

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

Detección de las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* en alimentos
de las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala



Alma Irene Jo León

Química Bióloga

Guatemala, Mayo del 2,005

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

Detección de las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* en alimentos
de las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala



INFORME DE TESIS

Presentado por

Alma Irene Jo León

Para optar al título de
Química Bióloga

Guatemala, Mayo del 2,005

ÍNDICE

	Pg.
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. ANTECEDENTES.....	5
A. Enfermedades transmitidas por alimentos.....	5
1. Historia.....	5
2. Generalidades.....	6
3. Clasificación.....	7
a. Infecciones alimentarias	7
b. Intoxicación alimentaria.....	10
4. Factores de riesgo.....	16
B. Inocuidad alimentaria.....	17
C. Seguridad alimentaria.....	18
D. Manipuladores de alimentos.....	20
E. Calidad alimentaria.....	21
F. Brotes epidemiológicos.....	22
1. Epidemiología de enfermedades transmitidas por alimentos en Guatemala.....	24
G. Técnicas de identificación de enterotoxinas.....	24
1. VIDAS Staph enterotoxin (SET).....	25
IV. JUSTIFICACIÓN.....	26
V. OBJETIVOS.....	27
VI. HIPÓTESIS.....	28
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
VIII. RESULTADOS.....	34
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	42
X. CONCLUSIONES.....	45

XI. RECOMENDACIONES.....	46
XII. REFERENCIAS.....	48
XIII. ANEXOS.....	56

I. RESUMEN

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positivo que se encuentra tanto en el ambiente (suelo, agua, aire) como en las fosas nasales, garganta, piel y en el pelo de los individuos sanos; también es común encontrarlo en los alimentos preparados que contienen altas concentraciones de proteína como el pollo, carne, lácteos. Debido a la diversidad de ambientes en los que se puede encontrar *S. aureus*, es posible que las mismas personas que preparan y elaboran los alimentos (manipuladores) los contaminen con la bacteria. Esta situación puede causar la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos -ETA'S- ya que *S. aureus* genera enterotoxinas que ocasionan intoxicación alimentaria.

El presente estudio se realizó en el segundo trimestre del presente año en la Unidad de Salud del Departamento de Bienestar Estudiantil Universitario de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), con el fin de detectar la presencia de las enterotoxinas producidas por *S. aureus* en alimentos expendidos en las quince cafeterías localizadas en el Campus Central y Centro Universitario Metropolitano de la USAC. Para tal propósito el trabajo se dividió en dos partes: la primera fue una encuesta dirigida a encargados de cafeterías con el fin de establecer factores de riesgo de ETA'S. La segunda parte del trabajo consistió en la cuantificación de *S. aureus* y detección de sus toxinas en alimentos expendidos en las cafeterías evaluadas, entre ellos panes con pollo, hamburguesas, desayunos, almuerzos o pan con pierna.

En los resultados de la encuesta se pudo observar 13/15 (84.8%) encargados, sí tenían conocimiento de la forma en que se adquieren las intoxicaciones alimentarias. También se encontró que el factor de riesgo mayormente relacionado con la presencia de *S. aureus* en comidas, es la falta de capacitación en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

Como segunda parte del trabajo se realizó la cuantificación de *Staphylococcus aureus* en 90 muestras de los tres alimentos anteriormente descritos, aplicando para ello el método de esparcido en superficie; posteriormente se procedió a contar las colonias típicas de dicho microorganismo y las colonias sospechosas fueron confirmadas con la prueba de coagulasa utilizando antisuero de plasma de conejo.

Por último, para realizar la detección de las enterotoxinas de *S. aureus*, se tomó de los alimentos muestreados 15 muestras con conteos $>10,000$ UFC/gr y 15 con conteos <1000 UFC/gr de *S. aureus*, aplicando para ello la técnica inmunoenzimática ELFA (unión enzimática por fluorimetría).

Se encontró que 16 (17.8%) de las 90 muestras mostraron cuantificaciones de *S. aureus* mayores a 10,000 UFC/gr. De éstas el pan con pollo fue el alimento del cual con mayor frecuencia (9/16, 56.3%) se aisló el microorganismo.

Utilizando el método inmunoenzimático VIDAS Staph no se detectó enterotoxinas de *S. aureus* en los alimentos muestreados.

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S) se originan por el consumo de los mismos contaminados con microorganismos patógenos o con sus toxinas, produciendo ya sea infecciones o intoxicaciones alimentarias (1-4). Las intoxicaciones alimentarias son las enfermedades provocadas por la ingestión de la toxina formada por los microorganismos patógenos, siendo una de las más frecuentes la producida por *Staphylococcus aureus* (5-7).

Es importante determinar la calidad microbiológica de los alimentos para que así se garantice la inocuidad de los mismos, ya que éstos pueden ser vía de transmisión de enfermedades (8, 9). Así mismo debe determinarse cuáles son los microorganismos que con mayor frecuencia son los causantes de las ETA'S y los alimentos relacionados con ellos. En algunos casos de estas enfermedades no se logra aislar un microorganismo patógeno, por lo que se atribuye la etiología a las toxinas microbianas producidas por éstos (8, 10, 11).

El laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), realiza de rutina control de calidad a los alimentos que se expenden en las cafeterías de la USAC, encontrando que algunos alimentos presentan valores de *S. aureus* que exceden el límite superior permitido para su consumo; sin embargo dichos controles se limitan al crecimiento de colonias de la bacteria, sin detectar presencia de toxinas de la misma.

El presente estudio se llevó a cabo en el segundo trimestre del 2004, siendo las muestras procesadas en el laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar Estudiantil de la USAC.

Por consiguiente el trabajo pretendió detectar la presencia de enterotoxinas de *S. aureus* en panes con pollo, hamburguesas y desayunos, debido a que en estudios anteriores presentaron el mayor índice dentro de los

alimentos no aceptados por límites estandarizados de dicho microorganismo (<10,000 UFC/gr) en las 15 cafeterías de la USAC.

A los alimentos muestreados se les realizó simultáneamente tanto la cuantificación como la detección cualitativa de enterotoxinas de *S. aureus*.

Los resultados se informaron por medio de porcentajes y gráficas; además por medio de una encuesta se determinó la presencia de algunos factores de riesgo de *S. aureus*, la cual fue tabulada utilizando EPI-INFO 6.04d.

III. ANTECEDENTES

A. Enfermedades transmitidas por alimentos

1. Historia

Los microorganismos han existido desde el inicio del mundo en los seres humanos, animales, alimentos y en el ambiente; además los microorganismos son los causantes de la descomposición de los alimentos que se descubrió hace 8000 a 10,000 años y que posteriormente se conoció como las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's) (12).

En la época de la momificación se empezó a conocer la preservación de alimentos, ya que durante esta época los judíos utilizaban la sal del mar Muerto para preservar sus comidas, los chinos y los griegos empezaron a comer el pescado salado, además el hombre empezó a comprender la transmisión de enfermedades por los alimentos o el peligro de comer carne de animales enfermos (4, 12, 13).

Según el reporte de 1978 de Labueza y Jay, la naturaleza de las intoxicaciones alimentarias y su descomposición fue descubierta en el año 1,100 después de Cristo, debido a la intoxicación de Ergot (producido por *Claviceps purpurea*), la que causó aproximadamente 40,000 muertes en la edad media, pero no se sabía que la toxina provenía de un hongo, sino que se creía que era por la carne (3, 12).

En 1658 el sacerdote Kircher sugirió que los microorganismos causaban descomposición de los alimentos y Pasteur fue el primer hombre en entender la presencia y el rol de los microorganismos en los alimentos (3, 12).

Algunos acontecimientos importantes en la Microbiología de los alimentos se mencionan en el anexo 1.

2. Generalidades

Las ETA's son las siglas como se conoce en medicina a las enfermedades transmitidas por alimentos y se trata de un síndrome debido a la ingestión de alimentos, contaminados por bacterias, virus, hongos, parásitos, componentes químicos o tóxicos en cantidades que afecten a una persona o grupo de ellas (14-19).

En las ETA's actúan factores predisponentes como la contaminación de los alimentos naturales, interrupción de la cadena de frío, antecedente de viaje a zonas endémicas, tiempo transcurrido entre la preparación y la ingesta, el consumo de agua contaminada o su uso en la preparación de los alimentos (17-19).

Se debe considerar el diagnóstico de una enfermedad transmitida por alimentos cuando dos o más personas que han compartido un alimento desarrollan una sintomatología caracterizada comúnmente por náuseas, vómitos, diarrea, dolor de cabeza, fiebre y dolor abdominal. Los síntomas varían dependiendo el tipo de contaminación, así como la cantidad del alimento contaminado consumido (20, 21). Así mismo los síndromes de las enfermedades transmitidas por alimentos se clasifican según el período de incubación, el agente causal y los alimentos habitualmente asociados con causas específicas. El diagnóstico puede ser confirmado en el laboratorio mediante examen de heces, vómitos y sangre.

Cuando se sospecha de un brote de ETA's, se debe preservar el alimento, buscar tratamiento médico si es necesario, notificar inmediatamente a los funcionarios de salud pública locales o estatales para que ellos colaboren con los profesionales de la salud para efectuar las pruebas de laboratorio ya que normalmente no están disponibles en los laboratorios clínicos de rutina básica (20, 22).

3. Clasificación

Las enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos se dividen en dos categorías: las infecciones alimentarias y las intoxicaciones alimentarias (2, 3, 5, 14, 23-26).

a. Infecciones alimentarias

Son aquellas causadas por el crecimiento de microorganismos patógenos en el cuerpo humano, después de haber ingerido el alimento contaminado (1, 2, 5, 23).

Los microorganismos que comúnmente producen las infecciones alimentarias son: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus* (14, 16, 27).

i. *Escherichia coli*:

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativo, fermentan la lactosa produciendo ácido, gas y es un indicador de contaminación fecal.

La *E. coli* generalmente forma parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal del ser humano y de los animales con sangre caliente transmitiéndose ésta por la vía feco-oral.

Algunas cepas de *E. coli* son patógenas resistentes a medios ligeramente ácidos, es por esto que los niños son los más afectados por esta bacteria, ya que tienen una acidez gástrica baja. Se dividen en 5 grupos dependiendo de las cepas y de los diferentes mecanismos de acción: *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enteroagresiva (10, 14, 26).

La *E. coli* enterohemorrágica (*E. coli* O157:H7) es probablemente el grupo de mayor importancia en las enfermedades transmitidas por alimentos; este tipo

tiene la capacidad de adherirse a la mucosa epitelial del intestino y producir citotoxinas que destruyen las células intestinales, por lo que en las heces se observan hilos de sangre; es la única bacteria que causa el “síndrome urémico hemolítico” afectando a los niños menores de 4 años, adultos e inmunodeficientes. Comienza como una diarrea sanguinolenta, dolor abdominal y vómitos, y a los tres días se desarrolla una insuficiencia renal aguda con edemas, requiriendo internación. El período de incubación es de dos días y el período de estado es de cinco días.

Los alimentos relacionados a la transmisión de este microorganismo son los lácteos en mal estado o sin pasteurizar, agua contaminada, carne mal cocida o mal conservada (10, 14).

ii. *Salmonella* sp

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativo, no esporulados, fermentan la glucosa, generalmente producen gas y son anaerobios facultativos (1, 12, 26, 28).

El género *Salmonella* tiene varias especies que son patógenas tanto al ser humano como a algunos animales y estas cepas adquieren su nombre dependiendo de los nombres de los lugares donde se observaron por primera vez y por presentar diferentes antígenos (12, 29).

Este microorganismo sobrevive fuera del cuerpo durante períodos largos y en los alimentos cálidos y húmedos se multiplica rápidamente (29).

La infección se produce cuando se ingieren alimentos contaminados con gran cantidad de bacterias. El período de incubación es de 6 a 72 horas. Entre los principales síntomas de la infección gastrointestinal causada por *Salmonella* se encuentran náuseas, vómitos, malestar general, dolor abdominal y diarrea, siendo ésta última la manifestación más frecuente de la infección (25).

Los alimentos suelen contaminarse directamente por los animales o por el ser humano. Los alimentos contaminados con mayor frecuencia son la carne vacuna, pescado, pollo, flan, crema artificial, huevo crudo y productos que lo contienen (25, 28-30).

iii. *Shigella* sp

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativo, inmóviles, no fermentan la lactosa, producen ácido sin gas, la temperatura óptima para su crecimiento es a 37°C (25, 26, 31).

El único hospedero de este microorganismo es el ser humano. Se dividen en cuatro especies dependiendo de su antígeno somático O: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* (32).

