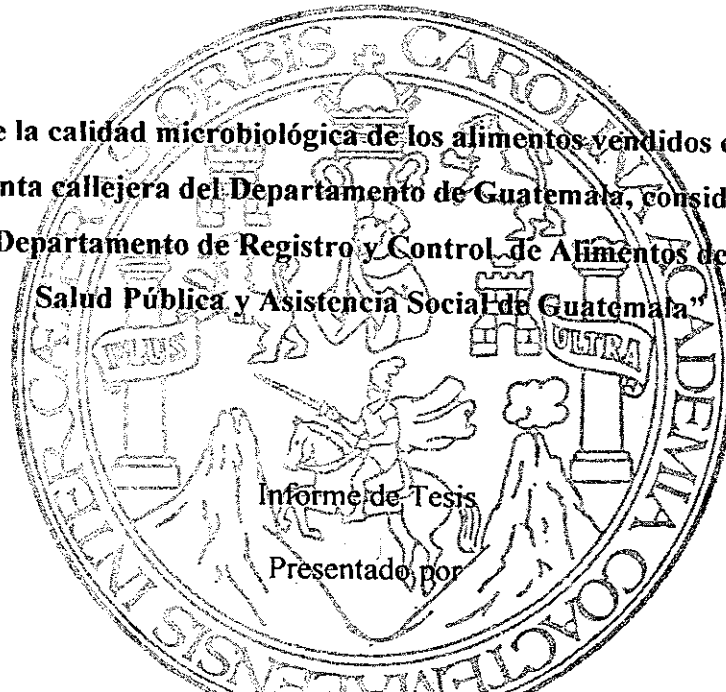


K
86
4(1206)
C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

“Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos vendidos en la vía pública, en áreas de venta callejera del Departamento de Guatemala, consideradas como de riesgo por el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala”



Informe de Tesis

Presentado por

Dalia Estela Menchu Rosal

Para optar al título de

Químico Biólogo

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Guatemala, junio de 1996.

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR	DECANO
LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ	VOCAL PRIMERO
LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN	VOCAL SEGUNDO
LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE	VOCAL TERCERO
BR. ANA MARIA RODAS CARDONA	VOCAL CUARTO
BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA	VOCAL QUINTO
LICDA. ANA LUCRECIA FORTUNY LEMUS DE ARMAS	SECRETARIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A mis padres, Lic. Desiderio Menchú Escobar y Estela Rosal de Menchú.

A mis hermanos, Claudia Rosario, Edgar Desiderio, José David y Juan Rafael.

A mis tías, Licda. María Teresa y María Engracia Menchú Escobar.

A Lic. Roberto Castillo Valdés.

A Leonel Roberto Armas Estrada.

A Licda. Brenda Díaz, Licda. Edna Alvarado, Lic. Iván Pineda y Lic. Manuel Mancilla.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a la Licda. Teresita Aguilar de Miranda, por su valiosa asesoría.

A la Oficina Sanitaria Panamericana y Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

Al personal de la Sección Microbiología de Alimentos del Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos: Blanqui, Maribel, Telmita, Edelmán, Lucas y don Tono.

Al Lic. Roberto Castillo por todo su apoyo. Al Lic. Roberto Benavides.

A los Licenciados Federico Nave y Karin Herrera por la revisión de este trabajo.

Al personal de Secretaría de la Escuela de Química Biológica, en especial a Lucy y Lesbia.

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	2
3. ANTECEDENTES.....	3
3.1 Venta callejera de alimentos.....	3
3.2 Factores de riesgo microbiológico en la venta callejera de alimentos.....	3
3.3 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).....	4
3.4 Bacterias causantes de ETA.....	5
3.4.1 <i>Salmonella sp.</i>	5
3.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
3.4.3 <i>Vibrio cholerae</i>	8
3.4.4 <i>Bacillus cereus</i>	9
3.4.5 <i>Clostridium perfringens</i>	10
3.4.6 <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	11
3.4.7 Coliformes fecales.....	12
4. JUSTIFICACION.....	13
5. OBJETIVOS.....	14
6. HIPOTESIS.....	15
7. MATERIALES Y METODOS.....	16
8. RESULTADOS.....	28
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	30
10. CONCLUSIONES.....	32
11. RECOMENDACIONES.....	33
12. REFERENCIAS.....	34
13. ANEXOS.....	37

1. RESUMEN

La venta callejera de alimentos es frecuente en el Departamento de Guatemala. Generalmente, estos productos son elaborados en condiciones que permiten la multiplicación de microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

En este estudio, se identificó y cuantificó la presencia de microorganismos causantes de ETA, en 299 muestras de alimentos listos para el consumo, procedentes de 12 áreas identificadas como de riesgo por el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala. Los microorganismos investigados fueron: coliformes fecales, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y el patógeno emergente *Escherichia coli* O157:H7.

Se encontró que el 13.38% de las muestras no fueron aceptables, ya que presentaban recuentos mayores o iguales a los considerados como de riesgo para el presente estudio. La causa de rechazo más frecuente fue los recuentos elevados de coliformes fecales (62.5%), seguida por *S. aureus* (42.5%), *Salmonella paratyphi* del grupo B (12.5%), *C. perfringens* (7.5%), *B. cereus* (5.0%) y *E. coli* O157:H7 (2.5%). En el Instituto Adolfo Lutz de Brasil, que actuó como colaborador en este estudio, se confirmó los resultados anteriores y además se identificó como *Aeromonas sp.*, *A. hydrophila* y *A. caviae*, algunas de las cepas enviadas como sospechosas de *E. coli* O157:H7.

Los alimentos se agruparon por sus características de preparación o ingredientes, obteniéndose mayor rechazo por contaminación en el grupo de las tostadas (77%), seguido por los productos lácteos (50%) y los productos cárnicos (30%). En algunos alimentos el rechazo se debió a más de un tipo de microorganismo.

El consumo de este tipo de productos implica riesgo de adquirir alguna enfermedad transmitida por alimentos (ETA), las cuales son causantes de elevadas tasas de mortalidad infantil, disminución de la capacidad de aprendizaje, ausentismo y bajo rendimiento laboral.

2. INTRODUCCION

El comercio informal en la vía pública es una alternativa que permite obtener ingresos a personas con baja escolaridad, principalmente en países en vías de desarrollo en los cuales existe migración desmedida desde áreas rurales hacia las áreas urbanas y también, carencia de fuentes de trabajo (1,2).

La preparación y venta de alimentos es una de las formas más frecuentes de comercio informal en la vía pública. Algunas características de este tipo de comercio hacen suponer que el producto tiene una participación fundamental en la incidencia de las enfermedades gastrointestinales, presunción que se fundamenta en la consideración de que la mayoría de ventas ambulantes carecen del abastecimiento adecuado de agua, la materia prima utilizada es de mala calidad higiénica y el personal encargado de la preparación de los alimentos no utiliza buenas técnicas de higiene y de manejo (1-3).

Se sabe que los microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), de mayor prevalencia en diversas regiones del mundo son *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y el patógeno emergente *Escherichia coli* O157:H7. Este tipo de enfermedades causan elevadas tasas de mortalidad infantil, disminución de la capacidad de aprendizaje y bajo rendimiento laboral (1-4).

En este estudio se evaluó la calidad microbiológica de los alimentos preparados y/o comercializados en la vía pública en áreas del Departamento de Guatemala consideradas como de riesgo por el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala y se determinó cuáles de los microorganismos investigados son los más frecuentes en este tipo de producto, como parte del estudio "Evaluación del riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en algunas ciudades de América Latina", llevada a cabo por la Oficina Sanitaria Panamericana en México, Honduras, República Dominicana, Brasil, Venezuela, Nicaragua, Ecuador y otros.

3. ANTECEDENTES

3.1 Venta Callejera de Alimentos

En los países de América Latina el deterioro de las condiciones socioeconómicas de las poblaciones de bajos ingresos y de las condiciones de vida en áreas rurales, provoca un movimiento migratorio desmedido hacia los centros urbanos, donde la marginalidad y la pobreza alcanzan niveles preocupantes (1-3).

El comercio informal en la vía pública es una alternativa que permite obtener ingresos a personas con baja escolaridad, principalmente en estos centros urbanos en los que las fuentes de trabajo son escasas. La preparación y venta de alimentos en la calle es una de las formas más frecuentes de comercio informal en la vía pública, cuya popularidad aumenta con la población urbana en expansión (1-3).

