

UES BIBLIOTECA CENTRAL
INVENTARIO: 10118075

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA
LABORATORIO CLINICO



**"ESTUDIO PARASITOLOGICO EN REFRESCOS DE
VENTAS AMBULANTES QUE SE EXPENDEN EN LA
CIUDAD DE SAN SALVADOR"**

SEMINARIO DE GRADUACION

PRESENTADA POR:

**LILIAN ELIZABETH FLORES
LINA GUADALUPE DE LA CRUZ AMAYA**

PREVIA OPCION AL TITULO DE

LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO

JULIO 1991



SAN SALVADOR,

EL SALVADOR,

CENTRO AMERICA.

T
543
F634e

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA, LABORATORIO CLINICO

"ESTUDIO PARASITOLOGICO EN REFRESCOS DE VENTAS
AMBULANTES QUE SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE
SAN SALVADOR"

SEMINARIO DE GRADUACION

PRESENTADO POR:

LILIAN ELIZABETH FLORES

LINA GUADALUPE DE LA CRUZ AMAYA

PREVIO OPCION AL TITULO DE:

LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO

ASESOR:

LIC. DIANA PLATERO DE DIMAS

JULIO DE 1991

AGRADECIMIENTO A:

Agradecemos profundamente a Lice. Diana Platero de Díaz, por su tiempo, buena voluntad y colaboración como asesor en nuestro seminario.

AL JURADO CALIFICADOR

Lice. José Alberto Argueta

Lice. Dominga Ayala de Chavarría

Lice. Roberto Rubio

RECONOCIMIENTO A:

Todas las instituciones y personas que con su valiosa colaboración hicieron posible la realización de nuestro trabajo.

DEDICATORIA

Al Señor Todopoderoso, por todas sus bendiciones.

A mis padres :

Carlos A. Flores

Dora M. de Flores

A mis hermanos :

Patricia, Carlos, Rosa,

Karla y Guadalupe

A mis hijos :

César Enrique

Claudia Lilibeth

Lillian Elizabeth Flores Menjívar

DEDICATORIA

Con cariños:

À mis padres : Lidia de la Cruz
Rafael de la Cruz

À mi esposo : Manuel Romero

À mis hijos : Manuel Alexander Romero
Melissa Romero

Guadalupe de la Cruz Amaya

ESTUDIO PARASITOLOGICO EN REFRESCOS DE VENTAS AMBULANTES QUE
SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE SAN SALVADOR

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	7
MATERIALES Y MÉTODOS	8
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	27
RECOMENDACIONES	28
BIBLIOGRAFÍA	29

RESUMEN

El presente estudio tuvo la finalidad de conocer si los refrescos que se venden en las calles de San Salvador, se encontraban contaminados con parásitos intestinales del hombre.

Se estudió un total de 242 muestras de refrescos obtenidos en igual número de ventas situadas en las calles del centro de la ciudad, encontrándose protozoarios de vida libre en 15 refrescos, 37 muestras presentaron contaminación fecal y 139 contenían abundantes levaduras del género Cándida.

INTRODUCCION

Las infecciones del tubo digestivo son un problema de salud que se observa con frecuencia en la mayoría de países subdesarrollados. En El Salvador, el más alto número de casos de enfermedades diarreicas se da en niños menores de dos años, índice que disminuye a medida que aumenta la edad (6). Usualmente la forma como se adquieren estas afecciones es por ingestión de agentes patógenos lo cual puede ocurrir en forma directa por las manos del mismo individuo infectando ano-boca o indirectamente por la ingestión de alimentos contaminados con heces fecales las que pueden ir diluidas en bebidas como el agua, leche, refrescos o estar presentes en otra clase de alimentos como por ejemplo frutos y hortalizas, principalmente los que se ingieren sin previo cocimiento (7, 8, 12, 21).