Este microorganismo penetra e invade la mucosa intestinal provocando la disentería bacilar; el período de incubación es de 12 a 50 horas, entre los síntomas y signos más comunes está la inflamación intestinal, diarrea y evacuaciones líquidas con sangre, moco y pus. Este patógeno se transmite principalmente por vía feco-oral por medio de alimentos y agua contaminada. Entre los alimentos implicados están las ensaladas de papa, el pollo y los mariscos (26, 30, 32, 33).

iv. *Vibrio cholerae*

Pertenece a la familia *Vibrionaceae* son bacilos curvos Gram negativo, generalmente móviles, halofílico (necesita NaCl para desarrollarse), aerobios o anaerobios facultativos, vive en agua salada, en estanques de agua y sólo causa infección en los seres humanos (10, 26, 30, 34, 35).

Vibrio cholerae causa la patología llamada cólera que se caracteriza por síntomas tales como diarrea, dolor de estómago, náuseas y vómitos. Este microorganismo se multiplica en la luz intestinal, donde elabora la toxina del

cólera, luego ésta se une a la pared celular intestinal provocando diarrea (10, 31, 36).

Vibrio cholerae se transmite por alimentos y bebidas contaminadas, siendo los alimentos más propensos a la contaminación los mariscos y el pescado que se comen crudos (10, 26).

v. *Bacillus cereus*

Pertenece a la familia *Bacillaceae*, es un bacilo Gram positivo, esporoformador, aeróbico, catalasa positivo, crece a una temperatura mínima de 4 a 5°C y una máxima de 48 a 50°C a un pH entre 4.9 a 9.3. Este microorganismo se encuentra normalmente presente en el suelo, el polvo y el agua (12, 25, 37, 38). *Bacillus cereus* puede causar dos tipos de enfermedades transmitidas por alimentos clínicamente diferentes: el síndrome diarréico y el síndrome emético que se tratará posteriormente.

El síndrome diarréico es causada por la ingestión de alimentos contaminados por el microorganismo y una vez en el intestino produce la toxina y se caracteriza por dolor abdominal, tenesmo, diarrea y sólo en ocasiones se observan vómitos y náuseas. El período de incubación es de 8 a 16 horas y el proceso dura 12 a 24 horas, los alimentos implicados son sopas de verduras, carne picada, carne de ave, salsas, natillas, leche y pudines (12, 32, 37, 39).

b. Intoxicación alimentaria

Intoxicaciones alimentarias son las enfermedades provocadas por la ingestión de químicos tóxicos o por la ingestión de toxinas producidas por los microorganismos en los alimentos, sin la necesidad de la multiplicación de la bacteria dentro del cuerpo del ser humano (2, 23, 25). Esta enfermedad comienza comúnmente con síntomas parecidos a los de la gripe, tales como

náusea, vómitos, diarrea y fiebre, por lo que la mayoría de la gente no se da cuenta que la enfermedad es causada por la ingestión de alimentos contaminados (22).

Hay tres tipos de intoxicaciones alimentarias auténticas causadas por las toxinas bacterianas: síndrome emético, botulismo y la intoxicación estafilocócica (1, 5, 14).

i. Síndrome emético por Bacillus cereus

El síndrome emético se produce por la ingestión de alimentos contaminados por la toxina de *Bacillus cereus* y se caracteriza por náuseas, vómitos y en raras ocasiones diarrea. El período de incubación es de 1 a 5 horas y el proceso dura de 6 a 24 horas; los alimentos implicados son arroz hervido o frito y pasta cocida (32, 37, 39).

ii. Botulismo por Clostridium botulinum

Es la intoxicación alimentaria causada por la toxina producida por *Clostridium botulinum* (2, 14, 40, 41).

Clostridium botulinum es un bacilo anaeróbico del suelo, esporulado, saprofítico, Gram positivo y formador de gas. Hay 7 tipos de toxinas que afectan tanto al hombre como a los animales: A, B, C, D, E, F, G (1, 2, 9, 42, 43). La dosis letal de toxina para los humanos es 0.2 - 2.0 µg/kg (41).

El desarrollo microbiano y la producción de las toxinas están influenciados por la temperatura. La temperatura mínima necesaria para la germinación de esporas es de 15°C, la óptima a 37°C y su producción máxima de toxina es a temperaturas inferiores debido a que es más estable a estas temperaturas. Las toxinas son termolábiles (1), y se destruyen a una temperatura de 80°C durante 30 minutos (10, 26).

El período de incubación es de 12-36 horas. Los síntomas son náuseas, vómitos, diarrea, fatiga, debilidad, parálisis muscular y en raras ocasiones paro respiratorio (10, 14, 26).

Los alimentos relacionados con mayor frecuencia al botulismo son alimentos enlatados y envasados en frascos que para su conservación han sido tratados inadecuadamente no lográndose la destrucción de las esporas y sus toxina (5, 10, 25).

iii. Intoxicación estafilocócica

La intoxicación se produce por el consumo de alimentos contaminados por *S. aureus* enterotoxigénico, produciendo este microorganismo toxinas en el propio alimento (5, 29, 30, 43-46).

Staphylococcus aureus es una bacteria miembro de la familia *Micrococcaceae*, son cocos Gram positivo de 0.5-1.5 μm de diámetro, inmóviles, anaerobios facultativos, no esporoformadores, catalasa positivo y fermentan el manitol (2, 47-50). *S. aureus* se encuentra presente en las fosas nasales, garganta, piel y pelo del 50% o más en los individuos sanos. La principal fuente de contaminación de los alimentos son los manipuladores (5, 29, 44).

S. aureus en su estructura contiene factores que la hacen ser patógena entre ellos:

- ◆ Cápsula: protege a la bacteria de la interacción con el complemento, anticuerpos y células fagocitarias.
- ◆ Pared celular: peptidoglucano: principal componente de la pared celular, atrae polimorfonucleares (PMN) y activa al complemento. Proteína A: inhibe la opsonización y la fagocitosis. Ácido teicoico: lugar de adherencia con epitelios y activa anticuerpos opsonizantes.
- ◆ Membrana citoplásmica: complejo de proteínas, lípidos y carbohidratos que sirve de barrera osmótica para las células (49, 51).

S. aureus tiene la posibilidad de producir sistemas enzimáticos y/o toxinas; siendo estos:

Sistemas enzimáticos:

- ◆ Coagulasa: permite diferenciar a *S. aureus* de otras especies estafilocócicas, además transforma el fibrinógeno en coágulos de fibrina.
- ◆ Catalasa: esta enzima cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, quitando la toxicidad a este radical libre.
- ◆ Hialuronidasa: Degrada el ácido hialurónico de la Matriz extracelular del tejido conectivo, facilitando la diseminación tisular de la bacteria.
- ◆ β -lactamasas: llamada también penicilinasas, la cual inactiva la penicilina, al abrir el anillo β -lactámico de este antimicrobiano.
- ◆ Fibrinolisisina: llamada también estafiloquinasa, esta disuelve los coágulos de fibrina.
- ◆ Lipasas: hidrolizan los lípidos esenciales en las áreas sebáceas del organismo, además son necesarias para la invasión del tejido cutáneo y subcutáneo (2, 46, 48, 49, 51).

Toxinas:

- ◆ Hemolisinas (β , γ , α , S): provocan la hemólisis del eritrocito.
- ◆ Leucocidina : mata a los PMN por acción tóxica, permite a los microorganismos resistir la fagocitosis.
- ◆ Toxina exfoliativa: es la causante del eritema y despegamiento cutáneo, produciendo el síndrome de la piel escaldada.
- ◆ Toxina del síndrome del Shock tóxico (TSST): es la que reproduce la mayoría de las manifestaciones clínicas del síndrome del Shock tóxico; además la producción dicha toxina mantiene una relación directa con

algunos serotipos toxigénicos que provocan brotes de intoxicación alimentaria .

- ◆ Enterotoxinas (A, B, C1, C2, C3, D, E): son las causantes de las intoxicaciones alimentarias, y son producidas por cepas muy específicas; sin embargo, algunas de ellas son capaces de sintetizar más de un serotipo de enterotoxinas (14, 46, 49, 51-55).

Las enterotoxinas han sido identificadas en base a sus reacciones con anticuerpos específicos y son proteínas de cadena simple no ramificada compuestas por lisina, tirosina, ácido aspártico y ácido glutámico, con peso molecular de 26,000-29,000 daltons. Son solubles en agua, crecen a pH entre 5.2-9.0, resisten a las enzimas proteolíticas, son termoresistentes, y para destruirlas se requiere una temperatura de 100°C por 30 minutos. La producción de enterotoxinas por cepas de *Staphylococcus aureus* se afecta por la calidad de los nutrientes, el pH del sustrato, la temperatura, la atmósfera, el cloruro de sodio, otros compuestos químicos y los microorganismos competidores. La enterotoxina A es la que con más frecuencia aparece en los brotes de intoxicación alimentaria y le siguen en orden decreciente la C1, B, D y E (14, 40, 44, 49, 52, 55-59).

La enterotoxina B se detecta regularmente en infecciones intrahospitalarias; la toxina C3 se relaciona química y serológicamente con los serotipos C1 y C2, pero las estructuras difieren en que la reacción con el antisuero heterólogo es ligeramente diferente desde el punto de vista antigénico (60).

Es importante la detección de las enterotoxinas porque permite:

- Conocer qué alimentos entre los implicados en un brote contienen enterotoxinas.

- Ejercer el control de alimentos en relación con la presencia de enterotoxinas.
- Determinar el carácter enterotoxigénico de las cepas de estafilococos.
- Realizar estudios higiénico-epidemiológicos hasta localizar la fuente de contaminación que provocó un brote.

La presencia de enterotoxinas estafilocócicas en los alimentos, se utiliza como una prueba indirecta de la presencia de un crecimiento abundante de *Staphylococcus aureus* (60).

Los alimentos contaminados suelen tener altos niveles de estafilococos enterotoxigénicos mayor o igual a 100,000UFC/gr y valores menores de 1mg de enterotoxina en 100gr de alimento; los cuales son suficientes para producir síntomas clínicos en individuos susceptibles a dicha enterotoxina (44, 38, 58, 61).

Los sitios receptores para las toxinas que provocan intoxicaciones son las vísceras abdominales, donde el estímulo sensorial llega al centro del vómito por las vías aferentes parasimpáticas (vaginales) y simpáticas (57).

La diarrea inducida por enterotoxinas ha sido atribuida a la disminución de la absorción del agua desde la luz del intestino y a un aumento simultáneo de la secreción de ésta y de sales minerales desde las glándulas intestinales (57).

El período de incubación de la intoxicación estafilocócica es de 1-6 horas, entre los síntomas más comunes está la diarrea, vómitos, dolor abdominal, náuseas, calambres, sudoración y escalofríos (1, 5, 44, 62). Los síntomas duran habitualmente menos de 24 horas y la enfermedad raramente es fatal, aunque en ocasiones puede ser necesario reemplazar la pérdida de líquidos que se producen a consecuencia de los vómitos y las diarreas.

Los alimentos implicados con más frecuencia en las intoxicaciones estafilocócicas son principalmente los proteicos (carne, pollo, pescado, lácteos,

cremas y natas de pastelería) debido a que para prepararlos se requiere de mucha manipulación, además de los alimentos cocinados que se recontaminan posteriormente (1, 30, 44).

4. Factores de riesgo

Los alimentos desde el momento en que se cosechan, se recogen, se capturan o se sacrifican, comienzan a pasar por una serie de etapas de descomposición progresiva (8, 29).

Las causas principales de la descomposición de los alimentos son: los microorganismos, el calor, el frío, la luz, el oxígeno, la humedad, la sequedad, las mismas enzimas naturales de los alimentos y el tiempo (8, 29).

Los alimentos almacenados, preparados y servidos sin control microbiológico y sin normas de higiene pueden representar problemas para la salud pública obteniendo como resultado enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA'S) (63-64).

Algunas características de los alimentos que pueden generar riesgos para la salud son: el tipo de producto alimentario, la falta de consumo de dicho producto, el uso excesivo de aditivos alimentarios y el grado de contaminación microbiana o química (63).

Entre los factores de riesgo que se asocian a las ETA'S se encuentran:

- ◆ Preparación de los alimentos varias horas antes de su consumo.
- ◆ Refrigeración deficiente.
- ◆ Dejar a temperatura ambiente los alimentos preparados por un período prolongado, el cual permite el crecimiento de los microorganismos.
- ◆ Recalentar los alimentos de manera inapropiada.
- ◆ Contaminación cruzada entre los alimentos crudos y cocidos.
- ◆ Manipulación de los alimentos por personas infectadas, por personas con poca higiene o portadores sanos.

- ◆ Prácticas inadecuadas en el manejo de los alimentos.
- ◆ Falta de capacitación en cuanto a la producción, procesamiento y manejo de los alimentos.
- ◆ Mala higiene de los manipuladores de alimentos.
- ◆ Lavado deficiente de los utensilios, de los vegetales y de las frutas (4, 9, 11, 24, 65-67).

