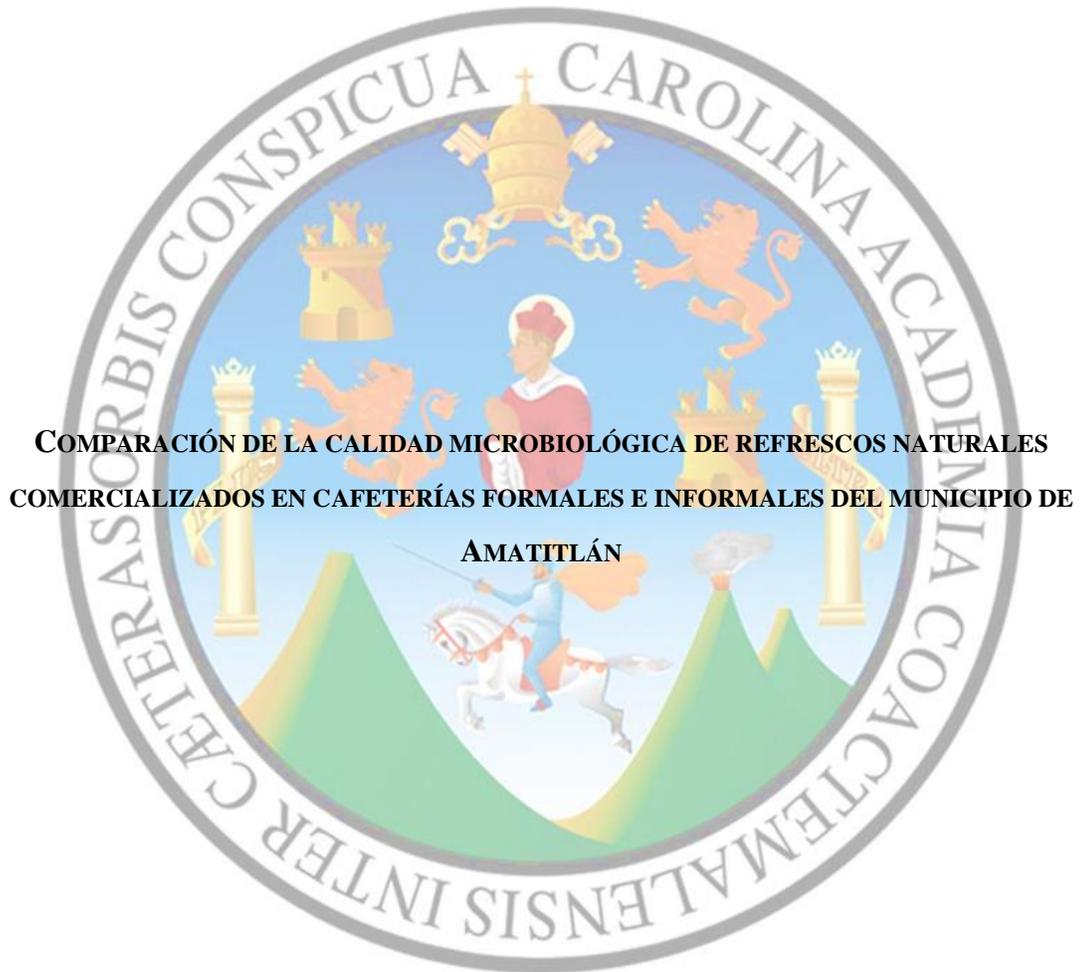


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**COMPARACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE REFRESCOS NATURALES
COMERCIALIZADOS EN CAFETERÍAS FORMALES E INFORMALES DEL MUNICIPIO DE
AMATITLÁN**

JACQUELINE ANDREA CASTAÑEDA BARRIENTOS

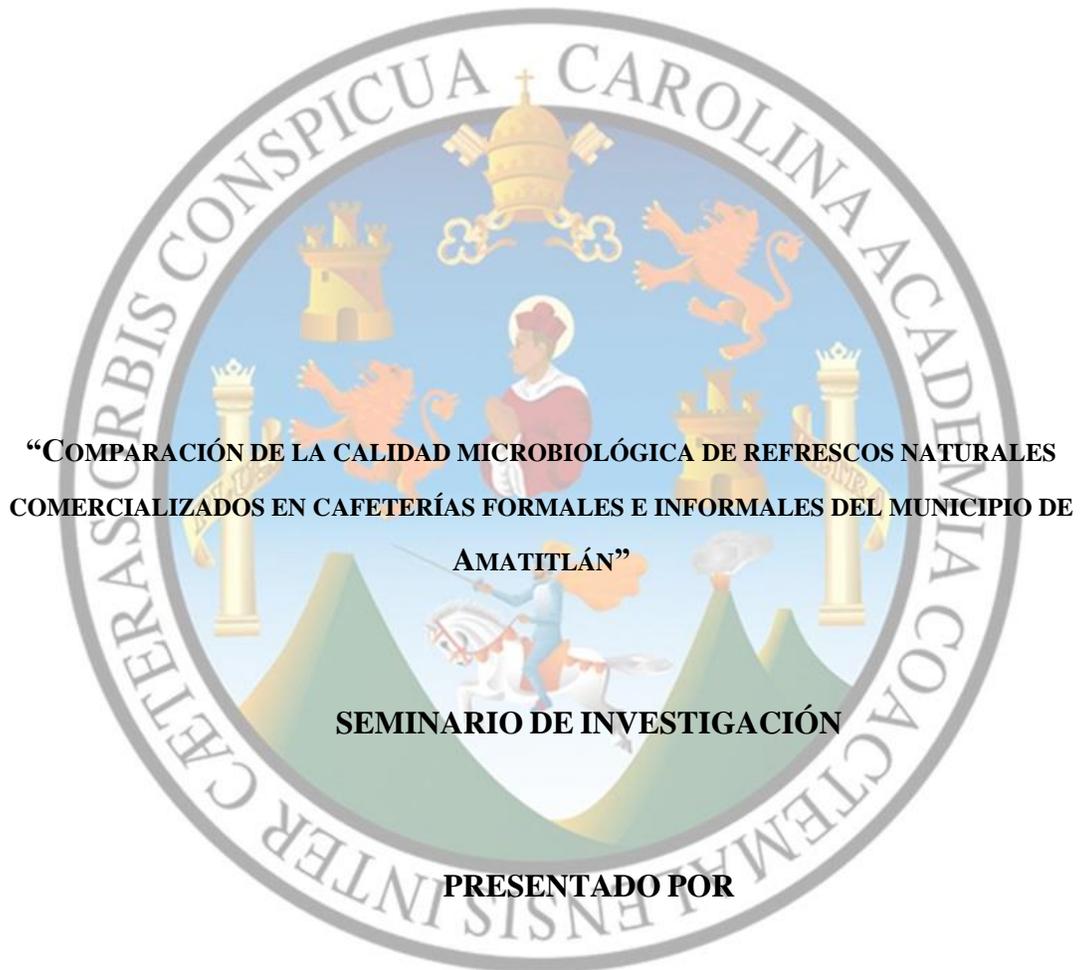
ALBA MARINA CHICAS ESCOBAR

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, ENERO DE 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**“COMPARACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE REFRESCOS NATURALES
COMERCIALIZADOS EN CAFETERÍAS FORMALES E INFORMALES DEL MUNICIPIO DE
AMATITLÁN”**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

JACQUELINE ANDREA CASTAÑEDA BARRIENTOS

ALBA MARINA CHICAS ESCOBAR

PARA OPTAR EL TÍTULO DE

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, ENERO DE 2017

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

DEDICATORIA

A nuestros padres, con todo nuestro agradecimiento por el esfuerzo y sacrificio realizado. Mil palabras no alcanzarían para expresar lo que significa el haberme dado la oportunidad de alcanzar esta meta.

A nuestra familia por el apoyo y la confianza brindada durante el desarrollo de nuestra carrera.

A nuestros amigos por compartir tantas experiencias a lo largo de la carrera.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirnos culminar una meta más de nuestras vidas.

A nuestros padres, por darnos la oportunidad de ser mejores cada día.

A la gloriosa y tricentenaria, Universidad de San Carlos de Guatemala, nuestra alma mater.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A La Doctora Karin Herrera y al Licenciado Martin Gil por su pasión, entusiasmo, profesionalismo, gracias a los cuales fue posible el desarrollo de esta investigación.

ÍNDICE

CONTENIDO

I	ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN.....	1
II	RESUMEN.....	2
III	ANTECEDENTES.....	4
IV	JUSTIFICACIÓN.....	20
V	OBJETIVOS.....	21
VI	MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
VII	RESULTADOS	27
VIII	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
IX	CONCLUSIONES.....	35
X	RECOMENDACIONES.....	36
XI	REFERENCIAS.....	37
XII	ANEXOS.....	42

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACION

El municipio de Amatlán representa un pilar importante para el turismo y economía de sus pobladores. Este municipio al igual que otras áreas del país presenta condiciones sanitarias y educación de escaso desarrollo, que afecta la calidad de vida de los habitantes de Amatlán. Existen varias actividades económicas, tales como la pesca, el comercio informal, el cultivo de diversos productos, la venta de alimentos, este último como su actividad económica principal. Se considera que por las condiciones de salud y salubridad en este municipio, los alimentos y refrescos naturales que se expenden, podrían contener una elevada contaminación microbiológica, debido a los diferentes factores asociados a las condiciones en las que son elaborados y comercializados. Esta contaminación microbiológica podría ser aún mayor cuando la venta de refrescos es de tipo informal, sin regulación o licencia sanitaria, pues se considera que podrían ser objeto de un mínimo o nulo control por las autoridades reguladoras.

La contaminación de estos refrescos naturales puede producirse en cualquier etapa del proceso, que va desde la calidad de los insumos que se adquieren para la elaboración, la producción (elaboración y manipulación del licuado o refresco) hasta el consumo de éstos.