La mayoría de las personas que sufren trastornos gástrico-intestinales en nuestro medio, provienen de comunidades donde existen condiciones sociales y económicas precarias (10, 13). Entre los factores que favorecen la prevalencia de enfermedades entéricas en estos sectores, es la deficiencia de buenos hábitos higiénicos de la mayoría de las personas que viven en estas condiciones, este hecho, se agrava cuando el agua potable es escasa. De acuerdo a datos publicados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social en la zona urbana solamente el 65% de la población cuenta con

servicios de agua potable y en la zona rural el 26%, otra causa que hay que considerar es la proliferación de basureros en el medio ambiente, esto favorece la multiplicación y propagación de moscas y otros insectos nocivos para el hombre; ya que únicamente el 62.8% de la población urbana cuenta con servicio de recolección de basura y en el área rural no existe. Además el servicio de alcantarillado se le proporciona únicamente al 43.8% de la población urbana y el 56% carece de él, lo más grave del problema es la falta de sistemas sanitarios para la correcta eliminación de las excretas humanas puesto que el 83% de las personas defecan en el suelo (20).

En nuestro país el 58% de la población total es rural, sin embargo, en los últimos años se ha acentuado la migración del campesino a la ciudad especialmente al área metropolitana de San Salvador en busca de mejores condiciones de vida (13). La mayoría de estas personas que llegan a estas zonas viven en tugurios, colonias ilegales, mesones, casa viejas donde el hacinamiento es evidente, lo cual está en relación directa con el crecimiento demográfico, crisis de violencia, deterioro ecológico, etc., todo lo expuesto anteriormente contribuye a la presencia de diferentes agentes infecciosos en el medio ambiente y por consiguiente al incremento de enfermedades del tracto digestivo.

El incremento de la población en el área suburbana de la ciudad ha dado origen a un mayor número de venta de

alimentos en las calles de San Salvador, ya que este trabajo puede ser desempeñado fácilmente por cualquier individuo, por personas que no poseen nociones de higiene. Un ejemplo de alimento que se vende en las calles y avenidas de la ciudad, son los refrescos (productos gasificados o no, obtenidos por disolución de azúcar en agua potable con adición de frutas como por ejemplo el tamarindo o agregando extractos de semillas como la horchata, a los cuales se les puede añadir colorantes naturales o artificiales permitidos), estas bebidas cuando están correctamente preparadas no deben contener microorganismos dañinos para la salud del consumidor (15, 17, 19).

En el país existen algunos estudios microbiológicos en alimentos, hechos con la finalidad de conocer si están contaminados con microorganismos presentes en tubo digestivo del hombre y de los animales, por ejemplos se ha investigado leche, carne y productos de repostería y se ha demostrado que poseen recuentos bacterianos superiores a los límites establecidos internacionalmente (13) entre los agentes que se aislaron en estos alimentos, se encuentran bacilos coliformes, estafilococos y algunos hongos (13, 15, 17) así mismo Bonilla, C. de, C. y col. (2) y Caffas de Cea, A.B., y col. (4) en 1979 detectaron la presencia de bacterias que se encuentran normalmente en el tracto intestinal del hombre, en leches pasteurizadas y en cremas lácteas respectivamente, también González y col. (11) en 1971 examinando algunas

verduras comestibles encontraron contaminación fecal en el material estudiado. En otras investigaciones semejantes, Dimas y col. (5) 1971 estudiando lechugas y repollos obtenidos en el mercado central de San Salvador, además de encontrar *Escherichia coli* demostraron la presencia de huevecillos de helmintos intestinales del hombre, asimismo, Ramos, A.G. y col. (22) en 1982 encontraron huevos de parásitos en los encurtidos servidos en las pupuserías situadas en algunos barrios de San Salvador, y también Quezada, I. del C. y Quintanilla, M.A. (21) 1986 estudiando el fruto del nance que venden en los principales mercados de San Salvador, comprobaron la existencia de parásitos y de bacterias intestinales.

Los hallazgos descritos anteriormente, nos indujeron a realizar el presente trabajo, la muestra analizada parece ser que no ha sido motivo de estudio, aún cuando, los refrescos son de consumo popular en nuestro medio y se presume la posibilidad de encontrar protozoarios y helmintos intestinales debido a la contaminación fecal que se ha demostrado en los alimentos anteriormente investigados.

