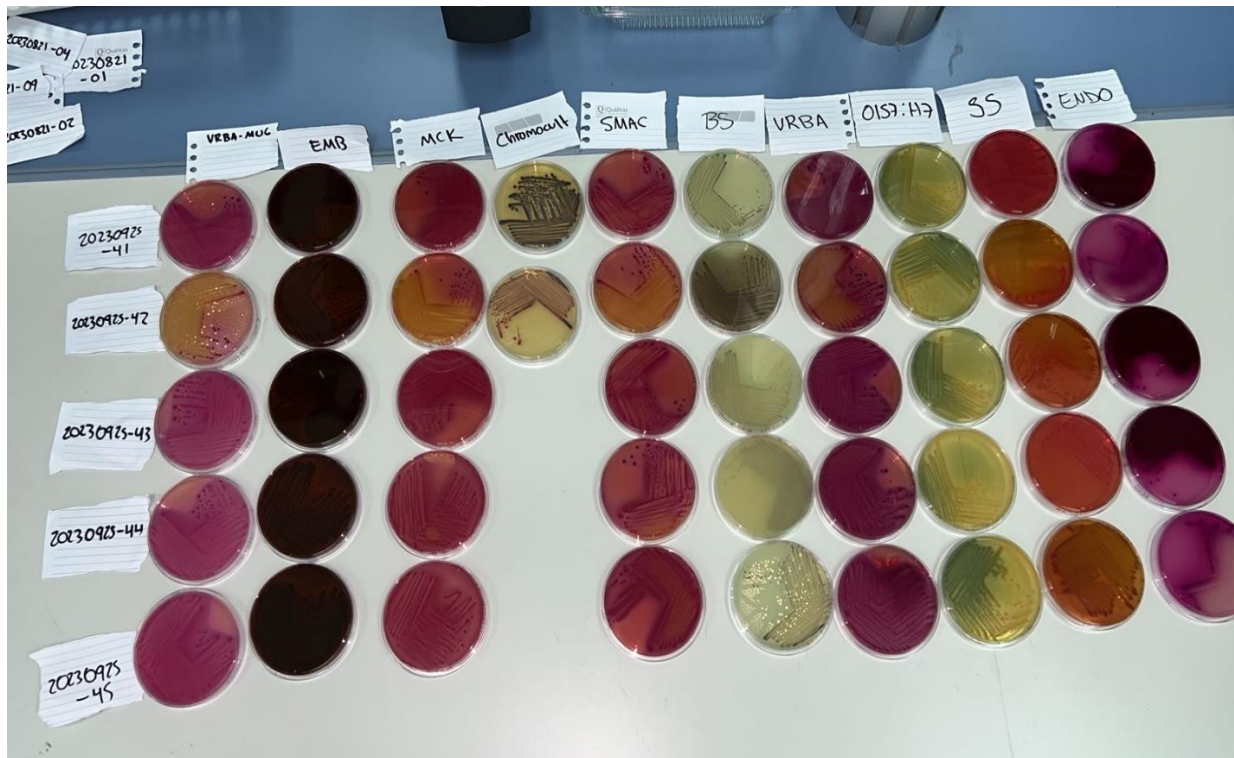


Figura N° 42: Diferentes medios target y no targets utilizados en la prueba complementaria de *E. coli* y el crecimiento de esta en dichos medios

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 43: Procesamiento de las muestras en la prueba complementaria para *E. coli*, equipo de trabajo.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 21
LISTAS DE COTEJO UTILIZADA EN MUESTREO EN LOS DIFERENTES
MERCADOS



LISTA DE COTEJO O CHECK LIST

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Mercado: La Tiendona
Recolector: Carlos Sotano
Fecha de visita: 28/08/23

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?		X	-
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?		X	-
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?		X	-
4	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?		X	-
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria basica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?		X	-
6	¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?		X	-
7	¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	X		-
Materia y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?		X	-
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?		X	-
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?	X		-
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?		X	-

		Instalaciones		
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?		X	-
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?		X	-
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?		X	-
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?		X	-
		Dispensación del product		
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	X		-
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?		X	-
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	X		-

Figura N° 44: Lista de cotejo aplicada en Mercado La Tiendona

Fuente: Elaboración propia



LISTA DE COTEJO O CHECK LIST

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Mercado: Cutral
Recolector: Oscar Rodriguez
Fecha de visita: 28/08/23

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?	X		
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?		X	
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?	X		
4	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?	X		
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria basica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?		X	
6	¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?		X	
7	¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	X		
Material y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?		X	
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?	X		
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?		X	
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?		X	

Instalaciones				
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?		X	
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?		X	
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?		X	
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?		X	
Dispensación del product				
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	X		
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?		X	
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	X		

Figura N° 45: Lista de cotejo aplicada en Mercado Central

Fuente: Elaboración propia



LISTA DE COTEJO O CHECK LIST

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Mercado: San Miguelito
Recolector: Oscoz Rodriguez
Fecha de visita: 11/07/23

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?		X	
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?		X	
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?		X	
4	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?		X	
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria basica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?		X	
6	¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?		X	
7	¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?		X	
Materia y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?		X	
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?		X	
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?		X	
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?		X	

Instalaciones			
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?		X
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?		X
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?		X
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?	X	
Dispensación del product			
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	X	
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?		X
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	X	

Figura N° 46: Lista de cotejo aplicada en Mercado San Miguelito

Fuente: Elaboración propia



LISTA DE COTEJO O CHECK LIST
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Mercado: Tinetti
Recolector: Oscaz Rodriguez
Fecha de visita: 23/09/23

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?		X	
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?		X	
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?		X	
4	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?		X	
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria basica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?		X	
6	¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?		X	
7	¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	X		
Material y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?		X	
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?		X	
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?		X	
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?		X	

Instalaciones			
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?		X
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?		X
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?	X	
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?		X
Dispensación del product			
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	X	
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?		X
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	X	

Figura N° 47: Lista de cotejo aplicada en Mercado Tinetti

Fuente: Elaboración propia



LISTA DE COTEJO O CHECK LIST
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Mercado: San Jacinto
Recolector: Osay Rodriguez
Fecha de visita: 22/09/93

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?		X	
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?		X	
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?		X	
	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?		X	
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria basica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?		X	
6	¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?		X	
7	¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	X		
Material y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?		X	
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?		X	
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?		X	
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?		X	