B. Inocuidad alimentaria

Se considera inocuo un alimento cuando las concentraciones de productos tóxicos, toxinas microbianas y microorganismos patógenos no exceden los valores máximos permitidos. La inocuidad va desde el origen hasta el consumo (64, 68).

La ley de la inocuidad comprende: información e higiene, etiquetado, fecha de vencimiento, control desde el origen, cadena de frío, contaminantes, aditivos, modificaciones genéticas, alegaciones terapéuticas, establecimientos con garantías (68).

La inocuidad de los alimentos depende de la ausencia de las bacterias que producen intoxicaciones y de la carga bacteriana contaminante que se adquiere durante el almacenamiento indebido.

Los alimentos limpios son aquellos que se hallan libres de suciedad visible y de alteración bacteriana (4).

Un alimento se convierte inadecuado para su consumo cuando se contaminan con un gran número de microorganismos, o también con químicos y/o su descomposición (11).

Para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos se necesita de mecanismos adecuados para su producción, procesamiento y comercialización (9).

La Organización Mundial de la Salud ha desarrollado las 5 claves para la Inocuidad de los alimentos, las cuales constituyen una manera de evitar las ETA's:

- Conservar la higiene;
- Separar alimentos crudos y cocidos;
- Cocinar completamente los alimentos;
- Mantener los alimentos a las temperaturas seguras;
- Usar agua potable y materia prima segura (69).

C. Seguridad alimentaria

La seguridad alimentaria es responsabilidad entre: el consumidor, autoridades competentes y la empresa alimentaria (42, 64-65); además es un derecho de todos los consumidores, reconocido en la Declaración Universal de los Derechos Humanos y por la Constitución española (70).

1. Consumidor

Es toda persona que adquiera, utilice o disfrute algún producto o servicio. Todas las personas que preparan y consumen los alimentos deben de tener responsabilidad por su seguridad y por la de sus consumidores, los cuales deben de exigir:

- ◆ Calidad nutritiva
- ◆ Placer al comer
- ◆ Alimentos fiables
- ◆ Precios bajos
- ◆ Información para "elegir mejor"

Entre las obligaciones de los consumidores se pueden mencionar:

- ◆ Colaborar con las autoridades

- ◆ Reportar los casos
- ◆ Consumir más los productos confiables y seguros (14, 68, 71).

2. Autoridades competentes

Entre las responsabilidades de las autoridades está asegurar que los productos alimenticios se ajusten a la legislación, controlar el cumplimiento de la legislación, elaborar sistemas para detectar y afrontar problemas de seguridad alimentaria (14, 68, 71).

Los programas del gobierno destinados a la prevención y control de las enfermedades debidas a la ingestión de alimentos, deben enseñar prácticas sanitarias a los manipuladores y consumidores de alimentos para que apliquen las buenas prácticas de higiene (72).

La legislación es necesaria para el control de las enfermedades debidas a los alimentos y debe estar en constante revisión para que siga siendo pertinente, realista y adaptada a las condiciones del país. La legislación debe ser:

- ◆ Transparente
- ◆ Simple
- ◆ Homogénea
- ◆ Completa
- ◆ Científicamente ajustada
- ◆ Cuidadosa con las necesidades de los consumidores (68, 71-73).

3. Industria alimentaria

Es la asociación de personas públicas o privadas que llevan a cabo cualquier actividad relacionada con las etapas de la producción, transformación y la distribución de los productos alimenticios.

Entre sus responsabilidades y obligaciones está: la inspección, supervisión y aplicación de las reglamentaciones, promover la higiene en todas

las etapas de la producción, transformación y distribución de los alimentos, el mejoramiento de la manipulación de los alimentos, de las buenas prácticas de manufactura y asegurarse que se cumplan las leyes de la legislación (9, 11, 14, 68, 71).

D. Manipuladores de alimentos

Un manipulador de alimentos es toda persona que interviene en alguna de las etapas de elaboración de una comida.

La contaminación de los alimentos a través del manipulador puede deberse a que:

- ◆ El manipulador padezca de alguna enfermedad
- ◆ Sea portador de la misma
- ◆ Actúe como intermediario directa o indirectamente.

Los manipuladores tienen la función de preservar la higiene de los alimentos desde la producción hasta el servicio de los mismos, ya que una manipulación incorrecta o una mala higiene puede causar enfermedades al consumidor (39).

Los manipuladores hacen contacto directo con los alimentos por medio de las manos, por lo que es uno de los principales vehículos de transmisión de microorganismos, estos se eliminan fácilmente mediante el lavado frecuente y correcto. El reservorio más frecuente de las bacterias en este caso son las uñas, por lo que deben de mantenerse cortas y sin pintura.

Entre las fuentes de contaminación de los alimentos, además de los manipuladores están las moscas, insectos, animales domésticos, polvo, utensilios sucios, agua contaminada, ambiente contaminado y excretas de humanos o de animales (27, 39, 63).

La secuencia lógica en que un manipulador contamina los alimentos es la siguiente:

- ◆ Los microorganismos patógenos se encuentran en las heces, orina, nariz, orejas, manos o en otras áreas del cuerpo.
- ◆ Las bacterias entran en contacto directo o indirecto con los alimentos.
- ◆ Los gérmenes logran sobrevivir en los alimentos debido a las condiciones favorables tanto del alimento como la del propio microorganismo.
- ◆ Las características de los alimentos y sus condiciones de almacenamiento permiten a las bacterias multiplicarse y producir una dosis infectiva o producir toxinas en cantidad suficiente.
- ◆ El alimento contaminado no sufre ningún tratamiento capaz de destruir a los microorganismos o a las toxinas, por lo que llegan al consumidor y provoca la enfermedad (39).

E. Calidad alimentaria

Control de calidad es una combinación de sistemas, procedimientos, actividades, instrucciones e inspecciones para proporcionar un producto de calidad (74).

La calidad es el conjunto de características que contribuyen a la aceptación del producto para que sea viable para su comercialización.

La calidad de los alimentos se divide en:

- ◆ Factores de apariencia: corresponde al tamaño, la forma, la integridad, el brillo, el color, la consistencia, ect.
- ◆ Factores de textura: incluyen la sensación de firmeza en la boca y en la mano, blandura, la jugosidad, la chiclosidad, etc.
- ◆ Factores de sabor: incluyen tanto el olor como el sabor como dulce, salado, agrio, amargo, el aroma, ect.
- ◆ Calidad nutritiva: evalúa el porcentaje de vitaminas y otros nutrientes específicos.
- ◆ Calidad sanitaria: se evalúa por medio de la inocuidad del alimento.

- ◆ Calidad de conservación: se mide bajo condiciones de almacenamiento y manipulación (8).

Para garantizar la calidad de los alimentos se deben de cumplir ciertas normas establecidas ya sea las gubernamentales, las normas comerciales o las normas de investigación de cada institución y/o empresa (8).

F. Brotes epidemiológicos

Un brote epidemiológico es un episodio en el cual dos o más personas experimentan una enfermedad similar después de la ingestión de los mismos alimentos y donde la evidencia implica a los alimentos como origen de la enfermedad, además hay una asociación en el tiempo, lugar o persona entre los individuos que padecen el proceso (39).

Para el seguimiento de un brote se incluye:

- ◆ Identificar a las personas involucradas.
- ◆ Determinar la fuente de la contaminación.
- ◆ Especificar los factores de riesgo y puntos críticos.
- ◆ Reconocer y controlar las fuentes.
- ◆ Obtener información, sobre las enfermedades transmitidas por alimentos.
- ◆ Identificar los grupos expuestos.
- ◆ Recomendar medidas para controlar el brote.

Se sospecha de un brote cuando:

- ◆ Se detecta una enfermedad transmitida por alimentos.
- ◆ Aparecen varios casos ligados a un evento común.
- ◆ Llega a los servicios de salud un resultado de una revisión de la información de casos de enfermedades transmitidas por alimentos (24).

A nivel mundial las enfermedades transmitidas por alimentos son unos de los problemas más serios. En los Estados Unidos estas enfermedades son

causas de estrés, de gasto económico; el centro de control y prevención de enfermedades transmitidas por alimentos reportó que entre 1987 y 1992 el 79% de los casos, fueron por causa bacteriana y la mayoría de esta incidencia se debió a la mala conservación de los alimentos y la poca higiene de los manipuladores (75).

El código de alimentación (codex alimentario) estimó en 1999 que las enfermedades transmitidas por alimentos causa aproximadamente 76 millones de enfermedades, 325000 hospitalizaciones y 5000 muertes en los Estados Unidos cada año (70).

En 1992 en New York se reportó una intoxicación alimentaria afectando a 2848 personas en una cafetería de un hospital, causada por la enterotoxina A de *Staphylococcus aureus* (58).

En Cuba se determinó que desde 1980 a 1998 el *S. aureus* fue el agente causal más frecuente en los brotes de ETA's (7, 76-77).

Entre 1993 y el año 2000 en Latinoamérica y el Caribe, ocurrieron 191 brotes por intoxicación estafilocócica con 6433 afectados causando 2 muertes (61).

El Sistema Regional de Vigilancia Epidemiológica de las ETA's reportó que entre 1995 y 1998 en América Latina y el Caribe hubo 3,198 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, ocasionando 102,842 casos de intoxicaciones y 219 muertes (78).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó 769 casos de enfermedades transmitidas por alimentos en el año 1998, en 1999 reportó 938 casos, en el 2000 reportó 1061 casos y en el 2001 reportó 1023 casos (42).

1. Epidemiología de enfermedades transmitidas por alimentos en Guatemala

En el año 1999 el departamento de epidemiología del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, reportó 492 casos de intoxicación alimentaria en 17 áreas de salud.

En el año 2000 las ETA's fueron la segunda causa de morbilidad notificada en Guatemala con 469,705 casos, donde hubo un incremento de intoxicaciones alimentarias (1061 casos notificados a dicho ministerio). Además se reportó que los principales agentes identificados fueron *S. aureus*, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *V. cholerae* y *E. coli* (79).

Según estadísticas del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), en el año 2001 el 23.17% de resultados no fueron aceptados por *S.aureus* en las cafeterías de la USAC, y en el año 2002 fue el 19.6% siendo los alimentos más involucrados los desayunos, pan con pollo y hamburguesa (Anexo 2-3).

G. Técnicas de identificación de enterotoxinas

Todos los alimentos involucrados deben de ser analizados para evidenciar la presencia del microorganismo, y la presencia de un número importante de este patógeno permite sospechar que la toxina está presente (44, 47). La prueba más concluyente es la detección de la toxina en las muestras de los alimentos sospechosos (32, 44).

Para la detección de la enterotoxina estafilococica en los alimentos se han desarrollado métodos rápidos como el radioinmunoanálisis (RIA), aglutinación en látex, ensayo inmunoenzimático (ELISA), que permiten detectar aproximadamente 1 nanogramo de toxina por gramo de alimento (32, 44, 47).

Uno de estos métodos es el 'Transia Plate SET', es un kit para la detección de enterotoxinas totales (SETs) de *Staphylococcus aureus* en alimentos y

sobrenadantes de cultivos de la casa comercial Diffchamb S.A; está basado en un ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo sandwich en microplaca. Es un test cualitativo y el limite de detección de enterotoxinas totales (A, B, C1, C2, C3, D y E) es de 0.25 a 1.0 ng/g (44).

Vidas Staph enterotoxin cuyo principio es el ELFA y que se detalla a continuación por ser el método que se utilizará en el presente trabajo.

1. VIDAS Staph enterotoxin (SET)

Es un test caulitativo automatizado en el sistema VIDAS, que permite la detección de enterotoxinas a una concentración de 1ng/ml de *S. aureus* en los productos alimentarios por la técnica inmunoenzimatica ELFA (unión enzimatica por fluorimetria) (Anexo 4) (53).

Todas las enterotoxinas de *S. aureus*: A, B, C1, C2, C3 D y E son detectados por el equipo VIDAS SET , tiene una sensibilidad de 1ng/ml (53).

Todas las etapas del test se realizan automáticamente en el equipo para que la muestra sea sometida a un ciclo de aspiración/expulsión (53).

Los resultados son automáticamente analizados por el ordenador, que da un valor del test para cada muestra. Este valor es comparado con referencias internas y cada resultado es interpretado como positivo o negativo (53).

IV. JUSTIFICACIÓN

Pocas personas saben que los alimentos que consumimos diariamente pueden causar enfermedades.

Las intoxicaciones alimentarias son producidas por la ingestión de químicos tóxicos y/o toxinas bacterianas, y sólo son reconocidas cuando ocurre un brote y varias personas experimentan una enfermedad similar. Además estas pueden presentarse en las cafeterías, hospitales, reuniones sociales etc, en donde puede existir problemas de saneamiento, manipulación inadecuada de los alimentos, mala higiene del personal, entre otras.