Para demostrar la presencia de quistes de protozoarios y huevecillos de helmintos intestinales, se realizó el Método de Laboratorio de concentración por centrifugación de Pepper (9) el cual es un procedimiento que se ha utilizado para investigar parásitos en alimentos en estudio similares al nuestro, habiendo proporcionado buenos resultados. Además

en una técnica sencilla de realizar y los reactantes usados en su desarrollo resultan económicos. (5, 16, 22).

OBJETIVOS

1. Investigar si los refrescos que se venden en las diferentes calles y avenidas de San Salvador, se encuentran contaminados con parásitos intestinales que infectan al hombre.
2. Determinar si además de parásitos intestinales humanos, poseen otros agentes microbiános provenientes de otras fuentes de infección que no sea el contenido intestinal del hombre.

MATERIALES Y METODOS

MUESTRAS ESTUDIADAS

Se estudiaron 242 muestras de refrescos obtenidos al azar de igual número de ventas de refrescos situadas en diferentes calles y avenidas de la ciudad de San Salvador.

Este estudio se realizó durante los meses de Julio a Noviembre de 1989.

Cada muestra fue obtenida en una bolsa plástica, posteriormente fue examinada durante los siguientes 60 minutos después de haberse obtenido, la investigación parasitológica se hizo por medio del método de laboratorio de concentración por Centrifugación de Pepper (9).

Durante la realización del examen microscópico directo de los refrescos en busca de quistes y huevecillos de parásitos, se observó en algunas de las muestras abundantes bacterias y levaduras, razón por la cual los refrescos fueron inoculados por el método del asa calibrada (14) en medios de cultivo adecuados (EMB, agar Sangre, medio glucosado de Sabouraud y Agar Harina de Maíz) para identificar los microorganismos y fue en esa forma que se demostró la presencia de *Escherichia coli* y *Candida* sp. Aun cuando no era nuestro objetivo hacer un estudio bacteriológico de las muestras, no fue posible pasar desapercibida la presencia abundante de estos microorganismos, sin que fuesen identificados.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

METODO DE PEPPER

De cada bolsa conteniendo el refresco se midió 30 ml de la muestra, se filtró a través de dos capas de gasas para retener las partículas de las frutas contenidos en la bebida. En tubos de centrifuga graduados en 15 ml se colocó 10 ml de filtrado de la muestra y se centrifugó a 1500 rpm durante dos minutos, luego se descartó el sobrenadante quedando únicamente el sedimento, el cual se suspendió en solución salina al 0.85%; se repitió este procedimiento de 2 a 3 veces hasta que el sobrenadante quedó claro, luego del sedimento obtenido en la tercera lavada se tomó una gota y se puso entre lámina y laminilla para observarlos al microscopio con objetivo 10 y 40X para buscar e identificar quistes de protozoarios y huevecillos de helmintos. Si la preparación quedaba muy gruesa el sedimento se diluía con solución salina.

METODO DE ESTRIACION DIRECTA POR ASA CALIBRADA (14)

Utilizando un asa de platino de 4 mm de diámetro se tomó 0.001 ml de la muestra sin centrifugar.

Se sembró en los medios de agar sangre y agar eosina azul de metileno, se estrió toda la superficie de los dos medios de cultivo. Se incubaron los cultivos durante toda la noche a 35 grados - 37 grados centígrados para el desarrollo

del crecimiento bacteriano.

A la mañana siguiente se contó el número de colonias y el resultado se multiplicó por 1000 para determinar el número de bacterias por ml de refresco.

SIEMBRA EN MEDIO DE SABOURAUD

Se tomó una asada del refresco sin centrifugar y se estrió en toda la superficie del medio. Se incubó a 25 grados centígrados de 2 a 3 días y se observó si había crecimiento.