Instalaciones			
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?		X
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?		X
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?		X
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?		X
Dispensación del product			
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	X	
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?		X
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	X	

Figura N° 48: Lista de cotejo aplicada en Mercado San Jacinto

Fuente: Elaboración propia



LISTA DE COTEJO O CHECK LIST

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Mercado: Monserrat
Recolector: Catius Salano
Fecha de visita: 25/09/23

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NO	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?		X	-
	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?		X	-
	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?		X	-
	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?		X	-
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria basica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?		X	-
6	¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?		X	-
7	¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	X		-
Material y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?		X	-
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?		X	-
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?		X	-
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?		X	-

Instalaciones				
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?		X	—
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?		X	—
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?		X	—
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?		X	—
Dispensación del product				
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	X		—
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?		X	—
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	X		—

Figura N° 49: Lista de cotejo aplicada en Mercado Monserrat

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°22

MORFOLOGÍA DE LAS MUESTRAS BAJO EL MICROSCOPIO CON TINCIÓN DE GRAM

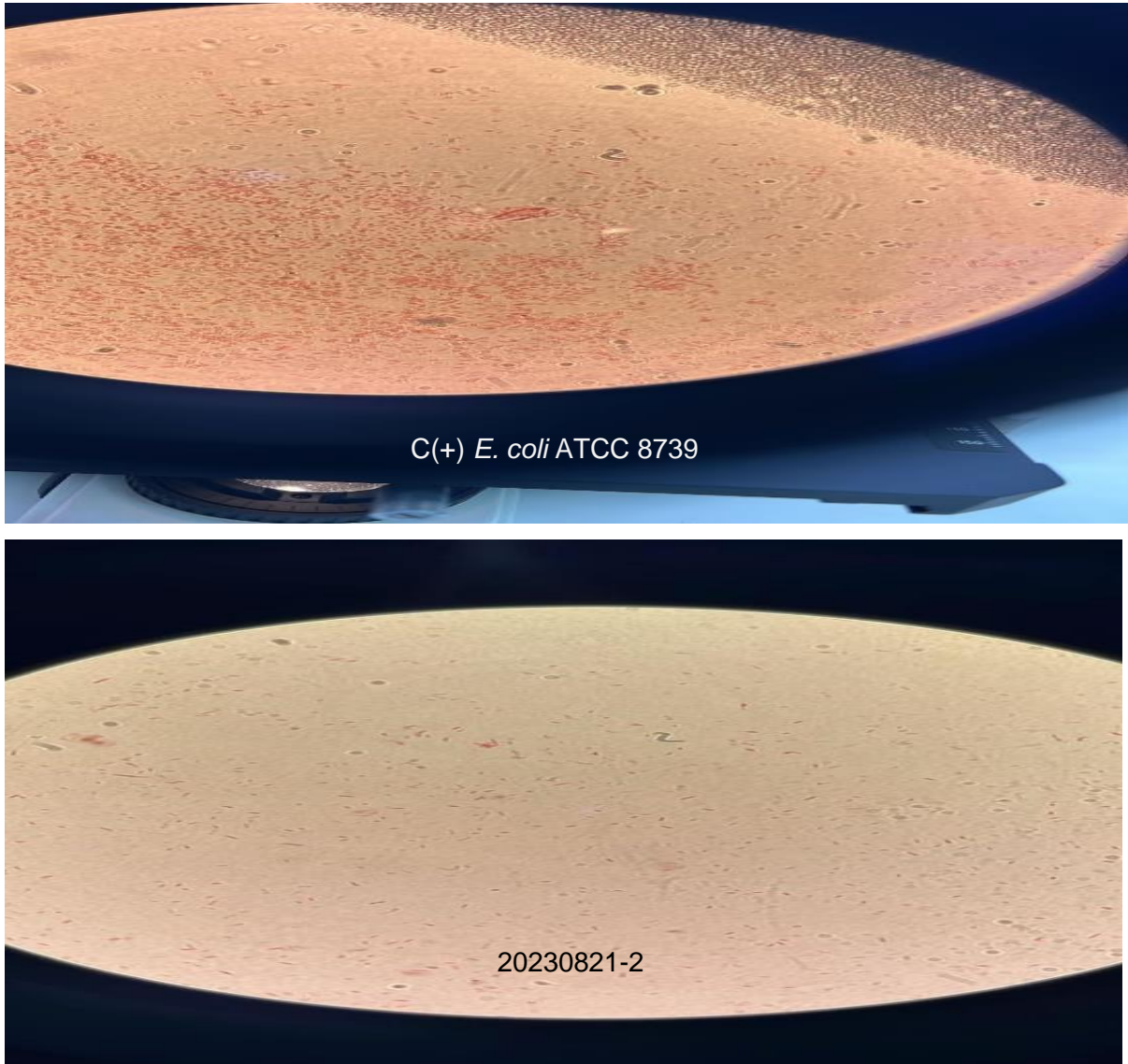


Figura N° 50: Fotografías de tinción de Gram al objetivo de 100X del control positivo *E. coli* ATCC 8739 y la muestra 20230821-02

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°23
**BITÁCORA PARA LA CARACTERIZACIÓN DE *E. COLI* EN MEDIOS DE
CULTIVO SELECTIVOS Y NO SELECTIVOS**



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



**Bitácora para la caracterización de
E. coli en medios de cultivo SELECTIVOS y NO
SELECTIVOS**

DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli*
EN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)
COMERCIALIZADA EN MERCADOS
DEL MUNICIPIO DE SAN SALVADOR

Código de muestra	20230821-01
Fecha inicial de análisis	02/10/23
Fecha final de análisis	04/10/23
Analista	Oscar
Fecha de inoculación	03/10/23
Fecha de lectura	04/10/23

Medio de preenriquecimiento: Agua Peptonada Buferada

Medios Selectivos

Medio	Resultado esperado	Resultado obtenido	Observaciones
EMB	Violeta, brillo metálico	Violeta, brillo metálico	
CHROMOCULT	Azul oscuro	Azul oscuro	
SMAC	Incoloro-rojo	Incoloro-rojo	
ENDO	Rojo brillo metálico	Rojo brillo metálico	
MACCONKEY	Rojo	Rojo	
VRB	Rojo	Rojo	
E.COLI O157:H7	Incoloro amarillo	Incoloro amarillo	
VRBA-MUG	Roja fluorescencia	Roja fluorescencia	

Caldos (Selectivos)

MEDIO	Resultado esperado	Resultado obtenido	Observaciones
LMX	Azul Fluorescencia	Azul fluorescencia	
EC	Gas Turbidez	Gas Turbidez	

Medios No Selectivos

MEDIO	Resultado esperado	Resultado obtenido	Observaciones
BS	Café verde	Café verde	
SS	Rosado rojo	Rosado rojo	

Figura N° 51: Bitácora para la caracterización de *E. coli* en medios de cultivo selectivos y no selectivos

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°24

UBICACIÓN GEOGRÁFICA E IMAGEN DEL RECINTO.