Actualmente no existen antecedentes que determinen la calidad microbiológica de alimentos en el área de Amatlán, por lo que la siguiente investigación tiene como fin ayudar a la creación y propuesta de estrategias del control de calidad de los alimentos que se venden en los expendios que serán evaluados en este estudio.

La importancia de realizar este trabajo es detectar posibles organismos en alimentos, especialmente en refrescos naturales, y así prevenir enfermedades en pobladores y visitantes al mismo tiempo que se aumenta la calidad de los productos ofrecidos, lo cual puede generar un incremento en la actividad turística y con ello incrementar la economía de la comunidad de Amatlán.

II. RESUMEN

Las cafeterías formales e informales localizadas en la orilla de la playa pública del lago del municipio de Amatlán, distribuyen alimentos que pueden ser una fuente de riesgo para la transmisión de enfermedades gastrointestinales, debido a que son alimentos extensamente manipulados, esto significa que existe un alto riesgo de contaminación para la población que consume tanto bebidas como alimentos en estos establecimientos.

El objetivo del presente estudio fue comparar la calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales del municipio de Amatlán. Se determinaron los microorganismos indicadores de contaminación fecal como lo son los *Coliformes fecales*, *E. coli* y *S. aureus*.

Inicialmente se realizó una evaluación estructurada en cada una de las cafeterías incluidas en el estudio en la cual se evaluaron las buenas prácticas de manufactura según la escala establecida por las investigadoras, para categorizar como aceptable, deficiente o inaceptable las condiciones en las que se encontraron los establecimientos. Posteriormente se llevó a cabo el análisis microbiológico de las bebidas que se expenden en estos establecimientos.

El análisis microbiológico se realizó en 30 muestras de bebidas obtenidas en las cafeterías incluidas en el estudio, luego de procesar, tabular, analizar y clasificar los resultados según la escala de puntuación establecida en la evaluación estructurada. Se observó que un alto porcentaje de los establecimientos incluidos en el estudio obtuvo una clasificación inaceptable (26%) y deficiente (34%). Estos datos concuerdan con los resultados que se obtuvieron, ya que en la mayoría de las bebidas provenientes de las cafeterías, se evidenció contaminación por *Coliformes fecales* y *E. coli*.

Se determinó que la limonada fue la bebida que en la mayoría de las cafeterías se distribuye y que presenta contaminación fecal, estos resultados se evaluaron de acuerdo a criterios o límites de aceptación (hasta 100UFC/ml de *Coliformes fecales* y resultado menor de 100 UFC/ml para *E. coli* y *S. aureus* por porción preparada) según la norma CODEX ALINORM CX/0316.DIC.2002.

Además se identificó que existen riesgos asociados a la contaminación presentada en las diversas bebidas analizadas, dentro de los riesgos se puede mencionar; la deficiencia

en el lavado de manos y el poco uso de jabón antibacterial tanto para el uso personal como para la desinfección de la materia prima que utilizan para la elaboración de las bebidas,

Se consideró que este factor se presenta debido a que la mayoría de cafeterías no cuentan con espacios aptos y suficientes para la limpieza, lavado y desinfección de alimentos, además no tienen abastecimiento de agua potable y no cuentan con recipientes adecuados para el descarte de los desechos, por este motivo se considera que no cumplen con las condiciones necesarias para expender alimentos de buena calidad.

Además el personal que labora en las cafeterías no cuentan con el conocimiento necesario de las buenas prácticas de manufactura y manipulación de alimentos, por lo que es necesario que estas personas sean capacitadas y que traten de implementar medidas para el control de la elaboración de bebidas y alimentos y así de esta manera reducir el riesgo de contaminación alimentaria.

III. ANTECEDENTES

A. Comercio formal e informal alimentario en Amatitlán, y su importancia en el control de calidad.

La venta de alimentos en Guatemala y en particular en Amatitlán es una de las fuentes de ingreso socioeconómico más significativas para muchos pobladores, sobretodo el de tipo informal, debido a que constituye un fenómeno que reviste gran importancia sociocultural, económica y sanitaria para la región. Los últimos años, este tipo de venta ha aumentado debido a causas socioeconómicas, como lo es el deterioro de las condiciones de vida en las áreas rurales (Cuellar, 1994). El acuerdo gubernativo 229-2014, tiene como objeto regular las condiciones generales de salud y seguridad ocupacional, tanto de los trabajadores y patronos como los clientes, con el fin de proteger la vida, salud e integridad en la prestación de sus servicios en materia de control de alimentos de venta callejera que actualmente se aplica en diversos países de la región latinoamericana. (MSP, 2014).

El sector informal comprende tanto pequeñas empresas de producción como a los pequeños comerciantes o personas que prestan servicios. Se caracteriza por la ausencia de especialización, un capital muy bajo, el hecho de que no se lleva una contabilidad y la posibilidad de articularse con el sector alimentario formal con el fin de adaptarse a la demanda y a la variedad de clientes (FAO, 2006). Este tipo de ventas de alimento están distribuidos de la siguiente manera: el 97% de los negocios que se encuentran en la playa pública de Amatitlán, y el 3% restante corresponde al sector del comercio formal, que presentan una marca comercial conocida, un marco fijo y legal del negocio. (Samayoa, 2004)

Lamentablemente, debido a la necesidad económica y social que se vive actualmente, el sector informal actúa de acuerdo a estrategias de sobrevivencia, por falta de información y formación educativa (Valladares, 1999), se podría asumir que algunos manipuladores de alimentos no siguen instrucciones sanitarias por iniciativa propia.

B. Enfermedades transmitidas por alimentos

1. Generalidades

Las enfermedades alimenticias, incluidas las intoxicaciones e infecciones, son patologías producidas por la ingestión accidental, o intencional de alimentos o bebida, contaminados en cantidades suficientes con agentes químicos o microbiológicos, debido a la deficiencia en el proceso de elaboración, conservación, transporte, distribución o comercialización de los mismos (Benenson, 1997). La presencia de bacterias como *S. aureus*, *E. coli*, coliformes fecales, mohos y levaduras son indicadores de una inadecuada manipulación de alimentos, debido a que los operarios no cumplen con la buenas prácticas de manufactura (BPM), con la consecuente aparición de brotes de ETA en los consumidores (Jerez, 2006).

2. Clasificación

Las enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos se dividen en dos categorías: las infecciones alimentarias y las intoxicaciones alimentarias (Benenson, 1997).

a. Infecciones

Los microorganismos que comúnmente producen las infecciones alimentarias son: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus* *Staphylococcus aureus* (Pérez & Gonzales, 1992). Los síntomas y el período de incubación producidos por las infecciones alimentarias, en las que se identifica como agente causal a las bacterias, varía según el individuo o grupo expuesto, debido a la resistencia, edad y estado nutricional de cada persona. Para evaluar la virulencia de un microorganismo es también importante el número o la concentración de los mismos, la cantidad de alimento consumido y la patogenicidad del mismo (Adam & Moss, 1997)

i. *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria muy común en el tracto gastrointestinal, y parte de microbiota normal. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram

(gramnegativo), es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos, no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa (Pelczar, 2007). Algunas cepas de *E. coli* son capaces de producir una toxina que podría producir infección grave. Los seres humanos adquieren la infección por el consumo de alimentos o agua contaminada (Dersch, Schmidt & Bremer 2003).

Pueden presentarse síntomas como diarrea, vómitos, dolores abdominales y otros más severos como diarrea sanguinolenta, trastornos de coagulación, deficiencias renales y muerte. Su período de incubación es de 3 a 9 días (Caballero & Hernández, 2009).

Además un aspecto relevante de *E. coli* es que es un microorganismo capaz de producir la toxina Shiga (STEC) es un patógeno emergente asociado a Enfermedades Transmitidas por Alimentos. La infección puede causar casos esporádicos o brotes de diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. *E. coli* O157:H7 es el prototipo de un grupo de más de 150 serotipos de STEC que poseen los mismos marcadores de virulencia. Entre ellos, existen 5 serotipos (O26:H11, O103:H2, O111:NM, O113:H21 y O145:NM) que fueron reconocidos por la Organización Mundial de la Salud por su potencial patogénico. Los serotipos de STEC asociados a enfermedades severas en el hombre pertenecen a la categoría de *E. coli* enterohemorrágico (EHEC)(Ahmed, 2009).

E. coli enterotoxigénica (ETEC) es un tipo de *E. coli* y la causa bacteriana más importante de diarrea en el mundo en desarrollo, así como la causa más común de diarrea del viajero. Algunas cepas de ETEC producen una exotoxina lábil al calor (LT) que está bajo el control genético de un plásmido, la cual puede reaccionar de forma cruzada con la enterotoxina para estimular la producción de anticuerpos neutralizantes de inmunoglobulina en el suero de personas previamente infectadas con *E. coli* enterotoxigénica. Algunas cepas de ETEC producen otra toxina llamada enterotoxina termoestable (ST), que están reguladas por un grupo heterogéneo de plásmidos. Algunas cepas de ST de *E. coli* son capaces de hacer LT, la cepa que contiene ambas toxinas ST y LT produce una diarrea más grave (Pelczar, 2007).

Entre los alimentos implicados se encuentran las carnes de res y aves sin cocción completa, leche y jugos sin pasteurizar, productos lácteos elaborados a partir de leche sin pasteurizar, aguas contaminadas, lechuga, repollo y otros vegetales que se consumen crudos (Jay, 2004).

ii. *Salmonella* sp.

Son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos de la familia *Enterobacteriaceae*. Su incidencia va en aumento asociada al incremento de animales portadores. Su origen puede ser endógeno (animales portadores asintomáticos) o exógeno; las prácticas ganaderas favorecen la infección a través de los piensos que pueden generar portadores asintomáticos y del manejo de los animales en el matadero (Micelli, et al. 2009).