SIEMBRA EN AGAR HARINA DE MAIZ (3)

Se transfirió una pequeña cantidad de colonias del medio agar glucosado de Sabouraud, con el asa en L esterilizada, al medio Agar harina de maiz. Se inoculó rompiendo el medio hasta el fondo, se incubó a 25 grados centígrados durante 3 días. Se examinó el cultivo en el microscopio colocando la placa sobre la platina del microscopio, se observó con objetivo 10 y 40X para detectar la presencia o ausencia de Clamidiosporas.

REACTANTES

SOLUCION SALINA AL 0.85%

Preparación:

Pesar 8.5 gr. de ClNa₂ con cuidado transferir la sal a un frasco volumétrico de 1000 ml, añadir agua destilada hasta la marca de 1000 ml.

MEDIOS DE CULTIVO

BASE PARA AGAR SANGRE (TRIPTICASA SOYA AGAR-MERK)

Se suspenden 40 gr. del medio de cultivo deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien, calentar agitando constantemente hasta que hierva. Esterilizar el medio en autoclave a 121 grados centígrados durante 15 minutos. Se deja enfriar a 45 grados centígrados y se añade sangre desfibrinada estéril en proporción de 5% a 10% luego se distribuye en placas de Petri estériles.

AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EME-MERK)

Se suspenden 36 gr. del medio de cultivo deshidratado en un litro de agua destilada, se mezcla y se calienta agitando frecuentemente hasta que hierva, se esteriliza a 121 grados centígrados durante 15 minutos, se deja enfriar a 45 grados centígrados para distribuir el medio en placas de Petri estériles.

MEDIO GLUCOSADO DE SABOURAUD (SABOURAUD-MERK)

Pesar 36 gr. del medio de cultivo deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien, calentar agitando frecuentemente hasta que hierva, distribuirlo en tubos de ensayo, esterilizar a 121 grados centígrados durante 15 minutos, colocarlo en posición inclinada para formar bisel.

AGAR HARINA DE MAIZ (CORN MEAL AGAR-DIFCO)

Pesar 17 gr. del medio de cultivo deshidratado en un litro de agua destilada, mezclar bien hasta que se disuelva el medio, calentar hasta que hierva, esterilizar en autoclave a 121 grados centígrados durante 15 minutos. Se deja enfriar a 45 grados centígrados y vertirlo en placas de Petri estériles.

MATERIALES Y EQUIPO

1. Microscopio marca American Optical.
2. Centrifuga, marca Clay Adams.
3. Incubadora.
4. Placas de Petri.
5. Balanza Analítica.
6. Mechero.
7. Asa calibrada, para contener 0.001 ml.
8. Tubos cónicos de centrifuga graduados en 15 ml.
9. Embudos.
10. Porta objetos (76 x 26 mm).
11. Cubre objetos (22 x 22 mm).
12. Gasa.
13. Asa en L.

RESULTADOS

EL CUADRO No.1: muestra los resultados obtenidos en el estudio parasitológico de 242 muestras de refrescos examinados, por el método de concentración por centrifugación de Pepper, de los 242 refrescos examinados en 15 (6.2%) se demostró la presencia de *Euglena gracilis*

EL CUADRO No.2: se observan los resultados obtenidos en los diferentes tipos de refrescos que presentaron *Euglena gracilis*, con el porcentaje de positividad correspondiente.

EL CUADRO No.3: se exponen los resultados obtenidos en 176 refrescos que se sembraron en los medios de cultivo Eosina Azul de metileno Agar (E M B) y Agar Sangre, por haber presentado abundante cantidad de bacterias en el examen microscópico directo al fresco, de las 176 muestras examinadas en 37 (21%) se aisló *Escherichia coli*.

EL CUADRO No.4: Se observan las diferentes clases de refrescos en los cuales se aisló *Escherichia coli*, con el porcentaje de positividad correspondiente.