Tabla N°6: Ubicación de los mercados

MERCADO	DIRECCIÓN
Mercado la Tiendona	PR2C+C7M, 24a Avenida Nte., San Salvador
Mercado Central	7a Avenida Sur final, San Salvador
Mercado San Miguelito	S.S, Av. España, San Salvador
Mercado Tinetti	MRW8+XCG, Calle Delgado, San Salvador
Mercado San Jacinto	Avenida Cuba, Barrio San Jacinto
Mercado Monserrat	MQMP+82H, Pje Pamplona, San Salvador

Fuente: Elaboración propia

Mercado la Tiendona:



Figura N° 52 y 53: Ubicación geográfica y aspecto del mercado.

Mercado Central

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 54 y 55: Ubicación geográfica y aspecto del mercado.

Fuente: Elaboración propia

Mercado Tinetti:



Figura N° 56 y 57: Ubicación geográfica y aspecto del mercado.

Fuente: Elaboración propia

Mercado San Jacinto



Figura N° 58 y 59: Ubicación geográfica y aspecto del mercado.

Fuente: Elaboración propia

Mercado Monserrat.



Figura N° 60 y 61: Ubicación geográfica y aspecto del mercado.

Fuente: Elaboración propia

Mercado San Miguelito:



Figura N° 62 y 63: Ubicación geográfica y aspecto del mercado.

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°25

FICHAS TÉCNICAS DE MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS



E.M.B. LEVINE AGAR

Selective medium for isolation of enteric Gram Negative bacteria

TYPICAL FORMULA (g/l)

Peptone.....	10.0
Lactose.....	10.0
Potassium phosphate.....	2.0
Eosine Y.....	0.4
Methylene blue	0.065
Agar.....	14.0

pH = 7,1 ± 0,2

DESCRIPTION

E.M.B. LEVINE AGAR is a selective medium for isolation of enteric Gram Negative bacteria.

PRINCIPLE

Eosin and methylene blue, contained in the medium, inhibit the growth of Gram positive bacteria. The good correlation between the two dyes permits to discriminate between *Enterobacteriaceae* lactose fermenting and non fermenting on the basis of microorganism ability to adsorb dye.

TECHNIQUE

Inoculate the faecal sample or rectal swab onto a small area of a plate and streak for isolation. Incubate at 36±1°C for 18-24 hours and examine colonies with morphology associate to potential pathogens.

INTERPRETATION of RESULTS

The coliforms, lactose-fermenting microorganisms, cultivate with blue/black colonies with a black centre and a metallic sheen; other coliforms, as *Enterobacter*, cultivate with pink and mucoid colonies. *Salmonella* and *Shigella*, non lactose fermenting, appear colorless, transparent or amber colour. Strains as *Enterococcus faecalis* are partly inhibited and appear as colorless colonies.

STORAGE

10-25°C away from light, until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING and PRECAUTIONS

The product is not classified as hazardous by current legislation. It is nevertheless recommended that the Safety Data Sheet be consulted on its correct use. The product is designed for *In vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL of WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

REFERENCES

- Levine, M.M., (1918). Differentiation of *E. coli* and *B. aerogenes* on a simplified Eosin-Methylene Blue Agar. *J. Infect. Dis.* **23**:43.
- Holt-Harris, J.E., and O. Teague. (1916). A new culture medium for isolation of *Bacillus typhosa* from stools. *J. Infect. Dis.* **18**: 596-600.



Liofilchem s.r.l. Bacteriology Products

Via Scozia-Zona industriale - 64026 Roseto degli Abruzzi Tel. +39.085.8930745 - Fax +39.085.8930330
Web site: <http://www.liofilchem.net> E-mail: liofilchem@liofilchem.net



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

E.M.B. LEVINE AGAR

PRESENTATION

Ready plates (90 mm) containing 20+/-1 ml of medium.

STORAGE

10-25°C

PACKAGING

Code	Content	Packaging
10048	20 plates	<ul style="list-style-type: none">• 5 plates in thermically soldered film• 4 x 5 plates in cardboard boxes
10048*	100 plates	<ul style="list-style-type: none">• 5 plates in thermically soldered film• 2 x 5 plates in thermically soldered bag• 10 piles (2 x 5 ps) in box

pH OF THE MEDIUM

7,1 +/- 0,2

USE

E.M.B. LEVINE AGAR is a selective medium for isolation of enteric Gram Negative bacteria.

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product.

APPEARANCE of the MEDIUM

Purple Medium, slightly opalescent with precipitate orange-greenish colour..

SHELF LIFE

6 months.

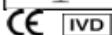
QUALITY CONTROL

1. Control of general characteristics, label and print
2. Sterility control
7 days at 25 ± 1°C, in aerobiosis
7 days at 36 ± 1°C, in aerobiosis
3. Microbiological control
Inoculum for productivity: 10-100 UFC/ml
Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁹ UFC/ml
Inoculum for specificity: ≤ 10⁴ UFC/ml
Incubation conditions: 18-24 h at 36 ± 1°C

Microorganism	ATCC	Growth	Characteristics
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	Partial inhibition	Colorless colonies
<i>Escherichia coli</i>	25922	Good	Blue /black colonies with black centres and metallic sheen
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Good	Colorless colonies

TABLE of SYMBOLS

Symbol	Meanings
	In vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Catalogue number
	Use by
	Temperature limitation
	Do not reuse
	Contains sufficient for <n> tests
	Consult accompanying documents
	Batch code
	Fragile, handle with care



Liofilchem s.r.l Bacteriology Products

Via Scozia-Zona industriale - 64026 Roseto degli Abruzzi Tel. +39.085.8930745 - Fax +39.085.8930330
Web site: <http://www.liofilchem.net> E-mail: liofilchem@liofilchem.net



Violet Red Bile Agar MUG

Medio para la detección de *Escherichia coli* y coliformes totales en agua, alimentos y derivados lácteos.