La intoxicación estafilocócica es causada por las enterotoxinas de *S. aureus*, y es de las más comunes debido a que el reservorio de dicha bacteria es el ser humano encontrándose entre el 30% y el 50% de personas sanas. Dicha enfermedad es autolimitante por lo que la mayoría de personas no le da la importancia debida.

El laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la USAC, realiza de rutina control de calidad a los alimentos que se expenden en las cafeterías de la USAC, encontrando que algunos alimentos presentan valores de *S. aureus* que exceden el límite superior permitido para su consumo; sin embargo dichos controles se limitan a la cuantificación de la bacteria, sin detectar la presencia de toxinas de la misma. Por lo que se decidió investigar los niveles de *S. aureus* en 3 alimentos con mayor predisposición y que han presentado valores altos de dicho patógeno (panes con pollo, desayunos y hamburguesas), y los alimentos que presenten tanto valores arriba de lo permitido, como aquellos que se obtengan con niveles permitidos de dicho microorganismo, se les evaluará la presencia de las enterotoxinas de *S. aureus* por que son la causa de la intoxicación.

V. OBJETIVOS

1. General

Contribuir con la Universidad de San Carlos de Guatemala a difundir la importancia de la intoxicación alimentaria causada por las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*.

2. Específicos

- a. Determinar cuantitativamente *S. aureus* en panes con pollo, desayunos y hamburguesas que se expenden en las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- b. Detectar la presencia de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* tanto en alimentos que posean recuentos permitidos (<10,000 UFC/gr) de dicho microorganismo como en aquellos alimentos con una cuantificación mayor al valor permitido.
- c. Determinar mediante una encuesta a encargados de las cafeterías de la USAC, la presencia de factores de riesgo de enterotoxinas de *S. aureus* en los panes con pollo, desayunos y hamburguesas.

VI. HIPÓTESIS

Los alimentos (panes con pollo, desayunos y hamburguesas) de las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presentan menos de 1ng/ml de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

El universo del estudio comprendió las 15 cafeterías ubicadas en los edificios del Campus Central y Centro Metropolitano -CUM- de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Muestra:

Panes con pollo, hamburguesas, desayunos y/o almuerzos o pan con pierna expendidos en las 15 cafeterías.

Las muestras fueron tomadas por duplicado y al azar y con una semana de diferencia.

B. Recursos humanos

Tesista: Br. Alma Irene Jo León.

Asesora: Licda. Brenda López de Quevedo.

C. Recursos materiales

1. Equipo:

Refrigeradora 4°C

Balanza

Centrífuga

Licuada

Autoclave

Incubadora a $35 \pm 1^\circ\text{C}$

Contador de colonias

Campana bacteriológica

Sistema VIDAS de la casa comercial bioMérieux

2. Materiales:

Pipetas graduadas

Tubos de centrifugación/ filtración

Cajas de petri
Esparcidores
Frascos para diluciones
Erlenmeyer

3. Reactivos:

VIDAS Staph enterotoxin SET
Hipoclorito de sodio
HCl
NaOH
Agar Baird-Parker
Agua peptonada al 0.1%
Emulsión de yema de huevo-telurito al 10%.

D. Métodos:

1. Se contactó con la casa comercial para utilizar en el estudio un equipo VIDAS.
2. En base a una encuesta preparada, se entrevistó al encargado de cada cafetería, para determinar la mejor hora y el día para las tomas de muestras, y así tener las mejores probabilidades de encontrar un crecimiento elevado de *S. aureus* en los alimentos que fueron analizados (Anexo 5).
3. Se realizaron 2 muestreos al azar, en las 15 cafeterías de 3 alimentos (pan con pollo, hamburguesas y desayunos y/o almuerzos o pan con pierna) que han presentado mayor porcentaje de valores arriba de lo permitido de *S. aureus* (hasta 10,000 ufc/gr) según las estadísticas del laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud, de la División de Bienestar Estudiantil de la USAC (Anexo 2-3)

4. Las muestras se trasladaron y procesaron en el laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar Estudiantil de la USAC.
5. A dichas muestras se les realizó la técnica de cuantificación de *S. aureus* en placa procediendo de la siguiente manera:
 - Se preparó el agua peptonada al 0.1% y el medio de Baird-Parker.
 - Luego se pesó 10 gramos de la muestra y se agregó 90 ml de agua peptonada al 0.1% y se homogenizó el alimento en licuadora.
 - Después se realizaron las diluciones respectivas de acuerdo al alimento a analizar.
 - De la dilución adecuada se tomó 1ml y se sembró en 2 cajas (0.5ml y 0.5ml) de agar Baird-Parker.
 - Se esparció homogéneamente el inóculo sembrado en la superficie del medio con un esparcidor.
 - Se dejó reposar para que el inóculo se absorbiera por el agar.
 - Se incubó a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24-48 horas.
 - Después se contaron las colonias típicas de *S. aureus* y se multiplicó por el factor de dilución, según normas permitidas de cuantificación de la FDA (80).
 - Se confirmaron las colonias con el test de la coagulasa utilizando plasma de conejo.
 - Luego se reportaron las Unidades Formadoras de Colonia por gramo.
6. En la segunda fase se procedió a detectar la presencia de las enterotoxinas de *S. aureus*, para lo cual se tomaron 15 muestras que presentaron los mayores niveles de *S. aureus* ($> 10,000\text{UFC/gr}$) y 15 muestras con valores $< 1000\text{UFC/gr}$ del microorganismo y se procesaron de la siguiente manera:
 - Se calibró el equipo VIDAS, corriendo para ello el control positivo, negativo y el estándar.

- Seguidamente se pesaron 20gr de la muestra y se agregó 20ml de tampón de extracción luego se homogenizó por 3 minutos.
- Se centrifugó 2ml de la suspensión inicial en un tubo de Centrifugación/filtración durante 15 minutos a 1000-3000rpm.
- Se verificó el pH de la muestra y si no se ajustó a un pH entre 6 y 8, evitando así falsos resultados.
- Luego se tomó 0.5 ml del filtrado y se colocó en el cartucho VIDAS-SET.
- Después se colocó en el equipo VIDAS el cono y el cartucho en las posiciones indicadas.
- Las muestras fueron analizadas automáticamente por el equipo de fluorimetría, obteniéndose los resultados a los 80 minutos; dando el Valor de Fluorescencia Relativa (VFR), que su resultado es la diferencia entre la lectura del ruido de fondo de la cubeta del substrato con la lectura efectuada después de la incubación del substrato que contiene la enzima presente en el cono.
Además dió el valor del test que es la VFR de la muestra dividido el VFR del estándar. Si el valor del test fue menor a 0.13 la interpretación del test es negativo; por lo tanto ausencia de enterotoxina o bien con una concentración de enterotoxina inferior al límite de detección. En cambio si el valor del test fue mayor a 0.13, el test es positivo; por lo que indica, que es una muestra contaminada.
- Los resultados obtenidos fueron analizados en base a la estadística aplicada.

E. Diseño de la investigación

1. Muestra:

Se analizaron 90 muestras de tres alimentos (pan con pollo, hamburguesa y desayuno, en aquellas cafeterías donde no distribuían alguno de estos productos se muestreó almuerzos con pollo o pan con pierna) y se procesaron por duplicado; el cual fue de manera no probabilística para la cuantificación de *Staphylococcus aureus*.

Para la detección de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* se analizaron 30 muestras; de los cuales 15 fueron de los alimentos que presentaron una cuantificación mayor al valor aceptado (hasta 10,000ufc/gr) de dicho microorganismo y las otras 15 muestras con recuentos aceptados de dicha bacteria.

2. Variables de interés:

Cuantificación de *Staphylococcus aureus* en panes con pollo, hamburguesas y desayunos y/o almuerzos o pan con pierna en las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Detección de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* en panes con pollo, hamburguesas y desayunos y/o almuerzos o pan con pierna en las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3. Análisis de resultados:

Presentación de las muestras positivas para la cuantificación, así como para la detección de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* según porcentajes obtenidos y gráficas analizadas.

Por último se realizó la tabulación de la encuesta utilizando EPI-INFO 6.04d, si el valor de P era < 0.05 el resultado se consideró estadísticamente significativo.

VIII. RESULTADOS

El trabajo se dividió en dos partes: la primera fue una encuesta dirigida a encargados de cafeterías con el fin de establecer factores de riesgo de ETA'S. La segunda parte consistió en la cuantificación de *S. aureus* y detección de sus toxinas en alimentos expendidos en las cafeterías evaluadas, entre ellos panes con pollo, hamburguesas, desayunos, almuerzos o pan con pierna.

En la Tabla No. 1, se observan los resultados de la encuesta realizada a los encargados de las quince cafeterías del Campus Central y del Centro Universitario Metropolitano -CUM- de la USAC, demostrándose las veces que los encargados de las cafeterías evaluadas han recibido cursos de BPM. De los 15 encargados, 3 (24.2%) indicaron haber recibido entre 1 y 2 capacitaciones, 7 (45.5%) reportaron haber recibido dicho curso más de 3 veces y 5 (30.0%) indicaron nunca haberlo recibido (Anexo 6).

La Tabla No. 2, muestra que 13/15 (84.8%) encargados de las cafeterías sí tenían conocimiento de cómo se produce una intoxicación alimentaria y 2/15 (15.2%) respondieron no tener dicho conocimiento (Anexo 6).

En la Tabla No. 3, se observan los resultados de los alimentos que los encargados de las cafeterías reportaron ser los causantes de las intoxicaciones alimentarias. De ellos, 1 (7.1%) indicó que el pan con pollo es el alimento causante, 1 (7.1%) reportó la hamburguesa y 13 (85.7%) indicaron que la causa son todos los alimentos (pan con pollo, hamburguesa, desayunos) (Anexo 6).

En la Tabla No. 4, se observan los resultados que indicaron los encargados de las cafeterías expender todos los días de la semana. De ellos, 14 (93.9%) expenden pan con pollo, 11 (72.7%) expenden pastel con crema, 14 (97%) expenden hamburguesas, 13 (84.8%) expenden queso, 11 (75.8%) expenden desayunos, 9 (62.5%) expenden todos los alimentos (pan con pollo, pastel, hamburguesa, desayuno) (Anexo 6).

En la Tabla No. 5, se observan los resultados referentes al almacenamiento de los alimentos sobrantes (no expendidos) tanto crudos como preparados. De las 15 cafeterías, 14 (93.3%) indicaron que el pan con pollo y la hamburguesa no sobra, 15 (100%) reportaron que el desayuno no sobra, 11 (72.7%) indicaron que el pollo crudo se almacena en el congelador, 10 (66.7%) reportaron que la carne cruda se almacena en el congelador, 12 (80%) indicaron que el plátano y el frijol cocido no sobra (Anexo 6).

En la Tabla No. 6, se observan algunas de las buenas prácticas de manufactura que indicaron llevar a cabo los encargados de las cafeterías evaluadas. 7 encargados (45.5%) indicaron recalentar alimentos, 15 (100%) reportaron lavarse las manos después de ir al baño, 14 (94.1%) utilizan utensilios limpios, 11 (75.8%) no utilizan los mismos utensilios para preparar diversos alimentos, 12 (79.4%) reportaron no tener contacto con los alimentos cuando ellos padecen alguna enfermedad y 15 (100%) indicaron notificar al dueño cuando se encuentran enfermos (Anexo 6).

En la tabla 7 se presentan los porcentajes del tiempo que emplean los manipuladores en la preparación tanto de los alimentos crudos como preparados. Se observa que la mayoría de alimentos son preparados inmediatamente.

En la tabla 8 se observa la forma de cómo los manipuladores indicaron llevar a cabo el almacenamiento de los alimentos ya preparados antes de ser expendidos en las cafeterías muestreadas; se demostró que el pan con pollo es el alimento que por tiempo más prolongado se almacena en el mostrador antes de ser expendido.