EL CUADRO No.5: se presentan los resultados obtenidos en 176 refrescos, que al examinarse los sedimentos al microscopio

se observó abundante cantidad de levaduras, por lo que se inocularon las muestras en medio de cultivo Agar Glucosado de Sabouraud 139 (79%) y Agar Harina de Maíz 0 (0%) por medio de los cuales se identificó Candida sp. por la ausencia de las clamidosporas terminales en el medio de Agar Harina de Maíz.

EL CUADRO N°6 se representa los resultados obtenidos en 242 muestras de diferentes tipos de refrescos, en los cuales se detectaron diferentes clases de microorganismos, por diferentes técnicas microbiológicas con su porcentaje de positividad correspondiente así: Euglena gracilis se encontraron 15 (6.2%), Escherichia coli 37 (21%), Candida sp 139 (79%) y negativas 80 (33%).

CUADRO 1

Resultados obtenidos en el estudio de 242 muestras de refrescos, examinados por el método de concentración por centrifugación simple de Pepper.

Número de muestras estudiadas	Número de muestras con <u>Euglena gracilis</u>	Porcentaje de positividad
242	15	6.2 %

CUADRO 2

Número y porcentaje de las diferentes clases de refrescos que presentaron Euglena gracilis.

Clase de Refresco	Número de Muestras	Número de Muestras con <u>Euglena gracilis</u>	Porcentaje de positividad.
Agua dulce	8	1	6.7 %
Cebada	19	1	6.7 %
Chan	26	2	13.4 %
Ensalada	6	2	13.4 %
Granadilla	34	1	6.7 %
Piña	12	1	6.7 %
Tamarindo	62	7	46.7 %
TOTAL	167	15	100.0 %

CUADRO 3

Resultados obtenidos en 176 refrescos inoculados en medios EMB y Agar Sangre.

Número de muestras estudiadas	Número de muestras negativas en medio de EMB y Agar Sangre	Número de muestras con <u>Escherichia coli</u> en medio de EMB y Agar Sangre	Porcentaje
176	139	37	21 %

CUADRO 4

Número y porcentaje de las diferentes clases de refrescos que presentaron *Echerichia coli*.

Clase de Refresco	Número de Muestras con <u><i>Echerichia coli</i></u> .	Porcentaje
Cebada	3	8.1 %
Tamarindo	3	8.1 %
Horchata	14	37.8 %
Granadilla	4	10.8 %
Coco	3	8.1 %
Chan	4	10.8 %
Ensalada	6	16.2 %
TOTAL	37	100.0 %

CUADRO 5

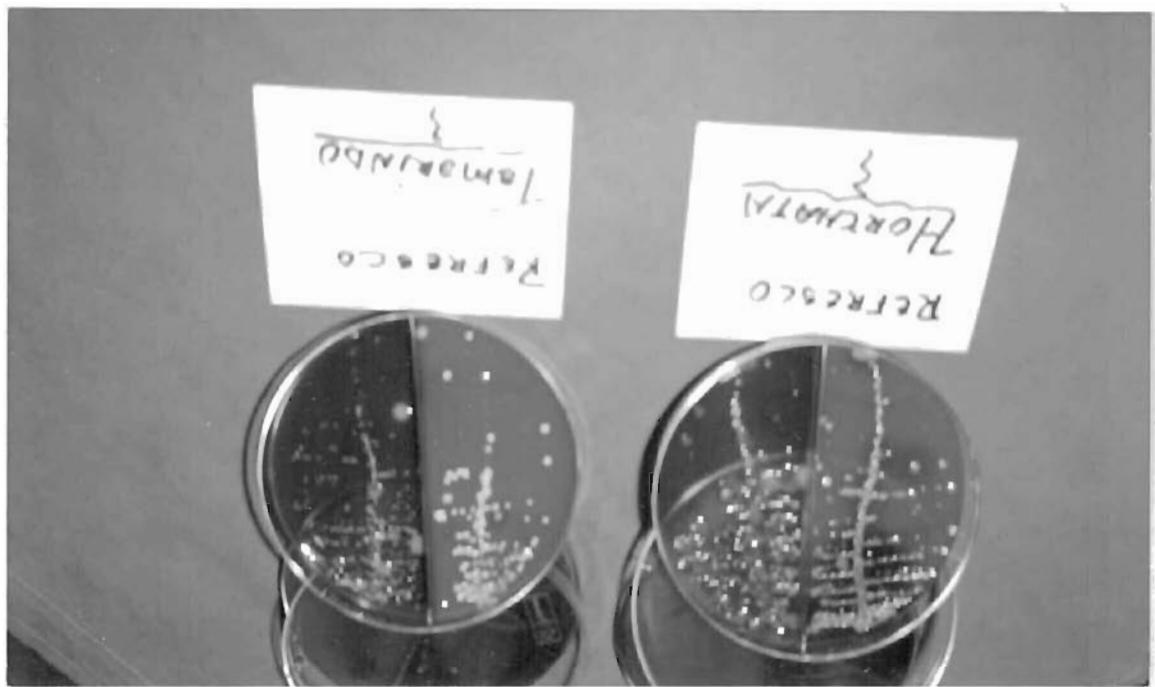
Resultados obtenidos en 176 refrescos inoculados en Agar Glucosado de Sabouraud y Agar Harina de Maiz (AHM) *