FÓRMULA	(g/l)
Peptona	7.0
Lactosa	10.0
Cloruro Sódico	5.0
Extracto de Levadura	3.0
Sal de bilis Número 3	1.5
Violeta de cristal	0.002
Rojo neutro	0.03
MUG	0.1
Agar	15.0
pH final 7.4 ± 0.2 a 25°C	

DESCRIPCIÓN

Violet Red Bile Agar MUG es un medio utilizado para la detección de organismos coliformes y para la detección fluorogénica de *E. coli*.

PRINCIPIO

La Peptona proporciona nitrógeno, carbono, minerales y otros componentes necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La Lactosa es la fuente de energía. El extracto de Levadura sirve como fuente de vitaminas, especialmente de vitaminas hidrosolubles del grupo B. La mezcla de sales de bilis y el violeta de cristal inhiben a las bacterias Gram-positivas. El rojo neutro es el indicador de pH. El MUG (4-metilumbeliferil-β-D-glucuronido) es un sustrato para la detección de la actividad de la glucuronidasa. El Agar es el agente solidificante.

PREPARACIÓN

Suspender 41,6 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición (un sobrecalentamiento) removiendo frecuentemente hasta la completa disolución

NO AUTOCLAVAR. Enfriar hasta 45-50°C. Dispensar asepticamente en placas Petri

TÉCNICA

Inocular e incubar las placas a 35 ± 2°C durante 22-26 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los microorganismos fermentantes de la Lactosa producen colonias rojo-rosáceas rodeadas normalmente de una zona roja de precipitado de bilis. Los microorganismos no fermentantes de la Lactosa producen colonias incoloras. Las cepas Beta-glucuronidasa positivas de *E. coli* se muestran con halos fluorescentes cuando se controlan bajo una luz UV.

ALMACENAMIENTO

El polvo deshidratado es muy higroscópico, almacenar a 10-30°C, en un entorno seco, en su frasco original correctamente cerrado. Almacenar el material preparado a 2-8°C fuera del contacto de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto no contiene sustancias peligrosas en concentraciones que excedan los límites fijados por la legislación actual y no está clasificado como peligroso. Se recomienda de todas formas la lectura de la hoja de seguridad para el uso apropiado. El producto está pensado para un uso exclusivo profesional y debe ser utilizado sólo por operadores debidamente adiestrados.

DESECHO DE RESÍDUOS

El desecho de los residuos debe realizarse según la regulación nacional y local vigente.

REFERENCIAS

1. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, APHA, Washington, D.C.
2. APHA Technical Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA, Washington, D.C.
3. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA, Washington, D.C.
4. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. AOAC, Arlington, VA.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



Tryptic Soy Agar

Medio genérico para el cultivo de una amplia variedad de organismos a partir de muestras clínicas o no clínicas según EN ISO 11133.

DESCRIPCIÓN

Tryptic Soy Agar (TSA) es un medio no selectivo utilizado para el crecimiento de bacterias que no tienen requisitos nutritivos específicos y para la preparación de copias de referencia con el objetivo de realizar pruebas de crecimiento en medios de cultivo.

Este medio sigue la EN ISO 11133 para el análisis microbiológico de alimentos para humanos o animales y agua, donde se describe como el principal medio para realizar pruebas cuantitativas y cualitativas de medios de cultivo específicos.

Tryptic Soy Agar también es recomendado en los capítulos armonizados de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), Farmacopea Europea (EP) y Farmacopea Japonesa (JP). Para el uso en la Industria Farmacéutica, Liofilchem ofrece productos que tienen la misma composición que la TSA descrita en el estándar ISO, pero que se han controlado específicamente según los requisitos de rendimiento de la Farmacopea. **Consultar la Ficha Técnica disponible para el producto con número de catálogo 100375.**

FÓRMULA

	(g/l)
Peptona de Caseína	15.0
Peptona de Soja	5.0
Cloruro Sódico	5.0
Agar	15.0

pH final 7.3 a 0.2 a 25°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La peptona de caseína y la peptona de soja suministran los aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico del medio. El agar es el agente solidificante.

A este medio se le pueden añadir suplementos con sangre para el crecimiento de organismos exigentes y el estudio de reacciones hemolíticas.

PREPARACIÓN

<u>Medio deshidratado</u>	Suspender 40g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Si lo desea, añada la cantidad necesaria de sangre defibrinada estéril para preparar agar sangre al 5 o 10%.
<u>Medio en botellas/botellas</u>	Disolver el contenido de la botella en un baño con agua a 100°C (con el tapón ligeramente desenroscado) hasta su completa disolución. Comprobar la homogeneidad del medio disuelto, gire la botella si es necesario para ayudar a la homogeneización. Enfría a 45-50°C, mezclar bien evitando la formación de burbujas y distribuir en placas Petri de forma aseptica.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

Realizar diluciones en serie de la muestra a analizar hasta conseguir un recuento microbiano de entre 15 y 300 colonias por placa. Utilizar un diluyente adecuado como Buffered Peptone Water (ref. 24099) o Maximum Recovery Broth (ref. 20071).

Inocular el medio vertiendo la muestra, por estración/extensión o con el método de filtración por membrana.

Las condiciones de incubación pueden variar dependiendo de los organismos a analizar. Para un recuento total genérico aeróbico, incubar en aerobiosis a 30°C durante 72 horas.

Para utilizar como medio estándar, siga la EN ISO 11133 para instrucciones detalladas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observe el crecimiento de las colonias.

ASPECTO

Medio deshidratado: suelto, homogéneo, beige claro.

Medio preparado: ligeramente opalescente, ámbar claro.