En Guatemala, el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y el Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos (LUCAM), han identificado áreas de venta callejera de alimentos consideradas como de riesgo. Se han considerado así ya que en las mismas, en controles anteriores, se han reportado elevados conteos de coliformes, además de ser áreas de mucha popularidad. Se han identificado también los alimentos de mayor riesgo, lo cual se tomará en cuenta para la presente investigación (5).

3.2 Factores de riesgo microbiológico en la venta callejera de alimentos.

Algunas características de este tipo de comercio hacen suponer que el producto tiene una participación fundamental en la incidencia de las enfermedades gastrointestinales, participación cuya magnitud depende del contenido del alimento comercializado y de las condiciones de preparación, almacenamiento y conservación (1,2,6).

Estudios anteriores han demostrado que en algunos países de América Latina, el 98% de los vendedores ambulantes carecen de agua potable para cocinar y lavarse las manos, y que pocos tienen acceso a métodos adecuados de refrigeración o almacenamiento prolongado. Algunos son portadores asintomáticos de enfermedades infecciosas, y por otra parte la baja escolaridad contribuye a la higiene deficiente con la que se preparan los alimentos (6).

La falta de abastecimiento de agua potable para cocinar, limpiar utensilios, preparar bebidas y para higiene personal, provoca que muchos vendedores usen repetidas veces la misma agua, la cual puede contener suficiente materia orgánica para convertirse en un caldo de cultivo adecuado para el crecimiento de muchos microorganismos (2).

Los siguientes factores se asocian a la mayoría de enfermedades de origen alimentario:

- Preparar los alimentos con gran antelación al consumo.
- Dejar los alimentos preparado demasiado tiempo, a temperatura que permita la proliferación de microorganismos.
- Recalentar los alimentos inadecuadamente.
- Contaminación cruzada entre alimentos crudos y cocidos.
- Manipulación de alimentos por personas infectadas, portadores sanos, o manos sin lavar (4,7).

3.3 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), este tipo de enfermedades causa los transtornos de mayor impacto en el rendimiento económico de las naciones (8).

Las condiciones epidemiológicas de los países de América Latina favorecen la persistencia de las mismas, en las cuales casi siempre la contaminación biológica de los alimentos o del agua es el factor desencadenante. Gran parte de las diarreas que afectan a la población infantil se originan por alimentos contaminados (3,9,10).

Además de las consecuencias fatales y/o de graves efectos de las ETA, los comestibles contaminados pueden causar diarreas leves que son de breve duración, pero de gran relevancia económica si se tiene en cuenta el ausentismo laboral, la baja productividad y la disminución de la capacidad de aprendizaje (2).

3.4 Bacterias causantes de ETA

Son muchas las bacterias que provocan procesos diarreicos por el consumo de alimentos contaminados. Estas tienen capacidad de producir toxinas y/o invadir la mucosa intestinal. Las de mayor prevalencia en diversas partes del mundo son: *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella dysenteriae*, *Clostridium difficile* (1,9-12).

3.4.1 *Salmonella sp.*

Es una bacteria enteroinvasiva, la cual incluye tres especies: *S. typhi* (un serotipo), *S. choleraesuis* (un serotipo), y *S. enteritidis* (más de mil seiscientos serotipos), capaces de ocasionar en el consumidor un síndrome gastroentérico febril, llamado Salmonelosis (11,13).

Los datos de algunas naciones industrializadas sugieren que la infección por *Salmonella* es una de las mayores causas de ETA, y su incidencia en los últimos años ha aumentado, por lo que se considera un problema de Salud Pública (6, 11, 12).

Estas bacterias ingresan por vía oral, invaden la mucosa intestinal y luego penetran las células epiteliales en las que se multiplican. La diarrea se produce cuando el colon es incapaz de absorber los líquidos que llegan al intestino delgado (1,8).

El hábitat principal de los serotipos de *Salmonella* es el conducto intestinal del hombre y de los animales que constituyen reserva de infección humana, entre los mayores reservorios tenemos: aves de corral, cerdo, ganado vacuno, roedores, etc.. Lo anterior explica por qué entre los alimentos que se involucran más frecuentemente como causantes de Salmonelosis se encuentran las carnes de res, aves y cerdo, los huevos, la leche cruda y los productos preparados con éstos (14-19).

La contaminación de los alimentos puede resultar de la manipulación por un individuo infectado, contaminación de la carne por el contenido intestinal durante el destace y por contaminación cruzada. Para prevenir brotes de Salmonelosis, los alimentos deben ser adecuadamente cocinados, recalentados y manipulados (18).

Los síntomas de la Salmonelosis ocurren generalmente de doce a veinticuatro horas luego de la ingestión y duran más o menos de veinticuatro a cuarenta y ocho horas. Estos síntomas incluyen diarrea, náusea y vómito, calambres y algunas veces fiebre y escalofríos. Las heces pueden tener moco y sangre. Cuando el número de bacterias ingeridas no es suficiente para causar síntomas, el individuo puede convertirse en un portador sano que puede contaminar los alimentos que manipule. Algunas veces la bacteria sigue excretándose en las heces aún después de la fase aguda de la enfermedad, siendo éste un problema grave de Salud Pública (14,15,20,21).

La dosis infectiva es variable, dependiendo mucho de la población que ingiere el alimento y del serotipo, pero en general la dosis necesaria para causar síntomas es entre 10^3 y 10^6 UFC/g de alimento para algunos serotipos, y entre 10^9 y 10^{11} UFC/g para otros (1).

En casos severos, puede haber bacteremia causante de infecciones severas localizadas como meningitis y neumonía, que pueden ocasionar la muerte (14).

INSTITUTO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

3.4.2 *Staphylococcus aureus*

Es un microorganismo Gram positivo, productor de 4 enterotoxinas (A-D) causantes de intoxicación en humanos, siendo en algunos países la segunda causa más frecuente de ETA (1,10,11).

Este microorganismo habita en la garganta y fosas nasales del hombre, de donde se propaga fácilmente a la piel y heridas. La preparación inadecuada de los alimentos por parte de los portadores, o por personas con heridas en áreas expuestas, constituye la principal fuente de contaminación. El almacenamiento inapropiado permite que la bacteria se multiplique, produciendo las toxinas que se absorben en el intestino y estimulan receptores neurales (1, 13, 22).

Los alimentos más frecuentemente implicados con este tipo de intoxicaciones son aquellos que han sido cocinados previamente, especialmente los que requieren elevada manipulación durante la preparación y no son conservados adecuadamente. Esto permite la multiplicación y producción de las enterotoxinas. Los siguientes se consideran alimentos de riesgo: productos lácteos, productos con huevo, pescado, carnes y dulces (1,14).

La toxina producida por *S. aureus* es termoestable, de manera que sobrevive a la temperatura de ebullición, por lo que la leche proveniente de vacas con mastitis conserva la toxina aún después de la pasteurización. Desafortunadamente no es posible detectar la toxina en los alimentos por la apariencia, sabor o consistencia (14,22).

Cuando en los alimentos hay números mayores de 10^4 UFC de *S. aureus*/g pueden producirse cantidades suficientes de enterotoxina (1 ng/g) para ocasionar síntomas de intoxicación (1). El apareamiento rápido de los síntomas permite diferenciar esta intoxicación de la salmonelosis. Estos ocurren generalmente de una a tres horas después de la ingestión y suelen ser náuseas, vómito, calambre abdominal, diarrea, dolor de cabeza, debilidad, escalofríos y fiebre. Estos síntomas ceden al expulsar la toxina del organismo, lo cual suele suceder a las veinticuatro horas (14).

Las toxinas de esta bacteria han demostrado poseer un efecto inmunosupresor in vivo, lo cual puede causar problemas inmunológicos tales como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoidea o reacciones alérgicas (14).

3.4.3 *Vibrio cholerae*

Es una bacteria con forma de bastoncillo curvo, patógena sólo para el hombre, de la cual se conocen dos serotipos principales determinados por el antígeno O, los cuales son Inaba y Ogawa (11,17).

V. cholerae serogrupo O1 biotipo El Tor es el causante de la pandemia que resurge en enero de 1991 en Perú, de donde se esparce rápidamente hacia Centro y Sur América (6,14).

El hombre es el reservorio principal de este microorganismo, el cual se disemina principalmente por el agua contaminada con heces. Esto explica porque esta epidemia ataca más fuertemente áreas pobres, ya que éstas carecen de fuentes adecuadas de agua potable, de combustible y equipo adecuado para hervir agua y preparar alimentos y de condiciones adecuadas para eliminar desechos (14).