Como medidas profilácticas están el control de animales portadores, el procesamiento de alimentos (pasteurización) y reducción de las posibilidades de contaminación exógena. Es el agente causal de la fiebre tifoidea, *Salmonella typhi* (Frazier & Westhoff, 1998).

La fiebre tifoidea o paratifoidea puede desarrollarse en tres tipos A, B y C (que causan cuadros más leves), se desarrolla por el contacto con un portador asintomático mediante alimentos o agua contaminados, su prevalencia es baja en Europa y más alta en los países del tercer mundo, en los que hay 17 millones de casos al año, 6,000 de los cuales acaban en defunción. Son especialmente susceptibles los niños menores de 1 año. Actualmente están apareciendo resistencias al tratamiento, lo que complica considerablemente la curación.

El tiempo de incubación de la enfermedad varía de 3 a 21 días, dependiendo del inóculo, de la edad, de la salud y de otras características del paciente. Los síntomas más comunes en esta enfermedad son escalofríos, cefalea, náuseas, anorexia, tos y diarrea o estreñimiento. La fiebre es prolongada y varía de 38,5 °C a 40 °C (Frazier & Westhoff, 1998).

iii. *Vibrio cholerae*

Pertenece a la familia *Vibrionaceae* son bacilos curvos Gram negativo, generalmente móviles, halofílicos (necesita NaCl para desarrollarse), aerobios o anaerobios facultativos, viven en agua salada, en estanques de agua y sólo causa infección en los seres humanos (Singh, *et al.* 2001).

Causa la patología llamada “cólera” es una infección del intestino delgado producida por algunas cepas de la bacteria *Vibrio cholerae* los síntomas pueden variar de nulo, a leve o severa y se caracteriza por síntomas tales como dolor y calambres abdominales, náuseas, vómitos y deposiciones agudas semejantes al agua de arroz, con un marcado olor a pescado, que dura unos pocos días (Pelczar, 2007).

La diarrea puede ser tan severa que conduce a las pocas horas a severa deshidratación y desequilibrio electrolítico por la elevada cantidad de sodio, bicarbonato y potasio que se pierde en cada deposición, además produce una reducción en la cantidad de proteínas, esto puede resultar en ojos hundidos, piel fría, disminución de la elasticidad de la piel y las arrugas de las manos y los pies, además como consecuencia de ello puede tornar un poco azulada la piel.

V. cholerae se transmite por alimentos y bebidas contaminadas. Los alimentos más propensos a la contaminación son los mariscos y el pescado que se comen crudos (Pelczar, 2007).

iv. *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 (Hobbs, 1997). *B. cereus* puede causar dos tipos de enfermedades transmitidas por alimentos clínicamente diferentes: el síndrome emético (que se explicará posteriormente) y el síndrome diarreico, éste es causado 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 de ave, salsas, natillas, leche y pudines (Jerez, 2006).

B. cereus es un microorganismo gram positivo en los cultivos jóvenes y a medida que envejece puede verse como gram variable o gram negativo. Las esporas aparecen claras en la tinción de gram y verdes con la tinción de esporas estas pueden estar dentro de la pared bacteriana o puede deformar la pared. Las temperaturas de crecimiento mínima están entre 15°C a 20°C y la máxima es entre 40°C a 45°C con un óptimo de 37°C (Portuondo, 2010).

v. *Shigella* sp.

Shigella es un bacilo gram negativo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, que se encuentra estrechamente relacionada con el género *Escherichia*, por sus propiedades bioquímicas, serológicas y por similitudes genéticas.

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*.

Este patógeno se transmite principalmente por vía feco-oral por medio de alimentos y agua contaminada, penetra e invade la mucosa intestinal provocando la disentería bacilar, en un período de incubación de 12 a 50 horas. Entre los alimentos implicados con la infección están las ensaladas de papa, el pollo y los mariscos.

Habitualmente la enfermedad se presenta con síntomas que evidencian colitis inflamatoria severa: diarrea con sangre, mucus o pus, fiebre elevada, aspecto tóxico, dolor abdominal, tenesmo y/o prolapso rectal. La bacteriemia por *Shigella* es mucho más rara y se observa casi exclusivamente en pacientes inmunodeprimidos (Levine, 2000).

b. Intoxicaciones

Son enfermedades transmitidas por la ingestión de alimentos o agua contaminada con cantidades suficientes de toxinas elaboradas por proliferación bacteriana o con agentes químicos (metales pesados y otros compuestos orgánicos) que se incorporan a ellos de modo accidental hasta su consumo. Hay tres tipos de intoxicaciones alimentarias auténticas causadas por las toxinas bacterianas: síndrome emético, botulismo y la intoxicación estafilocócica (Jay, 2004).

i. Síndrome emético

Es producido por una toxina preformada y termoestable que libera *Bacillus cereus*. La toxina es un dodecadepsipéptido llamado Cereulida que provoca emesis al estimular la vía vago aferente a través de su unión con el receptor de la serotonina. La producción de la toxina ocurre durante la fase estacionaria del crecimiento del microorganismo, y se acumula en el alimento a medida que transcurre el tiempo (Portuondo, 2010). Predominan los síntomas gastrointestinales manifestados por náuseas y vómitos. Su 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 (Hernández, 2002).

ii. Botulismo por *Clostridium botulinum*

Es la intoxicación alimentaria causada por la toxina producida por *C. botulinum*. Es un bacilo anaeróbico del suelo, esporulado, saprofítico, es Gram positivo y formador de gas.

Produce 7 tipos de toxinas que afectan tanto al hombre como a los animales: A, B, C, D, E, F, G. La dosis letal de toxina para los humanos es 0.2 - 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, produciendo una parálisis flácida descendente, así como fotofobia, visión borrosa, disfagia, debilidad muscular, náuseas y vómitos. Los síntomas se desarrollan 18 a 24 horas tras la ingesta y progresan a lo largo de días o semanas (McGrath et al. 2000).

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 y se destruyen a una temperatura de 80°C durante 30 minutos (Gov, 2015).

iii. Intoxicación por *Staphylococcus aureus*

S. aureus, es un coco gram positivo con antígenos tóxicos y hemolisina, es muy resistente en el medio ambiente y sobrevive durante períodos prolongados aún en ambientes secos. *S. aureus* produce cinco enterotoxinas estafilocócicas A, B, C, D y E las cuales producen emesis en primates. La dosis de toxina que provoca enfermedad es 1-5 ug/g alimento (Dinges et al, 2000).

El período de incubación es de 30 minutos a 10 horas. Tiene un comienzo brusco con salivación aguda, vómitos, náuseas, dolor cólico abdominal, diarrea, mialgias, postración, hipotermia, hipotensión arterial. Por tratarse de una enfermedad autolimitada, evoluciona en 1-2 días, se estima que sólo el 10 % de los afectados demanda asistencia. La letalidad es del 0.03 % en población general y del 4 % en niños y ancianos (Jay, 2004). *S. aureus* tiene la posibilidad de producir sistemas enzimáticos y/o toxinas; éstos son:

Entre los sistemas enzimáticos se pueden mencionar la acción de las coagulasas que actúan cubriendo a la célula de fibrina y por tanto haciéndola más resistente a la opsonización y fagocitosis, la catalasa es otro tipo de sistema y podría funcionar inactivando algunos sistemas de ingestión de los PMN.

También encontramos las estafiloquinasas que degradan la fibrina y contribuyen a la invasión de tejidos vecinos, las hialuronidasa hidrolizan la matriz intracelular de mucopolisacáridos de los tejidos y por tanto contribuye a la diseminación a tejidos adyacentes, las lipasas son otro tipo de sistema enzimático y se pueden encontrar en las cepas de *S. aureus* productoras de forunculosis crónica son potentes productoras de lipasas que ayudan al microorganismo a diseminarse por los tejidos cutáneo y subcutáneo.

Por último encontramos la fosfolipasa C esta enzima se encuentra asociada con cepas recuperadas de pacientes con diestrésrespiratorio del adulto y coagulación

intravascular diseminada (eventos que ocurren durante la sépsis). Aparentemente los tejidos afectados por esta enzima se vuelven más susceptibles al daño y destrucción por componentes bioactivos del complemento y sus productos durante su activación.

S. aureus produce además, toda una serie de enzimas como las DNAsas, proteasas y fosfatasa que colaboran en el proceso infeccioso y en la producción de lesiones (Lombard, et al.1997).

Dentro de las toxinas que *S. aureus* puede producir tenemos las toxinas de acción general como las hemolíticas (α , β , γ y δ) y la leucocidina, y también toxinas especializadas como las exfoliatinas, toxina del shock tóxico y enterotoxinas. Las hemolisinas son importantes toxinas citolíticas sobre una variedad de células.

Por ejemplo la α hemolisina o α toxina tiene efecto letal sobre una variedad de membranas celulares eucariotas, incluyendo la de PMN humanos, así como también la de eritrocitos de diferentes especies animales. Es dermonecrótica si se inyecta en forma subcutánea y es letal para animales si se administra en forma intravenosa. Es responsable de la zona de hemólisis observada alrededor de las colonias de *S. aureus*.

En cuanto a la β hemolisina es una esfingomielinasa activa sobre diferentes células: leucocitos, eritrocitos, fibroblastos. Y las γ y δ hemolisinas se encuentran en algunas cepas de *S. aureus* y lisan una variedad de células diferentes (Sheagren & Schaberg, 1998).

La leucocidina es una exotoxina con efecto tóxico directo sobre las membranas de los PMN humanos, causando degranulación del citoplasma, hinchamiento celular y lisis. Una inyección de esta toxina en modelos animales produce una disminución severa del número de leucocitos.