PRESENTACIÓN	Formato	Embalaje	Ref.
Tryptic Soy Agar	Placa 90 mm	20 placas	10037
Tryptic Soy Agar	Placa 90 mm	100 placas	10037*
Tryptic Soy Agar	Placa 60 mm (colocación de membrana)	20 placas	163682 *
Tryptic Soy Agar	Tubos semiteroididos	10 x 9 ml tubos	30082
Tryptic Soy Agar	Tubos semiteroididos	20 x 9 ml tubos	31082
Tryptic Soy Agar	Tubos	100 x 20 ml tubos	26475
Tryptic Soy Agar	Botellas	6 x 500 ml botellas	470010
Tryptic Soy Agar	Botellas	6 x 225 ml botellas	414110 *
Tryptic Soy Agar	Botellas	6 x 200 ml botellas	432290
Tryptic Soy Agar	Botellas	25 x 200 ml botellas	452290
Tryptic Soy Agar	Botellas	6 x 100 ml botellas	442290
Tryptic Soy Agar	Medios deshidratados	500 g de polvo	610052
Tryptic Soy Agar	Medios deshidratados	100 g de polvo	620052
Tryptic Soy Agar	Medios deshidratados	5 kg de polvo	6100525

*, no marcado CE

TABLA DE SÍMBOLOS

LOT Código de lote	IVD Diagnosticado in vitro Sistema médico	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
REF Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Controlado estrictamente para su análisis	 Atención, consulte el documento adjunto	 No reutilizar



Liofilchem® s.r.l.

Via Scorta zona ind.le, 64024 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930130 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com



Figura N°64: Fichas técnicas de medios de cultivo utilizados

ANEXO N° 26

**INFORME BRINDADO AL CENTRO DE DESARROLLO DE LA PESCA Y
ACUICULTURA (CENDEPESCA) DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y
GANADERÍA DE EL SALVADOR**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli* EN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)
COMERCIALIZADA EN MERCADOS DEL MUNICIPIO DE SAN SALVADOR.

RESULTADOS A PRESENTAR AL CENTRO DE DESARROLLO DE LA PESCA Y
ACUICULTURA (CENDEPESCA)

REALIZADOS POR:
OSCAR LUIS RODRÍGUEZ AMAYA
CARLOS DANIEL SOLANO VIDAL

JULIO 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

RESUMEN

En el año 2020 la Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) represento el mayor porcentaje de producción y comercialización en pescado de agua dulce. La tilapia forma parte de la dieta de los salvadoreños, ya que es una fuente proteica ideal por su bajo costo de producción y alto nivel nutricional, estas se distribuyen y comercializan en altas cantidades en mercados y supermercados de todo el territorio nacional. En el Área Metropolitana de San Salvador los mercados municipales representan el 29% del comercio total del área y el centro urbano significa el 27% de la población total del país por lo que la cantidad de usuarios que registra estos recintos diariamente es muy grande siendo una problemática debido a que en estos mercados se han mantenido durante años malas prácticas de manipulación, almacenamiento y comercialización de los alimentos, precaria infraestructura que promueve la exposición de los pescados a agentes externos, contaminación cruzada y contaminación por el manipulador dando lugar a la transmisión de patógenos que provocan infecciones gastrointestinales como la *Escherichia coli* que posee una alta incidencia en infecciones intestinales en todos los estratos poblacionales.

Por ello con el propósito de evaluar la inocuidad de la tilapia comercializada en los mercados del municipio de San Salvador y determinar la presencia de *E. coli* como patógeno patrón de contaminación se llevó a cabo un diagnóstico acerca de la aplicación de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de los productos pesqueros a una muestra de puestos de venta utilizando una guía de observación, en los seis mercados muestreados se observaron deficiencias en la aplicación de las buenas prácticas tanto en almacenamiento y distribución lo que va en relación a que en cinco de estos recintos se identificaron patógenos asociados a contaminación fecal en 45 muestras seleccionadas luego de aplicar las técnicas microbiológicas utilizando medios de cultivo selectivos y diferenciales y pruebas bioquímicas con la galería API 20E. *Escherichia coli* en ocho muestras del Mercado La Tiendona, San Miguelito y Tinetti. También fueron identificadas las entidades coliformes de *Serratia odorifera*, *Raoultella ornithinolytica* y *Enterobacter cloacae* en el resto de los mercados menos en el Mercado Central el cual no presento tilapias infectadas

La frecuencia de la presencia de *E. coli* en las 45 muestras seleccionadas oscilo entre las una y cinco muestras infectadas, siendo la semana del 21 al 26 de agosto del 2023 la de mayor frecuencia del patógeno. Ocho muestras se identificaron como *Escherichia coli*, fenotípicamente similares al control positivo a través de pruebas bioquímicas API 20E, representando un 18 por ciento del total de muestras analizadas. Según datos obtenidos en la guía de observación juntamente con los análisis microbiológicos demostraron que las malas

condiciones de almacenamiento e inadecuadas prácticas higiénicas de los manipuladores en algunos establecimientos de los mercados dan origen a fuentes de contaminación, influyendo en que la tilapia no sea un alimento inocuo y apto para consumo humano al ingerirse de manera cruda o poco cocida.

Por lo que se recomienda que se contemple por parte de la alcaldía correspondiente así como del Ministerio de Salud y de Agricultura la concientización a través de capacitaciones a los vendedores y distribuidores de tilapia de los mercados del Municipio de San Salvador acerca de las Buenas Prácticas de Manejo y Aseguramiento de la Calidad de Productos Pesqueros que recomienda el manual del CENDEPESCA del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador; también la Implementación de planes de mejora de las condiciones de infraestructura de los locales donde se almacena y comercializa la tilapia y también monitoreos de vigilancia y evaluación de la calidad de este producto para evitar posibles enfermedades a la salud de la población.

Los resultados obtenidos fueron entregados al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador quienes los utilizarán como referencia y reflejo de la problemática ya que actualmente la información respectiva es escasa. Además, el conocimiento generado puede ser utilizado para la creación de marcos regulatorios o modificaciones de ley que puedan abonar en buscar garantizar la inocuidad de los alimentos.

Lista de cotejo o check list utilizada para la recolección de datos con la inspección visual en el proceso de muestreo en los mercados.

No.	ASPECTOS A EVALUAR	C	NC	COMENTARIOS
Almacenamiento				
1	¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?			
2	¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?			
3	¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?			
4	¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?			
Indumentaria				
5	¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria básica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?			
6	3. ¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?			
7	4. ¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?			
Material y equipo				
8	¿Los utensilios utilizados utilizadas (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?			
9	¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?			
10	¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?			
11	¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?			