Esta bacteria luego de ser ingerida, llega al intestino delgado, donde se multiplica y produce la enterotoxina causante de la hipersecreción del fluido isotónico (11).

El mayor riesgo de contaminación se relaciona con productos marinos frescos y congelados, alimentos procesados con agua y legumbres regadas con aguas residuales (6).

Por lo general este microorganismo no penetra fácilmente los alimentos, a menos que estos se encuentren podridos y/o alterados en su composición biológica (6).

El número de células viables capaz de desencadenar la enfermedad es de 10^8 a 10^{11} UFC/g de alimento, para personas con acidez estomacal normal, y de 10^4 a 10^6 UFC/g de alimento para personas con disminución de la acidez (1).

Los síntomas más frecuentes son diarrea, náusea y vómitos. Los pacientes pueden presentar deshidratación severa debido a la pérdida de heces acuosas de hasta un litro por hora, lo cual puede causar la muerte (14).

3.4.4 *Bacillus cereus*

Es un microorganismo Gram positivo, aerobio, esporulado, el cual se encuentra presente en el medio ambiente y se asocia con intoxicaciones causadas por el consumo de alimentos contaminados con sus toxinas. Estas toxinas son de dos tipos: una emética (termoestable) y una diarreica (termolábil) (11,13,14,17).

Los síntomas causados por la ingestión de la toxina diarreica (termolábil) se producen luego de ocho a dieciséis horas luego de la ingestión y son similares a los causados por *Clostridium perfringens*. Estos suelen ser diarrea, dolor abdominal y a veces fiebre. Se asocia con el consumo de cereales con maíz (hojuelas de maíz), papas, sopas frías, salsas, pudines, carnes, vegetales, helados y leche fresca y en polvo. La dosis infectiva es de aproximadamente 10^9 UFC/g de alimento (1).

La toxina emética (termoestable), suele encontrarse en arroz cocido o frito y en pastas. Esta toxina causa un síndrome de mayor gravedad, el cual se caracteriza por vómitos y dolor abdominal, luego de una a seis horas de la ingestión. La dosis infectiva es de aproximadamente 10^5 UFC/g de alimento (1,14).

3.4.5 *Clostridium perfringens*

Es un microorganismo anaerobio , que se encuentra distribuido en todo el mundo y se ha recuperado de todo tipo de suelos, excepto del desierto. Es un bacilo esporoformador, Gram positivo (1,14,15).

La forma esporulada de este microorganismo es muy resistente al calor, por lo que puede sobrevivir a algunos procedimientos de cocimiento. El choque térmico provocado por el calentamiento , causa la germinación y multiplicación de las células vegetativas, que luego de ser ingeridas esporulan en el intestino delgado y producen toxinas (12,14,23).

Las bacterias de este género poseen gran capacidad toxigénica. Producen al menos doce diferentes toxinas, lo cual permite su clasificación. La gran mayoría de intoxicaciones causadas por este microorganismo se deben a la toxina tipo A y se asocia al consumo de alimentos contaminados (11,13).

Las intoxicaciones causadas por este microorganismo ocurren principalmente en comidas servidas en instituciones (14).

Los requerimientos de aminoácidos de este microorganismo, hace que la carne y productos derivados de la misma, sean buenos candidatos para provocar este tipo de intoxicación, la cual frecuentemente es asociada a alimentos dejados a temperatura ambiente después de cocinarlos o a carne mal recalentada (14,23-25).

Las medidas preventivas incluyen la refrigeración rápida de las carnes para evitar que el microorganismo se reproduzca (14).

Los síntomas ocurren de ocho a veinticuatro horas después de la ingestión y usualmente son diarrea y dolor abdominal, en raras ocasiones hay vómitos (14,23).

3.4.6 *Escherichia coli* 0157:H7

El hábitat principal de *E. coli* es el intestino de los animales de sangre caliente. Por muchos años el microorganismo fue tomado como inofensivo, pero se usó como evidencia del manejo antihigiénico de alimentos y equipo. En la actualidad se ha reconocido que algunas cepas de este microorganismo son las principales causantes de la diarrea del viajero y de enfermedades gastrointestinales en áreas con condiciones sanitarias deficientes (1,14).

E. coli 0157:H7 es una variedad rara de *E. coli* capaz de producir enfermedad en el ser humano, debido a la producción de grandes cantidades de una o más toxinas. Se ha aislado frecuentemente en países desarrollados, donde se ha determinado que la dosis infectiva puede ser bastante baja (1,26-28).

Este tipo de microorganismos tiene la capacidad de producir dos tipos de toxinas diferentes, una termolábil (similar a la producida por *V. cholerae*) y una termoestable, de la cual existen dos tipos, a y b. La capacidad de producir cualquiera de estos tipos de toxinas se encuentran en información genética transmitida por medio de plásmidos (11,26).

Los alimentos que sirven como vehículo son las carnes crudas, leche cruda, aves y quesos. La manipulación y cocimiento de los alimentos en condiciones adecuadas son necesarios para minimizar los riesgos de infección (14,26,29,30).

Algunas complicaciones graves causadas por este microorganismo son la colitis hemorrágica, el síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica (26-33).

3.4.7 Coliformes fecales

Los recuentos de coliformes fecales se utilizan como índice de contaminación fecal, (la presencia de los mismos aumenta el riesgo de aislar patógenos), ya que el hábitat principal de este tipo de organismos es el intestino de animales de sangre caliente (1,17).

Este grupo incluye bacilos Gram negativo, aerobios y anaerobios facultativos, no esporoformadores, que fermentan la glucosa con producción de gas a 42-44 °C en un periodo de veinticuatro horas. El hallazgo de los mismos indica contaminación post-proceso (34).

El método que se suele utilizar para el recuento de estos microorganismos es el de Número Más Probable (NMP) (1).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

4. JUSTIFICACION

Debido a que los cuadros diarreicos agudos originados por ETA (los cuales son causantes de la disminución de la capacidad de aprendizaje y el bajo rendimiento laboral), y las altas tasas de mortalidad infantil se relacionan intimamente con la disponibilidad de alimentos de calidad para la población, es importante evaluar la calidad microbiológica de los alimentos comercializados en la vía pública, en áreas de venta callejera del Departamento de Guatemala que son consideradas como de riesgo por el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

5. OBJETIVOS

- 5.1 Evaluar la calidad microbiológica de los alimentos comercializados en la vía pública en áreas del Departamento de Guatemala que son consideradas como de riesgo por el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

- 5.2 Determinar cuáles de los agentes bacterianos investigados, causantes de ETA , son los más frecuentes en este tipo de producto.

6. HIPÓTESIS

Debido a que el presente estudio es de tipo descriptivo, no se formuló hipótesis.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de trabajo:

De las áreas de venta callejera consideradas como de riesgo en el Departamento de Guatemala por el Departamento de Registro y Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública, se seleccionaron estratos por conveniencia de acuerdo al número total de áreas y luego de éstos se seleccionaron al azar las siguientes áreas: Parque Central de la Ciudad de Guatemala, Parque Centenario, Trébol zona 11, El Guarda, Hipódromo del norte (feria de la Asunción), Plazuela Barrios, Zoológico La Aurora, Terminal zona 4, El Milagro, Mercado de Mixco, Amatitlán y Hospital Roosevelt. Se analizaron 299 muestras procedentes de las áreas seleccionadas. Los muestreos se llevaron a cabo en los días y horas de mayor concurrencia, por ejemplo los días domingo al medio día o días de feria. Las áreas seleccionadas son consideradas de riesgo, ya que en controles anteriores se han reportado elevados conteos de coliformes, además de ser áreas de mucha popularidad. Los alimentos considerados como de mayor riesgo son aquellos que para su preparación requieren mucha manipulación, o los ingredientes utilizados se contaminan fácilmente, entre éstos se tienen las tostadas, envueltos en huevo, frutas peladas y los refrescos preparados con frutas. (5).

7.2 Medios:

7.2.1. Recursos Humanos:

Tesista: Br. Dalia Estela Menchú Rosal.

Asesor: Licda. Teresita Aguilar de Miranda.

Personal de la Sección Microbiología de Alimentos de LUCAM.

Personal del Departamento de Registro y Control de Alimentos, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

7.2.2 Recursos Materiales:

7.2.2.1 Institucionales:

-Sección de Microbiología de Alimentos del Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos (LUCAM).

-Departamento de Registro y Control de Alimentos, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

-Centro Colaborador Conjunto FAO/OMS para el monitoreo de contaminación de alimentos, Instituto Adolfo Lutz (IAL), Secretaría de Salud del Estado de Sao Paulo, Brasil.