Dentro de las toxinas especializadas encontramos las exfoliatinas o toxinas epidermolíticas son producidas por algunas cepas de *S. aureus* y consisten en dos proteínas, bioquímica e inmunológicamente diferentes, pero confusiones biológicas similares.

También existen las enterotoxinas y se trata de moléculas termoestables responsables de la intoxicación alimentaria producida por algunas cepas *S. aureus*. El modo de acción de estas toxinas no es aún conocido pero se sabe que aumentan el peristaltismo.

Por último encontramos la toxina del shock tóxico (TSST-1) es también denominada como enterotoxina F. Está implicada en la patogenia del síndrome del shock tóxico. Aunque su rol es poco claro tiene una gran cantidad de actividades biológicas. En modelos animales potencia la actividad letal de pequeñas cantidades de endotoxina (Waldvogel, 2000).

C. Epidemiología

1. Epidemiología 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 fueron la segunda causa de morbilidad notificada en Guatemala con 469,705. Entre el año 2009 y 2015 la morbilidad por ETA'S ascendía a 176,033 casos acumulados. Además se reportó que los principales agentes identificados fueron *S. aureus*, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *V. cholerae* y *E. coli* (Méndez, 2000).

Las 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 2007 el 70% de todas las cafeterías evaluadas indican que se sobrepasa el límite para recuento de coliformes fecales en por lo menos el 70 % de las cafeterías (Castillo, 2007).

Según el Ministerio de Salud pública, para el año 2001 se contabilizaron 500 mil casos de diarrea lo que provocó un total de tres mil quinientas muertes (2014). Para finalizar el periodo del año 2004, se totalizaron 421,375 casos de enfermedad diarreica aguda, además se presentó un brote de diarrea por Rotavirus que aportó más de 50,000 casos. En el mismo año se reportaron 12 mil casos de disentería y shigelosis por grupo de edad, donde el 62% de los casos ocurrieron en menores de 5 años y dentro de éstos, el

grupo de 1 a 4 años aportó el 46%. Además, se contabilizaron 66 casos sospechosos de cólera, de los cuales el 97% fueron notificados por el área de salud de Guatemala sin ninguna confirmación específica (Ministerio de Salud Pública, 2014).

2. Contaminación en el Lago de Amatitlán

El lago es un cuerpo de agua de usos múltiples, el cual está siendo adversamente alterado por la expansión de la ciudad de Guatemala y su área de influencia, lo cual causa efectos indeseables tanto en el lago como en las personas que viven en sus alrededores y por consecuencia en la preparación de los alimentos y bebidas que se lleven a cabo en la región. Con la ayuda de AMSA y la administración del lago de Amatitlán, se ha logrado disminuir la contaminación ambiental tanto por los vendedores como por los visitantes, aun así, las cafeterías se encuentran en una situación deplorable. La falta de paredes, la cantidad de polvo, el olor, y porque no decirlo, la inseguridad, son algunos de los factores que ha disminuido la afluencia de personas a la playa pública. Entre los factores que contribuyen al aumento en la contaminación se encuentran: crecimiento de la población en la cuenca, localización de industrias alrededor del lago, el uso inadecuado del suelo en la cuenca, el bajo nivel de educación y concientización ambiental y el casi nulo control administrativo y legal de los usos del agua, suelo y aire del municipio y el lago de Amatitlán (Adams, 1997).

En el año 2009, se realizó una encuesta a trabajadores de la playa pública de Amatitlán, con el fin de conocer la cantidad de visitantes al lago. Se obtuvo un estimado de 10 mil personas que visitan el fin de semana, de forma turística el parque Las Ninfas (ubicadas a orillas del lago de Amatitlán) (Murga, et al, 2014), por falta de registros oficiales hasta la fecha, se utilizan estos datos como un aproximado de personas que consumen alimentos en la playa pública.

Según datos obtenidos del Instituto Nacional de Estadística (INE), para el año 2002, el municipio de Amatitlán, tiene una población de 82,870 habitantes. Con una proyección de 12,0521 habitantes para el año 2016, se estima que 15 mil viven a orillas del lago (INE, 2002).

En el año 2004, las enfermedades diarreicas agudas fueron la segunda causa de morbilidad (45/1000) y la segunda causa de mortalidad (3.6/1000) en Guatemala. La problemática del lago se debe en gran parte a la cercanía y a la explosión demográfica de la ciudad capital, que genera enormes cantidades de desechos sólidos y líquidos que van a desembocar al lago (Bautista, 2007).

Como primer intento de resguardar la vida del lago, se creó la Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca de Lago de Amatitlán (AMSA) que fue creada con el propósito de resguardar y recuperar el lago, mediante la descontaminación y el uso racional de los recursos renovables y no renovables de las zonas de recarga de acuíferos y zonas boscosas (AMSA, 2016). Así mismo, existen otros programas con la misma finalidad como los son, el programa de desechos sólidos coordinada por la municipalidad y comunidades aledañas, el programa de desechos líquidos, funcionando en Mezquital y Villalobos, y FUNDALAGO integrada por vecinos de Amatitlán (Valladares, 1999).

En Amatitlán se encuentran 54 negocios de comida, de los cuales 15 son cafeterías que venden refrescos preparados. Se encuentran localizadas a orillas del lago, y que por lo tanto son los más afectados por la contaminación del mismo, disminuyendo el comercio. (Municipalidad Amatitlán, 2016).

Por el momento, no existe un estudio que específicamente permita conocer el efecto de contaminación en ese sector.

D. Prevención de las ETA

La prevención de cualquier tipo de enfermedad transmitida por alimentos se relaciona de una manera muy significativa con la seguridad alimentaria que desarrolle el personal responsable de la preparación de los alimentos o bebidas, así como también el tipo de manipulación que llevada a cabo durante el proceso de manufactura y sobre todo se debe tener muy en cuenta la calidad alimentaria que se desee otorgar a los diversos productos que se comercialicen (Oliva, 2011).

Se debe contar un manual de buenas prácticas de manufactura para asegurar la calidad de los alimentos. El cual contiene principios básicos y prácticas generales de higiene en la manipulación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de los alimentos para consumo humano, su objetivo es garantizar que los productos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inherentes a la producción (Romero, 2011).

1. Higiene personal del manipulador de alimentos

Un manipulador de alimentos es toda persona que interviene en alguna de las etapas de elaboración de una comida o bebida, estas personas deberán seguir hábitos y conductas higiénicos elementales (Ver anexo no. 1).

Las consecuencias de una mala manipulación de los alimentos pueden tener repercusiones graves sobre el consumidor, también desprestigian a los negocios y a quienes trabajan en ellos, lo que se traduce en una pérdida de confianza por parte del cliente. Por ello se debe extremar las medidas preventivas encaminadas a evitar la contaminación de los alimentos y la multiplicación de los microorganismos que pueden estar presentes en ellos (Oliva, 2011).

2. Control microbiológico del agua para consumo humano y organismos indicadores

En cuanto al control microbiológico de las bebidas y alimentos se debe tener en cuenta una gran serie de factores debido a que se debe evaluar la calidad del agua que se utilice para la preparación de los mismos, así como también se debe verificar su inocuidad por medio de la evaluación de microorganismos indicadores que se presenta únicamente cuando el producto que se analiza se encuentra contaminado o ha sido producido con malas condiciones de manufactura (Adams, 1997).

a. Análisis sanitario del agua para consumo humano

El diagnóstico de las colonias coliformes en la muestra de agua se basa en la capacidad de dicho microorganismo para producir gas a partir de la lactosa.

Para lograr un nivel sanitario adecuado del agua se deben aplicar una serie de procesos como lo son:

- La filtración: es un medio eficaz de eliminar microorganismos y otras sustancias de suspensión del agua.
- La cloración: El cloro es una opción de tratamiento de bajo costo que se utiliza para mejorar el sabor y la claridad del agua a la vez que se eliminan muchos microorganismos como bacterias y virus. Sin embargo, el proceso tiene sus limitaciones, *Giardia* y *Cryptosporidium* son usualmente resistentes al cloro a menos que éste se utilice en dosis más elevadas que aquéllas preferidas usualmente para el tratamiento. La presencia de estos parásitos puede requerir el tratamiento previo de la fuente de agua (Oliva, 2011).

b. Organismos indicadores

La presencia de microorganismos no necesariamente significa peligro en los alimentos o deficiencia en la calidad de los mismos. En cada alimento puede encontrarse levaduras inocuas, mohos y bacterias (Muralles, 2002).

El examen microbiológico de bebidas pretende detectar patógenos que en alguna medida perjudican la salud de las personas. El término de microorganismos indicadores se aplica para evaluar la calidad, higiene, limpieza o esterilidad del producto alimentario (materia prima, maquinaria, personal operativo, producto en proceso o terminado) (Waldvogel, 2000).

Los microorganismos indicadores no son patógenos, pero frecuentemente están asociados a dichos microorganismos, y son utilizados para reflejar el riesgo de la presencia de agentes causantes de enfermedades. El número de estos microorganismos indica un tratamiento inadecuado en algunas de la fases del procesamiento (producción, proceso, almacenamiento y/o distribución) o una contaminación posterior ocurrida en alimento (Hobbs, 1997).

i. Como microorganismos indicadores puede mencionarse:

- Coliformes totales: es un grupo de organismos indicadores, son anaeróbios facultativos, Gram negativo, fermentadores de lactosa en presencia de bilis a 37° C. Este grupo incluirá la mayoría de las cepas de *E. coli* pero también incluye organismos como *Citrobacter* sp y *Enterobacter* sp. que no son predominantemente de origen fecal. (Adams, 1997)
- Coliformes fecales (termotolerantes): es un grupo conformado por bacilos Gram negativo, no esporulados, fermentadores de lactosa a 44 - 45°C e incluye por lo menos a los miembros de 3 géneros de la familia *Enterobacteriaceae*: *Escherichia* sp., *Enterobacter* sp., y *Klebsiella* sp (Waldvogel, 2000).

j. Factores de riesgo

Las bacterias requieren ciertas condiciones para vivir y reproducirse, así que el conocer cuáles son esas condiciones y de qué manera se puede actuar sobre éstas, permitirá evitar que las bacterias se reproduzcan. Los alimentos como las bebidas naturales desde el momento de su preparación, comienzan a pasar por una serie de etapas de descomposición progresiva. Las causas principales de la descomposición de las bebidas y 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 (Mayorca, 2007).