Número de muestras estudiadas	Número de muestras con crecimiento en Agar Glucosado de Sabouraud con <u>Candida sp.</u>	Número de muestras con producción de clamidostípulas terminales en AHM*	Porcentaje
176	139	...	79 %
176	...	0	0 %

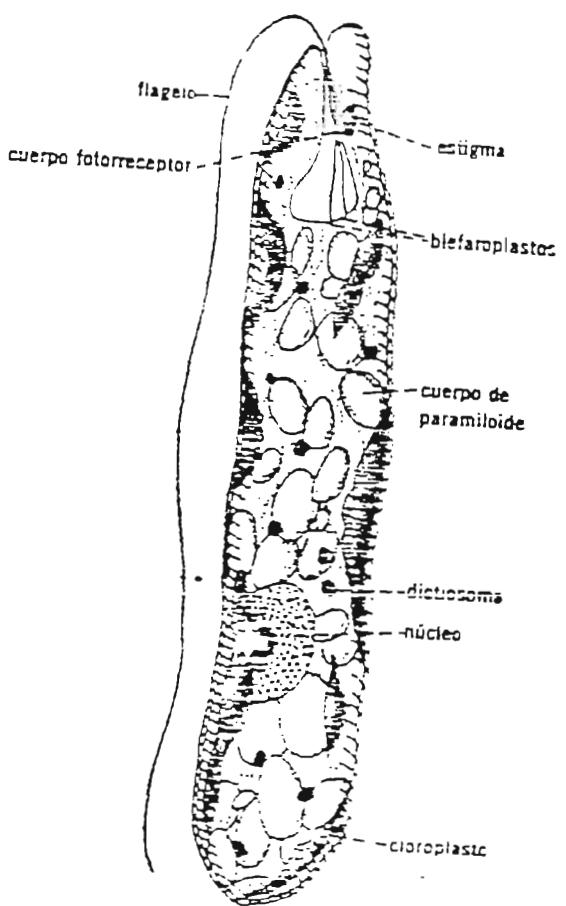
CUADRO 6

Resultados obtenidos en las 242 muestras de refrescos estudiados por diferentes técnicas microbiológicas.

Clase de refresco	Método Pepper	Cultivo en Agar Sangre y EMB	Cultivo en Agar Glucosado de Sabouraud	Número de muestras negativas.
	<u>Euglena gracilis</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>Candida sp</u>	Porcentaje.
Arrayán	—	—	10	0 %
Agua dulce	1	—	7	0 %
Carao	—	—	4	0 %
Cebada	1	3	4	12 %
Coco	—	3	4	11 %
Chan	2	4	17	7 %
Ensalada	2	6	5	0 %
Granadilla	1	4	15	16 %
Horchata	—	14	4	22 %
Limonada	—	—	2	0 %
Mora	—	—	4	2 %
Piña	1	—	12	2 %
Tamarindo	2	3	51	8 %
TOTAL	15 (6,26%)	37 (21%)	139 (79%)	80 (33%)



La fotografía muestra el crecimiento bacteriano en los medios de cultivo de Agar Sangre y Agar EMB de los refrigeros de tamarindo y horchata.