Tabla 7. Tiempo empleado en la preparación de los alimentos crudos y preparados en las cafeterías muestreadas (N=15)

Alimento	Tiempo (%)			
	inmediatamente	antes 1 hr.	1-3 hrs.	más de 3 hrs.
pollo crudo	35.5	19.4	25.8	19.4
carne cruda	50.0	25.0	15.6	9.4
frijol, plátanos y huevos	96.2	3.8	0	0
pan con pollo	74.4	16.1	3.2	6.5
hamburguesa	84.4	6.3	6.3	3.1
desayuno	96.2	3.8	0	0

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Tabla 8. Forma de almacenamiento de los alimentos ya preparados (N=15)

alimento	Almacenamiento (%)		
	sí mostrador	no mostrador	nunca mostrador
pan con pollo	38.2	41.2	20.6
hamburguesa	14.7	70.6	14.7
desayuno	25	43.8	31.2

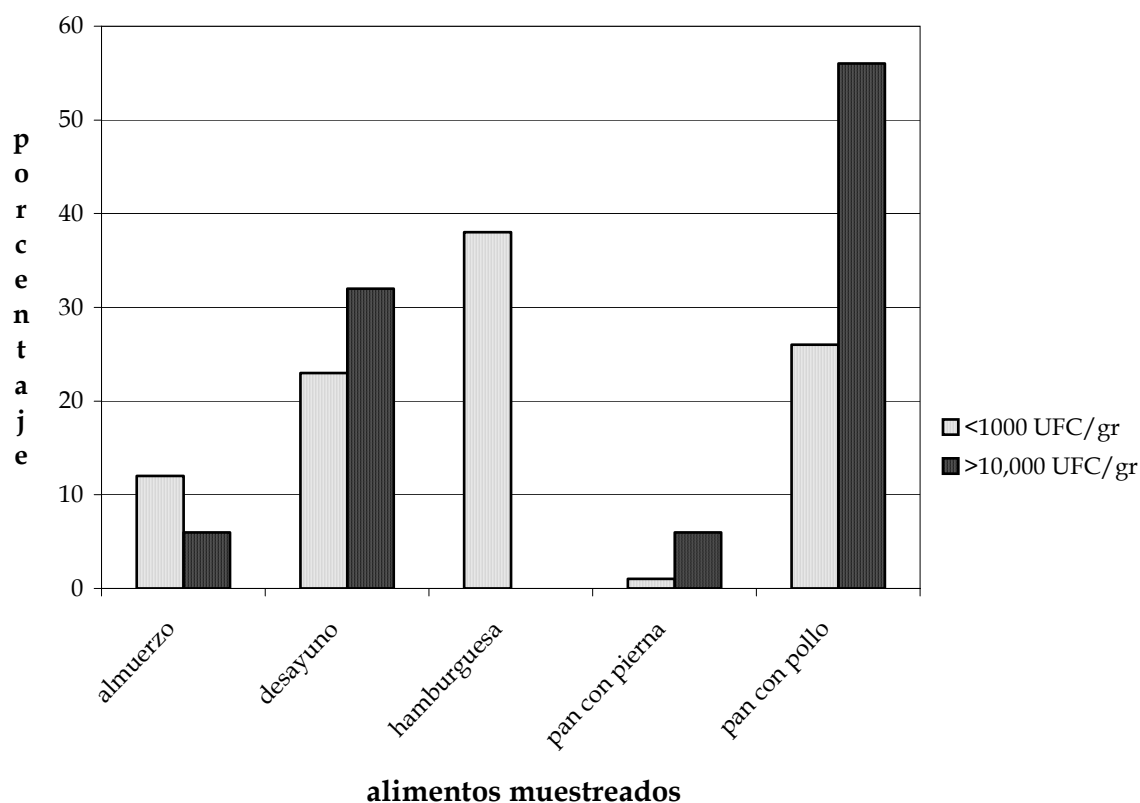
Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

A las 90 muestras de alimentos se les realizó la cuantificación de *S. aureus* aplicando para ello el método de esparcido en superficie, se obtuvo que 16 (17.8%) de ellos (almuerzo, desayuno, pan con pierna y pan con pollo) presentaron una cuantificación mayor a 10,000 UFC/gr de *S. aureus*; y el restante 74 (82.2%) mostró valores menores.

En referencia a los alimentos positivos a dicha bacteria se muestran en la gráfica 1. Los 16 alimentos que presentaron cuantificaciones mayores a 10,000 UFC/gr de *S. aureus*, se enumeran a continuación en orden decreciente de contaminación: 9 (56.3%) panes con pollo, 5 (31.3%) desayunos, 1 (6.3%) almuerzo, 1 (6.3%) pan con pierna.

La correlación entre la capacitación en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) vrs. la presencia de *S. aureus* se observa en la gráfica 2. De las cafeterías donde los encargados reportaron haber recibido más de 2 capacitaciones, 4 (25%) alimentos presentaron una cuantificación mayor a 10,000 UFC/gr de *S. aureus*; en aquellas donde los encargados indicaron haber recibido 1-2 capacitaciones, hubo 5 (31%) alimentos con conteos mayores a 10,000 UFC/gr de dicho microorganismo; en aquellas donde nunca han recibido capacitaciones, se obtuvo 7 (44%) alimentos con presencia de colonias de *S. aureus* mayores a 10,000 UFC/gr.

Gráfica 1. Presencia de *Staphylococcus aureus* en alimentos muestreados (N=90)

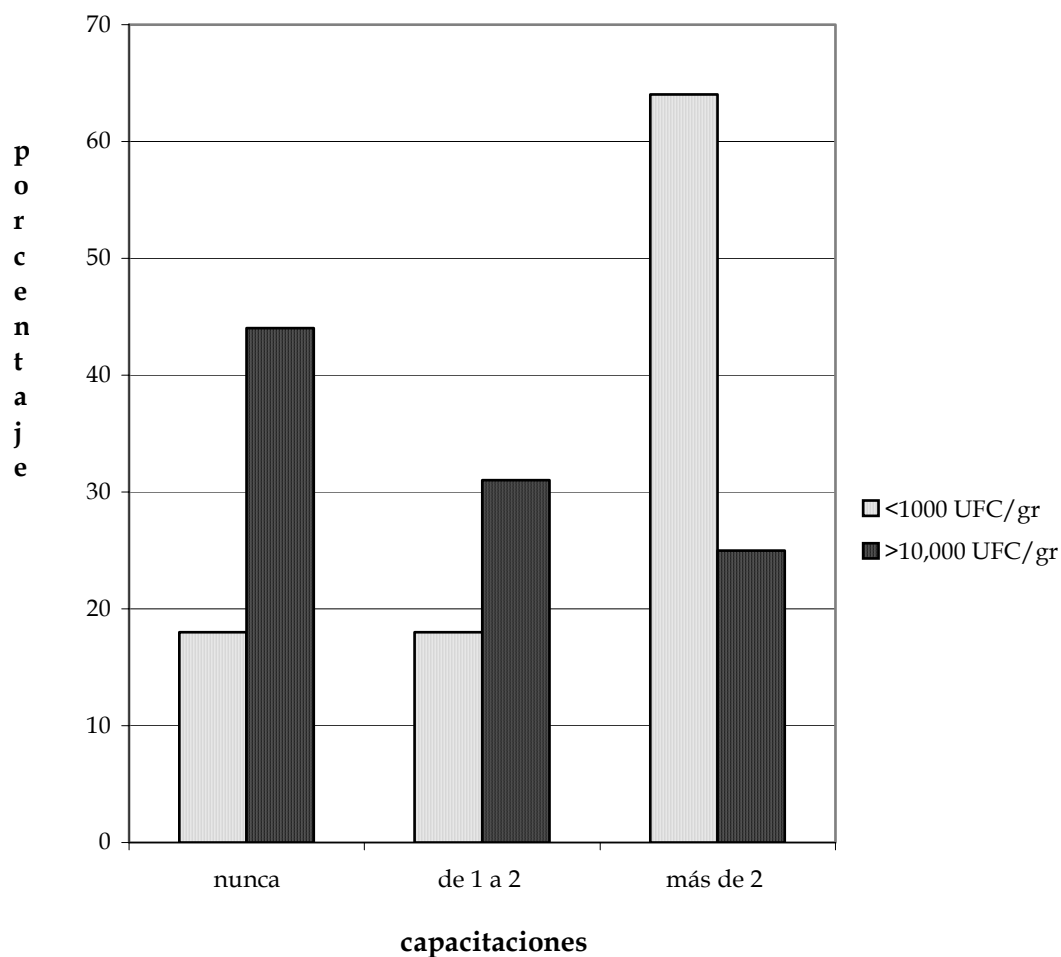


Chi2: 12.21; Valor de p: 0.016

Fuente: Resultados de muestreo de alimentos procesados en Laboratorio Microbiológico de Alimentos de Unidad de Salud/BEU

La correlación entre el tiempo de preparación de los panes con pollo y la presencia de *S. aureus* se ilustra en la gráfica 3; se observa que en las cafeterías que prepararon los panes con pollo antes de 1 hr de ser expendidos, hubo mayor porcentaje de *S. aureus* (34%), comparado con aquellas en las que dicho alimento se prepara inmediatamente (22%).

Gráfica 2. Relación entre cursos de Buenas Prácticas de Manufactura vs *Staphylococcus aureus* (N=90)

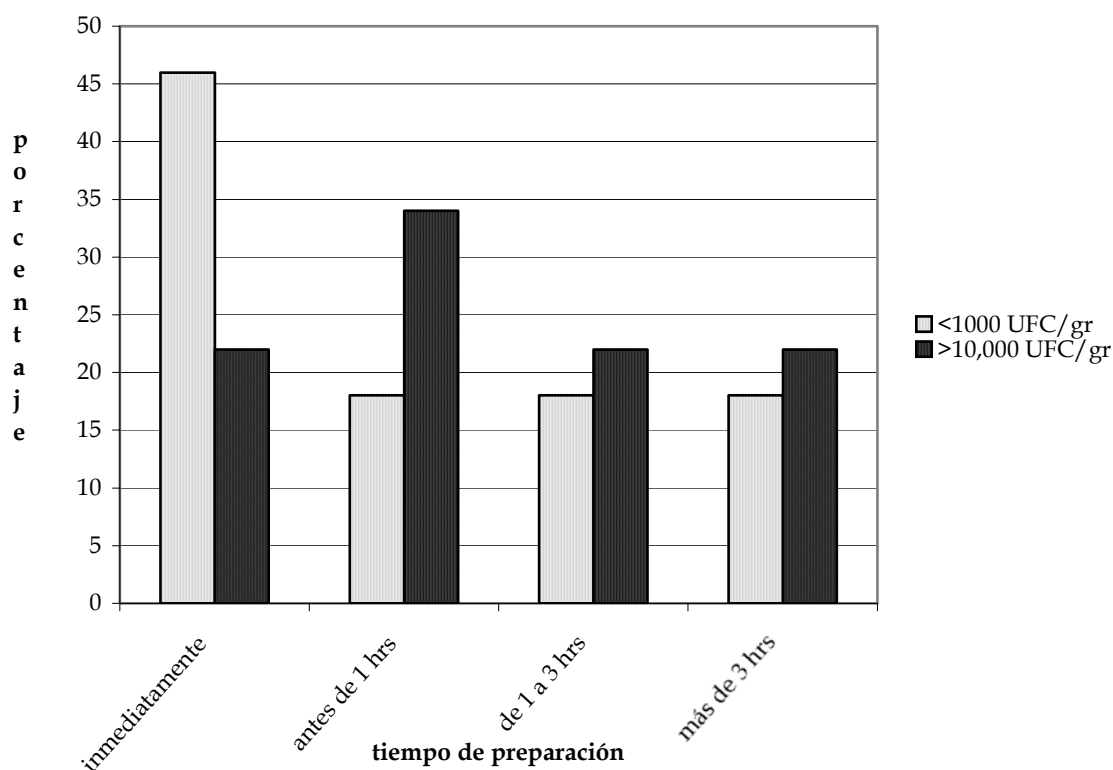


Chi2: 5.34; Valor de p: 0.02

Fuente: Resultados de los muestreos de alimentos procesados en el Laboratorio Microbiológico de Alimentos de Unidad de Salud/BEU

También se evaluó el grado de contaminación de los desayunos preparados inmediatamente y los que se preparan y consumen entre 1-3 hrs luego de ser preparados. El 80% (4/5) de los desayunos que se preparan y se expenden inmediatamente presentaron más de 10,000 UFC/gr de *S. aureus*, mientras que de los desayunos preparados y expendidos entre 1-3 hrs luego de su preparación, en 1/5 (20%) se obtuvo crecimiento mayor a 10,000 UFC/gr del microorganismo.

Gráfica 3. Relación entre tiempo de preparación de los panes con pollo vrs *Staphylococcus aureus* (N=90).