Las bebidas almacenadas, preparadas y servidas sin control microbiológico y sin normas de higiene pueden representar problemas para la salud pública obteniendo como resultado enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) (Adams, 1997).

- Entre los factores de riesgo que se asocian a las ETA causadas por bebidas naturales se encuentran:

- Preparación de las bebidas varias horas antes de su consumo.
- Refrigeración deficiente
- Dejar a temperatura ambiente las bebidas preparados por un período prolongado, el cual permite el crecimiento de los microorganismos.
- Contaminación cruzada entre los alimentos crudos y cocidos.

- Manipulación de las bebidas por personas infectadas o con poca higiene o portadores sanos.
- Prácticas inadecuadas en el manejo de las bebidas.
- Falta de capacitación en cuanto a la producción, procesamiento y manejo de las bebidas
- Mala higiene de los manipuladores de alimentos.
- La utilización de agua contaminada o agua con baja calidad de purificación empleada en la preparación de las bebidas
- El contacto directo con el ambiente (aire y polvo) y el humo producido por los autobuses y automóviles que circulan alrededor de la playa pública de Amatitlán.
- Lavado deficiente de los utensilios, de los vegetales y de las frutas (Sierra, et al. 2010).

IV. JUSTIFICACIÓN

El atractivo turístico del lago de Amatitlán es utilizado por vendedores de cafeterías formales e informales para la distribución de bebidas, así como de alimentos apetitosos y atractivos derivado de la publicidad. Se considera que entre los alimentos que se expenden, los refrescos naturales podrían contener una elevada contaminación microbiológica, ya que dicha contaminación puede producirse en cualquier etapa del proceso, que va desde la producción, hasta el consumo de los alimentos o bebidas.

Según la Municipalidad de Amatitlán se estima que las personas que visitan sus playas el fin de semana es de 10 mil, por lo que si existe alguna contaminación en los alimentos y bebidas que consumen los turistas, una gran cantidad de personas podría verse afectada. Debido a que no existe un estudio que permita saber el efecto de contaminación en refrescos preparados, tampoco se conoce el impacto que tendrá a largo plazo en la salud de los consumidores.

Es por ello que el objetivo del trabajo es compararla calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales en la playa pública del municipio de Amatitlán, a través de la detección de coliformes, *E. coli* y *S. aureus*.

Se espera que esta información, sea utilizada por los líderes comunitarios, para que ellos sean los actores en la creación y propuesta de estrategias del control de calidad de los alimentos que se venden en los expendios que serán evaluados como parte del estudio.

V. OBJETIVOS

A. General

Compararla calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales del municipio de Amatitlán.

B. Específicos

1. Determinar la calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales de la playa pública del municipio de Amatitlán, a través del análisis de *coliformes*, *E. coli* y *S. aureus*.
2. Establecer la cantidad de *E. coli* y *S. aureus* presentes en los refrescos naturales de las cafeterías formales e informales de Amatitlán, para verificar el grado de contaminación que presentan.
3. Reconocerlos riesgos asociados en la elaboración de los refrescos naturales comercializados en el lugar, por medio de una observación estructurada y encubierta.

VI. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo

Cafeterías formales e informales ubicadas alrededor de la playa pública de Amatitlán, que preparan y distribuyen refrescos naturales para el consumo humano.

1. Muestra: El estudio se realizó en 3 cafeterías formales y 12 cafeterías informales ubicadas alrededor de la playa pública de Amatitlán, las cuales se trabajaron por duplicado, éstas fueron tomadas con dos semanas de diferencia dando un total de 30 muestras.

B. Recursos Humanos

Seminaristas: Br. Jacqueline Andrea Castañeda Barrientos, Br. Alba Marina Chicas Escobar

Asesora: Dra. Karin Herrera

C. Recursos materiales

1. Equipo de laboratorio

- Baño de María
- Incubadora
- Refrigeradora
- Autoclave
- Balanza
- Campana de flujo laminar
- Mechero
- Hielera

2. Reactivos y medios de cultivo

- Agua peptonada amortiguada 0.1 %
- Placas petrifilm para recuento e identificación de *S. aureus*, coliformes y *E. coli*,
- Batería microbiológica (TSI, MIO, LIA, Citrato, urea)

3. Equipo y materiales

- Termómetro
- Pipetas volumétricas de 1mL, 5mL, y 10mL.
- Tubos de dilución
- Cuaderno de notas
- Guía de interpretación de *E. coli* / coliformes y *S. aureus*

D. Procedimiento

1. Se informó al director de la administración de la playa pública del lago Amatitlán, ubicada en las instalaciones de la municipalidad del mismo municipio, de dicho proyecto, por medio una solicitud de autorización para la realización del mismo, la cual se muestra en el anexo 2.

2. Se realizó una visita a cada cafetería realizando una observación estructurada encubierta del lugar y proceso de elaboración de las bebidas de cada cafetería incluida en el estudio haciendo uso del instrumento presentado en el anexo 3.

3. Se llevó a cabo la toma y transporte de muestras de la siguiente manera:

- a. Aproximadamente 250 mL del refresco con más demanda en la cafetería.
- b. Se colocaron las muestras individualmente en bolsas estériles
- c. Se identificaron las muestras con la fecha y hora de recolección, tipo de muestra, cafetería.
- d. Se colocaron las muestras en hielera.

- e. Se congelaron las muestras hasta su traslado al laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- f. Se trasladaron las muestras al laboratorio en hielera en un tiempo máximo de 24 horas posterior a la toma de muestra.

El procedimiento de toma de muestras descrito anteriormente se realizó dos veces por cafetería con una diferencia de dos semana entre cada muestreo.

4. Análisis microbiológico:
 - a. Se descongelaron las muestras colocándolas durante 24 hrs. en refrigeración.
 - b. Se utilizó 10 mL de muestra con 90 mL de agua peptonada al 0.1% (dilución 1:10).
 - c. A partir de la dilución anterior, se preparó una dilución 1:100 y a partir de ésta se inocularon para hacer una disolución 1:1000.
 - d. Se inoculo 1 mL de cada una de las diluciones a cada placa de petrifilm *E. coli*/ coliformes, identificándolas como 1:10, 1:100 y 1:1000.
 - e. Se incubó las placas de Petrifilm a 35 °C por 24 horas.

5. Interpretación de resultados
 - a. Determinación de *E. coli*:
 - Se realizó el conteo de las colonias con precipitado azul asociadas a gas.
 - Si el conteo es de más de 10 colonias en un centímetro, se contaron únicamente en 4 cuadros de la placa.
 - Si el conteo era de menos de 10 colonias en un centímetro, se contaron en 10 cuadros de la placa.
 - Se multiplicará el conteo obtenido por la dilución utilizada y por el área de la placa (20 cm).
 - Se reportaron en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ mL).
 - Posteriormente se confirmó con la batería bacteriológica con TSI, LIA, MIO citrato y urea.

b. Determinación de Coliformes Fecales (termotolerantes):

- Se contaron las colonias con precipitado rojo asociadas a gas.
- Si el conteo era de más de 10 colonias en un centímetro, se contaron únicamente en 4 cuadros de la placa.
- Si el conteo era de menos de 10 colonias en un centímetro, se contaron en 10 cuadros de la placa.
- Se multiplicó el conteo obtenido por la dilución utilizada y por el área de la placa (20 cm).
- Se reportó en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ mL).

c. Diagnóstico de *Staphylococcus aureus*

- Se contaron las colonias con precipitado rojo-violeta.
- Si el conteo era de más de 10 colonias en un centímetro, se contaron únicamente en 4 cuadros de la placa.
- Si el conteo es de menos de 10 colonias en un centímetro, se contaron en 10 cuadros de la placa.
- Se multiplicó el conteo obtenido por la dilución utilizada y por el área de la placa (20 cm).
- Se reportó en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ mL).

6. Análisis e interpretación de resultados

Los datos que se obtuvieron permitieron determinar si existe un grado de contaminación en los refrescos de las cafeterías, con base en los parámetros permitidos por las instituciones de salud (COGUANOR NTG/ISO/TS 19036), en el cual permite hasta 100 UFC/mL.

7. Informe de resultados

Para reportar los resultados se incluyeron todos los conteos realizados de las muestras de los refrescos analizados, además se tomaron en cuenta los punteos obtenidos de las observaciones estructuradas encubiertas realizadas en cada muestreo.

E. Diseño de investigación

1. Tipo de estudio: Descriptivo por conveniencia.
2. Análisis de resultados

Se compararon los resultados obtenidos para los dos muestreos en las diferentes cafeterías formales e informales en la playa pública en Amatitlán, y se presentan en tablas y gráficas, utilizando análisis estadístico descriptivo (promedio, mínimo y máximo) tomando como referencia los valores aceptables hasta 100 UFC/ml de coliformes, *E. coli* y *S. aureus*.

VII. RESULTADOS

El trabajo se dividió en dos fases: en la primera se realizó una visita de observación y evaluación encubierta sobre las buenas prácticas de manufactura a las cafeterías, utilizando el instrumento presentado en el anexo 3. Con base a los resultados obtenidos se realizó una clasificación de los comercios según el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura en las categorías de aceptable, deficiente e inaceptable, según los puntajes establecidos por las investigadoras como se muestra en la tabla 1 y en la gráfica 1 del anexo 4.