Morfología de la *Euglena gracilis*

DISCUSION

En El Salvador, la contaminación del medio ambiente con excretas humanas es uno de los problemas más difíciles de resolver, porque algunos sectores de la población carecen de los medios adecuados para eliminar en forma sanitaria sus desechos, este hecho da como resultado que algunos alimentos que se venden en los mercados y en las calles de la ciudad se encuentran contaminados con microorganismos que se localizan en el contenido intestinal del hombre.

De las 242 muestras de refrescos estudiadas en el 6.2% se demostró la presencia de protozoarios de vida libre, uno de ellos identificado como *Euglena gracilis*, protozoario flagelado que vive en el agua dulce, salada y en suelos húmedos, éste microorganismo tiene la característica de sintetizar compuestos orgánicos a partir de sustancias inorgánicas (1).

El mayor número de muestras que contenían éste protozoario fue el refresco de tamarindo, la presencia de *Euglena gracilis* en esta clase de bebida posiblemente se debe a que el fruto no fue lavado antes de preparar el refresco o el agua que sirve para elaborar el mismo, es de dudosa procedencia.

Aún cuando, no era nuestro objetivo investigar contaminación fecal en los refrescos, a 176 muestras se les hizo estudio bacteriológico aislando *Escherichia coli* en 37 (21%)

de los refrescos, la muestra que presentó el mayor número de contaminación fecal fue la horchata 14 (37.9%) siendo las posibles causas de estos el uso de agua contaminada o el desconocimiento de las normas higiénicas de las personas que elaboran estos productos.

Los resultados encontrados en este estudio son comparables con los obtenidos en otros trabajos similares; como el de Platero de Dimas y col. en 1971 (5) quienes aislaron *Escherichia coli* en el 20% de repollos obtenidos en el Mercado Central de San Salvador, en la misma forma, González Suárez (11) demostró la presencia de *Escherichia coli* en un 84% de otros vegetales comestibles como el berro, lechugas; también en 1986 Pérez y col. (18) encontraron *Escherichia coli* en el 20% de muestras del fruto del nance comprados en diferentes mercados de San Salvador.

Además, en los mismos 176 refrescos estudiados para determinar contaminación fecal, se les hizo estudio para hongos habiéndose aislado levaduras del género *Candida* en un 79% de los refrescos, siendo el refresco de tamarindo el que presentó mayor número de muestras con levaduras posiblemente por la fermentación que se produce en esta bebida, medio que favorece la multiplicación del hongo.

La contaminación de los refrescos podría deberse a que algunos frutos que se utilizan para preparar las bebidas son recogidos directamente del suelo como por ejemplos tamarindo,

do, además hay que tomar en cuenta la falta de conocimientos higiénicos de las personas que elaboran y venden estas bebidas.

Estos hallazgos demuestran que los refrescos, que se venden en las calles de San Salvador, están contaminados con materias fecales humanas, los cuales constituyen una fuente de infección de Enterobacterias y quizás de parásitos intestinales, aun cuando no se logró demostrar la existencia de protozoarios ni helmintos en nuestro trabajo.

CONCLUSIONES

1. Los refrescos que venden en las calles de San Salvador, están contaminados con protozoarios de vida libre (*Euglena gracilis*), enterobacterias y levaduras (hongos).
2. El agua, frutas y otros productos que se utilizan en la preparación de los mismos son de dudosa procedencia, principalmente el agua que muchas veces es almacenada en recipientes.
3. Las personas encargadas de elaborar y vender estos productos, desconocen principios elementales de higiene.