7.2.2.2 Materiales

7.2.2.2.1 Equipo:

-baños de María (42°C, 45°C)

-incubadoras bacteriológicas (35°C,45°C)

-contador de colonias Quebec

-mechero Bunsen

-refrigeradora

-autoclave

-estufas

-horno seco (70°C)

-potenciómetro

-stomacher

-balanza semianalitica

-microscopio

-rotador de placas

-mezclador tipo vortex

7.2.2.2.2 Cristalería

- cajas de Petri estériles
- erlenmeyers de 500 y 1000 mL
- tubos de ensayo grandes y pequeños con tapón de rosca
- frascos estériles
- probetas
- pipetas pasteur estériles
- pipetas serológicas
- cubreobjetos y portaobjetos
- bastón tipo hockey
- campanas de Durham

7.2.2.2.3 Reactivos y Medios de cultivo

- reactivo Gas Pack para anaerobiosis
- indicador de anaerobiosis
- alcohol
- reactivo para prueba oxidasa (tetrametil-p-feniladamina)
- reactivos para prueba de reducción de nitratos (alfa naftilamina 0.5% en ácido acético 5N y ácido sulfanílico 0.8%)
- reactivo de Kovacs para prueba de indol
- Zinc metálico
- agua peptonada 0.1%
- agua peptonada alcalina
- agua peptonada pH 7.2
- agar TCBS en placa
- agar T1N1 en tubo

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

- agar nutritivo en tubo y placa
- agar PCA con telurito de potasio (SMT) en placa
- agar TDA
- agar MYP en placa
- agar SS (novobiocina) en placa
- agar VB en placa
- agar XLD en placa
- medios TSI , LIA y TSA en tubo
- agar Mac Conkey Sorbitol en placa
- agar movilidad nitrato
- agar SPS
- medio gelatina en tubo
- medio tioglicolato en tubo
- medio gelatina lactosa en tubo
- medio de leche con hierro
- caldo Rappaport Vassiliadis
- caldo BHI
- caldo EC
- caldo triptófano
- reactivos para tinción de Gram
- antisuero polivalente *Salmonella* O y H
- antisuero polivalente *V. cholerae*

7.2.2.2.4 Varios

- termómetros
- jarras para anaerobiosis

- gradillas para tubo grande y pequeño
- asa en argolla y en hilo
- asa calibrada 0.01 mL
- bolsas plásticas para stomacher
- bomba de goma
- rotuladores
- pinzas y tijeras estériles
- bandejas de aluminio
- parafilm M
- parafina
- aceite mineral

7.3 Métodos

7.3.1 Recolección de muestras:

Se recolectaron 299 muestras dando prioridad a los alimentos de mayor riesgo, según estudios anteriores del Departamento de Registro y Control de Alimentos y de LUCAM, éstos son aquellos que requieren elevada manipulación para su preparación, o la misma se lleva a cabo usando ingredientes de fácil contaminación. Sólo se muestreó alimentos listos para el consumo (5).

La cantidad de muestra fue como mínimo 100 g para muestras sólidas, y 100 mL para muestras líquidas. Se recolectó en recipientes proporcionados por el vendedor, luego se identificó y trasladó al laboratorio en un recipiente isotérmico.

7.3.2 Proceso analítico

Para evaluar la calidad microbiológica de los alimentos muestreados, se investigó y cuantificó la presencia de algunos microorganismos de mayor prevalencia en diversas regiones del mundo, éstos son *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O157:H7 *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, así como indicadores de contaminación fecal. Las cepas identificadas en los análisis de LUCAM, fueron enviadas al Instituto Adolfo Lutz de Brasil, para su confirmación.

Se reconoce que estos microorganismos no son los únicos indicados para evaluar la calidad higiénica de los alimentos, ni son los únicos que ocasionan ETA, pero por razones analíticas se incluyeron sólo los anteriores.

Los alimentos se agruparon para determinar las pruebas microbiológicas a realizar según el tipo de contaminación más frecuente en cada grupo (anexo 1).

Se llevó un protocolo analítico para cada muestra en el que se indicó el número de control interno, lectura de cada etapa analítica y resultado final.

7.3.2.1 Preparación de la muestra

7.3.2.1.1 Productos sólidos

Después de homogenizar cada muestra, se tomó, con ayuda de instrumentos estériles, tres alícuotas de 25 g cada una, las cuales se diluyeron con agua peptonada pH 7.2, agua peptonada 0.1 %, y con agua peptonada alcalina (APA), respectivamente. Luego de añadir el diluyente se homogenizó en el stomacher durante aproximadamente un minuto.

La dilución en agua peptonada pH 7.2 se usó para determinar y cuantificar *Salmonella* y *E. coli* O157:H7.

A partir de las diluciones en agua peptonada 0.1% y APA se prepararon diluciones hasta 10^{-4} , en tubos con 9 mL del diluyente respectivo. Las diluciones en agua peptonada 0.1% se usaron para determinar y

cuantificar *S. aureus*, *B. cereus*, *C. perfringens* y NMP de organismos coliformes fecales. Las diluciones en APA se usaron para determinar y cuantificar *V. cholerae*.

7.3.2.1.2 Productos líquidos

Para productos líquidos se prepararon diluciones de igual forma que para productos sólidos, usando 25 mL de la muestra.

7.3.2.1.3 Determinación y cuantificación de *Salmonella*

La primera dilución en agua peptonada pH 7.2 se incubó durante 24 horas a 35°C. Después de la incubación se trasladó una alícuota de 0.1 mL a un tubo con 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis, incubando a 42°C durante 24 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación se plasmó con asa en punta en los siguientes medios: SS, VB y XLD y se incubó a 35°C durante 24 horas. Se seleccionaron colonias características de *Salmonella* en cada placa (anexo 2) y se picó con asa en punta un tubo de TSILIA y TSA. Se incubó a 35 °C durante 24 horas.

Los cultivos con reacciones sospechosas (anexo 2) se sometieron a prueba de antisuero polivalente O y H.

7.3.2.1.4 Determinación de *S. aureus*

Se colocó 0.1 mL de cada una de las tres primeras diluciones en agua peptonada 0.1 %, en la superficie de una caja de agar SMT y con ayuda de un bastón tipo hockey se esparció, se dejó secar y luego se incubó a 35°C durante 24 horas. Las placas que contenían entre 5 y 150 colonias típicas, negras, brillantes y puntiformes se colocaron en un horno seco a 65°C por 2 horas para destruir las enzimas diferentes a la DNAsa.

Luego del horneado se agregó 10 mL del medio TDA a cada caja, incubando durante 3 horas a 35°C. Con ayuda de un contador de colonias Quebec, se determinó el número de colonias con halo rosado.

7.3.2.1.5 Determinación y cuantificación de *B. cereus*

Se colocó 0.1 mL de las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} de agua peptonada 0.1 % ,en la superficie seca de una placa de agar MYP y se esparció con ayuda de un bastón tipo hockey. Las placas se incubaron a 35°C por 24 horas.

Se seleccionaron las placas con colonias rosadas de apariencia seca, las cuales se trasladaron a agar nutritivo, incubando 24 horas a 35°C. A partir de estos cultivos se picó en el medio movilidad-nitrato y gelatina incubando a 35°C por 18 a 24 horas.

Se prepararon frotos a partir del cultivo en agar nutritivo y se tiñeron por el método de Gram, para verificar la presencia de bastones cortos con extremidades rectas y la presencia de esporas centrales o paracentrales.

Son características de *B. cereus* la movilidad positiva en 50 a 90% de los casos, la reducción de nitrato a nitrito, y la licuefacción de gelatina.

Para comprobar la licuefacción de gelatina, los tubos se colocaron durante 2 horas en la refrigeradora antes de leer la prueba. Una prueba positiva conservará el medio líquido luego de la refrigeración.

7.3.2.1.6 Determinación y cuantificación de *C. perfringens*

Se sembró en cajas por duplicado, 1 ml de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} de agua peptonada 0.1 %, y luego se agregó de 15 a 20 mL de agar SPS licuado y se dejó solidificar. Luego se colocó una sobrecapa de más o menos 5 mL del mismo agar. Se dejó secar y luego se incubó en anaerobiosis durante 18 a 24 horas a 46°C.

Las placas con 5 a 250 colonias negras fueron seleccionadas y transplantadas a tubos con medio tioglicolato, se agregó parafina par crear ambiente anaerobio y se incubó durante 24 horas a 35°C.