Tabla No. 1 Categorización de los comercios formales e informales de la orilla del lago en el municipio de Amatitlán respecto a las buenas prácticas de manufactura.

Cafetería	Punteo	Interpretación
El Rancho	62	Deficiente
Elenita	65	Deficiente
La Góndola	80	Aceptable
La Pepesca	52	Inaceptable
Las Gemelitas	60	Inaceptable
Quita	76	Aceptable
Letty	77	Aceptable
Nuria	54	Deficiente
La Única	60	Inaceptable
Lilian	60	Inaceptable
Nilda	65	Deficiente
Vista del Lago	77	Aceptable
El Chorrillo	60	Inaceptable
Gloria	81	Aceptable
La Cabaña	77	Aceptable

ACEPTABLE: 76 – 90 Pts. DEFICIENTE: 61 – 75 pts INACEPTABLE: 0 – 60 pts

Fuente: Datos obtenidos de la evaluación realizada en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en este estudio.

En la segunda fase de la investigación se realizó la determinación de la calidad de los refrescos naturales comercializados en la orilla del lago del municipio de Amatitlán.

Los resultados obtenidos del análisis microbiológico realizado, se presentan en las tablas 2, 3 y 4, estos valores se establecieron con base a los límites establecidos en el presente estudio (hasta 100 UFC/ml de *Coliformes fecales* y resultado menor de 100 UFC/ml para *E. coli* y *S. aureus* por porción preparada), según la norma CODEX ALINORM CX/0316.DIC.2002.

La tabla 2 presenta los valores obtenidos de los coliformes fecales presentes en las bebidas analizadas en el estudio, resaltados en negrilla se encuentran los valores que sobrepasan los límites permisibles para el consumo humano (100 UFC/ml para *E. coli*).

Tabla No. 2 Determinación de Coliformes fecales en los refrescos comercializados en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago, en el municipio de Amatitlán.

Cafetería	Primer muestreo Coliformes fecales (UFC/ml)	Segundo muestreo Coliformes fecales (UFC/ml)
El Rancho	<100	<100
Elenita	<100	<100
La Góndola	>1430	230
La Pepesca	205	<100
Las Gemelitas	118	<100
Quita	300	<100
Letty	179	<100
Nuria	>1750	105
La Única	120	<100
Lilian	<100	<100
Nilda	<100	<100
Vista del Lago	<100	<100
El Chorrillo	>1230	400
Gloria	233	<100
La Cabaña	<100	<100

Fuente: Datos obtenidos del análisis microbiológico de las bebidas naturales comercializadas en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en este estudio.

En cuanto a la determinación de *E. coli* en las bebidas analizadas dentro del estudio, los resultados se presentan en la tabla 3, donde se muestra la contabilización las unidades formadoras de colonia por mililitro, obtenidas en las placas de petrifilm, utilizadas para realizar el respectivo análisis microbiológico de igual manera en negrilla se presentan los valores que están fuera del rango permisible para este microorganismo (menor de 100 UFC/ml).

Tabla No. 3 Determinación de *E. coli* en los refrescos comercializados en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago en el municipio de Amatitlán.

Cafetería	Primer muestreo <i>E. coli</i> (UFC/ml)	Segundo muestreo <i>E. coli</i> (UFC/ml)
El Rancho	<100	<100
Elenita	<100	<100
La Góndola	970	118
La Pepesca	150	<100
Las Gemelitas	127	<100
Quita	150	<100
Letty	153	<100
Nuria	>1350	100
La Única	110	<100
Lilian	<100	<100
Nilda	<100	<100
Vista del Lago	<100	<100
El Chorrillo	>880	200
Gloria	160	<100
La Cabaña	<100	<100

Fuente: Datos obtenidos del análisis microbiológico de las bebidas naturales comercializadas en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en este estudio.

La tabla 4 muestra la determinación de *S. aureus* en las bebidas analizadas en el estudio y se refleja el número de colonias presuntivas para este microorganismo en unidades formadoras de colonia, y en negrilla se evidencian los valores que sobrepasan el límite permisible para este microorganismo (menor de 100 UFC/ml).

Tabla No. 4 Determinación de *S. aureus* en los refrescos comercializados en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago en el municipio de Amatitlán.

Cafetería	Segundo muestreo <i>S. aureus</i> (UFC/ml)	Segundo muestreo <i>S. aureus</i> (UFC/ml)
El Rancho	<100	<100
Elenita	<100	<100
La Góndola	<100	<100
La Pepesca	<100	<100
Las Gemelitas	<100	<100
Quita	<100	<100
Letty	<100	<100
Nuria	170	<100
La Única	<100	<100
Lilian	<100	<100
Nilda	<100	<100
Vista del Lago	<100	<100
El Chorruto	<100	<100
Gloria	80	<100
La Cabaña	<100	<100

Fuente: Datos obtenidos del análisis microbiológico de las bebidas naturales comercializadas en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en este estudio.

Para confirmar las colonias sospechosas de *E. coli* en las bebidas analizadas, se realizó una batería microbiológica (TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea), y para la confirmación de *S. aureus* se realizó una siembra en agar Bair Parker que es selectivo para este microorganismo y los resultados se presentan a continuación.

Tabla No. 5 Pruebas confirmatorias para la determinación de *E. coli* y *S. aureus* en los refrescos comercializados en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago en el municipio de Amatitlán.

Cafetería	Confirmación			
	Primera toma		Segunda toma	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
El Rancho	NR	NR	NR	NR
Elenita	NR	NR	NR	NR
La Góndola	(+)	NR	(+)	NR
La Pepesca	(+)	NR	NR	NR
Las Gemelitas	(+)	NR	NR	NR
Quita	(+)	NR	NR	NR
Letty	(+)	NR	NR	NR
Nuria	(+)	(-)	(+)	NR
La Única	(+)	NR	NR	NR
Lilian	NR	NR	NR	NR
Nilda	NR	NR	NR	NR
Vista del Lago	NR	NR	NR	NR
El Chorrito	(+)	NR	NR	NR
Gloria	(+)	(-)	NR	NR
La Cabaña	NR	NR	NR	NR

(+) = Presencia y confirmación positiva en batería para este microorganismo (TSI: A-K/A, gas +/-, H2S -; LIA:K-K/A, gas +/-, H2S -; MIO: M +/-, I +, O +/-; Citrato(-); Urea: (-) (-) = Ausencia de *E. coli*. NR= No realizado.

Fuente: Datos obtenidos del análisis microbiológico de las bebidas naturales comercializadas en las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en este estudio.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Respecto a la evaluación de las prácticas de manufactura utilizadas en las cafeterías con instalaciones formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán, se pudo conocer el nivel de calidad sanitaria que cada establecimiento mantiene, según la categorización de aceptable, deficiente e inaceptable en que se encuentran las mismas. Con respecto a esta categorización establecida por las investigadoras, basada en el Reglamento de Salud, establecido por el Ministerio de Salud Pública y el CODEX ALINORM, a conveniencia con fines del estudio, se determinó que un 26% de las cafeterías se encuentra dentro de la categoría de inaceptable y el 36% están dentro de la categoría deficiente.

Los resultados permiten relacionar las deficiencias encontradas y señaladas durante la realización de la evaluación con los factores de riesgo que se detectaron durante la investigación. Se evidenció que el almacenamiento de los alimentos es uno de los riesgos de mayor prioridad, debido a que los comercios no cuentan con estanterías adecuadas, ni espacios separados para almacenar los alimentos crudos de los cocidos, para evitar que se produzca una contaminación cruzada en los alimentos (Adams, 1997).

Otro factor de riesgo de gran importancia en la mayoría de las cafeterías, es que no cuentan con agua potable, transportan el agua a los comercios con cubetas u otros instrumentos de almacenamiento no higiénicos a partir de llaves municipales ambulantes. Lo anterior no permite tener la cantidad necesaria para preparar los alimentos que expenden en sus establecimientos (Méndez, 2000). Además, el empleo de utensilios de cocina reutilizables fue otro problema crítico que se detectó debido a que existe deficiencia en el lavado de este material, principalmente por la escasez y/o mala calidad del agua utilizada.

La mayoría de los establecimientos mostró deficiencia en el procesamiento de alimentos, que es otro factor de riesgo debido a que no realizan la limpieza adecuada y constante en las superficies de las áreas de proceso, ni en los alrededores. Estos establecimientos carecen de las condiciones físicas adecuadas y además están expuestos al polvo y otros agentes ambientales los cuales producen contaminación en los alimentos (Romero, 2011). Adicionalmente en el proceso de desinfección de las frutas con las que se

preparan las bebidas, no siempre utilizan desinfectante y en algunas de las cafeterías la higiene de la manipulación de alimentos no es correcta.

Otro aspecto importante que influyó en la calidad de las bebidas, es que algunos expendedores refirieron que preparan las bebidas en sus hogares, antes de salir a atender las cafeterías (6:00 a.m.), transportándolas al expendio a temperatura ambiente y en cubetas plásticas para que no se derramen. Las cubetas no siempre cuentan con una tapa hermética, por lo que incrementa la posibilidad de contaminación (Méndez, 2000). En la mayoría de los establecimientos se encontró que no hacían uso de redcilla o gorro para cocinar.

Además, no se encontraron recipientes para desechos con tapa y algunos lugares tenían zonas de formación de basureros al aire libre, que atraían moscas y roedores agravando la situación del ambiente circundante.

Sin embargo, un 40% de los establecimientos incluidos en el estudio, lograron obtener una categorización aceptable según el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura. Aunque deben trabajar para disminuir los factores de riesgo encontrados, ya que debido a estos los resultados de los análisis realizados no fueron satisfactorios.