Instalaciones				
12	¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?			
13	¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?			
14	¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?			
15	¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?			
Dispensación del producto				
16	¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?			
17	¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?			
18	¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?			

Figura N° 1: Check list para evaluación del grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Almacenamiento y Comercialización de los puestos de venta y sus condiciones higiénicas entre las cuales se comercialice la tilapia específicamente la especie *Oreochromis niloticus*.

Tabla N° 1: Resumen de los resultados obtenidos mediante la guía de observación de los diferentes establecimientos inspeccionados en los mercados seleccionados.

Mercado	LTA		CL		TI		SM		SJ		MT	
N° de establecimientos	4		3		3		3		1		1	
ALMACENAMIENTO												
Parámetro	C	N	C	N	C	N	C	N	C	NC	C	N
		C		C		C		C				C
¿El producto esta almacenado a baja temperatura antes de venderlo?	0	4	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Para almacenarlo se utiliza refrigerador?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Para almacenarlo se utiliza Hielera?	0	4	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
¿La temperatura de almacenamiento es menor o igual a 0°C?	0	4	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
INDUMENTARIA												
¿Utilizan los vendedores al menos la indumentaria básica (guantes, mascarilla, delantal, gorro, zapatos antideslizantes)?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿La persona que dispensa el producto tiene las manos limpias?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Las persona que dispensa el producto usa anillos, pulseras o algún tipo de accesorio?	2	2	3	0	2	1	0	3	1	0	1	0
MATERIAL Y EQUIPO												
¿Los utensilios utilizados (cuchillo, afilador, tabla de corte, recipientes, son de acero inoxidable)?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El recipiente que contiene los pescados posee purga de agua?	4	0	2	1	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Los utensilios utilizados están protegidas de los agentes contaminantes externos cuanto no se encuentran en uso?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El vendedor utiliza el mismo cuchillo para más de un producto?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
INSTALACIONES												
¿La superficie dispensadora es de acero inoxidable?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿Existe en el puesto un área designada para los desechos?	1	3	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El puesto de venta tiene fuente de agua potable?	3	1	0	3	1	2	0	3	0	1	0	1

Tabla N°1: (continuación)

¿El puesto de venta tiene desagüe lejos de los productos?	1	3	0	3	0	3	1	2	0	1	0	1
DISPENSACIÓN DEL PRODUCTO												
¿El pescado se dispensa en bolsas de plástico nuevas?	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1	0
¿Los clientes tienen contacto físico con el pescado antes de comprarlo?	0	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1
¿El vendedor presenta algún síntoma visible de alguna enfermedad contagiosa?	4	0	3	0	3	0	3	0	1	0	1	0

Nota: Casilla de color rojo, representa los parámetros incumplidos.

Casilla de color verde, representa los parámetros cumplidos

Las abreviaciones arriba escritas representan los distintos mercados en donde fueron obtenidos los datos, y se lee de la siguiente manera.

LTA: La Tiendona

CL: Central

TI: Tinetti

SM: San Miguelito

SJ: San Jacinto

MT: Monserrat

Además de las abreviaciones:

C: “cumple”

NC: “no cumple”

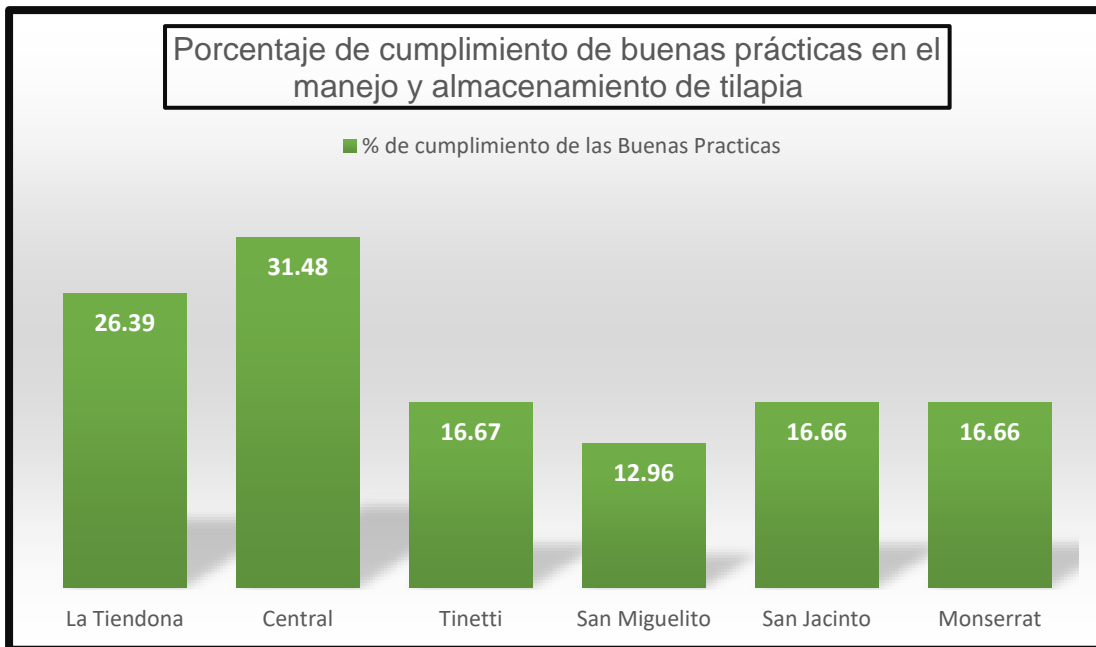


Figura N°2: Gráfico de porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia por mercado

Tabla N° 2: Recuentos de colonias con producción de fluorescencia a la exposición de la luz UV en el medio VRBA-MUG, calculo para un gramo de muestra y su comparación frente al límite permisible del RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.