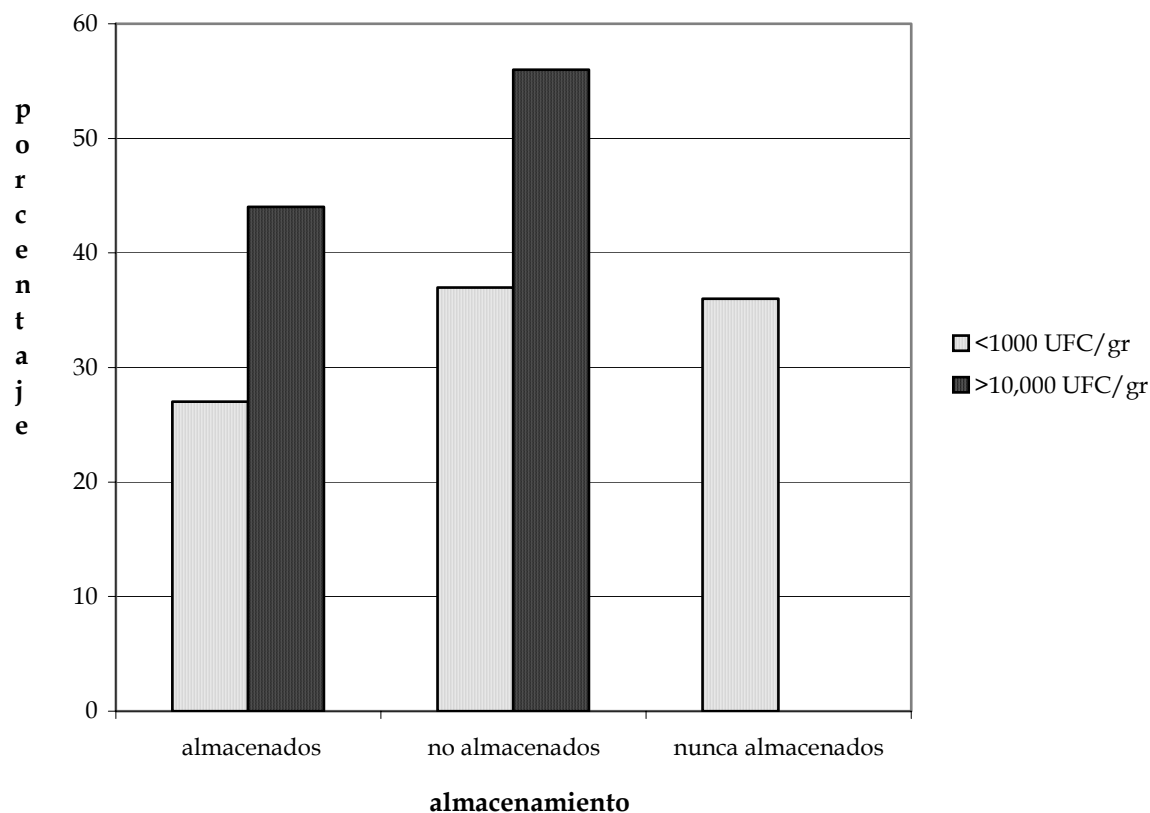


Chi2: 1.30 ; Valor de p: 0.729

Fuente: Resultados de los muestreos de alimentos procesados en el Laboratorio Microbiológico de Alimentos de Unidad de Salud/BEU

La relación entre la forma de almacenamiento de los panes con pollo ya preparados y la presencia de *S. aureus* se muestra en la gráfica 4; se observa que en las cafeterías donde informaron no almacenar los panes con pollo en el mostrador antes de expendierlos, 5/9 (56%) de las muestras presentaron conteos de colonias de *S. aureus* mayores a 10,000 UFC/gr y aquellas cafeterías en las que sí almacenan los panes antes de expendierlos, 4/9 (44%) muestras tuvieron recuento mayor a 10,000 UFC/gr del microorganismo.

Gráfica 4. Relación entre almacenamiento de panes con pollo preparados y presencia de *Staphylococcus aureus* (N=90)



Chi2: 4.09 ; Valor de p: 0.129

Fuente: Resultados de los Muestreos de Alimentos procesados en Laboratorio Microbiológico de Alimentos de Unidad de Salud/BEU

De las 15 cafeterías evaluadas 11 afirmaron expender desayunos; de éstas se evaluó la relación entre el almacenamiento de los desayunos preparados y la presencia de colonias de *S. aureus*. En las cafeterías donde informaron almacenar los desayunos en el mostrador antes de expenderlos, 2/5 (40%) presentaron conteos de *S. aureus* mayores a 10,000 UFC/gr y en aquellas donde no se almacenan, 3/5 (60%) desayunos demostraron conteos mayores a 10,000 UFC/gr.

Para la detección de las enterotoxinas de *S. aureus* se trabajó con 30 alimentos, dividiéndose éstos en dos grupos: 15 con cuantificación mayor a lo permitido (hasta 10,000 UFC/gr) y 15 con cuantificación <1000 UFC/gr. A las 30 muestras se les efectuó el análisis para la detección de enterotoxinas de *S. aureus* utilizando para ello la técnica inmunoenzimática ELFA; los resultados fueron negativos para dicho análisis (Anexo 7).

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La encuesta realizada a los encargados de las 15 cafeterías evaluadas demostró que 13 (84.8%) de ellos, sí tenían conocimiento de la forma de adquirir una intoxicación alimentaria. De ellos, 11 (82.1%) respondieron que la causa de ésta es la ingesta de alimentos contaminados. De las cafeterías, 9 (62.5%) expenden todos los días dichos alimentos; por lo que en aquellas cafeterías que no sirven panes con pollo, desayunos o hamburguesas, se optó por realizar el muestreo a otros alimentos, siendo éstos: almuerzos o pan con pierna (Anexo 6, Tabla 1-4).

La mayoría de las cafeterías analizadas llevan a cabo Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), ya que informaron preparar sus alimentos inmediatamente (Tabla 7) y el 100% (15) de los encargados reportó lavarse las manos después de ir al baño; además se encontró que sólo 2 (5.9%) de las cafeterías estudiadas los manipuladores informaron que algunas veces tenían contacto con los alimentos cuando se encontraban enfermos. Por lo anterior se infiere que con la práctica de estas mínimas BPM puede disminuirse la proliferación de *S. aureus* y por ello las posibilidades de encontrar dicho microorganismo fueron mínimas (Anexo 6, Tabla 6). De los 90 alimentos analizados se encontró que 16 (17.8%) presentaron resultados con cuantificaciones mayores a 10,000 UFC/gr de *S. aureus* y el restante 82.2% fueron negativos. De los 16 alimentos con recuentos mayores a lo permitido 9 (56.3%) fueron panes con pollo, constituyendo el alimento más contaminado con la bacteria; esto puede deberse a que es un alimento proteico, además contenían lechuga, tomate, cebolla, estos probablemente contaminados por dicha bacteria; además es un alimento que requiere de mucha manipulación para su preparación, y fue el alimento que presentó mayor porcentaje dentro de

las cafeterías que refirieron almacenarlo (mostrador) antes de darlo al consumidor 6 (38.2%) (1,30,44,65-67) (Tabla 8).

El segundo alimento que presentó mayor contaminación por dicho microorganismo fue el desayuno, ya que se obtuvo 5 (31.3%) con presencia de *S. aureus* a pesar de que la mayoría de cafeterías refirieron prepararlo inmediatamente; esto pudo deberse a que los desayunos incluyen productos lácteos como queso y crema que generalmente son elaborados artesanalmente y por un proveedor externo (1,30,44) (Gráfica 1).

Las hamburguesas no presentaron *S. aureus* a pesar de ser un alimento proteico y que para su preparación también requiere de mucha manipulación, por lo que se infiere que la mitad de las cafeterías preparan la carne inmediatamente para dicho alimento disminuyendo así la manipulación y el tiempo de almacenamiento (1,30,44,65-67).

El factor de riesgo que más influyó en la presencia de *S. aureus* es la falta de capacitación en las buenas prácticas de manufactura ya que en aquellas cafeterías en donde el encargado manifestó no haber recibido cursos al respecto se obtuvo 7 (44%) alimentos contaminados con *S. aureus*, mientras que en donde el personal ha recibido más de 2 capacitaciones se obtuvo sólo 4 (25%) alimentos contaminados por dicho microorganismo (Gráfica 2).

Se observó que no hubo correlación en el tiempo de preparación de los alimentos (pan con pollo y desayunos) con la presencia del *Staphylococcus aureus*; ya que en las cafeterías que informaron preparar los alimentos 3 horas antes de su consumo, fue el mismo porcentaje que en las cafeterías que informaron preparar sus alimentos inmediatamente; esto pudo deberse a que tienen el conocimiento de las buenas practicas de manufactura pero no lo aplican diariamente (Gráficas 3).

No se encontró una buena asociación entre el almacenamiento de los alimentos (pan con pollo y desayunos) y la presencia de *S. aureus* ya que en las

cafeterías que refirieron almacenar alimentos con antelación a su expendio, se obtuvo menos presencia del microorganismo que en aquellas que no los almacenan (Gráfica 4). Esta discrepancia puede deberse a que los resultados obtenidos solamente fueron por la encuesta realizada a los manipuladores y no hubo otra herramienta o prueba para la comprobación de los mismos.

No se logró establecer asociación entre factores de riesgo de almacenamiento y tiempo de preparación en las hamburguesas analizadas en las cafeterías muestreadas, debido a que no se detectó presencia de *S. aureus* en dicho alimento.

Para la detección cualitativa de enterotoxinas de *S. aureus* en los alimentos muestreados se analizaron 15 alimentos con recuentos $> 10,000$ UFC/gr y 15 con recuentos < 1000 UFC/gr de *S. aureus*, a los cuales se les aplicó el método VIDAS Staph enterotoxin (SET). Éste consiste en un ensayo inmunoenzimático por fluorimetría (ELFA) que detecta una concentración mayor o igual a 1 ng/ml de enterotoxinas de *S. aureus*. Los 30 alimentos dieron resultados negativos para dichas enterotoxinas. Este hallazgo puede explicarse en el hecho de que los alimentos pudieran haber tenido una concentración de enterotoxinas menor a 1 ng/ml, la cual no es detectable por el método. Otra posible causa de la ausencia de enterotoxinas en este análisis es el tiempo transcurrido entre la preparación de los alimentos y la recolección de los mismos para su análisis, el cual pudo haber sido mínimo, disminuyendo así la posibilidad del crecimiento tanto de *S. aureus* como el desarrollo de sus enterotoxinas.

X. CONCLUSIONES

1. En algunas cafeterías de la USAC sirven alimentos con cuantificaciones mayores de 10,000 UFC/gr de *Staphylococcus aureus*.
2. La falta de aplicación a las Buenas Prácticas de Manufactura (BMP) es el factor de riesgo que más se asocia a la presencia de *S. aureus* en los alimentos de las cafeterías de la USAC.
3. Debe establecerse como rutina la cuantificación de *Staphylococcus aureus* por el método de esparcido en superficie en los alimentos, para evitar que se produzca intoxicación alimentaria y garantizar la calidad de los productos expendidos en las cafeterías de la USAC.
4. En los panes con pollo, desayunos y hamburguesas que expenden las cafeterías de la USAC, no se detectó enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*.
5. En el laboratorio de control de calidad de alimentos de la USAC, no es necesario implementar como análisis rutinario la detección de las enterotoxinas de *S. aureus* en los panes con pollo, desayunos y hamburguesas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Deben impartirse cursos anuales de buenas prácticas de manufactura dirigidos a los manipuladores de alimentos de las cafeterías de la USAC, a fin de contar con personal capacitado y evitar intoxicaciones alimentarias en los usuarios de los mismos.
2. Implementar la capacitación en el almacenamiento correcto de los alimentos en las cafeterías de la USAC, para evitar al máximo la contaminación por *S. aureus* así como la presencia de las enterotoxinas de la misma.
3. Establecer de rutina la cuantificación de *S. aureus* en los alimentos para evitar que se produzca intoxicación alimentaria debido a las malas prácticas de manufactura y con ello proteger la salud del estudiante universitario.
4. Realizar más estudios para la detección de las enterotoxinas de *S. aureus*, en otros alimentos y en otros lugares que constituyan expendios de comida (kioscos, carretillas o casetas), para evaluar la calidad de los mismos.
5. La Unidad de Salud de Bienestar estudiantil, deberá investigar las enterotoxinas de *S. aureus* únicamente en los casos en que se encuentren niveles de dicha bacteria superiores a 10,000 UFC/gr.

6. Evaluar otras metodologías como aglutinación en látex o ensayo inmunoenzimático para la detección de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*.
7. Que las autoridades universitarias continúen velando por la higiene y manipulación de alimentos para evitar mayores riesgos a la salud del estudiante universitario.