Con la lectura de las placas de petrifilm, se estableció que existen niveles elevados de coliformes fecales en las bebidas expandidas en las cafeterías, principalmente en los comercios denominados como Nuria, La Góndola y El Chorrillo. Estas cafeterías presentaron contaminación elevada como se muestra en la tabla 2, esto se debe probablemente a que no existe ningún control efectivo de higiene en la preparación de alimentos. También se evidenció la presencia de contaminación cruzada de las bebidas, debido a que se lleva a cabo de forma simultánea el proceso de preparación de almuerzos y de bebidas que se despachan en las cafeterías (Oliva, 2011).

Por otro lado, en los comercios denominados como La Pepesca, Las Gemelitas, Quita, Letty y La Única se determinaron recuentos mayores a 100 UFC/ml de coliformes fecales, en por lo menos en uno de los dos análisis microbiológicos realizados en el estudio, además se determinó la presencia de *E. coli*, lo cual indica un alto grado de contaminación. Lo anterior se puede asociar a la mala conservación de las materias primas con las que se preparan las bebidas y el tiempo que transcurre desde el almacenamiento de la materia

prima, hasta el momento de preparación y venta de las mismas (Valladares, 1999). A su vez se detectó mucha manipulación de la materia prima para fabricar las bebidas por parte del personal y en la mayoría de establecimientos, se evidenció que los recipientes en los cuales son preparadas las bebidas, estuvieron expuestos a la intemperie (sin tapa), lo cual permitió la contaminación de éstos productos por agentes externos.

Los niveles elevados de coliformes fecales sugieren que los encargados de los diversos negocios deben tomar medidas inmediatas de control en cuanto a la preparación de las bebidas, para disminuir dichos recuentos y evitar riesgos para la salud de los consumidores de estos productos (Pelcza, 2007).

La limonada es la bebida con mayor índice de contaminación fecal en la mayoría de los establecimientos sometidos al estudio, como se muestra en la tabla 2. Esto concuerda con las condiciones en las que se encuentran las cafeterías, ya que no cuentan con un lugar adecuado para la preparación de las bebidas, el personal no cumple con el correcto lavado de manos (Bautista, 2007).

En cuanto a la determinación de *S. aureus*, se pudo evidenciar la presencia de colonias presuntivas de este microorganismo en las placas de petrifilm, sin embargo al realizar las pruebas confirmatorias no se logró detectar *S. aureus*, con estos resultados se reduce el riesgo de adquirir una intoxicación alimentaria causada por este microorganismo.

Por último, derivado del análisis de causas de contaminación y malas prácticas de manufactura se puede establecer que debe iniciarse la aplicación de acciones correctivas para el mejoramiento de la calidad de los establecimientos, por medio de la implementación de capacitaciones acerca de las buenas prácticas de manufactura y el adecuado lavado de manos y superficies que debe tener conocimiento el personal. Así mismo, dada la existencia de una categoría de inaceptable, se debería considerar el cierre de estos lugares, ya que no reúnen las condiciones mínimas higiénicas para su funcionamiento (Cuellar, 1994).

IX. CONCLUSIONES

1. La mayoría de las de las cafeterías de la orilla del lago del municipio de Amatitlán no ofrecen espacios aptos y suficientes para la limpieza, lavado y desinfección de alimentos. Además no todos tienen abastecimiento de agua potable, y se deduce que no tienen las condiciones mínimas necesarias para expender sus bebidas y alimentos.
2. Varias cafeterías ubicadas en el lago de Amatitlán venden bebidas con niveles elevados de contaminación fecal, y el 60% de todas las cafeterías evaluadas sobrepasan el límite permisible para el consumo humano, para coliformes fecales y para *E. coli* que es de <100UFC/ml.
3. El 40% de las cafeterías incluidas en el estudio, se encuentran dentro de la categoría aceptable en cuanto a la condición de instalaciones y de manufactura de sus productos.
4. En las bebidas analizadas no se detectó la presencia de *S. aureus*.

X. RECOMENDACIONES

1. Tener controles para las personas y para los procedimientos de elaboración de bebidas y alimentos, a fin de disminuir las posibilidades de riesgo para la salud al ingerir alimentos contaminados.
2. Realizar estudios similares al presente seminario tomando en cuenta el análisis de cualquier tipo de alimento que se expendan en las cafeterías de la orilla del lago del municipio de Amatlán para reducir el índice de problemas gastrointestinales en las personas que consumen los alimentos y bebidas de estos establecimientos.
3. Deben implementarse programas permanentes de capacitación en buenas prácticas de manipulación de alimentos, higiene personal y otros a los manipuladores de alimentos con el fin de evitar posibilidades de contaminación de los alimentos.

XI. REFERENCIAS

- Adams, M., Moss, M. (1997). *Microbiología de los Alimentos*. MR, Trad. Zaragoza: Acribia. Pp40.
- Ahmed, R. (2009). Phage-typing scheme for *Escherichia coli* O157:H7. Montevideo, Uruguay: The Book: Pp. 155
- Autoridad para el manejo sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (2016). *Proyectos AMSA*. Recuperado de: <http://amsa.gob.gt/web/>
- Bautista, I. (2007). *Campaña de concientización e información para dar a conocer las actividades medioambientales que se realizan en las aldeas ubicadas a orillas del lago de Amatitlán* (Tesis de Licenciado). Universidad del Istmo. Facultad de Arquitectura y Diseño. Escuela de Diseño: Guatemala.
- Benenson, A. (1997). *Intoxicaciones alimentarias, Manual para el control de las enfermedades transmisibles*. (16° ed.) Medellín: Panamericana 54-70
- Castillo, E. (2007). *Determinación del contenido de coliformes fecales y E. coli en porciones de almuerzos que venden en cafeterías formales e informales de 10 Centros Regionales de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica: Guatemala.
- Cuellar, J. (1994). Situación de la venta de alimentos en las calles de América Latina y el Caribe. Uruguay: FAO
- Dersch, P., Schmidt, K., Bremer, E. (2003). *Synthesis of the Escherichia coli K-12 nucleoid-associated DNA-binding protein H-NS is subjected to growth-phase control and autoregulation*. Oregón: Microbiología Clínica. Pp.78
- Di Pietro, S., Wagner, P., Novials, L. (2004). *“Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Amatitlán”*. Comité de salud de Amatitlán/

- Guatemala*. Recuperado de: <http://www.medicinaguatemala.com> Consultado: 12 diciembre de 2015.
- Dinges, M., Wagner, T., World, H. (2000). *Exotoxins of Staphylococcus aureus*. United States: Elsevier. Pp. 78.
- Fernández, L. (2015). *Enfermedades transmitidas por alimentos*. Recuperado de: <http://www.maa.gba.gov.ar/alimentacion/índice>.
- Frazier, W., Westhoff, D. (1998). *Food Microbiology*. (3° Ed.) Oregón: McGraw-Hill
- Grillo, M., Caballero, A., Castro, A, Hernández, A. (2009). *Análisis de las enfermedades transmitidas por alimentos en Cuba*. Cuba: Alimentos Nutritivos. Pp.27.
- Hernández, L. (2002). *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*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica: Guatemala.
- Hobbs, C. (1997). *The Microbiological Safety of Foods*. (2° Ed) London: McGraw-Hill
- INE, (2002). *Proyecciones de Población con Base al XI Censo de Población y VI de Habitación*, Guatemala.
- Jay, J. (2004). *Microbiología Moderna de Los Alimentos*. (2da. Ed.). España: Ed. Acribia
- Jerez Galicia, L. (2006). *Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de crema fresca base de leche no pasteurizada elaborada artesanalmente y comercializada en la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala* (Tesis de Licenciatura) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica: Guatemala.

- Jo león, A. (2005). *Detección de las enterotoxinas de Staphylococcus aureus en alimentos de las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala* (Tesis de Licenciatura) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica: Guatemala.
- Levine, M. (2000). *Immunization against bacterial diseases of the intestine*. Canada: Mosby. Pp34
- Lombard B, et al. (1997). *Staphylococcus aureus actividad termonucleasa y enterotoxinas en alimentos*. Cuba: Alimentos nutritivos. Pp 44.
- Mayorca, N. (2008). *La ciencia de los alimentos*. México: Edutex S.A,
- McGrath S., Dooley J., Haylock R. (2000). *Quantification of Clostridium botulinum Toxin Gene Expression by Competitive Reverse Transcription-PCR*. Canada: Ergon. Pp. 132
- Méndez, L. (2000). *Microbiología de los alimentos de venta callejera en 1993*. Guatemala: Texdigua
- Micelli E, et al. (2009). *Clinical and bacteriological study of children suffering from haemolyticuraemic syndrome in Tucumán*,(3a. ed.). Argentina: Panamericana.
- Ministerio de Salud Pública. (2014). *Reglamento de salud*. Recuperado de: http://www.igssgt.org/ley_acceso_info/pdf/pdf2014/inciso6/acdo_229_2014.pdf
- Ministerio de Salud Pública. (2014). *Situación de los principales eventos de Vigilancia Epidemiológica*. Guatemala: Doc Tec. Diciembre. Recuperado de: <http://www.mspas.gob.gt>
- Municipalidad de Amatitlán (2016). *Asunto servicios públicos* Recuperado de:<http://www.amatitlan.gob.gt/bienvenidos/index.php/dependencias/direccion-de-servicios-publicos>
- Murales, B. (2002). *Determinación del contenido de Coliformes y E. coli en tres porciones de los almuerzos que se venden en 10 cafeterías de la ciudad*