Se prepararon frotos y se tiñeron por la tinción de Gram, para verificar la presencia de bacilos Gram positivo con extremidades rectas.

A partir de cultivos puros en tioglicolato, se sembró con aguja tubos con medio movilidad-nitrato, y se incubó a 35°C por 24 horas. Se inoculó en el medio gelatina-lactosa y se incubó en anaerobiosis a 35°C durante 24 a 48 horas. También se sembró en medio de leche y hierro, el cual se incubó en baño de María a 46°C por un máximo de 5 horas, para llevar a cabo la prueba de fermentación tempestuosa (Storm-test).

Este microorganismo es inmóvil y reduce el nitrato a nitrito. Fermenta la lactosa (presencia de gas y el indicador cambia de rojo a amarillo) y produce licuefacción de la gelatina. Para leer la prueba de licuefacción de la gelatina, se dejó el medio 2 horas bajo refrigeración luego de la incubación.

La coagulación de la leche con presencia de gran cantidad de gas indica una prueba de fermentación tempestuosa positiva.

7.3.2.1.7 Determinación y cuantificación de NMP de coliformes de origen fecal

A partir de las diluciones de agua peptonada 0.1%, se sembró por triplicado 1 mL de cada dilución en tubos con 9 mL de caldo EC con campanas de Durham. Para alimentos sólidos se sembró las diluciones 2, 3 y 4 y para las muestras líquidas las diluciones 1, 2 y 3. Se incubaron durante 3 horas a 35°C y luego se pasaron a baño de María a 45°C en donde se incubaron durante una noche.

Los tubos con producción de gas se sembraron en caldo triptófano y se incubaron a 45 °C durante 18 a 24 horas. Para verificar la producción de indol se agregó algunas gotas del reactivo de Kovacs (aparición de anillo púrpura en la superficie). Los organismos coliformes fecales producen indol y gas en el caldo EC a 45°C.

7.3.2.1.8 Determinación y cuantificación de *V. cholerae*

Se usaron diluciones preparadas por duplicado en APA. Una serie se incubó a 42°C y la otra a 35 °C durante 6 a 8 horas. Luego del período de incubación se observaron los tubos y los que presentaron anillo turbio en la superficie fueron transplantados a cajas de agar TCBS, y se incubaron a 35°C durante 24 horas. Todos los tubos se incubaron durante otras 18 horas a las mismas temperaturas. Luego de este período, se sembró la superficie de todas las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} , con asa en argolla, en placas de agar TCBS y luego se incubó a 35°C por 24 horas.

A partir de las placas de TCBS, se aisló en medio T1N1 de 3 a 5 colonias sacarosa positivas (amarillas), planas, de 2 a 3 mm de diámetro. Se incubaron a 35°C durante 18 a 24 horas. Luego de la incubación se hizo la prueba de oxidasa sobre papel filtro. *V. cholerae* es oxidasa positivo. Los cultivos oxidasa positivo se transplantaron a agar nutritivo y se incubaron durante 18 a 24 horas a 35°C, para someterlos a prueba de antisuero polivalente.

7.3.2.1.9 Determinación y cuantificación de *E. coli* O157:H7

Se usó la dilución 1:10 preparada para cuantificar *Salmonella*. Luego de 6 horas de incubación a 35 °C se plaqueó en agar Mac Conkey Sorbitol y se incubó 24 horas a 35 °C. Se seleccionaron las colonias lactosa negativo (color rosa pálido) y se trasladaron a agar nutritivo, se incubaron a 35 °C por 24 horas y luego se enviaron al IAL para pruebas confirmatorias.

7.3.3 Informe de resultados

Para *V. cholerae* se reportó la dilución en la cual se aisló. Para *S. aureus*, *B. cereus*, y *C. perfringens*, se calculó el número de UFC/ g o mL, expresando los resultados en log 10. Para *Salmonella* y *E. coli* O157:H7, se informó como ausencia o presencia en 25 g o mL. Para informar el NMP de organismos coliformes fecales, se consultaron las tablas de NMP y los resultados se expresaron como NMP de coliformes fecales / g o mL.

En el anexo 3 se presentan las concentraciones de los microorganismos investigados, que son consideradas como de riesgo, aquellas muestras con concentraciones mayores o iguales a las mismas no son consideradas con calidad microbiológica aceptable.

7.3.4 Control de calidad

7.3.4.1 Ambiente

Para que la calidad del ambiente fuese adecuada, con cierta regularidad se utilizó un aerosol desinfectante y las mesas de trabajo se desinfectaron todos los días antes de comenzar a trabajar. Cada día se llevó un control de ambiente de cada mesa de trabajo de la siguiente forma: se expusieron placas de agar no selectivo (agar nutritivo), durante 15 minutos, y luego se incubaron a 35°C durante 24 a 30 horas.

7.3.4.2 Equipo

Las lecturas diarias de las temperaturas de las incubadoras, baños de María y refrigeradoras se registraron diariamente, esto permitió controlar que las temperaturas de los mismos fuesen constantes.

7.3.4.3 Reactivos y medios de cultivo

Cada vez que se usó un reactivo, se llevó a cabo un control positivo y uno negativo (anexo 4). Con este propósito, todos los días se prepararon cultivos de las cepas deseadas e indeseadas en fase estacionaria. (18 a 24 horas) en caldo BHI. Estos cultivos se obtuvieron a partir de un cepario conservado en agar nutritivo, el cual se renovó cada mes.

Todas las pruebas con medios de cultivo se acompañaron de un control positivo y un negativo (anexo 5). Para los medios en placa de Petri se usó el método ecométrico.

7.3.4.4 Diseño de la investigación

Para calcular el número de muestras ha analizar en este estudio, se tomó como base el modelo estadístico de probabilidad conocido como distribución binomial, ya que la población de interés es muy grande. Así pues para obtener el 95 % de probabilidad de detectar microorganismos, si éstos se encuentran en 25 % de los alimentos muestreados, basta investigar 289 muestras (anexo 6).

Para analizar los resultados se calculó el porcentaje de muestras aceptadas, el porcentaje de muestras no aceptadas y el intervalo de confianza (IC 95%) para las muestras no aceptadas.

8. RESULTADOS

Para evaluar la calidad microbiológica de los alimentos preparados y/o vendidos en la vía pública, se analizaron 299 muestras de alimentos listos para el consumo, provenientes de 12 áreas de venta callejera consideradas como de riesgo por el Departamento de Registro y Control de alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala. Estas áreas son consideradas como de riesgo, debido a que gozan de mucha popularidad y en controles anteriores presentaron números elevados de coliformes fecales.

El análisis incluyó la investigación y cuantificación de los siguientes microorganismos: coliformes fecales, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*. La Oficina Sanitaria Panamericana estableció los recuentos considerados como de riesgo. Las muestras con recuentos mayores o iguales a éstos, se tomaron como no aceptables (anexo 3).

De las 299 muestras analizadas, 40 (13.38%) no fueron aceptables y 259 (86.62%) si lo fueron (tabla y gráfica No.1). El intervalo de confianza del 95% para las muestras no aceptadas es de 9.57 a 17.19 % (anexo 7).

Los alimentos se agruparon, según tipo de preparación e ingredientes, en 18 grupos. Se observó que el grupo de las tostadas es el que presenta mayor frecuencia de rechazo (77%), seguido por el grupo de productos lácteos (50%) y productos cárnicos (30%) (tabla y gráfica No.2).

Los microorganismos aislados en las muestras son: *S. aureus*, *Salmonella paratyphi* del grupo B, *C. perfringens*, *B. cereus* y *E. coli* O 157:H7. La frecuencia de rechazo debido a concentraciones riesgosas de estos microorganismos, es la siguiente: de 40 muestras no aceptadas, en 25 (62.5%) se determinó concentraciones de organismos coliformes fecales mayores a las permitidas, en 17 (42.5%) *S. aureus*, en 5 (12.5%) *Salmonella paratyphi* del grupo B, en 3 (7.5%) *C. perfringens*, en 2 (5%) *B.cereus* y en 1 (2.5%) *E. coli* O157:H7 (tabla y gráfica No. 3).

Los recuentos elevados de coliformes fecales fueron reportados en muestras procedentes de diversos grupos, sin predominar ninguno en especial, en cambio *S. aureus* predominó en el grupo de las tostadas y productos lácteos ; *Salmonella* se aisló en el grupo de las tostadas, en el de las ensaladas, en el de refrescos y en el de las frutas peladas ; *C. perfringens* predominó en el grupo de los chiles rellenos , *B. cereus* en el grupo de los dulces elaborados y *E. coli* O157:H7 se aisló de una muestra de fruta pelada.