RECOMENDACIONES

1. Que las autoridades de Salud Pública, proporcionen a través de la población de nuestro país, educación en Salud, principalmente sobre medidas preventivas de infecciones intestinales.
2. Que las instituciones correspondientes realicen control sobre las ventas callejeras de alimentos, para evitar que éstos, sean fuentes de infección, así como también sobre las personas que las ofrecen a la venta.
3. Que se realicen estudios similares al nuestros con la finalidad de detectar otros agentes infecciosos.

BIBLIOGRAFIA

1. Barnes, D.R.: Zoología de los Invertebrados. 3a. ed.
Editorial interamericana, México, 1984.
2. Bonilla, C. del C., Jaime de, M.M., y Col.: Estudio Bacteriológico de leches pasteurizadas que se expenden en algunos centros comerciales de San Salvador. Seminario de Graduación previo opción al título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Facultad de Medicina Universidad de El Salvador. Noviembre, 1981.
3. Connant y Col., Micología. 3a. Ed. Editorial Interamericana, 1972.
4. Caffas de Ceas, A.B., y Padilla de Monterroso, M.: Estudio Bacteriológico de cremas lácteas comestibles, expedidas en establecimientos comerciales. Seminario de Graduación previo opción al título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Facultad de Medicina Universidad de El Salvador, 1979.
5. Dímas Díaz Hernández de, A.Y., y Col.: Estudio Bacteriológico y Parasitológico de muestras de verduras del Mercado Central de San Salvador. Arch. Col. Médico El Salvador, Vol. 24 No. 1 Enero - Marzo, 1971.

6. División de Epidemiología. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Situación de la diarrea en El Salvador San Salvador, 1981.
7. Enfermedades trasmittidas por los alimentos en Estados Unidos de América. Bol. Of. Sanit. Panam. 92 (5), 1982.
8. Estudio y estrategias para reducir la morbilidad y la mortalidad por infecciones entéricas. Bol. Of. Sanit. Panam. 88 (4) Abril, 1975.
9. Faust, E.C., Russell, P.E. Parasitología Clínica, 2a. Ed. Utøha Méx., p. 923, 1961.
10. Formulación de un programa para el control de las enfermedades diarreicas. Bol. Of. Sanit. Panam. 67 No. 2 Agosto, 1979.
11. González, S.E. Estudio bacteriológico de verduras. Seminario de graduación previo opción al título de Licenciado en Química Biológica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de El Salvador, Abril, 1971.
12. Investigación de portadores de *Salmonella typhi* en México. Bol. Of. Sanit. Panam. 96 (1), 1979.

13. Informe para la preparación del programa de higiene de los alimentos, División de Saneamiento Ambiental. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, El Salvador, C.A., 1983.
14. Lynch, M.J., Raphael, S., Mellor, L.D. & Métodos de Laboratorio, 2a. Ed., Editorial Interamericana, México, 1972.
15. Manual de Inspección Sanitaria, División de Saneamiento Ambiental. Ministerio de Salud Pública y Asistencia social, El Salvador, C.A., 1989.
16. Melvin, D.M. & Brooke, M.H., Métodos de Laboratorio para Diagnóstico de parásitos Intestinales, 1971.
17. Normas Sanitarias de Alimentos, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, El Salvador, C.A., 1969.
18. Pérez P., Yáñez, Quintanilla O., G.A., Estudio de fruto del nance, como posible vehículo portador de bacterias entero patógenas. Seminario de Graduación previo opción al título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador, 1986.
19. Plan Nacional de Saneamiento Ambiental. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, El Salvador, C.A., No. 1977.

20. Programa de Control de Parasitismo Intestinal para las regiones de salud. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El Salvador. C.A. 1985.
21. Quezada, I. del C., Quintanilla, M. A. Estudio Parasitológico del nance como posible vehículo de parásitos intestinales en el hombre. Seminario de graduación previo al título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Facultad de Medicina. Universidad de El Salvador. 1985.
22. Ramos, P. G., López, N. A. Estudio Parasitológico de muestras de encurtidos servidos en comedores populares. Seminario de graduación previa opción al título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Facultad de Medicina. Universidad de El Salvador. 1982.