- Universitaria*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica: Guatemala.
- Murga, A., Hidalgo, M., Gonzales, P., Mendoza, L., Palencia, P. (2014). *Revista Económica*. Recuperado de: <http://www.iies.usacgt.com/revistas/rev199.pdf>
- Oliva, M. (2011). *Elaboración de una guía de buenas prácticas de manufactura para el restaurante central del Irtra Petápa*. (Tesis de Posgrado) Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación (2003). *El sector informal alimentario. IV informe*. Italia: FAO
- Pelczar, Chan. (2007). *Microbiología*. 7ta ed. México: McGraw-Hill
- Pérez, B., González, J. (1992). *Microbiología de los alimentos*. España: Acribia
- Portuondo, I. (2010). *Bacillus cereus* y su papel en las intoxicaciones alimentarias. Revisado en mayo de 2016 por World Health Organization. Recuperado de: <http://bvs.sld.cu/revista/spu/vol138.htm>
- Romero, J. (2011). *Documentación de un sistema de gestión de inocuidad alimentaria* (2da. Ed) Bogotá: Asecalidad
- Samayoa, A. (2004). *Amatitlán: Tradiciones*. (3era. Ed.) Guatemala: Texdigua. Pp 70.
- Sheagren, J., Schaberg, D. (1998). *Staphylococci*. In *Infectious Diseases*. Gorbach, Barlett and Blacklow. Ed WB Saunders. Canada: McGraw-Hill
- Sierra, S., Montes, H., Lemus, A., Palomo., L. (2010). *Recomendaciones para la protección de los alimentos en las Américas*. USA: National academic press
- Singh, V, et al. (2001). *Molecular analysis of Vibrio cholerae O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates*. United States: AEM

Valladares, M. (1999). *Campaña Gráfica para Salvar el Lago de Amatitlán*. Guatemala: Diseño Gráfico IFES

Waldvogel, A. (2000). *Staphylococcus aureus*. Mandel, Douglas, Bennet *Principles and Practice of Infectious diseases*. United States: Ed WB Saunders.

XII. ANEXOS

Anexo No. 1 “Higiene personal del manipulador de alimentos”

Hábitos y conductas que debe aplicar el manipulador de alimentos
Lavarse bien las manos con agua caliente y jabón antes de tocar los alimentos, después de haber ido al baño, luego de manipular objetos antihigiénicos (dinero, basura, cajas etc.), tocarse el pelo, la cara, la nariz u otras partes del cuerpo.
Es recomendable el baño diario.
Usar el cabello corto o totalmente recogido, mantener las uñas limpias y cortas, y no utilizar anillos, pulseras, cadenas, etc.
Evitar toser, estornudar o hablar sobre los alimentos y superficies de trabajo. De ser inevitable, cubrirse la boca y nariz con papel descartable o con las manos y en cualquier caso, proceder a un lavado completo de manos antes de volver a tocar los alimentos, equipos o utensilios.
No fumar, comer, mascar chicle, beber o escupir en las áreas donde se elaboran o intercambian los alimentos.
Evitar manipular alimentos cuando padezca afecciones de piel, heridas, resfríos, diarrea, fiebre o intoxicaciones.
Usar ropa perfectamente limpia durante todo el proceso de manipulación de los alimentos.

(Adams, 1997, p.34).

Anexo No. 2**Anexo 2 (a) “Solicitud de autorización para realizar el seminario de investigación”**

Guatemala, 26 de Septiembre de 2016

Señor:

David Avendaño

Administrador Playa publica Amatitlán

Es grato dirigirme a ud., para saludarlo cordialmente, y comentarle que viendo los problemas de salud que cada año cobran la vida de miles de personas a nivel mundial por contaminación alimentaria, y sabiendo que la playa publica de Amatitlán es un pilar importante para el turismo y economía de sus pobladores, veo la oportunidad de ayudar realizando una investigación sobre inocuidad en refrescos naturales, esperando que esta información, sea utilizada por los líderes comunitarios, para que sean los actores en la creación y propuesta de estrategias del control de calidad de los alimentos que se venden en los expendios que serán considerados en este estudio.

Esperando que nos permita realizar la investigación, me suscribo a usted.

Atentamente

**Jacqueline Castañeda**

Seminarista

Calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales del municipio de Amatitlán



Anexo 2 (b) “Oficio de autorización para la realización del seminario de investigación”



¡Unidos por el Amatlán que todos queremos!

Guatemala, 4 de octubre de 2016

A quien interese:

Como respuesta a la solicitud realizada anteriormente, autorizo a las señoritas: **Jacqueline Castañeda y Alba Chicas** de realizar su investigación de control de calidad de jugos naturales a las cafeterías siguientes: Elenita, La Góndola, La Pepesca, Las Gemelitas, Quita, Letty, Nuria, La única, Lilian, Nilda, Vista del lago, El chorrillo, Gloria, La Cabaña.

Sin más que agregar me despido.

David Avendaño

Administrador del Lago de Amatlán



Anexo 3 “Evaluación de cafeterías ubicadas en la playa pública de Amatitlán”



“Evaluación de cafeterías ubicadas en la playa pública de Amatitlán”

Cafetería:

Fecha toma no 1:

Nota:

Fecha toma no 1:

I. REQUISITOS DEL MANIPULADOR/VENDEDOR	PUNTEO	1	2
Buena presentación	6		
Manos limpias	6		
Ausencia de heridas	5		
Personal no enfermo	5		
Total	22		
II. REQUISITOS DEL MOBILIARIO			
Superficies limpias	7		
Pisos limpios	6		
Iluminación adecuada	6		
Basureros adecuados	6		
Servicios sanitarios adecuados	6		
Total	31		
III. PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS			
Refrigeración de refrescos ya elaborados	8		
Limpieza en superficie de preparación de alimentos	7		
Desinfección de frutas y/o productos para la elaboración de refrescos	8		
Ausencia de moscas, insectos, roedores o animales domésticos	7		
Utensilios limpios	8		
Utilización de agua para uso humano	9		
Total	47		

Interpretación

Menor a 60 pts **Inaceptable:** No cumple con ninguno de los criterios observados, implementación de un manual de BPM

61-75 pts **Deficiente:** Se necesita de un manual de BPM

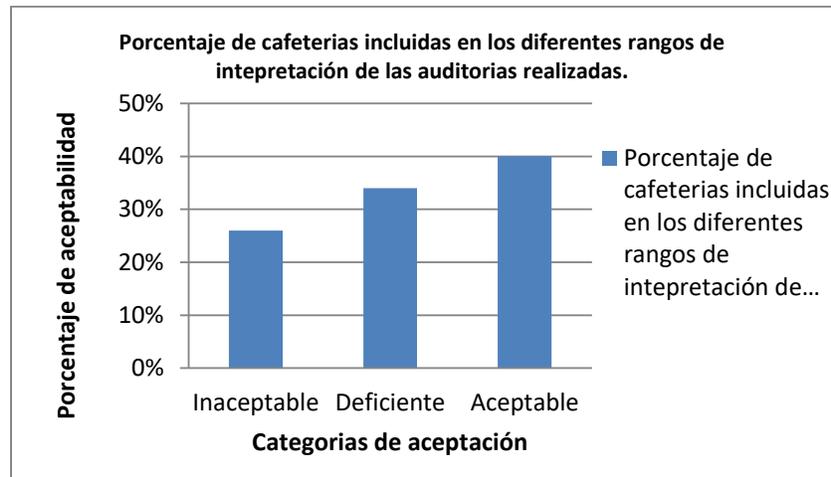
76-90 pts **Aceptable:** Necesita mejorar en el procesamiento de refrescos.

91- 100 pts **Bueno:** cumple con todos los criterios observados

*** Observación realizada para fines del estudio**

Anexo 4

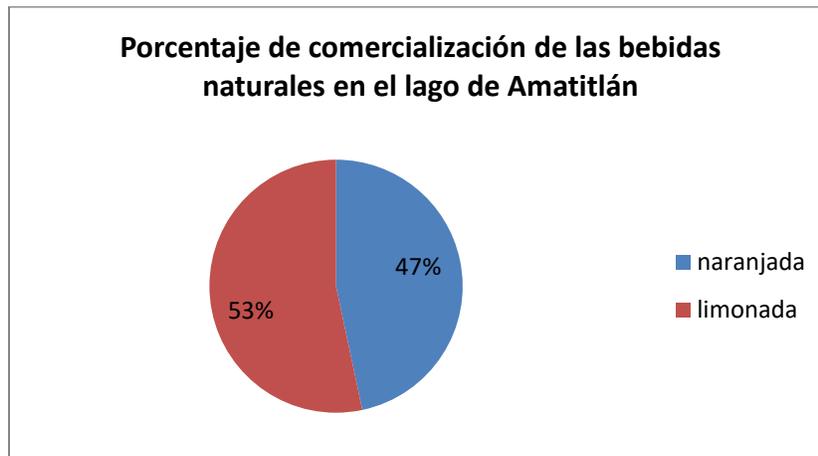
Gráfica No. 1 Categorización de los comercios formales e informales de la orilla del lago en el municipio de Amatitlán respecto a la evaluación de las buenas prácticas de manufactura.



Fuente: Datos obtenidos de la evaluación realizada en cada de las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en el estudio, en el primer semestre del año 2016.

Anexo 5

Gráfica No.1 Bebidas naturales más comercializadas en las cafeterías informales y formales de la orilla del lago en el municipio de Amatitlán.



Fuente: Datos obtenidos de la evaluación realizada en cada de las cafeterías formales e informales de la orilla del lago de Amatitlán incluidas en el estudio, en el primer semestre del año 2016.

Alba Marina Chicas Escobar

AUTORA

Jacqueline Andrea Castañeda Barrientos

AUTORA

Dra. Karin Herrera

ASESORA

Lic. Martin Gil

REVISOR

MSc. Alba Marian Valdés de García

DIRECTORA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

DECANO