XII. REFERENCIAS

1. Pérez BS, González JB. Microbiología de los alimentos. España: Acribia, 1962. 467p. (p.384-397).
2. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock; Biología de los microorganismos. 8a ed. Madrid: PrenticeHall, 1998. 986p.
3. Labuza TP, Erdman JW. Food science and nutritional health; an introduction. USA: West publishing company, 1984. xvii+558p. (p.268-273).
4. Hobbs B. Higiene y toxicología de los alimentos. España: Acribia, 1971. XIII+310p.
5. Desrosier NW. Conservación de Alimentos. México: Continental S.A, 1995. 468p. (p.58-60).
6. Cepero MSF. Como proteger nuestros alimentos. México: UTEHA, 1968. XVII+594.
7. Carrera JA, *et al.* Imbiómed 2000;38:167-174.
8. Potter NN. La ciencia de los alimentos. México: Edutex S.A, 1978. 749p. (P.111-113, 130-132).
9. Shaw NS, *et al.* Recomendaciones para la protección de los alimentos en las américas. USA: National academic press, 1987. 371p.
10. Enfermedades transmitidas por alimentos. Disponible en <http://www.maa.gba.gov.ar/alimentacion/indice>. Fecha de consulta: 20/2/2002.
11. Kotshevan LH. Standards, Principles and Techniques in Quantity Food Production. Fourth ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1988. XII+505p.
12. Jay JM. Modern Food Microbiology. Second ed. New York: D.Van Nostrand Company, 1978. 479p.
13. Lowenberg ME, *et al.* Food and man. Second ed. USA: John Willey and Sons Inc, 1968. XI+459p.

14. Cliver OD, Taylor SL. Food Borne Diseases. California: Academic Press Inc, 1990. 395p.
15. Doldán MA, Gonzáles C, Lovero C. Enfermedades Transmitidas Por los Alimentos. Disponible en http://members.fortunecity.es/robertexto/archivo7/contens_alim Fecha de consulta: 20/2/2002.
16. Guthrie RK. Food Sanitation. Second ed. Connecticut: The avi publishing company Inc, 1980. 326p. (p.43-49).
17. DiBiase LP. Jornada Internacional Virtual De Emergentología Pediátrica. Disponible en <http://www.medicosencingresos.org/bazte/alimento.htm>. Fecha de consulta: 6/6/2003.
18. ¿Qué son las E.T.A?. Disponible en <http://www.latinsalud.com/base/articulo.asp?id=13>. Fecha de consulta: 6/6/2003.
19. ¿Qué Son Las Enfermedades Transmitidas Por Alimentos?. Disponible en http://www.buscassalud.com/boletin/analisis/2003_01_31_22_37.htm. Fecha de consulta: 6/6/2003.
20. Barreda P. Síndromes clínicos asociados con las enfermedades transmitidas por alimentos. Disponible en http://www.pediatraldia.cl/sindromes_clinicos_alimentos.htm. Fecha de consulta: 6/6/2003.
21. Sánchez CD. Intoxicación alimentaria. Dispoible en <http://www.fepafem.org/guias/10.13.htm>. Fecha de consulta: 22/2/2002.
22. Servicio de inocuidad e inspección de los alimentos. Departamento de agricultura de los Estados Unidos. Intoxicación alimentaria: lo que deben saber los consumidores. Washington D,C: Doc. Tec. 2001. 7p.

23. Fanelli B. Microbiología en el helado: enfermedades transmitidas por los alimentos. Disponible en http://www.mundohelado.com/calidad/microbiologia_enfermedades.htm
Fecha de consulta: 6/6/2003
24. Domínguez AC, OPS/OMS. Guía para el establecimiento del sistema de vigilancia epidemiológica y el estudio de las enfermedades transmitidas por alimentos. Cuba. Doc. Tec. 2001. 112p.
25. Frazier WC, Westhoff DC. Food Microbiology. USA: McGraw-Hill, 1978. 540p. (P.438-449).
26. Pelczar, Reid, Chan. Microbiología. 4ta ed. México: McGraw-Hill, 1982. 826p.
27. Motarjemi Y, *et al.* Alimentos de destete contaminados: un importante factor de riesgo de diarrea y malnutrición asociada. Boletín De La Oficina Sanitaria Panamericana 1994;vol.116, No.4:315-322.
28. Darwin KH, Miller VL. Molecular Basis of the interaction of Salmonella with the intestinal mucosa. CMR 1999;12:405-428.
29. Cameron F. Ciencia de los alimentos nutrición y salud. México: Limusa S.A, 1992. 557p. (408-410).
30. Microorganisms in foods ; Their significance and methods of enumeration. Second ed. Canada: ICMSF, 1978. 434p.
31. Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA. The Microbial World. Tercera ed. USA: Prentice-Hall Inc, 1970. 873p. (P.589-590, 792).
32. Downes KFP. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Fourth ed. USA: American public health association, 2001. XXI+676p.
33. Faruque SM, *et al.* Isolation of *Shigella dysenteriae* Type 1 and *S. flexneri* strains from surface waters in Bangladesh: comparative molecular analysis of environmental Shigella isolates. AEM 2002;68:3908-3913.

34. Singh DV, *et al.* Molecular analysis of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates. AEM 2001;67:910-912.
35. Chakraborty S. Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae*. AEM 2000;66:4022-4028.
36. Gracey M. Enfermedad diarreica y desnutrición; actualización clínica. Buenos Aires: Medica Panamericana, 1987. 224p.
37. Hernández LP. Identificación y cuantificación de *Bacillus cereus* en arroz preparado y distribuido en las cafeterías del Campus Central y Centro Universitario Metropolitano (CUM) de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 34p.
38. Hobbs BC. The Microbiological Safety of Foods. London: Academic press, 1973. XV+487p.
39. Alcabierre EL, Torres JC, Fajardo MG. Federación Española de Hostelería (FEHR); Departamento de seguridad alimentaria (SEGALI). España: Lettergraf, 2000. 213. (P.53-57, 207).
40. Harrigan WF, McCance ME. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. London: Academic Press Inc, 1976. 452p.
41. McGrath S, Dooley JS, Haylock RW. Quantification of *Clostridium botulinum* Toxin Gene Expression by Competitive Reverse Transcription-PCR. AEM 2000; 1423-1424.
42. OPS, OMS. Vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) en Latinoamérica y el Caribe. USA: Doc. Tec. 1999. 5p. (p.1-5).
43. Petersdorf RG, *et al.* Harrison. Principios de Medicina Interna. 10 ed. México: McGraw-Hill, 1986. 1752p. (p. 1236).

44. Intoxicación estafilocócica. Disponible en <http://coli.usal.es/web/educativo/AByDL/protocol/enterotoxina/SET.html>. Fecha de consulta: 22/2/2003.
45. Gastroenteritis aguda. Disponible en <http://www.united.edu/tratado/c030305.html>. Fecha de consulta: 21/2/2003
46. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. CMR 2000;13:16-34.
47. Gilardoni D. Estafiloneo. Disponible en <http://www.geocities.com/dgilardo/estafilococo.html>. Fecha de consulta: 20/9/2003.
48. Actualización sobre infecciones estafilococcicas. Disponible en <http://www.siicsalud.com/dato/dat010/98n19015.html>. Fecha de consulta: 22/2/2003.
49. Murray PR, et al. Microbiología Médica. España: Mosby/Doyma Libros, 1992. 725p.
50. Lynch MJ, et al. Métodos de laboratorio. Segunda ed. México: Interamericana, 1977. 1522p.
51. Olea P. Infecciones por *Staphylococcus aureus*. USA: Doc. Tec. Internet. 1999. 11p. (p.1-3).
52. Ohsaka A, Hayashi K, Sawai Y. Animal, Plant and Microbial Toxins; Biochemistry, Pharmacology and Immunology. New York: Plenum Press, Vols. 2, Vol. 2, 1976. XXV+552p. (P.131-135).
53. VIDAS Staph enterotoxin (SET). México. BioMérieux. Doc. Tec. 5p. (p. 1-5).
54. Akineden O, et al. Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. CDLI 2001;8:959-962.
55. Shuping Z, Stewart G. Characterization of the promoter elements for the *Staphylococcal* enterotoxin D gene. JB 2000;182:2321-2325.

56. Nickerson JT, Sinskey AJ. Microbiology of foods and food processing. New York: ELSEVIER publishing company, 1972. VII+306p.
57. Lombard AB, Garza LM, Ortiz CL. Importancia de la detección de enterotoxinas estafilocócicas. Rev Cubana Aliment Nutr 1996;10:1-10.
58. US, Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. Food borne pathogenic microorganisms and natural toxins. *Staphylococcus aureus*. USA. Doc. Tec. 2003.
59. Atanassova V, Meindl A, Ring C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxins in raw prok and uncooked ham-a comparision of classical culturing detection and RFLP-PCR. International journal of food microbiology 2001;68:105-113.
60. Lombard AB, et al. *Staphylococcus aureus* actividad termonucleasa y enterotoxinas en alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr 1997;11:89-93.
61. Rivero CD, García BG. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. RESPN 2001;2:1-14.
62. Estafilococo dorado (*Staphylococcus aureus*) . Disponible en http://www.christushealth.org/drtango/health_centers/child_safety/default.htm. Fecha de consulta: 22/2/2003.
63. Tercero PA, et al. La venta de alimentos en la vía publica en América Latina. Boletin De La Oficina Sanitaria Panamericana 1995; vol. 118, No. 2:97-106.
64. Arango J, et al. Condiciones sanitarias de los comedores comunitarios del conurbano de Buenos Aires, Argentina. Panam Salud Publica 1997;2:225-226.
65. Menchu DE. Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos vendidos en la vía publica, 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 Publica y Asistencia Social de

- Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1996. 53p.
66. Oates LA, Rembado M. Prevención de las ETAS. Disponible en <http://www.calidadalimentaria.net/etas.htm>. Fecha de consulta: 23/2/2003.
67. Principios básicos en la preparación de los alimentos seguros. Disponible en <http://www.fsis.usda.gov.htm>. Fecha de consulta: 23/2/2003.
68. López L. Curso Control Oficial de Alimentos; Políticas de información y participación de los consumidores en la inocuidad alimentaria. Guatemala: Doc. Tec. 2002. 22p.
69. Qué son las enfermedades transmitidas por alimentos. Disponible en <http://www.salud.bioetica.org/enfalimentarias.htm>. Fecha de consulta: 20/2/2003.
70. U.S. Department of health and human services, public health service, food and drug administration 2001 food code. Food borne illness estimates, risk factors and intervention.
71. Curso Inocuidad Alimentaria. Guatemala: Doc. Tec. 2002. 31p. (p.1-31).
72. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación FAO. Manual de Inspección de los alimentos. Roma: Doc. Tec. 1984. 277p+XIII. (p.185).
73. Dhamija OM. Manual de control de la calidad de los alimentos para la exportación. Roma: Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación FAO, Doc. Tec. 1985. 44p+VIII. (p.1).
74. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación FAO. Manual para el control de calidad de los alimentos; la garantía de la calidad en el laboratorio microbiológico de control de los alimentos. Roma: Doc. Tec. 1992. 160p. (p.2-6).

75. U.S. Food and drug administration center for food safety and applied nutrition, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. Foodborne disease outbreak articles and databases of interest. 1999.
76. Vara JA, *et al.* Análisis de las enfermedades transmitidas por alimentos, 1980-1998. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 2000;38:167-174.
77. Gonzáles MD, *et al.* Boletín epidemiológico semanal del IPK. Cuba:Doc. Tec. 2003.10p. (p.10).
78. OPS, OMS. Alimentos inocuos, prevenir enfermedades puede ser una tarea fácil. USA:Doc. Tec. 2002. 3p. (p.1).
79. Pérez HF. Determinación de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. en carne y vegetales crudos empleados como materia prima en las cafeterías de la ciudad universitaria. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 74p.
80. Food and drug bacteriological analytical manual. 8th ed. USA:OAC International,1995. 720p.

XIII. ANEXOS

Anexo 1

Acontecimientos importantes en la Microbiología de los alimentos

Año	Científico	Hallazgo
1659	Kircher	demostró la presencia de bacterias en la leche.
1836	Latour	descubrió la existencia de las levaduras.
1857	Pasteur	demostró que lo agrio de la leche es por el crecimiento de bacterias contaminantes.
1873	Gayton	reportó el primer estudio basado en el deterioro microbiano de los huevos.
1876	Tyndall	observó que la descomposición de algunas sustancias son por las bacterias
		tenía relación con el aire o con el contenido de las sustancias.
1820	Justinus Kerner	describió la intoxicación por salchicha.
1857		la leche fue incriminada como transmisión de la fiebre tifoidea.
1894	T. Denys	asoció a los estafilococos con la intoxicación alimentaria.
1896	Van Ermengen	descubrió <i>Clostridium botulinum</i> .
1926	Linden, Turner y Tom	reportaron por primera vez la intoxicación alimentaria causada por estreptococos.
1945	McClung	probó la etiología de <i>Clostridium perfringens</i> en las enfermedades por alimentos.
1950		por primera vez se recopilaron los incidentes de producciones alimentaria registrados por el Public Health Laboratory Service y el Ministry of health.
1951	T. Fujino	demostró que <i>Vibrio parahaemolyticus</i> causa enfermedades transmitidas por alimentos.
1960		se reportó por primera vez la intoxicación de aflatoxinas por <i>Aspergillus flavus</i> .
1973		el estado de Oregon estandarizó el contenido microbiológico para la carne fresca y procesada.