Algunas muestras fueron rechazadas por presentar concentraciones riegosas de más de un tipo de éstos microorganismos (tabla y gráfica 4).

Las cepas de *B. cereus* aisladas no son productoras de toxina diarreica, quedando pendiente la detección de toxina emética. Todas las cepas de *C. perfringens* aisladas son productoras de toxina A.

En ninguna muestra se aisló *V. cholerae*.

El Instituto Adolfo Lutz de Brasil (IAL), que actuó como centro colaborador en éste estudio. confirmó los resultados anteriores y además identificó la presencia de *Aeromonas sp.*, *A. hydrophila* y *A. caviae*, en cepas enviadas como sospechosas de *E. coli* O157:H7.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Como se indicó con anterioridad, 40 de las 299 muestras analizadas (13.38 %), no fueron aceptadas por presentar concentraciones riesgosas de microorganismos causantes de ETA y/o por presentar concentraciones elevadas de coliformes fecales, con un intervalo de confianza del 95% de 9.57 a 17.19 %. Es decir que de 100 alimentos de las áreas de venta callejera consideradas como de riesgo, 10 a 17 no tienen calidad microbiológica aceptable, por lo tanto el consumo de los mismos constituye factor de riesgo para adquirir alguna ETA.

La mayoría de muestras (62.5%) fueron rechazadas por presentar concentraciones de coliformes fecales mayores a las permitidas. Un aspecto importante que se debe tomar en cuenta, es que el método utilizado en este estudio para determinar el NMP de organismos coliformes fecales, es el recomendado por OPS para el estudio "Evaluación del riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en algunas ciudades de América Latina", el cual difiere del utilizado por el LUCAM para llevar a cabo los controles de estas áreas. La diferencia principal es que el método utilizado por el LUCAM requiere el uso de medios de enriquecimiento, los caldos LTD y LTS. Es posible que con el uso de estos medios de enriquecimiento, el número de muestras rechazadas por recuentos elevados de coliformes fecales, aumente.

Los microorganismos aislados con más frecuencia, coliformes fecales y *S. aureus*, son los que principalmente se encuentran implicados con técnicas de manipulación inadecuadas y tienen una participación fundamental en la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos; *S. aureus*, es causante de intoxicaciones y la presencia de coliformes fecales aumenta el riesgo de aislar otros patógenos. Un dato que confirma la importancia de la manipulación en la contaminación de los alimentos, es que de 22 muestras de tostadas, alimento que requiere mucha manipulación para su preparación, 17 (77%) no fueron aceptables, principalmente por haber aislado a uno o ambos de éstos microorganismos en concentraciones mayores a las permitidas.

En 17.5 % de las muestras rechazadas, se aisló dos cepas de los microorganismos investigados, y en 7.5 % tres. Esto indica que las condiciones inadecuadas de preparación y almacenamiento, pueden ocasionar la contaminación y posterior multiplicación de más de una cepa de microorganismos lo cual aumenta el riesgo de adquirir alguna ETA

En 5 muestras (12.5 %) se aisló *Salmonella paratyphi* del grupo B, lo cual puede sugerir cuál es la especie causante de salmonelosis en el Departamento de Guatemala.

En sólo 3 muestras (5.4 %) se aisló *C. perfringens*, y en 2 (5%) *B. cereus*. Ambos microorganismos son causantes de intoxicaciones alimentarias. En el caso de *C. perfringens* se confirmó la presencia de toxina A, y para *B. cereus* sólo se confirmó la ausencia de toxina diarreica. A pesar de que los porcentajes de frecuencia para estos microorganismos son bajos, no se puede inferir que los casos de ETA causados por los mismos sean pocos, ya que se debe tomar en consideración que el muestreo incluyó todo tipo de alimentos, líquidos y sólidos, no sólo aquellos que son medios aptos para estos microorganismos.

Se aisló una cepa de *E. coli* O157:H7 en una muestra de fruta pelada. Este microorganismo es capaz de causar intoxicación, y en algunos casos, complicaciones tales como colitis hemorrágica.

El IAL confirmó los resultados anteriores y además determinó, en cepas enviadas como sospechosas de *E. coli* O157:H7, la presencia de *Aeromonas sp. A. hydrophila* y *A. caviae*; estos microorganismos han sido asociados a procesos diarreicos en el humano.

Estos resultados demuestran el riesgo que puede constituir el consumo de éste tipo de productos.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El 13.38 %, con un intervalo de confianza del 95% de 9.57 a 17.19 %, de los alimentos preparados y/o vendidos en la vía pública en áreas de venta callejera del Departamento de Guatemala consideradas como de riesgo, no tienen calidad microbiológica aceptable.
- 10.2 Los recuentos elevados de coliformes fecales son la causa de rechazo más frecuente en este tipo de producto (62.5 %), seguidos por *S. aureus* (42.5 %), *Salmonella paratyphi* del grupo B (12.5 %), *C. perfringens* (7.5 %), *B. cereus* (5%), y *E. coli* O157:H7 (2.5 %).
- 10.3 No se aisló ninguna cepa de *V. cholerae*.
- 10.4 Sólo se aisló una cepa de *E. coli* O157:H7 y fue en una muestra de fruta pelada.
- 10.5 Las tostadas son los alimentos con mayor porcentaje de rechazo (77 %). De este grupo se aisló coliformes fecales, *S. aureus* y *S. paratyphi* del grupo B.
- 10.6 Los grupos de alimentos en los cuales se aisló *S. paratyphi* del grupo B, son los refrescos, frutas peladas, ensaladas y tostadas.
- 10.7 Además de los microorganismos mencionados se aisló *Aeromonas sp.*, *A. caviae* y *A. hydrophila*, también asociados a procesos diarreicos en humanos.

11. RECOMENDACIONES

Es necesario llevar a cabo estudios que permitan comparar los resultados obtenidos al utilizar diferentes diluciones y medios de enriquecimiento en el cálculo del NMP de coliformes fecales.

También es importante realizar estudios que permita conocer la participación de *C. perfringens* y *B. cereus* en la incidencia de ETA en Guatemala, en el cual se analicen alimentos cuyas características son específicas para el crecimiento de los mismos.

Se recomienda preferir el consumo de alimentos cocidos, alimentos que se sirven aún calientes y aquellos cuya preparación no requiera mucha manipulación. Es preferible adquirirlos en lugares de mucha demanda, pues esto evita el almacenamiento en condiciones inadecuadas.

Se recomienda, evitar dejar los alimentos ya preparados a temperatura ambiente, recalentar adecuadamente los mismos y evitar la contaminación cruzada entre alimentos crudos y cocidos. La manipulación de los alimentos debe llevarse a cabo sólo por personas sanas y con las manos limpias.

12. REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la Salud, División de Control de Enfermedades Transmisibles, Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación del riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina". Washington: OPS; 1994.
2. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Informe de una consulta de expertos de la FAO, La venta de alimentos en las calles. Indonesia: FAO; 1988.
3. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica Control Sanitario de Los Alimentos, Discusiones técnicas de la XXVIII reunión del consejo directivo de la OPS. Washington: OPS; 1982.
4. World Health Organization. Food and Nutrition Programme. Food Safety Unit. Contaminated food: a major cause of diarrhoeae and associated malnutrition among infants and young children. Washington: WHO; 1993;3:1-4
5. Sección de Microbiología de alimentos. Anales de laboratorio; cuaderno de resultados. Guatemala:LUCAM; 1990-1994.
6. El cólera y la comercialización de los alimentos. Bol Sanit Panam 1993;115:458-463.
7. Organización Mundial de la Salud. Foro Mundial de la Salud, Revista Internacional de desarrollo sanitario. USA:OMS; 1991;12:35-40.
8. Turismo y protección de los alimentos. Bol Sanit Panam 1991;11:86-91.
9. Vigilancia Epidemiológica de ETA : actividades regionales. Bol Sanit Panam 1991;11:277-279.
10. Prado V, O'Ryan MI. Acute gastroenteritis in Latin America. Infect Dis Clin North Am 1994;8:11-106
11. Cruz JR. Simposio sobre enfermedades diarreicas, Aspectos microbiológicos de las enfermedades diarreicas. Rev Col Med Guat 1986;37:14-22.
12. Todd EC. Fodborne and waterborne disease in Canadá 1982, Annual Summary. J Food Prot 1988;51:56-65.
13. Mossel D, Moreno B. Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Acribia, 1987.351p. (p.10-28).
14. Miller J. Food Safety. 2nd ed. USA: Eagan, 1992. 453p. (p.107-140).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