Muestras	Recuento de colonias con producción de fluorescencia
Especificación RTCA	10 ² UFC/g
20230821-1	4.0x10 ⁰ UFC/g
20230821-2	3.1x10 ¹ UFC/g
20230821-4	1.8x10 ¹ UFC/g
20230821-5	1.7x10 ¹ UFC/g
20230821-6	1.0x10 ¹ UFC/g
20230821-9	3.0x10 ¹ UFC/g
20230911-31	2.7x10 ¹ UFC/g
20230911-32	9.2x10 ¹ UFC/g
20230911-36	1.0x10 ² UFC/g
20230911-37	7.2x10 ¹ UFC/g
20230925-41	5.6x10 ¹ UFC/g
20230925-42	5.6x10 ¹ UFC/g
20230925-43	5.2x10 ⁰ UFC/g
20230925-44	5.2x10 ¹ UFC/g
20230925-45	1.2x10 ² UFC/g

Nota: Casilla de color rojo, representa las muestras que sobrepasan las concentraciones permisibles del reglamento

Casilla de color verde, representa las muestras con recuentos de *E.coli* por debajo del límite del reglamento.

Tabla N°3: Resultados obtenidos en la identificación con API 20E

MUESTRA /CÓDIGO	MERCADO	BIONUMERO	% DE SIMILITUD	PATÓGENO
20230821-01	La Tiendona	5046553	99.4	<i>Serratia odorifera</i>
20230821-02	La Tiendona	5044553	99.6	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-04	La Tiendona	5144552	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-05	La Tiendona	5144552	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-06	La Tiendona	5044553	94.7	<i>Escherichia coli.</i>
20230821-09	La Tiendona	5144553	66.7	<i>Escherichia coli.</i>
20230911-31	San miguelito	7345573	56.4	<i>Enterobacter cloacae</i>
20230911-32	San miguelito	5146572	87.7	<i>Escherichia coli.</i>
20230911-36	Tinetti	5346553	98.7	<i>Serratia odorifera</i>
20230911-37	Tinetti	5346573	99.6	<i>Serratia odorifera</i>
20230925-41	Tinetti	5044572	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230925-42	Tinetti	5044572	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
20230925-43	Tinetti	5345773	92	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
20230925-44	San Jacinto	7345773	90.5	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
20230925-45	Monserrat	5345773	92	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
C(+) <i>E. coli</i> ATCC 8739	-	5044553	99.9	<i>Escherichia coli.</i>
C(-) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	1005773	99.9	<i>Klebsiella pneumoneae</i>

Nota: *Escherichia coli* está representada con el color verde, *Serratia odorifera* en color amarillo, *Raoultella ornithinolytica* con color rojo, *Enterobacter cloacae* con color azul, *Klebsiella pneumoneae* con color aqua

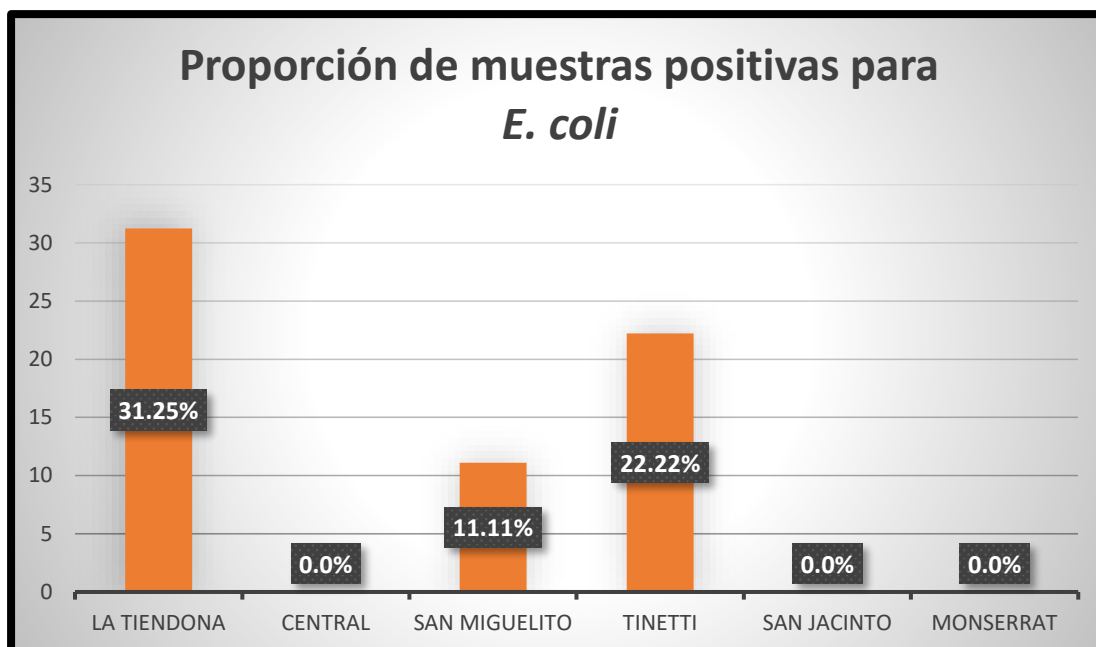


Figura N°2: Porcentaje de muestras positivas de *E. coli* frente al total de muestras por mercado.

Tabla N° 4: Frecuencia relativa porcentual de la presencia de *E. coli* en tilapia por período de tiempo

Semana	1	2	3	4	5
Período	21/08/23 26/08/23	28/08/23 02/09/23	04/09/23 09/09/23	11/09/23 16/09/23	25/09/23 30/09/23
N° de muestras positivas	5	0	0	1	2
Códigos de las muestras positivas	20230821-02 20230821-04 20230821-05 20230821-06 20230821-09			20230911-32	20230925-41 20230925-42
F _r porcentual por Semana	50 %	0 %	0 %	10 %	40 %