Tomado de:

1. Hobbs B. Higiene y toxicología de los alimentos. España: Acribia, 1971. XIII+310p.
2. Jay JM. Modern Food Microbiology. Second ed. New York: D.Van Nostrand Company, 1978. 479p.
3. Lowenberg ME, et al. Food and man. Second ed. USA: John Willey and Sons Inc, 1968. XI+459p.
4. Cliver OD, Taylor SL. Food Borne Diseases. California: Academic Press Inc, 1990. 395p.

Anexo 2

Estadísticas del año 2001 de resultados de alimentos no aceptados de *S. aureus* por el laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la USAC.

Alimento no aceptado*	Porcentaje %
Pan con pollo	21.6%
Doblada de carne	13%
Hamburguesa	4.3%
Almuerzo	8.6%

* Alimentos no aceptados por presentar valores arriba de los permitidos (<10,000UFC/gr)

Fuente: Alma Irene Jo Leon. Del libro de resultados de todos los alimentos analizados del año 2001 del laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la USAC.

Anexo 3

Estadísticas del año 2002 de resultados de alimentos no aceptados de *S. aureus* por el laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la USAC.

Alimento no aceptado*	Porcentaje %
Desayuno	30.6%
Pan con pollo	15.3%
Hamburguesa	10.20%
Almuerzo	5.10%

* Alimentos no aceptados por presentar valores arriba de los permitidos (<10,000UFC/gr)

Fuente: Alma Irene Jo Leon. Del libro de resultados de todos los alimentos analizados del año 2002 del laboratorio de control de calidad de alimentos de la Unidad de Salud de Bienestar estudiantil de la USAC.

Anexo 4

Porcentajes de concentración de sensibilidades de las diferentes toxinas por el sistema VIDAS

	Concentración en toxinas (ng de toxina por gr de producto)			
	0.1 ng/ gr	0.25 ng/ gr	0.5 ng/ gr	1.0 ng/ gr
Toxina A	75%	93%	100%	
Toxina B	80%	98%	100%	
Toxina C2		84%	95%	100%
Toxina D		48%	82%	95%
Toxina E		66%	93%	100%

Tomado de:

1. VIDAS Staph enterotoxin (SET). México. BioMérieux. Doc. Tec. 5p. (p. 1-5).

Anexo 5

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIENESTAR ESTUDIANTIL UNIVERSITARIO
UNIDAD DE SALUD

Edad: _____ Sexo: F M

Puesto que desempeña: _____

Cafetería: _____

1. ¿Ha recibido usted cursos de buenas practicas de manufactura para alimentos?

1 ó 2 veces Más de 3 veces Nunca

2. ¿ Sabe usted cómo es causada la intoxicación alimentaria?

Si No

Si contesto si, porque cree usted que es causada:

Por diarrea Por vómitos Por alimentos contaminados

Ninguno de los anteriores

3. ¿Usted sabe qué alimentos pueden causar una intoxicación alimentaria?

pan con pollo desayuno hamburguesa todos los anteriores

4. ¿Usted sirve estos alimentos?

pan con pollo pasteles con crema hamburguesa queso

desayunos todos los anteriores Ninguno de los anteriores

5. ¿Cuánto tiempo antes prepara el pollo para los panes con pollo?

Inmediatamente Antes de 1 hora 1-3horas más de 3 horas.

6. ¿Con cuánto tiempo de anticipación prepara la carne para las hamburguesas?

Inmediatamente Antes de 1 hora 1-3horas más de 3 horas.

7. ¿Con cuánto tiempo de anticipación preparan los frijoles, huevos y plátanos para el desayuno?

Inmediatamente Antes de 1 hora 1-3horas más de 3 horas.

8. ¿Qué días de la semana prepara panes con pollo?

Lunes Martes Miércoles Jueves Viernes Todos los anteriores

9. ¿Qué días de la semana prepara hamburguesas?
 Lunes Martes Miércoles Jueves Viernes Todos los anteriores
10. ¿Qué días de la semana prepara desayunos?
 Lunes Martes Miércoles Jueves Viernes Todos los anteriores
11. ¿Con cuánto tiempo de anticipación preparan los panes con pollo?
 Inmediatamente Antes de 1 hora 1-3horas más de 3 horas.
12. ¿ Con cuánto tiempo de anticipación preparan las hamburguesas?
 Inmediatamente Antes de 1 hora 1-3horas más de 3 horas.
13. ¿Con cuánto tiempo de anticipación preparan los desayunos?
 Inmediatamente Antes de 1 hora 1-3horas más de 3 horas.
14. ¿En qué condiciones guarda los panes de pollo que le sobran en el día?
 A temperatura ambiente congelador refrigerador No sobra
15. ¿En qué condiciones guarda los desayunos que le sobran en el día?
 A temperatura ambiente congelador refrigerador No sobra
16. ¿En qué condiciones guarda las hamburguesas que le sobran en el día?
 A temperatura ambiente congelador refrigerador No sobra
17. ¿En qué condiciones guarda el pollo que le sobra en el día?
 A temperatura ambiente congelador refrigerador No sobra
18. ¿En qué condiciones guarda el frijól, huevos y plátanos que le sobra en el día?
 A temperatura ambiente congelador refrigerador No sobra
19. ¿En qué condiciones guarda la carne que le sobra en el día?
 A temperatura ambiente congelador refrigerador No sobra
20. ¿Coloca los panes con pollo ya hechos en el mostrador antes de darlos al consumidor?

Si No Nunca

21. ¿Coloca los desayunos ya hechos en el mostrador antes de darlos al consumidor?

Si No Nunca

22. ¿Coloca las hamburguesas ya hechos en el mostrador antes de darlas al consumidor?

Si No Nunca

23. ¿Recalienta los alimentos que no son servidos inmediatamente?

Si No Algunas veces Nunca

24. ¿Se lava las manos antes y después de ir al baño?

Si No Algunas veces Nunca

25. ¿Mantiene los utensilios de trabajo bien limpios?

Si No Algunas veces Nunca

26. ¿Utiliza los mismos utensilios de cocina para realizar varios alimentos?

Si No Algunas veces Nunca

27. ¿Si usted se encuentra enfermo (con diarrea, gripe, heridas de piel, ect) tiene contacto con los alimentos?

Si No Algunas veces Nunca

28. ¿Si usted se encuentra enfermo (con diarrea, gripe, heridas en la piel, ect) se lo notifica al dueño?

Si No Algunas veces Nunca

Anexo 6

Resultados de la encuesta realizada para la evaluación de los factores de riesgos de *Staphylococcus aureus* en las quince cafeterías del Campus Central y del Centro Universitario Metropolitano de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).

Tabla 1. Porcentajes de los cursos de Buenas Practicas de Manufactura en las cafeterías analizadas

1 ó 2 veces	Mas de 3 veces	Nunca
24.2 %	45.5%	30.0%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Tabla 2. Porcentaje de las cafeterías que saben o no la causa de la intoxicación alimentaria

Si	No
84.8%	15.2%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta, mayo 2004

Del 84.8% de los respondieron a dicha pregunta; indican que las causas son:

Por diarrea	Por vómitos	Por alimentos contaminados	Ninguno de los anteriores
3.6%	3.6%	82.1%	10.7%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Tabla 3. Resultados de los alimentos que causan intoxicación alimentaria según las cafeterías encuestadas

Pan pollo	Desayuno	Hamburguesa	Todos anteriores
7.1%	0%	7.1%	85.7%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Tabla 4. Porcentajes de los alimentos que sirven en las cafeterías analizadas

Pan pollo	Pastel crema	Hamburguesa	Queso	Desayuno	Todos los anteriores	Ninguno de los ant.
Si 93.9%	Si 72.7%	Si 97.0%	Si 84.8%	Si 75.8%	Si 62.5%	Si 3.1%
No 6.1%	No 27.3%	No 3.0%	No 15.2%	No 24.2%	No 37.5%	No 96.9%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Tabla 5. Porcentajes de la forma de almacenamiento de los ingredientes y alimentos ya hechos que sobran en el día en las cafeterías analizadas

Alimento o ingrediente	T° ambiente	Congelador	Refrigerador	No sobra
Pan con pollo	0%	3.3%	3.3%	93.3%
Hamburguesa	0%	3.1%	3.1%	93.8%
Desayuno	0%	0%	0%	100%
Pollo	0%	72.7%	21.2%	6.1%
Carne	0%	66.7%	18.2%	15.2%
Frijol, Plátano	0%	4.0%	16.0%	80%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Tabla 6. Resultados de algunas de las Buenas Practicas de Fabricación-BPF-

	Si	No	Algunas veces	Nunca
Recalentamiento de alimentos	9.1%	30.3%	45.5%	15.2%
Lavado de manos después de ir al baño	100%	0%	0%	0%
Utensilios de trabajo limpios	94.1%	2.9%	2.9%	0%
Utilización de los mismos utensilios para varios alimentos	9.1%	75.8%	15.2%	0%
Si se encuentra enfermo tiene contacto con los alimentos	0%	79.4%	5.9%	14.7%
Si se encuentra enfermo se lo notifica al dueño	100%	0%	0%	0%

Fuente: Resultados obtenidos de la encuesta mayo 2004

Anexo 7

Tabla 9. Resultados obtenidos para la detección de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* por el método automatizado VIDAS

	Cafetería	Alimento	Muestreo	<i>S. aureus</i>	Valor de VFR*	Valor del test**	Resultado Vidas
1	La Café CUM	desayuno	1	<1000 ufc/gr	7	0.00	negativo
2	La Café CUM	hamburguesa	1	<1000 ufc/gr	11	0.00	negativo
3	Quality	pan pollo	1	44,000 ufc/gr	7	0.00	negativo
4	Quality	hamburguesa	1	<1000 ufc/gr	10	0.00	negativo
5	Quality	desayuno	1	73,000 ufc/gr	10	0.00	negativo
6	Metropolitana	pan pollo	1	<1000 ufc/gr	12	0.00	negativo
7	Metropolitana	desayuno	1	195,000 ufc/gr	41	0.01	negativo
8	Veterinaria	desayuno	1	278,000 ufc/gr	33	0.00	negativo
9	Humanidades	hamburguesa	1	<1000 ufc/gr	11	0.00	negativo
10	Humanidades	desayuno	1	<1000 ufc/gr	9	0.00	negativo
11	Arquitectura	hamburguesa	1	<1000 ufc/gr	11	0.00	negativo
12	Agronomía	desayuno	1	20,000 ufc/gr	11	0.00	negativo
13	Arquitectura	pan pollo	2	>114,000,000 ufc/gr	7	0.00	negativo
14	La Café CUM	hamburguesa	2	<1000 ufc/gr	3	0.00	negativo
15	La Café CUM	desayuno	2	<1000 ufc/gr	13	0.00	negativo
16	La Café CUM	pan pollo	2	<1000 ufc/gr	12	0.00	negativo
17	Bienestar	almuerzo	2	<1000 ufc/gr	11	0.00	negativo
18	Bienestar	pan pollo	2	450,000 ufc/gr	8	0.00	negativo
19	Derecho S7	pan pollo	2	>114,000,000 ufc/gr	11	0.00	negativo
20	Quality	pan pollo	2	96,000 ufc/gr	7	0.00	negativo
21	Metropolitana	hamburguesa	2	<1000 ufc/gr	10	0.00	negativo
22	Metropolitana	pan pollo	2	>114,000,000 ufc/gr	11	0.00	negativo
23	Farmacia	hamburguesa	2	<1000 ufc/gr	9	0.00	negativo
24	Efpem	hamburguesa	2	<1000 ufc/gr	15	0.00	negativo
25	Efpem	pan pierna	2	56,000 ufc/gr	9	0.00	negativo
26	Humanidades	pan pollo	2	20,000 ufc/gr	10	0.00	negativo
27	Veterinaria	pan pollo	2	58,000 ufc/gr	8	0.00	negativo
28	Veterinaria	desayuno	2	165,000 ufc/gr	41	0.01	negativo
29	Ingeniería	hamburguesa	2	<1000 ufc/gr	9	0.00	negativo
30	Ingeniería	almuerzo	2	>114,000,000 ufc/gr	11	0.00	negativo

*VFR: valor de fluorescencia relativa que debe de ser mayor a 4106VFR para dar positivo según estándar corrido por el método VIDAS.

** Valor del test: es el resultado de VFR muestra / VFR estándar.

Si el Valor del test <0.13 el test es negativo

Si el valor del test >0.13 el test es positivo

Fuente: Resultados de los muestreos de alimentos procesados en el Laboratorio de Alimentos de Unidad de Salud/BEU.