13. ANEXOS

ANEXO 1

Resumen de Pruebas Microbiológicas por grupos de Alimentos

CLASE DE PRODUCTOS	VC	SA	BC	CP	S	CF	ECO
Cárnicos	X	X		X	X	X	X
Frutas y verduras	X				X	X	X
Granos y cereales	X	X	X		X	X	X
Dulces (postres)		X	X		X	X	X
Productos lácteos	X	X	X		X	X	X
Jugos y refrescos naturales	X				X	X	X
Helados	X	X			X	X	X
Pescado y derivados	X	X			X	X	X

VC: *Vibrio cholerae*

SA: *Staphylococcus aureus*

BC: *Bacillus cereus*

CP: *Clostridium perfringens*

S: *Salmonella*

CF: Coliformes fecales

ECO: *Escherichia coli* O157:H7

Referencia:

Organización Panamericana de la Salud, División de Control de Enfermedades Transmisibles.
Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación de riesgo
microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina".
Washington: OPS, 1994.

ANEXO 2

Características morfológicas y bioquímicas de *Salmonella sp.* en diversos medios de cultivo

MEDIO DE CULTIVO	CARACTERISTICAS
SS	colonias incoloras, con o sin centro negro
XLD	colonias con centro negro
VB	colonias incoloras o rosadas, ligeramente opacas
TSI	reacción : k/a, H ₂ S, gas +
LIA	reacción: k/k , H ₂ S *

* Excepto para *S. paratyphi A*, k/a , sin H₂S

Referencia:

Organización Panamericana de la Salud ,División de Control de Enfermedades Transmisibles.
Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación de riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina".
Washington:OPS, 1994.

ANEXO 3

Concentraciones de los microorganismos investigados, consideradas como de riesgo

Microorganismo	Concentración considerada como riesgo
<i>V. cholerae</i>	mayor o igual a 10^3 UFC / g o mL
<i>S. aureus</i>	mayor o igual a 10^4 UFC/g o mL
<i>B. cereus</i>	mayor o igual a 10^4 UFC/ g o mL
<i>C. perfringens</i>	Mayor o igual a 10^4 UFC/ g o mL
<i>Salmonella</i>	presencia
<i>E. coli</i> O157:H7	presencia
Coliformes fecales	10^2 UFC /g o mL para productos cocidos y 10^3 UFC / g o mL para productos crudos

Referencia:

Organización Panamericana de la Salud ,División de Control de Enfermedades Transmisibles.
Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación de riesgo
microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina".
Washington:OPS, 1994.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

ANEXO 4

Controles positivos y negativos para los reactivos

PRUEBA	REACTIVO	CONTROL (+)	CONTROL (-)
Oxidasa	tetrametil-p-fenilendiamina	<i>V. cholerae</i> <i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>
Reducción de Nitrato	alfa naftilamina, ácido sulfanílico	<i>B. cereus</i>	<i>L. innocua</i>
Producción de Indol	Reactivo de Kovacs	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>

Referencia:

Organización Panamericana de la Salud, División de Control de Enfermedades Transmisibles. Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación de riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina". Washington:OPS, 1994.

ANEXO 5

Controles positivos y negativos para los medios de cultivo

MEDIO	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
TCBS	<i>V. cholerae</i>	<i>E. coli</i>
Gelatina	<i>B. cereus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>
Movilidad Nitrato	<i>B. cereus</i>	<i>K. pneumoniae</i>
SPS	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>
Tioglicolato	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>
Lactosa gelatina	<i>C. perfringens</i>	<i>S. typhimurium</i>
Rappaport Vassiliadis	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
T1N1	<i>V. cholerae</i>	<i>E. coli</i>
VB	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
SS	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
TSI	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
LIA	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>
Agar Mac Conkey Sorbitol	<i>E. coli</i> O157:H7 (colonias incoloras)	<i>E. coli</i> (colonias rosado fuerte)
Caldo triptófano	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>

Referencia:

Organización Panamericana de la Salud, División de Control de Enfermedades Transmisibles. Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación de riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina". Washington:OPS, 1994.

ANEXO 6

Cálculos para establecer el número de muestras a analizar

La fórmula utilizada es la siguiente:

$$n = \frac{NC^2 \sigma^2}{\Delta^2}$$

en donde,

n es el número de muestras

NC es el nivel de confianza para hacer la estimación (95%), en el cual $NC = Z_{1-\alpha/2} = 1.96$

σ^2 es la varianza = pq , en donde p = frecuencia relativa de producto contaminado (0.25) y q = frecuencia relativa de producto no contaminado (0.75)

Δ es el límite de error en la estimación, 5% (0.05)

entonces,

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.1875)}{0.05} = 289 \text{ muestras}$$

ANEXO 7

Cálculo del Intervalo de Confianza al 95% para muestras no aceptables

Frecuencia de contaminación (p): número de contaminados/ número total = $40/299 = 0.13$

Frecuencia de no contaminados (q): $1-p = 1-0.13= 0.87$

IC 95% = $p \pm Z_{1-\alpha/2} \sqrt{pq/n}$, en donde $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$
 $= 0.038 = 3.8 \%$

La frecuencia de contaminación es de 13.38 %, con un IC al 95% de 9.57 a 17.19%

ANEXO 8

FICHA PARA REPORTE DE RESULTADO DE ANALISIS

Laboratorio _____ Número _____

Ciudad _____ Fecha _____

Alimento _____

Fecha y hora de recepción en el laboratorio _____

Responsable de la toma en la calle _____

Fecha de conclusión del análisis _____

Observaciones sobre la muestra _____

RESULTADOS

V. cholerae /g o mL _____

Número de UFC de *S. aureus* /g o mL _____

Número de UFC de *B. cereus* /g o mL _____

Número de UFC de *C. perfringens* /g o mL _____

Detección de *E. coli* O157:H7 / 25g o mL _____

Detección de *Salmonella spp.* / 25g o mL _____

NMP de coliformes fecales / g o mL _____

Referencia:

Organización Panamericana de la Salud ,División de Control de Enfermedades Transmisibles.

Programa de Salud Pública Veterinaria. Guía Técnica para el estudio "Evaluación de riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina".

Washington:OPS, 1994.

Tabla No. 1

**Frecuencia de aceptabilidad y no aceptabilidad de las
299 muestras de alimentos analizadas**

	Número de muestras	Porcentaje
Aceptables	259	86.62 %
No aceptables	40	13.38%
Total	299	100%

**PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA |
Biblioteca Central**

Gráfica No. 1

Frecuencia de aceptabilidad y no aceptabilidad

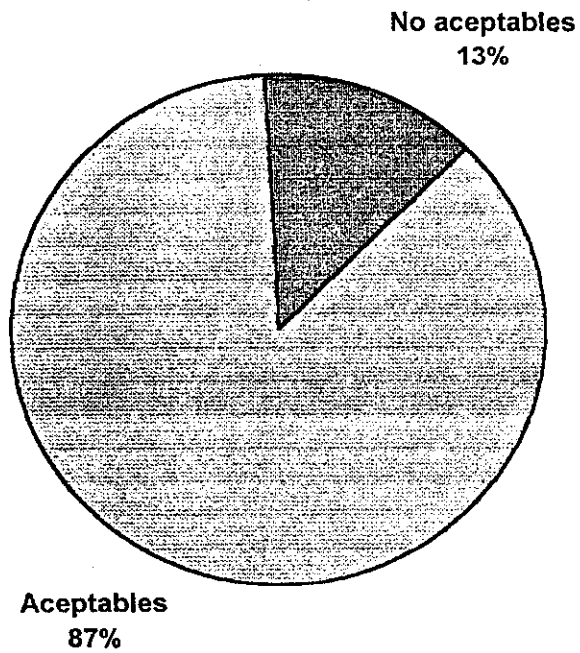


Tabla No.2

Frecuencia de muestras no aceptadas en cada grupo de alimentos

Grupo de alimento	Número de muestras analizadas	Número de muestras rechazadas	% de rechazo
Refrescos	67	2	3
Fruta sin cáscara	50	1	2
Tostadas	22	17	77
Licuados	16	0	0
Productos cárnicos	10	3	30
Granos	7	1	14
Dobladas	8	0	0
Helados y gelatinas	17	0	0
Dulces elaborados	10	1	10
Mariscos y Pescados	7	2	29
Productos lácteos	4	2	50
Envueltos en huevo	3	0	0
Ensaladas	33	3	9
Chow mein	1	0	0
Elote loco	1	0	0
Aderezos	8	1	0
Panes y tortillas rellenos	15	2	13
Chiles rellenos	20	5	25
TOTAL	299	40	13.37