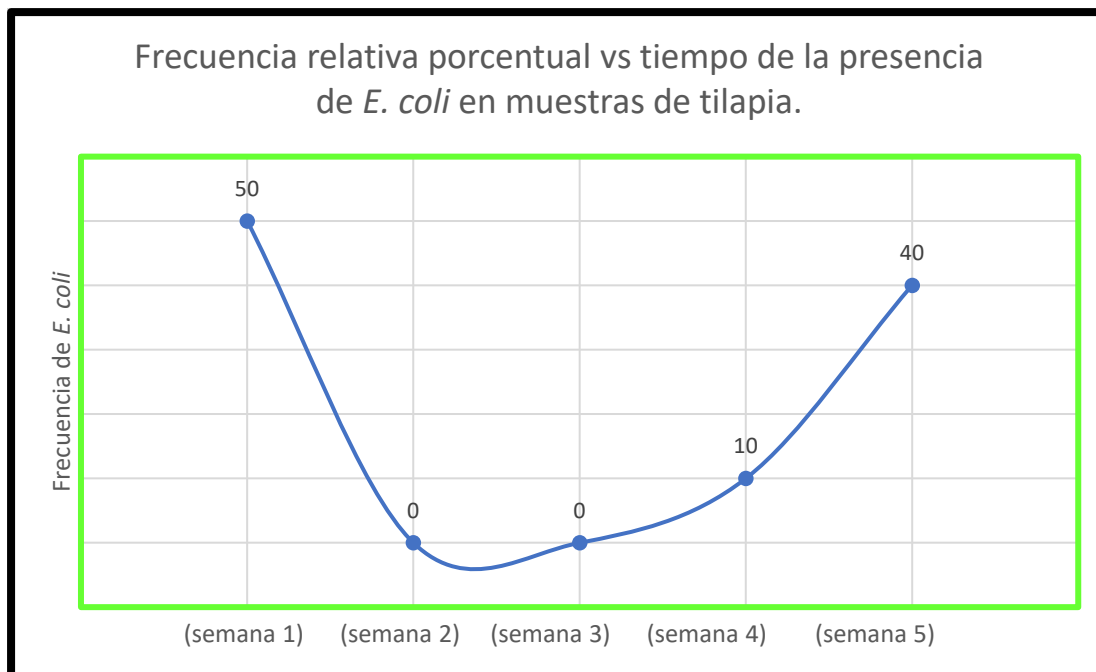


Figura N°3: Gráfico de frecuencia relativa porcentual comparada con el tiempo en semanas de análisis de la presencia de *E. coli* en las muestras seleccionada

CONCLUSIONES

- 1- Con la guía de observación del grado de cumplimiento de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) se determinó que ninguno de los mercados en estudio cumplió con la totalidad o el 100 % de los parámetros evaluados como lo fueron aspectos como: El almacenamiento, indumentaria, materiales y equipos, instalaciones, dispensación. Como consecuencia de ello se produce un aumento de carga bacteriana en la tilapia que se comercializa convirtiéndose en un peligro para los consumidores.
- 2- Se aislaron y se identificaron presuntamente colonias de *Escherichia coli* en quince de cuarenta y cinco muestras de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*), fenotípicamente similares al control positivo de *Escherichia coli* atcc 8739 en los recuentos en AGAR VRBA MUG, agar EMB, medios de cultivos selectivos y diferenciales y tinción al gram.
- 3- De un total de cuarenta y cinco muestras de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) analizadas, ocho se identificaron como *Escherichia coli*, fenotípicamente similares al control positivo a través de pruebas bioquímicas API 20E, representando un 18 por ciento del total de muestras analizadas.
- 4- Se identificó la presencia de otros patógenos presentes en siete muestras de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) a través de la galería API 20E como son: *S. odorifera* en tres muestras, *R. ornitholytica* en tres muestras y *E. cloacae* en una muestra, todas estas representando el dieciséis por ciento del total de las muestras analizadas en la investigación.
- 5- Según datos obtenidos en la guía de observación juntamente con los análisis microbiológicos demuestran que las malas condiciones de almacenamiento e inadecuadas prácticas higiénicas de los manipuladores en algunos establecimientos de los mercados dan origen a fuentes de contaminación, influyendo en que la tilapia no sea un alimento inocuo y apto para consumo humano al ingerirse de manera cruda o poco cocida. A pesar de que los recuentos de *E. coli* no excedan los límites permisibles del RTCA 67.04.50:08 excepto 20230925-45 las muestras presentan diversos patógenos coliformes capaces de provocar infecciones gastrointestinales.

- 6- El mercado la Tiendona fue el que dentro de sus locales o establecimientos de venta de tilapia presentó mayor contaminación con *Escherichia coli* en las muestras analizadas representado por un once por ciento del total de las muestras analizadas en la investigación.

- 7- El mercado que aparentemente cumplió con más requisitos según lo establecido en la guía de observación del grado de cumplimiento de las buenas prácticas en el manejo y almacenamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) fue el Mercado Central, ya que aunque este no cumplió con la totalidad de los requerimientos, pudo observarse una mejor higiene y orden respecto al almacenamiento, indumentaria del personal, materiales y equipos, instrumentos y dispensación del producto a comparación de los otros mercados evaluados, por tal razón puede observarse que ninguna de las muestras analizadas de este mercado resulto contaminada con ningún patógeno.

- 8- En las cinco semanas de recolección y análisis microbiológico de las muestras, se observó que en la semana uno que va del veintiuno al veintiséis de agosto del dos mil veintitrés se presentó la mayor frecuencia relativa porcentual de la presencia de *Escherichia coli*, periodo de tiempo donde se evaluó el Mercado La Tiendona, este aumento en la frecuencia está relacionado directamente con las malas condiciones y deficiente higiene en los cuales se almacena y manipulan los productos pesqueros en este mercado, su exposición al ambiente y contaminantes externos, contacto con los clientes y presencia de desechos en la cercanías del producto.

RECOMENDACIONES

Al Ministerio de Salud de El Salvador, a la Alcaldía de San Salvador, Defensoría del Consumidor:

- 1- Contemplar la implementación de concientización a través de capacitaciones informativas utilizando material didáctico y contenido audiovisual a los vendedores y distribuidores de tilapia de los mercados del Municipio de San Salvador acerca de las Buenas Prácticas de Manejo y Aseguramiento de la Calidad de Productos Pesqueros que recomienda el manual del CENDEPESCA del Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador.
- 2- Implementar un plan de mejora de las condiciones de infraestructura de los locales donde se almacena y comercializa la tilapia desde la organización estratégica de los puestos de venta en el edificio clasificando zonas dedicadas dependiendo el producto comercializado, designar un área para los desechos y proporcionar a todos los puestos de venta el acceso al agua potable para así reducir el riesgo de fuentes de contaminación al producto.
- 3- Establecer de manera periódica monitoreos de vigilancia y evaluación de la calidad de este producto para evitar posibles enfermedades a la salud de la población.
- 4- Seguir implementando programas de educación para la buena preparación y cocción de tilapia para evitar enfermedades provocadas por este patógeno.