Gráfica No. 2

Porcentaje de rechazo por grupo de alimentos

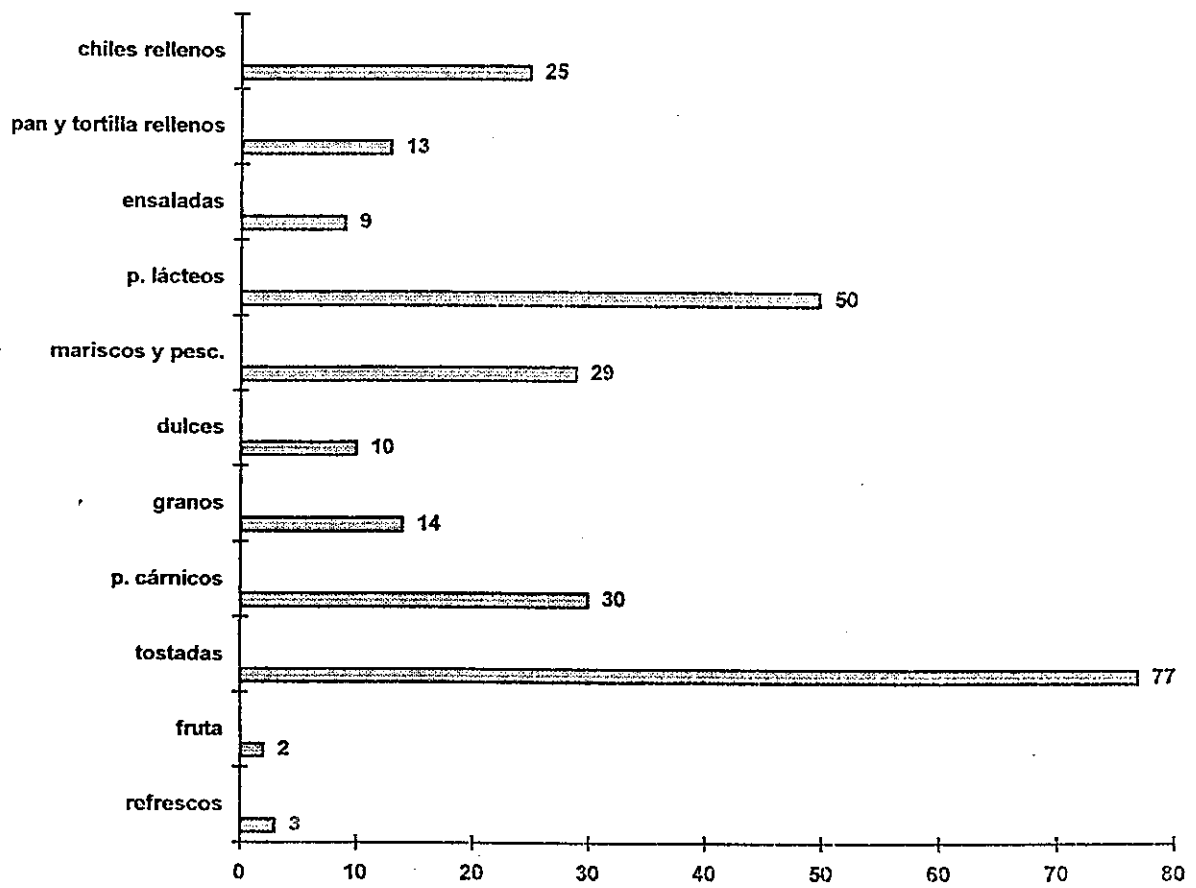


Tabla No. 3

Frecuencia de microorganismos causantes de ETA aisladas

en 40 muestras

Bacteria	Número de muestras	Porcentaje
Coliformes fecales	25	62.5 %
<i>S. aureus</i>	17	42.5 %
<i>S. paratyphi</i> grupo B	5	12.5 %
<i>C. perfringens</i>	3	7.5 %
<i>B. cereus</i>	2	5.0 %
<i>E. coli</i> O157:H7	1	2.5%

Gráfica No. 3

Frecuencia de microorganismos causantes de ETA
aislados en 40 muestras

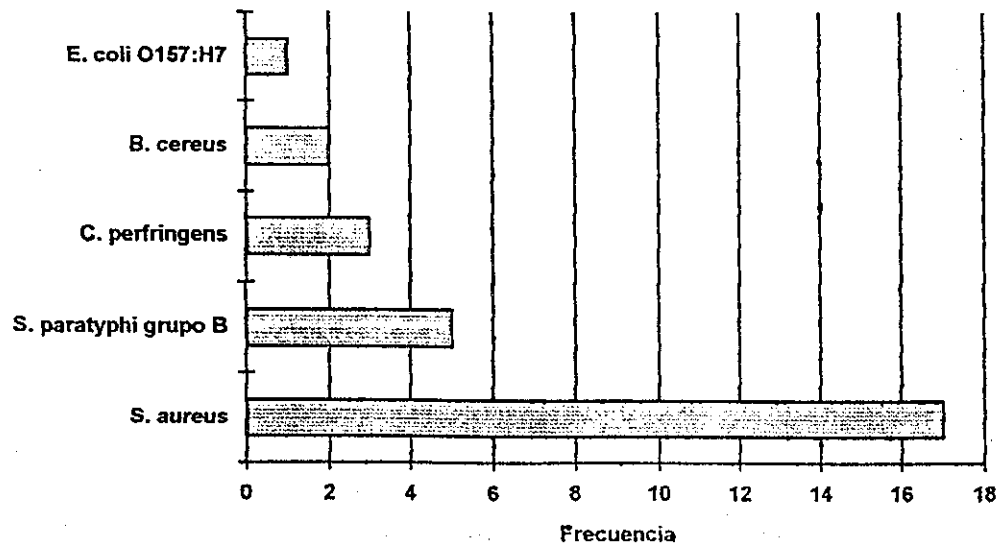


Tabla No. 4

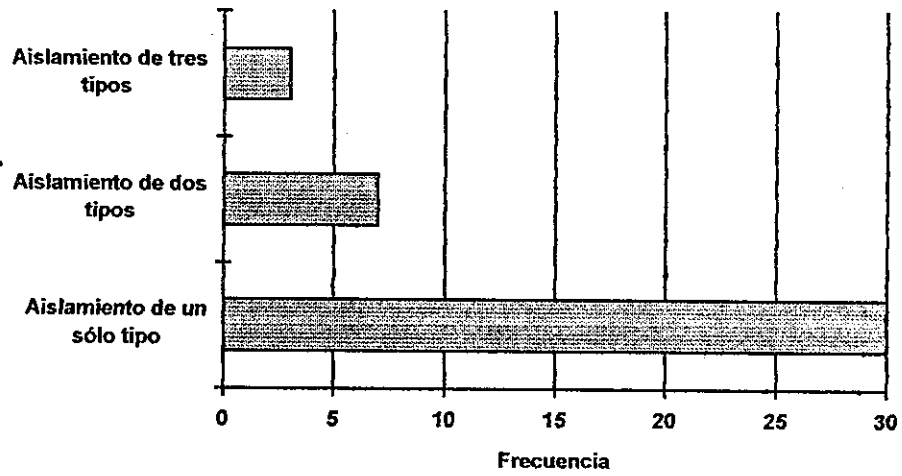
**Frecuencia de muestras en las que se aisló más de un tipo
de microorganismo causante de ETA**

	Número de muestras	Porcentaje
Aislamiento de un sólo tipo	30	75 %
Aislamiento de dos tipos	7	17.5 %
Aislamiento de tres tipos	3	7.5 %
Total	40	100 %

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Gráfica No. 4

Frecuencia de muestras en las que se aislo más de un tipo de microorganismo



Dalia Menchú Rosal

Dalia Estela Menchú Rosal
Tesieta

Lda. Terecita Aguilar de Miranda

Licda. Terecita Aguilar de Miranda
Asesor

Gerardo Arroyo Catalán

Lic. Gerardo Arroyo Catalán
Director

Jorge Rodolfo Pérez Folgar

Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano