

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a woman in a red and white dress, possibly a saint or a historical figure, standing on a white horse. Above her is a golden crown with a cross on top. To the left and right are golden lions rampant. The background is a light blue sky with a golden castle on the left and a golden mountain on the right. The entire scene is set against a green landscape with two mountains. The seal is surrounded by a grey border with the Latin text "CETERA OMBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" in white capital letters.

**DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI*, *SALMONELLA* Y *SHIGELLA* EN
TABLAS DE PICAR DE MADERA Y POLÍMERO DE PUESTOS AMBULANTES
DE VENTA DE HOT DOGS EN LA ZONA 1 DE LA CIUDAD CAPITAL DE
GUATEMALA.**

**CAROLINA CIFUENTES DEL VALLE
CINDY GABRIELA TRINIDAD**

QUIMICA BIOLOGICA

GUATEMALA, OCTUBRE, 2021

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

**DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI*, *SALMONELLA* Y *SHIGELLA* EN
TABLAS DE PICAR DE MADERA Y POLÍMERO DE PUESTOS AMBULANTES
DE VENTA DE HOT DOGS EN LA ZONA 1 DE LA CIUDAD CAPITAL DE
GUATEMALA.**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

**PRESENTADO POR
CAROLINA CIFUENTES DEL VALLE
CINDY GABRIELA TRINIDAD**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE
QUÍMICAS BIÓLOGAS**

GUATEMALA, OCTUBRE, 2021

JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano

Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva

Secretaria

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Vocal Primero

Dr. Roberto Enrique Flores Arzú

Vocal Segundo

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera

Vocal Tercero

Br. Carmen Amalia Rodríguez Ortiz

Vocal Cuarto

Br. Paola Margarita Gaitán Valladares

Vocal Quinto

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guiarnos en todo momento, darnos salud y sabiduría para culminar nuestra carrera de química biológica.

A las siguientes personas que han estado en nuestras vidas, que nos han brindado su apoyo incondicional a través de toda la carrera.

A mi madre, Carolina Del Valle Durán, por ser la mejor, por estar siempre presente, brindarme su apoyo y amor incondicional, y porque este sueño alcanzado se lo debo a ella. A mis amigos por darme sus consejos, apoyo y ánimo en este recorrido.

A mis amados padres, Marco Vinicio Trinidad y Susana de Trinidad por su apoyo y amor, por enseñarme que agarrada de la mano de Dios y con dedicación los sueños se pueden cumplir. A mí adorada familia, hermanos que han sido un ejemplo en mi vida, sobrinos, cuñado y a mi querido esposo por estar a mi lado apoyándome día con día. A mis amigos y todas las personas que estuvieron a mi lado animándome durante este recorrido.

A nuestro asesor MSc. Martin Gil y revisora Dra. Karin Herrera por la dedicación, paciencia, profesionalismo y ética en la investigación realizada. Al Dr. Jorge Luis de León, por la asesoría, tiempo y dedicación en la realización del análisis estadístico de la investigación.

A todos los trabajadores de puestos ambulantes de ventas de hot dogs de la zona 1, de la Ciudad de Guatemala que accedieron a colaborar en la investigación.

A MA. Ana Rodas de García y al Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos –LAFYM-, por haber permitido el uso de las instalaciones para la realización de la parte experimental de esta investigación.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	2
III.	ANTECEDENTES	3
	A. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)	3
	B. Microorganismos relacionados en alimentos	4
	1. <i>Escherichia coli</i>	4
	2. <i>Salmonella</i>	4
	3. <i>Shigella</i>	5
	4. Coliformes totales	5
	C. Enterobacterias	6
	1. Generalidades	7
	1. <i>Escherichia coli</i>	7
	2. <i>Salmonella</i>	9
	3. <i>Shigella</i>	11
	D. Medios de cultivo utilizados para la identificación de enterobacterias presentes en superficies.	12
	1. Medio TSI (triple azúcar hierro)	12
	2. Medio LIA (agar lisina hierro)	12
	3. Agar MacConkey	13
	4. Agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato)	13
	5. Agar EMB (Eosin Methylene Blue Agar)	14
	6. Agar Bilis y Rojo violeta (VRB)	14
	7. Caldo GN	15
	8. Agua Peptonada	15
	E. Tablas de picar y contaminación cruzada	16
IV.	JUSTIFICACIÓN	18
V.	OBJETIVOS	20
VI.	HIPÓTESIS	21
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
	A. Universo y muestra	21
	B. Recursos	21

C.	Metodología	23
D.	Diseño de la Investigación	25
VIII.	RESULTADOS	27
IX.	DISCUSIÓN	36
X.	CONCLUSIONES	41
XI.	RECOMENDACIONES	42
XII.	REFERENCIAS	43
XIII.	ANEXOS	47

I. RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo demostrar la presencia de 3 enterobacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*), en 50 tablas de picar utilizadas en la preparación de hot dogs en ventas ambulantes (carretillas) en la zona 1 de la Ciudad de Guatemala. Además se realizó la cuantificación de coliformes totales, presentes en la superficie de las tablas analizadas.

Se evaluó la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*, por medio de la técnica de hisopo, tomando la muestra de la superficie (tablas de picar) en tres direcciones en un área de 50 cm² de cada tabla. Se determinó por medio de técnicas tradicionales microbiológicas de enriquecimiento, utilizando agua peptonada y caldo GN; técnicas de identificación basadas en la morfología de las colonias en Agar MacConkey, Agar XLD; propiedades bioquímicas y metabólicas de dichas bacterias con batería (TSI y LIA); y confirmatorias en el caso de *Escherichia coli* con agar EMB. Se evaluó coliformes totales utilizando la técnica en placa, utilizando como medio Agar Bilis Rojo violeta (VRB).

Se recolectaron muestras de las tablas que son utilizadas para la preparación de hot dogs, de las cuales la mayor parte eran de madera (72%), ya que se pueden obtener en cualquier mercado de la localidad debido a su bajo costo, fácil adquisición y mayor durabilidad, a diferencia de las tablas de polímero que se encuentran con menor frecuencia (28%), debido al alto costo y rápido deterioro.

Se determinó un 28% de presencia de *E. coli* en ambos tipos de tablas de picar, en su mayoría (86%) en las tablas de madera. Las tablas de madera también tuvieron una mayor presencia de coliformes totales (81%) en comparación a las tablas de polímero. La presencia de coliformes totales en tablas de picar de ambos materiales fue de mayor porcentaje (74%), con respecto a los otros 3 microorganismos de interés. El aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* no fue el esperado, debido a que muchas de las ventas de hot dogs no vendían productos en los que se encuentran con mayor frecuencia estos microorganismos.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El siguiente estudio surgió con la finalidad de obtener y generar datos sobre un problema de gran importancia y poco estudiado en Guatemala, dicho estudio no formó parte de otro proyecto, ya que fue único en su género, siendo éste el proyecto macro.

Éste estudio tuvo como objetivo el demostrar la presencia de enterobacterias en las tablas de picar utilizadas en la preparación de hot dogs en ventas ambulantes en la zona 1 de la Ciudad Capital de Guatemala las cuales son responsables de contaminación cruzada en la preparación de alimentos. La investigación se llevó a cabo por metodología de identificación tradicional para la identificación de tres enterobacterias (*E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*).

El ámbito geográfico de la investigación estuvo determinado en la zona 1 de la ciudad de Guatemala, la cual abarca desde la primera calle a la 25 calle y de la primera avenida a la 23 avenida (anexo 1).

La obtención de datos sobre la presencia de los tres géneros de enterobacterias (*Shigella*, *Salmonella* y *Escherichia coli*) y cuantificación de coliformes presentes en las tablas de picar de madera y polímero utilizadas en puestos ambulantes de ventas de hot dogs en la zona 1 de la ciudad capital de Guatemala, puede ser de utilidad para posteriores investigaciones, ya que se obtuvieron datos reales sobre la presencia de estas tres enterobacterias en las tablas de picar utilizadas por los vendedores de hot dogs. Así mismo se realizó la identificación de las tres enterobacterias presentes en tablas de picar de madera y polímero.

III. ANTECEDENTES

A. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

Actualmente las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se encuentran entre los principales problemas de salud pública a nivel mundial (Hassan, Islam, Abid, Scott, & Alam, 2016). Los alimentos insalubres son la causa más común de las enfermedades diarreicas, cada año enferman 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años (OMS, 2018) Estas enfermedades se caracterizan por una variedad de síntomas gastrointestinales, tales como náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y fiebre (Varela, Lavalle, & Estrada, 2016). Aproximadamente 2.2 millones de muertes son causadas por enfermedades diarreicas, de las cuales la mayoría de casos son atribuidas a comida y agua contaminada (Hassan, Islam, Abid, Scott, & Alam, 2016). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) las ETA constituyen uno de los problemas sanitarios más comunes que aquejan la salud de las personas en el mundo y afectan con mayor severidad a niños, mujeres embarazadas, ancianos y personas con otros padecimientos.

En Estados Unidos, El Centro para el Control y Prevención de enfermedades (CDC) reportó en 2013 un total de 19,056 infecciones alimentarias, 4,200 hospitalizaciones y 80 muertes. Por su parte la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y el Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades (ECDC) reportaron para 2012 un total de 55,453 casos, 5,118 hospitalizaciones y 41 muertes (Varela, Lavalle, & Estrada, 2016). Las enfermedades más comunes adquiridas por alimentos contaminados y utensilios son causadas por bacterias enteropatógenas, entre los más frecuentes en Estados Unidos en 2013 se encuentran principalmente *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*, donde éstas son capaces de afectar la salud de la población (Varela, Lavalle, & Estrada, 2016).

B. Microorganismos relacionados en alimentos

1. *Escherichia coli*

Presente en alimentos como la carne bovina cruda o molida (hamburguesas), leche cruda, lechuga, jugo de manzana, y todo alimento que se haya contaminado con materia fecal.

“El diagnóstico microbiológico de los procesos enterocolíticos causados por los diferentes grupos de *Escherichia coli* se ve complicado por el hecho de que esta especie es un componente fundamental de la microbiota intestinal del ser humano. El agar MacConkey se incorpora normalmente en los cultivos y se puede utilizar para el aislamiento de *E. coli*. La identificación de los diversos serotipos de *E. coli* queda fuera de la práctica rutinaria de la mayoría de laboratorio, aunque en aquellos con elevado número de pacientes con diarrea del viajero es aconsejable su implementación” (Cercenado & Cantón, 2008).

2. *Salmonella*

Se encuentra en alimentos como carnes crudas, pollo, huevos leche, derivados lácteos, pescado, cacao y chocolate.

El género *Salmonella* son bacilos gran negativos móviles (flagelos péritricos). “El diagnóstico etiológico se puede efectuar con seguridad por medio de cultivos. Se utilizan medios selectivos diferenciales y medios de enriquecimiento. El aislamiento de *Salmonella* se puede realizar en medios como agar MacConkey, agar *Salmonella-Shigella* o agar Hektoen. Todos los medios se incuban en aerobiosis a 37 °C. Los medios deben examinarse a las 24 y 48 horas” (Cercenado & Cantón, 2008); (Guerrero, Sánchez, Saborido, & Lozano, 2014).

3. *Shigella*

Se encuentra en alimentos que tienen pH bajo como frutas y verduras, sobrevive durante mucho tiempo en alimentos con pH neutro, a temperaturas de heladera, en alimentos cerrados al vacío o bajo atmosferas modificadas y en el agua. Es sensible a la temperatura de cocción de los alimentos, pero bajo ciertas condiciones puede sobrevivir en los alimentos por largos periodos si la temperatura se mantiene a 25 °C, puede sobrevivir por ejemplo en la harina y la leche pasteurizada hasta 170 días en los huevos las almejas y los camarones por 150 días, en las ostras por 30 días y en la clara de huevo por 20 días (Administración Nacional de Medicamentos, 2011).

Este género, que está constituido por bacilos gram negativo inmóviles, son altamente transmisibles con una dosis infecciosa muy baja.

“Las colonias típicas de *Shigella* en agar MacConkey son transparentes ya que no fermentan la lactosa. La muestra se puede inocular en medios de cultivos moderadamente selectivos como el Agar Hektoen o el Agar XLD (xilosa-lisina-deoxicolato). Esta bacteria forma colonias verdes transparentes en agar Hektoen (ya que no hay fermentación de lactosa ni producción de ácido sulfhídrico) y colonias transparentes en agar XLD (no fermentación de xilosa ni modificación de la lisina) en tubo de agar triple azúcar hierro (TSI) produce una superficie alcalina (no fermentación de lactosa) y fondo ácido (fermentación de glucosa) y no hay producción de gas ni ácido sulfhídrico. Ante la sospecha de una *Shigella* se recomienda en primer lugar una identificación con TSI y LIA (agar lisina-hierro)” (Cercenado & Cantón, 2008).

4. Coliformes totales

El grupo de coliformes totales comprende todos los bacilos gram negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h a 35 °C +/- 1 °C. En el 1914 el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos adoptó la enumeración de los coliformes como el estándar más conveniente de sanitización (Camacho, y otros, 2009).

La demostración y el recuento de organismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivo líquidos y sólidos con características selectivas y diferenciales (Girón, 2007).

La detección de los coliformes es usada como indicador general de las condiciones sanitarias del ambiente donde se procesan los alimentos, y *E. coli* es usado como indicador de contaminación fecal reciente o de falta de sanitización en el procesamiento de los alimentos (Girón, 2007). La mayoría de los coliformes pueden encontrarse en la microbiota normal del tracto digestivo del hombre o animales, por lo cual son expulsados especialmente en las heces, por ejemplo *Escherichia coli*. Por esta razón, su presencia constante en la materia fecal, los coliformes son el grupo más ampliamente utilizado en la microbiología de los alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas (Camacho, y otros, 2009).

C. Enterobacterias

“La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gram negativas. Son microorganismos encontrados en la naturaleza y aislados del material biológico que colonizan el tracto gastrointestinal de los seres humanos como parte de la microbiota normal del sistema orgánico, convirtiéndolo en un reservorio potencial” (Silva, Randerson, Lemos, Kutz, & Cerutti, 2017).

Las enterobacterias son aerobios no formadores de esporas que pueden crecer en anaerobiosis (anaerobios facultativos), reducen nitratos a nitritos con algunas excepciones, fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o sin ella, son oxidasa negativo con excepciones de *Plesiomonas*, producen catalasa, su crecimiento es inhibido por presencia de NaCl, no forman esporas y la mayoría de estas bacterias son móviles debido a la presencia de flagelos péritricos (García & Rodríguez, 2010).

1. Generalidades

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son microorganismos con forma de bastón, por lo general de 1 a 3 μm de largo y 0.5 μm de diámetro. En bacterias de ésta familia, la envoltura celular se caracteriza por una estructura multilaminar, la membrana interna, consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La capa externa consiste en un peptidoglicano delgado junto con un espacio periplásmico que constituye una elevada concentración de proteínas y la membrana compleja externa consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS). La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipolisacáridos, lipoproteínas, proteínas multiméricas y otras proteínas de la membrana externa. El lípido A, también conocido como endotoxina, es la parte biológicamente activa de la molécula que el huésped reconoce. El oligosacárido de repetición unido al LPS se conoce como antígeno O, este antígeno es la base para la clasificación de los serogrupos. Junto con otros factores, la presencia del antígeno O media la resistencia bacteriana al efecto bactericida del suero normal, siendo capaces por tanto de sobrevivir más tiempo en sangre, y causando infecciones hematógenas, diseminadas y más graves (García & Rodríguez, 2010).

Entre la familia *Enterobacteriaceae* solamente algunas de las bacterias que forman dicha familia son consideradas patógenas como es el caso de *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Yersinia* sp. y algunas cepas de *Escherichia coli*.

1. *Escherichia coli*

a. Características

“Es el microorganismo de vida libre que mejor se ha estudiado, estas bacterias pueden ser móviles en su mayoría o inmóviles, la mayor parte de ellas fermentan la lactosa y son capaces de producir indol a partir de triptófano” (García & Rodríguez, 2010). Este microorganismo se encuentra frecuentemente en el intestino del ser humano.

La mayoría de cepas de *E. coli* son inofensivas, sin embargo algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, puede causar graves enfermedades a través de los alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda y hortalizas (OMS, 2018).

E. coli es catalasa positivo, oxidasa negativo, fermentadora, gram negativo. Generalmente se encuentra genéticamente relacionada con *Shigella*, a pesar de que característicamente esta fermenta el azúcar lactosa y es por otra parte bioquímicamente más activa que *Shigella*, *Escherichia coli* puede ser diferenciada de otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* en el número de fermentación de azúcar y otros test bioquímicos (Bakar, 2016).

b. Patogénesis

Existen 4 categorías de *E. coli* diarreogénica basada en las distintas propiedades de virulencia.

- i. *Escherichia coli* Enterotoxigénica (ETEC): los síntomas causados por ETEC usualmente ocurren entre las 12 y 36 horas posteriores a la ingestión del organismo. Síntomas pueden oscilar entre una diarrea no febril hasta una severa diarrea acuosa sin sangre o moco, dolor de estomago y vómitos.
- ii. *Escherichia coli* Enteroinvasiva (EIEC): esta infección causa los clásicos síntomas de una disentería bacilar normalmente asociada a *Shigella*. puede causar fiebre, dolor abdominal severo, diarrea acuosa que procede con sangre, moco y leucocitos fecales.
- iii. *Escherichia coli* Enteropatogénica (EPEC): los síntomas de EPEC, son dolor, vomito y diarrea acuosa con moco pero raramente sangre, los síntomas se presentan a las 12-36 horas después de la ingestión de los microorganismos, en niños esta enfermedad es más severa y puede persistir por más de dos semanas en ciertos casos.

- iv. *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC): a veces conocida como *E. coli* productora de verotoxina (o toxina shiga), que consisten en citotoxinas que inducen la muerte celular del huésped, las cepas productoras de toxina Shiga pueden causar enfermedades de grado variable como diarrea acuosa, diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica, síndrome hemolítico urémico (SHU) y muerte (*E. coli* 0157:H7) es el serotipo comúnmente más reportado, puede causar desde diarrea sin sangre hasta colitis hemorrágica (Bakar, 2016).

2. *Salmonella*

a. Características

“El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y está constituido por las bacterias gram negativo intracelulares facultativas, con flagelos laterales y no desarrollan capsula ni esporas (Escobedo, Meneses, & Castro, 2016). No fermentan la lactosa, aunque la mayoría produce sulfuro de hidrogeno o gas por la fermentación de los hidratos de carbono. Inicialmente se agrupan en función de sus antígenos somáticos (O) y flagelares (H). Actualmente se considera que esta clasificación está por debajo del nivel de especie” (García & Rodríguez, 2010).

Hasta la fecha se han identificado más de 2,500 serotipos diferentes en dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*. *Salmonella* es una bacteria ubicua y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua (OMS, 2018). *Salmonella* es una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial.

Todos los serotipos pueden causar la enfermedad en el ser humano, unos pocos son específicos de algunos huéspedes y pueden alojarse solo en una o unas especies animales, sin embargo la mayoría de los serotipos se encuentra en una gran diversidad de huéspedes.

Por lo general, esos serotipos causan gastroenteritis, que suelen ser un trastorno sin complicaciones y no requieren tratamiento, aunque puede ser grave en niños, ancianos y pacientes inmunodeprimidos. A ese grupo pertenecen *S. enterica* supebespecie *enteriditis* y *S. enterica* subespecie *typhimurium* (OMS, 2018).

b. Patogénesis

La salmonelosis típicamente produce 4 manifestaciones clínicas: gastroenteritis (que va desde diarrea leve a diarrea fulminante, náuseas y vómitos), bacteriemia y septicemia (accesos de fiebre alta con hemocultivos positivos), fiebre tifoidea o paratifoidea (fiebre continua con o sin diarrea).

El género *Salmonella* está ampliamente distribuido en el medio ambiente y muy presentes en animales domésticos y salvajes. Es prevalente en animales comestibles como aves de corral, los porcinos y vacunos y también en mascotas como perros, gatos, pájaros y reptiles como las tortugas (OMS, 2018).

“Las salmonellas pueden atravesar toda la cadena alimentaria, desde los piensos para animales hasta los hogares o establecimientos e instituciones de servicios de comida, por lo general las personas contraen la salmonelosis a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal (principalmente huevos, carne, aves de corral y leche), aunque también hay otros alimentos que se han vinculado con la transmisión como hortalizas contaminadas con heces fecales” (OMS, 2018). “*Salmonella enterica* es uno de los principales patógenos transmitidos por los alimentos en todo el mundo” (Berreto, Castillo, & Retamal, 2016).

Personas infectadas con *Salmonella* deben lavarse las manos de forma adecuada después de ir al sanitario, las manos contaminadas pueden diseminar las bacterias en superficies inertes u objetos que serán tocados por otras personas. Las manos contaminadas

pueden también transmitir las bacterias a los alimentos que pueden ser consumidos por niños y adultos (Escobedo, Meneses, & Castro, 2016).

3. *Shigella*

a. Características

El género *Shigella* está constituido por bacilos cortos gram negativos sin agrupación, son inmóviles, no producen esporas, no presentan cápsula, anaerobios facultativos, inmóviles, oxidasa negativo, fermentadores de la glucosa y su ADN tiene una similitud de hasta 70-75% en relación con el de *E. coli*, lo cual indica una gran similitud con ésta.

“*Shigella* tiene como único reservorio al hombre y su dosis infectiva mínima es pequeña, lo que permite su transmisión no solo por medio de alimentos, sino también a través del agua y por contacto directo de persona a persona. Los microorganismos que tienen como único reservorio al ser humano pueden ser erradicados con medidas de higiene personal y ambiental” (Prats & Mirelis, 2018).

El género de *Shigella* está compuesto por cuatro especies: *Shigella sonnei*, *S. flexneri*, *S. boydi* y *S. disenteriae*. Todas las especies poseen capacidad patógena, causando enteritis invasora caracterizada por producir dolor abdominal, cólico, diarrea y fiebre (Prats & Mirelis, 2018).

b. Patogénesis

Como algunas variedades de *E. coli*, *Shigella* también lleva a cabo su patogenicidad por la invasión de la mucosa intestinal. Una vez que el individuo ingiere el microorganismo, éste debe fijarse al intestino delgado y multiplicarse, en esta etapa no se observa ningún fenómeno clínico y los síntomas solamente aparecen después de que la

bacteria se traslada a través del epitelio, se multiplica formando cúmulos bacilares en el interior de la pared del mismo epitelio.

La Shigelosis, también llamada disentería bacilar, es una infección bacteriana aguda que afecta al intestino grueso y la porción distal del intestino, por lo descrito anteriormente, se caracteriza por diarrea acompañada de fiebre, náusea y algunas veces toxemia, vómito cólicos y tenesmo (León, 2002).

D. Medios de cultivo utilizados para la identificación de enterobacterias presentes en superficies.

1. Medio TSI (triple azúcar hierro)

“Es un agar diferencial basado en la fermentación de azúcares y la producción de H₂S y gas. Contiene glucosa, sacarosa y lactosa, estas últimas en una concentración 10 veces mayor a la glucosa. El indicador de pH es el rojo de fenol, el cual vira a amarillo por formación de ácido a partir del carbohidrato, el sulfato ferroso es un detector de la producción de ácido sulfhídrico” (Pachón, 2009).

2. Medio LIA (agar lisina hierro)

“El fundamento de esta prueba es que los procesos de decarboxilación y desaminación en el medio de cultivo tienen lugar con la previa fermentación del carbohidrato que contiene el medio (glucosa) y la acidez producida por esta reacción, si el microorganismos posee las descarboxilasa necesarias, se produce la decarboxilación liberándose como producto final las aminas que alcalinizan el medio de cultivo, por otro lado si el microorganismo posee las deaminasa se efectúa la deaminación y el producto final son ácidos orgánicos que acidifican el medio de cultivo” (Pachón, 2009).

3. Agar MacConkey

Es un medio selectivo diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos gram negativos fermentadores y no fermentadores de lactosa. Se utiliza con frecuencia para el aislamiento de coliformes. Las peptonas contenidas en el medio, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el crecimiento de las bacterias gram positivas. Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia, esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares.

Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras y los fermentadores colonias rosadas (BD, 2014).

4. Agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato)

“Es un medio selectivo diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de patógenos entéricos gram negativos especialmente del género *Shigella*. Este medio contiene extracto de levadura como fuente de nutrientes y vitaminas. Utiliza el desoxicolato de sodio como agente selectivo y por consiguiente inhibe los microorganismos gram positivos. La xilosa se incorpora al medio dado que la fermentan prácticamente todos los microorganismos entéricos, excepto *Shigella* y esta propiedad hace posible la diferenciación de dicha especie. La lisina se incluye para permitir la diferenciación del género *Salmonella* de los microorganismos no patógenos, dado que sin lisina *Salmonella* fermenta rápidamente la xilosa y no se distinguiría de las especies no patógenas. Cuando *Salmonella* agota el suministro de xilosa, la lisina es atacada por la enzima lisina descarboxilasa, lo que genera un cambio a un pH alcalino que imita la reacción de *Shigella*” (B.D, 2013).

5. Agar EMB (Eosin Methylene Blue Agar)

Es un medio ligeramente selectivo y diferencial para el aislamiento y diferenciación de bacilos gram negativo entéricos fermentadores y no fermentadores de lactosa, tanto en muestras clínicas como no clínicas (Becton Dickinson, 2013).

El agar EMB, contiene Eosina y Azul de Metileno. El azul de metileno realiza una inhibición de las bacterias gram positivo. Los colorantes también actúan como indicadores diferenciales en respuesta a la fermentación de la lactosa o la sacarosa por parte de los microorganismos. Los coliformes producen colonias de color negro azulado, mientras que las colonias de *Salmonella* y *Shigella* son incoloras o de color ámbar transparente. Las colonias de *E. coli* pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa (Melguizo, 2009).

6. Agar Bilis y Rojo violeta (VRB)

Este medio es utilizado para llevar a cabo la detección, enumeración e identificación de microorganismos coliformes. En este medio las colonias de coliformes presentan una morfología típica que permite su identificación (LAB, 2021).

“Los coliformes resisten la presencia de bilis en el medio de cultivo, cuando se desarrollan en este medio, el ácido producido por la fermentación de lactosa, ocasiona el viraje del indicador rojo neutro y la precipitación de las sales biliares por lo que las colonias son color rojo oscuro y generalmente están rodeadas de un halo de sales biliares precipitadas, de color claro o rosa, y la posibilidad de contar las colonias se fundamenta en su dispersión y separación” (LAB, 2021).

En este medio, la peptona provee la fuente de carbono y nitrógeno necesaria para el desarrollo de los microorganismos. El extracto de levadura provee vitaminas del complejo B para estimular el crecimiento bacteriano. Las sales biliares y cristal violeta actúan como inhibidores de microorganismos gram positivo. La lactosa es la fuente de carbohidratos y el

rojo neutro actúa como indicador para evidenciar el cambio de pH como consecuencia de la fermentación de la lactosa. El agar actúa como agente solidificante (Scharlab, 2021).

El procedimiento recomendado es inocular directamente en placas de petri, con agar fundido a 45- 47 °C. Las placas pueden ser leídas después de 24 horas de incubación a 37 °C. El tamaño de las colonias pueden variar entre 2 a 5 mm (Scharlab, 2021).

7. Caldo GN

Desarrollado por Hajna para el enriquecimiento selectivo de microorganismos entéricos gram-negativos. Está destinado para su uso en la detección de *Salmonella* y *Shigella* de muestras clínicas y no clínicas. En el caldo de enriquecimiento GN, el rendimiento en *Shigella* es mejor que en cultivo directo sobre placas selectivas o electivas. El rendimiento en *Salmonella* y *Shigella* resulta sensiblemente mejorado, especialmente en combinación con el Agar XLD (Merck, 2009).

La triptosa proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El manitol y dextrosa son carbohidratos fermentables que proporcionan carbono y energía. El manitol se proporciona en una concentración más alta que la dextrosa para mejorar el crecimiento de las especies que fermentan manitol, como *Salmonella* y *Shigella* (Condalab, 2019).

8. Agua Peptonada

El Agua Peptonada Bufferada se usa como diluyente o para el enriquecimiento no selectivo de microorganismos tales como especies de *Salmonella* o *E. coli* de alimentos y muestras ambientales antes del enriquecimiento y aislamiento selectivo. Los microorganismos que pueden estar presentes en un producto alimenticio pueden sufrir daños letales por técnicas de procesamiento de alimentos y no pueden recuperarse mediante técnicas de selección directa. El Agua Peptonada Bufferada promueve la recuperación de los microorganismos que pueden dañarse.

La composición del agua peptonada es simple, contiene peptona de carne, agua y cloruro de sodio. Este medio tiene un alto valor nutritivo que funciona para enriquecer las muestras, permitiendo así la reparación de las bacterias maltratadas, especialmente para las bacterias que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Por otra parte, permite homogenizar y reparar las células que han sido sometidas a procesos industriales (MDMADMIN, 2019).

E. Tablas de picar y contaminación cruzada

“La contaminación de comida callejera por químicos y patógenos microbiológicos se cree es un contribuyente significativo a las enfermedades transmitidas por alimentos. Se ha reportado que las personas que consumen comida callejera sufren de diarrea, cólera, fiebre tifoidea e intoxicación alimentaria” (Hassan, Islam, Abid, Scott, & Alam, 2016).

“Existe una preocupación hipotética sobre la contaminación cruzada. Ya que residuos de fluidos de carne cruda pueden permanecer en las superficies de las tablas de picar y transferir agentes infecciosos hacia vegetales crudos u otros alimentos que no serán cocinados.” (Nese, Cliver, & Kaspar, 1994).

Las superficies de preparación de alimentos entre las cuales están incluidas las tablas de picar, son aquellas que tienen un contacto directo con el alimento y desde las cuales existe un vertido sobre este. El saneamiento de este tipo de superficies es importante para la prevención de la transmisión de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Ya que las bacterias que se encuentran en ciertos tipos de alimentos pueden adherirse en superficies artificiales y naturales como los materiales con los que encuentran elaboradas las tablas de picar (Simón *et al.*, 1994). “Una vez adheridas las bacterias a los materiales de las superficies de preparación de alimentos y en condiciones favorables estas pueden multiplicarse, formar microcolonias, elaborar exopolisacáridos y eventualmente convertirse en ecosistemas microbianos altamente complejos y dinámicos llamados biofilms. Muchas bacterias patógenas y de descomposición forman biopelículas en equipos, utensilios y superficies de preparación de alimentos como madera, caucho, vidrio, acero inoxidable.

Una vez establecidas las bacterias patógenos pueden contaminar los alimentos en cantidades suficientes para ser infecciosas” (Simin, Tall, Bruursema, Epstein, & Shah, 1994).

Las tablas de picar de madera han sido utilizadas durante siglos, mientras que las tablas hechas de varios materiales como los polímeros han estado disponibles desde 1970 y las tablas de picar de vidrios son la tercera opción para el consumidor, sin embargo las tablas de madera son el material que mas predomina. Actualmente, las tablas de picar para procesar alimentos están disponibles en una variedad de materiales como, diferentes tipos de madera, bambú, vidrio, polímero, etc. (Friedrich & Agnieszka, 2015).

IV. JUSTIFICACIÓN

Uno de los factores que en mayor medida afectan a la salud pública es la higiene de los alimentos, especialmente en las ventas de comida (como carretillas), ya que cada vez es mayor el porcentaje de personas que consumen alimentos fuera del hogar por diversas razones (Arzú, Peirett, Rolla, & Roibón).

Las tablas de picar son una fuente de importante de contaminación, ya que en ella se alojan bacterias que pueden causar enfermedades (Lorente, 2015). Existe una preocupación debido a una contaminación cruzada, ya que residuos de fluidos (jugo) de carne cruda puedan permanecer en la superficies de las tablas y transferir agentes causantes de enfermedades a vegetales u otros alimentos cortados y no cocinados adecuadamente, permitiendo así que estos agentes se multipliquen en las superficies. Las bacterias que más preocupan e interesan en una contaminación cruzada, en tablas de picar son principalmente las de origen animal, ya que son causas importantes de enfermedades humanas infecciosas y transmitidas a través de comida debido a que se pueden multiplicar a temperatura ambiente o inferior, y entre ellas las más comunes *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*.

Debido a que un gran número de enfermedades son transmitidas por vía fecal-oral utilizando como vehículo los alimentos cortados, y agua utilizada en este caso para limpiar las tablas de picar, es necesario contar con microorganismos que funcionen como indicadores de contaminación. El grupo coliformes es constante, abundante y casi exclusivo de la materia fecal, se encuentran también en el medio ambiente de manera independiente como en aguas enriquecidas o incluso aguas potables de relativamente buena calidad. Los coliformes nos sirven de indicador para determinar que los alimentos fueron cortados en tablas de picar que estuvieron expuestas a una contaminación en general (Camacho, y otros, 2009). Por lo que se optó también realizar el conteo de coliformes totales presentes en la superficie de las tablas analizadas.

Según las normativas de CE y BGA en materia alimentaria, las tablas de picar deben estar fabricadas en polietileno de alta densidad ya que este material reduce drásticamente el riesgo de contaminación, es por ello que se volvieron las superficies de elección para el corte de alimentos dejando a un lado las tablas elaboradas en madera (Lorente, 2015).

La finalidad principal del análisis microbiológico en tablas de picar fue comprobar y afirmar que dichas tablas de picar en las ventas de comida (especialmente carretillas) son una fuente constante que permite la multiplicación de enterobacterias, como *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*.

En Guatemala son pocos los estudios que se han realizado acerca de este tema ya que se ha dejado a un lado la importancia que representan las tablas de picar como fuente importante para el aislamiento de enterobacterias que causan contaminación cruzada en los alimentos, que provocan de esta manera ETAS (enfermedades transmitidas por alimentos).

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Determinar la presencia de *Escherichia coli*, *Shigella* y *Salmonella* en tablas de picar de madera polímero utilizadas en ventas de hot dogs en zona 1 de la Ciudad Capital de Guatemala.

B. Objetivos específicos

1. Aislar y determinar la presencia de *E. coli*, *Shigella* y *Salmonella* en tablas de picar, utilizando las técnicas tradicionales microbiológicas de identificación fenotípica bacteriana, basadas en la morfología, desarrollo y propiedades bioquímicas y metabólicas de dichas bacterias.
2. Cuantificar la presencia de coliformes totales tanto en tablas de picar de madera como de polímero, por medio de técnicas tradicionales microbiológicas.
3. Determinar el porcentaje de las enterobacterias (*E. coli*, *Shigella* y *Salmonella*) presentes en tablas de picar de madera y polímero en ventas de hot dogs en la zona 1 de la Ciudad Capital de Guatemala.
4. Comparar cuál de los tres tipos de enterobacterias (*E. coli*, *Shigella* y *Salmonella*) se encuentra con mayor asociación en tablas de picar de madera y polímero de ventas de hot dogs en zona 1 de Ciudad Capital de Guatemala.

VI. HIPÓTESIS

El estudio presentado es de tipo descriptivo, por lo tanto no requiere de la formulación de hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y muestra

Universo: Constituido por las tablas de picar analizadas en los diferentes puestos de venta de hot dogs ubicados en las distintas áreas de la zona 1 de la ciudad de Guatemala.

Se analizaron 50 muestras (tablas de picar) por conveniencia obtenidas en los diferentes puestos de venta de hot dogs de la zona 1 de la ciudad de Guatemala. Se muestrearon 44 puntos de muestreo distintos en diferentes partes de la zona 1 de la ciudad de Guatemala.

B. Recursos

1. Humanos

Asesor: Lic. Martín Gil

Estudiantes: Br. Cindy Trinidad, Br. Carolina Cifuentes

2. Institucionales

Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos –LAFYM-, Centro Histórico, Antiguo Edificio de la Facultad de Farmacia, Zona 1, Ciudad de Guatemala.

3. Recursos físicos

a. Materiales varios

- Bata
- Guantes
- Mascarilla

- Alcohol al 70%
- Algodón
- Bolsas estériles (ziploc)
- Asas bacteriológicas en argolla y punta
- Gradilla
- Papel mayordomo
- Tubos con tapón de rosca
- Hisopos de Madera
- Incubadora bacteriológica
- Mechero de bunsen
- Pinzas
- Refrigeradora
- Balanza de precisión
- Hielera Cooper 21.5 lts

b. Medios de cultivo y Reactivos

- Medio de transporte y medio de enriquecimiento (Agua peptonada y caldo GN)
- Agar MacConkey
- Agar XLD
- Agar Lisina y Hierro (LIA)
- Agar Tres Azucres y Hierro (TSI)
- Agar EMB (Eosin Methylene Blue Agar)
- Agar VRB (Bilis y Rojo Violeta)

C. Metodología

1. Recolección de la muestra (anexo 2 y 3).

Se utilizó la técnica de hisopo para recolectar las muestras, se tomó la muestra de la superficie, humedeciendo el hisopo estéril en ambos caldos (GN 9 mL y agua peptonada 9 mL) rotando el hisopo en tres direcciones distintas de al menos 50 cm².

2. Procesamiento de las muestras en el laboratorio (anexo 4 y 5)

a. Siembra en Caldo GN (Gram Negativo), Agua Peptonada y Agar selectivo.

- En un tubo con 9 mL de caldo GN se agregó el hisopo de la muestra directa de la superficie de la tabla, e incubó a 18-24 horas a 35-37°C.
- En un tubo con 9 mL de Agua Peptonada se agregó otro hisopo de la muestra directa de la superficie de la tabla, e incubó a 18-24 horas a 35-37°C
- Transcurridas 24 horas se revisó en cada tubo, en busca de crecimiento o turbidez.
- Al presentar crecimiento alguno en los tubos inoculados, se procedió a sembrar en los medios de agar: MacConkey y XLD.

b. Transcurridas 24 horas se procedió a la lectura de las placas, dependiendo en que placa se presentó crecimiento se procedió a realizar una serie de pruebas para la identificación de las bacterias, por medio de batería con TSI y LIA y Agar EMB.

3. Lectura de placas de agar MacConkey y XLD e Identificación de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* (anexo 6 y 7).

a. **Lectura:** Se procedió a la lectura de ambas placas.

- Agar MacConkey: las colonias en agar MacConkey se observan de color rosa (lactosa positivo) para *Escherichia coli* e incoloras o color beige (lactosa negativo) para *Salmonella* y *Shigella* (DIFCO, 2009).

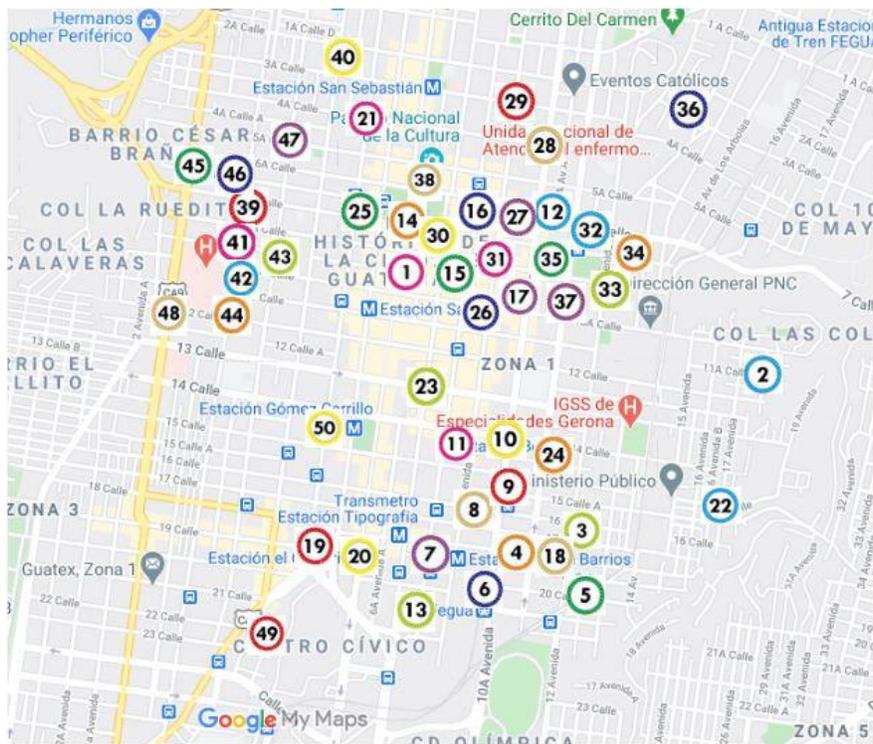
- Agar XLD: Las colonias en agar xilosa, lisina, desoxicolato se observan de color rojas con centro de color negro para *Salmonella*, colonias rojas , elevadas, transparentes para *Shigella* y colonias de color amarillo a rojo amarillentas para *Escherichia coli* (DIFCO, 2009).
- b. Test confirmatorio, por observación de:** colonias sospechosas de *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli* que crecieron en ambos agares, fueron inoculadas en agar TSI (Triple azúcar hierro), agar LIA (hierro lisina) y EMB para *E. coli* y se incubaron por 24 horas a 35-37°C para su posterior identificación (anexos 8-12).
4. Determinación y cuantificación de coliformes totales (anexos 13 y 14).
- a. Análisis de la muestra**
- Se tomó 0.5 mL del caldo de Agua Peptonada inoculado con el hisopo y se depositó en 2 cajas (0.5 mL en cada caja) de petri estéril vacías.
 - Se vertió 10 mL de agar VRB y se agregó 5 mL de agar VRB fundido y enfriado a 45°C a cada placa. Homogeneizar y se dejó solidificar.
 - Se invirtieron las cajas de VRB e incubaron 24 horas a 35-37 °C
- b. Interpretación y Reporte de resultados**
- Se examinaron las cajas de Petri con agar VRB para la presencia de colonias de color rojo oscuro rodeadas de un halo de color claro o rosa, sugestivas de coliformes
 - Se realizó un recuento (contar placas que tengan entre 15 a 150 colonias)
 - Y se multiplicó el recuento por el factor de dilución y reportar como UFC / 50 cm²

D. Diseño de la Investigación

1. Análisis estadístico

Se analizaron 50 muestras (tablas de picar) en 44 puntos distintos de muestreo, por conveniencia, obtenidas en los diferentes puestos de venta de hot dogs de la zona 1 de la ciudad de Guatemala (anexos 15 y 16).

Se realizó la localización de cada carretilla muestreada, con el fin de conocer las ubicaciones físicas exactas de la toma de muestras analizadas.



Fuente: imagen obtenida de Google maps, con direcciones de datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra de tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

En el análisis se incluye la determinación de las 3 enterobacterias a investigar, así mismo incluye el porcentaje de las 3 enterobacterias (*Escherichia coli*, *Shigella* y *Salmonella*)

encontradas en las tablas de picar. Por lo que los datos obtenidos se presentaron en porcentaje por medio de tablas y figuras de barras y pastel.

2. Obtención de muestra

El tamaño de muestra a analizar fue de 50 muestras (tablas de picar madera polímero) en puestos ambulantes de venta de hot dogs. Se recolectó y se analizó a partir de la técnica de hisopo para recolectar muestra descrita anteriormente.

Con un error del 5% y precisión de 10%. Suponiendo que $p=q=0.5$

Para calcular la cantidad de tablas analizadas se utilizó la siguiente fórmula ya que no existían en el momento de realizar el muestreo la misma cantidad de carretillas proyectadas al inicio.

$$n = \frac{N \delta^2}{\frac{(N-1)\Delta^2}{NC^2} + \delta^2} =$$

En donde:

N: Número total de tablas contadas anteriormente en el perímetro de la zona 1 (96)

σ^2 : Varianza = 0.25

Δ : Límite de error en la estimación = 10% (0.10)

NC: Nivel de confianza = 1.96

Por lo tanto:

$$n = \frac{96(0.25)}{\frac{(96-1)(0.10)^2}{(1.96)^2} + 0.25} = 48.26 \approx 48 \text{ tablas de picar}$$

3. Variables de interés

Criterio de Inclusión: Todas las carretillas de venta de hot dogs que contaran con una o más tablas de picar.

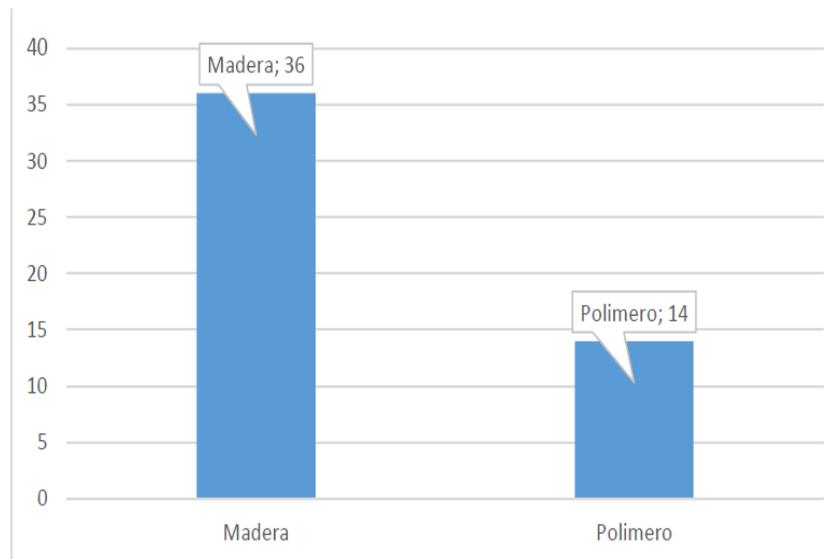
Criterio de Exclusión: Carretillas de venta de hot dogs que no contaran con tablas de picar (llevaban la comida ya picada y/o procesada).

VIII. RESULTADOS

El total de tablas analizadas fueron 50, como se puede observar en la figura 1. De estas, 36 corresponden a tablas de madera y 14 a tablas de polímero. Por lo que existe una mayor cantidad de tablas de madera (72%) con respecto a las de polímero (28%), debido a que las de madera son más accesibles, en cuanto a lugar de compra y precio.

Figura 1

Frecuencia de ambos materiales (madera y polímero) de tablas de picar utilizados por vendedores en carretillas de hot dogs

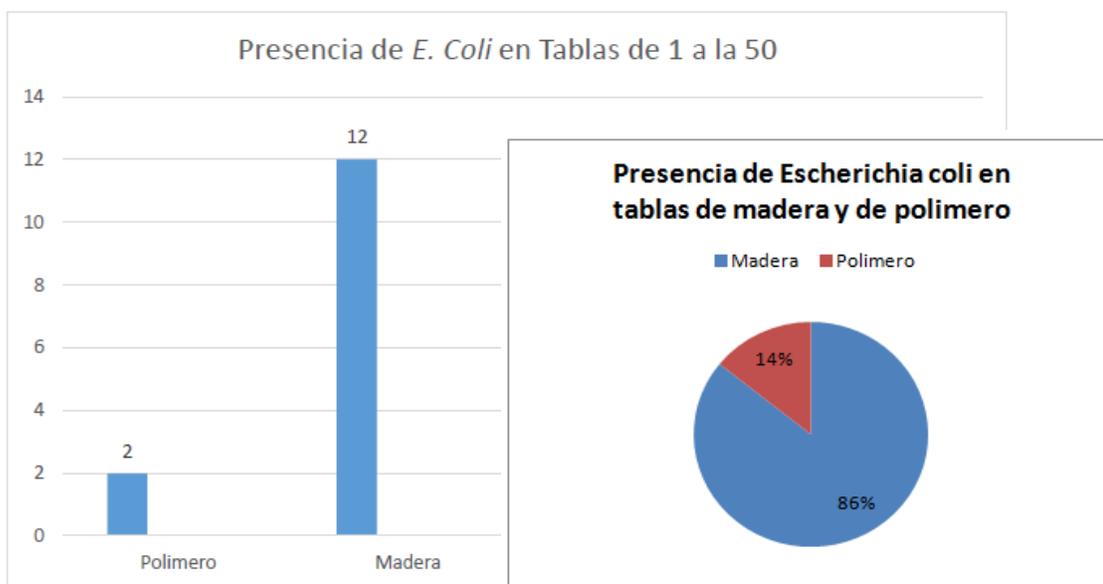


Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

En la figura 2 se observa que, 14 de 50 tablas analizadas presentaron resultado positivo en cuanto a *Escherichia coli*. De estas 14 tablas, 12 estaban construidas de madera y dos de polímero, por lo que predomina en un 86% la presencia de *E. coli* en las tablas de madera.

Figura 2

Presencia y porcentaje de E. coli en las 50 tablas de picar de madera y polímero en ventas de hot dogs.

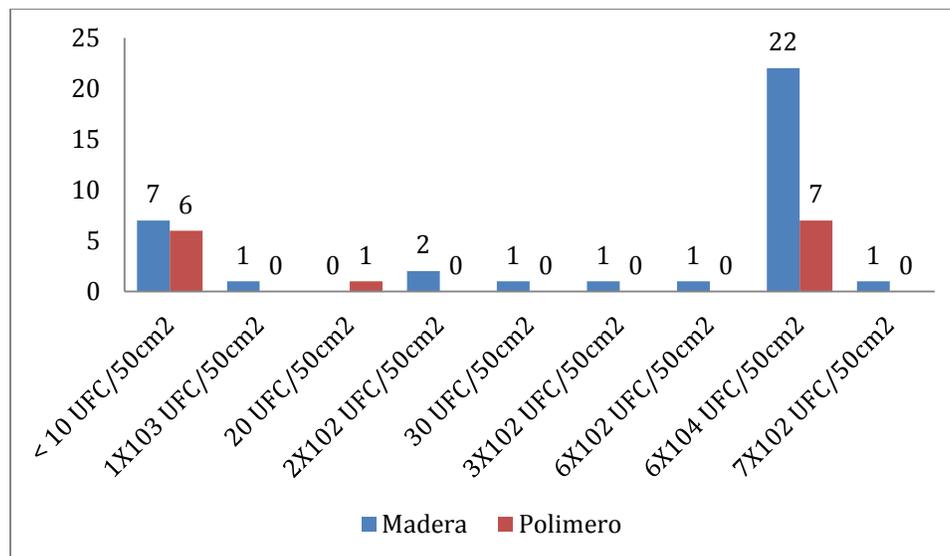


Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

La figura 3 revela que la mayor cantidad de coliformes totales se encontraron en las tablas de madera, ya que de estas 36 tablas analizadas, el 81% (29 tablas) presentaba una cantidad >10 UFC/cm², y el 19% (7 tablas) presentaba <10 UFC/cm². Con respecto a las tablas de polímero, se analizaron 14 en total. El 57 % (ocho tablas), mostró una cantidad > 10 UFC/cm² y el 43% (seis tablas) < 10 UFC/cm². Finalmente se observa que el resultado que predomina es de 6×10^4 UFC/50 cm², lo que representa un 58% de las tablas de ambos materiales.

Figura 3

Presencia de coliformes totales en tablas de picar de madera y polímero.



Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

La tabla 1 indica que, la categoría que mostró un mayor aislamiento de *E. coli* es de la número 11 a la 20 (siete tablas de picar). Seguida de la categoría de la 21 a la 30 (cuatro tablas de picar).

Tabla 1

Porcentaje de Escherichia coli en tablas de picar de madera y polímero distribuida por rangos de número de tabla.

Numero de tabla	<i>Escherichia coli</i>		
	Presencia	Ausencia	Total
1-10	0 (0)*	10 (100)*	10 (20)*
11-20	7(70)	3 (30)	10 (20)
21-30	4 (40)	6 (60)	10 (20)
31-40	3 (30)	7 (70)	10 (20)
41-50	0 (0)	10 (100)	10 (20)
Total	14 (28)*	36(72)*	50 (100)*

* Números en paréntesis representan el porcentaje total.

Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar Tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de ciudad de guatemala.

No se determinó la presencia de *Salmonella* y *Shigella* en las distintas tablas muestreadas por los métodos de identificación realizados, como muestran las tablas 2 y 3.

Tabla 2

Porcentaje de Salmonella en tablas de picar de madera y polímero distribuida por rangos de número de tabla.

Numero de tabla	<i>Salmonella</i>		
	Presencia	Ausencia	Total
1-10	0 (0)*	10 (100)*	10 (20)*
11-20	0 (0)	10 (100)	10 (20)
21-30	0 (0)	10 (100)	10 (20)
31-40	0 (0)	10 (100)	10 (20)
41-50	0 (0)	10 (100)	10 (20)
Total	0 (0)*	50 (100)*	50 (100)*

* Números en paréntesis representan el porcentaje total.

Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

Tabla 3

Porcentaje de Shigella en tablas de picar de madera y polímero distribuida por rangos de número de tabla.

Numero de tabla	<i>Shigella</i>		
	Presencia	Ausencia	Total
1-10	0 (0)*	10 (100)*	10 (20)*
11-20	0 (0)	10 (100)	10 (20)
21-30	0 (0)	10 (100)	10 (20)
31-40	0 (0)	10 (100)	10 (20)
41-50	0 (0)	10 (100)	10 (20)
Total	0 (0)*	50 (100)*	50 (100)*

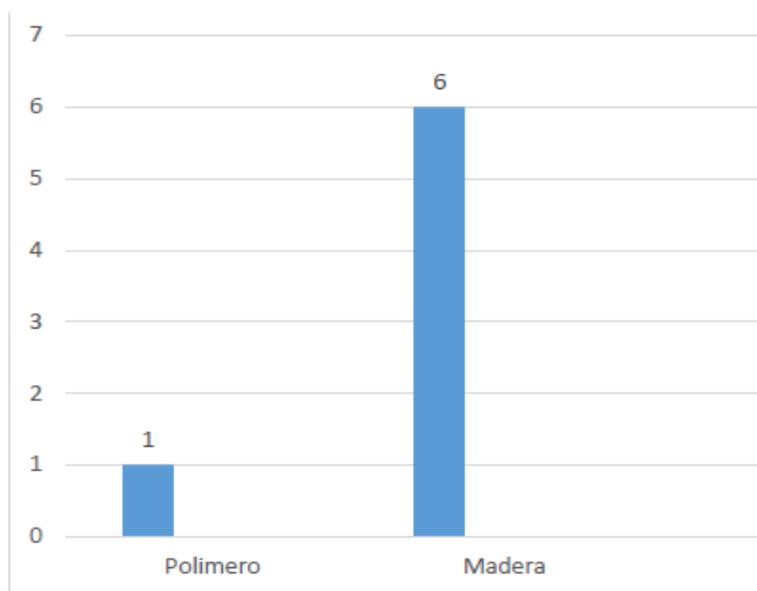
* Números en paréntesis representan el porcentaje total.

Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

Como sugiere la figura 4, el grupo de tablas de la 11 a la 20, es el que obtuvo una mayor cantidad de *E. coli* en las tablas de madera con respecto a las de polímero, de este grupo se obtuvo un total de siete tablas con presencia de *E. coli*. En cuanto a las tablas de picar del grupo de la número 1 a la 10, no se determinó presencia de *E. coli*.

Figura 4

Presencia de E. coli en tablas enumeradas de la 11 a la 20.

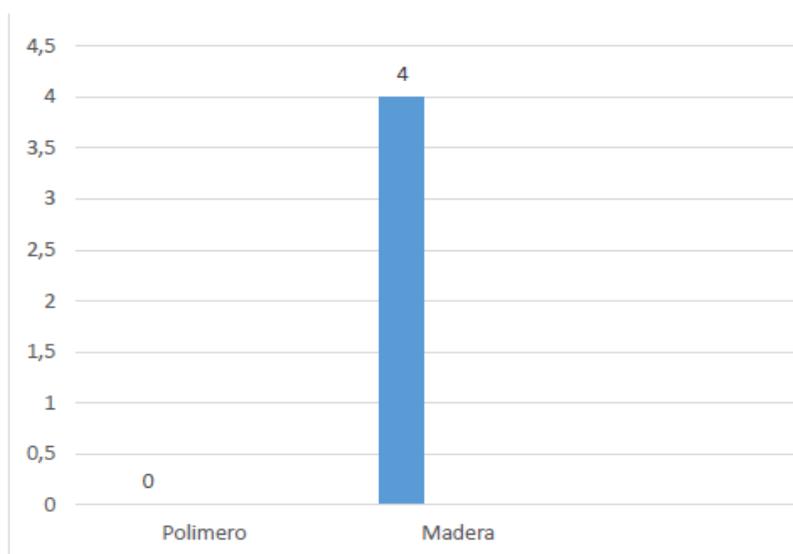


Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

En la figura 5 se registra, que el grupo de tablas de la número 21 a la 30; cuatro tablas presentaron resultado positivo de *E. coli*, estas tablas pertenecían al material de madera, no se obtuvo ningún resultado positivo para la presencia del microorganismo en las tablas de polímero en este grupo.

Figura 5

Presencia de E. coli en tablas enumeradas de la 21 a la 30.

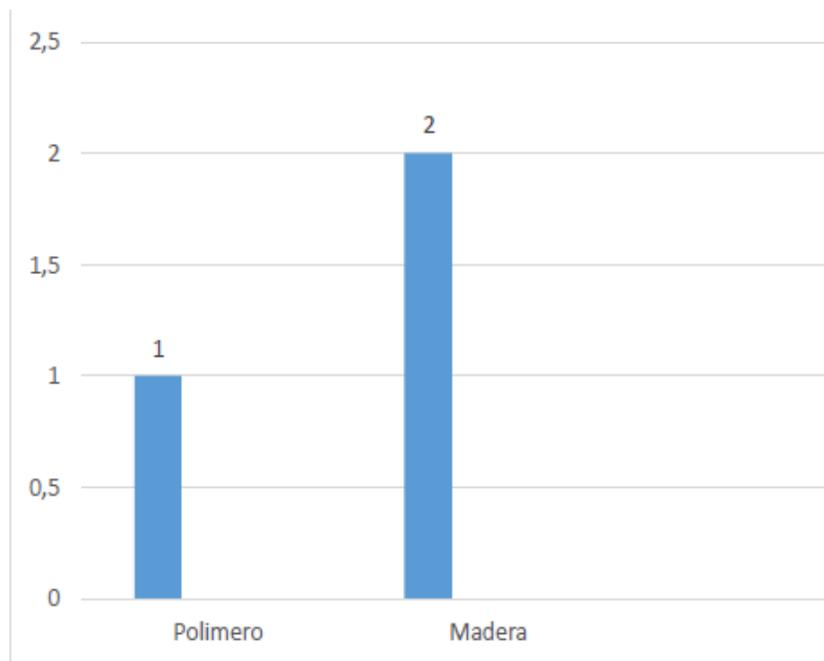


Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

En la figura 6, se puede observar que el grupo de tablas de la 31-40, se aisló una mayor cantidad de *E. coli* en las tablas de madera con respecto a las de polímero. De este grupo se obtuvo un total de tres tablas con presencia de *E. coli*. Y por último, las tablas de los grupos de la 1-10 y 41-50 no se determinó presencia de *E. coli*.

Figura 6

Presencia de E. coli en tablas enumeradas de la 31 a la 40.



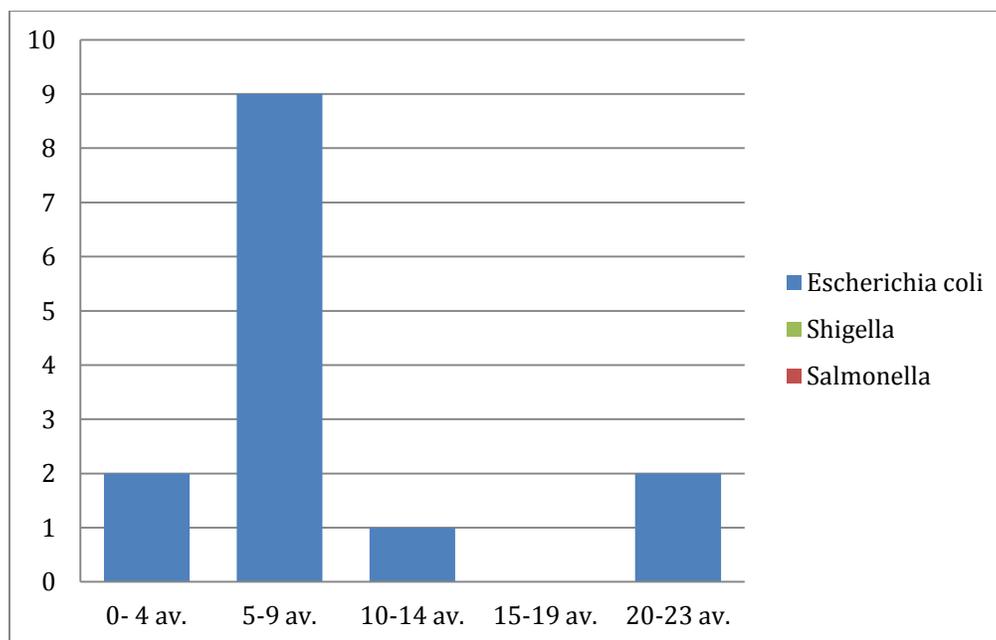
Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

La zona 1 abarca desde la 1ª avenida a la 23 avenida, y en la figura 7 indica, que la mayor cantidad de tablas positivas (nueve) para *E. coli* pertenecen a las muestras tomadas entre la 5ª y 9ª avenida. Así mismo, de la 0 a la 4ª avenida se identificó la presencia de *E. coli* en dos tablas.

No se aisló *Salmonella* y *Shigella* en las carretillas localizadas y muestreadas en las distintas avenidas de la zona 1.

Figura 7

Presencia de Escherichia coli, Salmonella y Shigella en tablas de picar de puestos de venta de Hot dogs distribuidas en las distintas avenidas de la zona 1.



Fuente: datos experimentales, obtenidos en la toma de muestra para analizar tablas de picar de ventas ambulantes en zona 1 de Ciudad de Guatemala.

IX. DISCUSIÓN

El estudio tuvo como objetivo el análisis microbiológico de 50 tablas de picar de madera y polímero, las cuales son utilizadas en ventas de hot dogs en zona 1 de la Ciudad de Guatemala, para comprobar la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*.

Al inicio del estudio se había proyectado el análisis de 96 tablas, pero a causa de la pandemia de COVID-19, que inició en el país en el mes de marzo del año 2020, se redujo el número establecido de tablas a analizar.

Debido a las distintas restricciones emitidas por el Ministerio de Salud Pública y el Gobierno Central, que tenían como fin evitar la propagación del virus, entre ellas el cierre parcial o total de negocios de alimentos (Del Valle & Salazar, 2020), existió una disminución de ventas de hot dogs en los meses posteriores,

Por lo anterior expuesto, se logró encontrar una cantidad considerable de ventas (el 50%) de las localizadas antes de la pandemia.

La cantidad de tablas analizadas representan el 86.21% (50 tablas) de las tablas presentes en las ventas ambulantes en zona 1, debido a que el 13.79% (ocho dueños de ventas con una tabla de picar cada una) se negaron a colaborar en el análisis, por factores como temor y tiempo.

Las muestras recolectadas, en su mayoría pertenecían a tablas de madera (36) (figura 1). Este tipo de tablas son utilizadas con mayor frecuencia en las ventas de hot dogs, por su mayor durabilidad, bajo costo y fácil adquisición. A diferencia de las tablas de polímero que se encuentran con menor frecuencia (14), por su alto costo y rápido deterioro.

La durabilidad de las tablas de madera depende del material con el cual fueron fabricadas (Tanveer, y otros, 2020), haciéndolas más resistentes al daño provocado por el corte con el cuchillo utilizado. Las mejores especies de madera para fabricación de tablas de picar según los vendedores son el pino, encino y palo blanco.

Con respecto a la recolección de muestras, se puede observar en la figura 2 y 3, que las tablas de madera tuvieron mayor presencia de microorganismos, tanto de coliformes totales como de *E. coli*, en comparación con las tablas de polímero.

Aunque las tablas de madera son una buena opción como herramienta para las ventas de hot dogs, tienen el inconveniente de que la limpieza requiere más cuidado, para que permanezcan completamente limpias y no represente un riesgo para el consumidor.

Por tal razón, “la limpieza de las tablas de madera se debe llevar a cabo por medio de agua y jabón, para evitar la acumulación de microorganismos en las superficies y debe realizarse entre el corte de cada ingrediente que sea utilizado, para evitar una contaminación cruzada” (Miller, Brown, & Call, 1996).

A pesar de las ventajas que posee utilizar estas tablas, en el muestreo se aislaron microorganismos, debido a que en las ventas de hot dogs no contaban con lo básico para la limpieza de las tablas de picar. En lugar del procedimiento de lavado, los vendedores utilizaban un limpiador de tela para realizar la limpieza entre el corte de las verduras y embutidos utilizados en la preparación del hot dogs.

La mayor parte de carretillas (80%) no contaba con lo necesario para realizar un lavado adecuado de los utensilios para la preparación de hot dogs, incluida la tabla de picar. El 70% no contaban con agua para poder lavarla.

Las tablas de picar de ambos materiales (madera y polímero) presentaron una mayor cantidad de coliformes totales (figura 3), que de las enterobacterias en estudio. Estos pueden encontrarse en el medio ambiente de una forma independiente, como en aguas enriquecidas y agua potable.

Este tipo de microorganismos sirven de indicadores para evidenciar una práctica sanitaria deficiente; en este caso, la incorrecta limpieza de las tablas de picar, así mismo de

una exposición de los ingredientes al utilizar agua contaminada (Larrea, Rojas, Romeu, Rojas, & Heydrich, 2013).

Se determinó un 28% de presencia de *E. coli* en las tablas de picar, en su mayoría (86%) de madera (tabla 1 y figura 4 – 6). “*Escherichia coli* es una bacteria indicadora de contaminación fecal, la cual habita generalmente en el intestino humano o animal, lo cual la convierte en excelente indicador de presencia de patógenos entéricos” (Soto, Pérez, & Estrada, 2016).

“Este tipo de bacteria suele propagarse a través de los alimentos y de contaminación cruzada por una mala manipulación de los instrumentos (tablas de picar) que se utilizan en la preparación de estos” (Soto, Pérez, & Estrada, 2016). Por tal motivo, “prolifera en cualquier tipo de alimento, con mayor frecuencia en productos bovinos crudos” (Soto, Pérez, & Estrada, 2016), los cuales representan un gran porcentaje de los alimentos picados en las tablas usadas para la venta de hot dogs.

Se obtuvo una recuperación menor de enterobacterias a la proyectada al inicio de la investigación. Debido al menor número de ventas de hot dogs ubicadas, y a la preparación de ciertos alimentos por parte de los vendedores, ya que por ahorrar tiempo preparaban los ingredientes en un lugar distinto al que se vendía.

Como parte del estudio, se tenía proyectado el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*, de las cuales no se obtuvo resultado positivo, en ambos tipos de tablas, utilizando pruebas presuntivas, confirmatorias y bioquímicas (tabla 2 y 3).

“*Shigella* se puede aislar en agua contaminada con heces humanas, y se puede encontrar en alimentos, como frutas y vegetales crudos”, como el repollo (EFSA, 2013).

El repollo es un ingrediente fundamental en la fabricación de hot dogs, ya que se corta crudo en la tabla y no se lava antes de cortarlo, éste es un procedimiento clave para el aislamiento de dicho microorganismo, sin embargo, no se obtuvo el aislamiento esperado.

“La *Salmonella* se puede encontrar en frutas, huevos, verduras, carne de res molida y pollo” (EFSA, 2013), (CDC, 2021). No obstante, este tipo de alimentos son rara vez vendidos en las carretillas de hot dogs.

Se obtuvieron colonias sospechosas de *Salmonella* en dos tablas de picar, las cuales presentaron características macroscópicas propias de la especie como, producción de ácido sulfhídrico. Al momento de realizar pruebas confirmatorias y bioquímicas, quedó descartada la presencia de esta enterobacteria.

Debido a las restricciones que se implementaron por razón de la pandemia de COVID-19 las muestras se tomaron por la mañana. Los vendedores preparaban el producto para la venta a las 8 a.m. aproximadamente.

Por tal razón, los ingredientes (carne, embutidos, etc.) tenían poco tiempo sin refrigeración, lo que aumenta el tiempo de vida de los alimentos y disminuyendo la probabilidad de crecimiento de estos microorganismos.

En las áreas en las cuales se pudo tomar muestras, una gran cantidad de ventas de hot dogs (aproximadamente 60%), se ubicaban en lugares cercanos a terminales de buses (transmetro, transurbano, etc.), mercados y calles muy concurridas, ya que por la escasa cantidad de personas los vendedores buscaban lugares donde existiera mayor movimiento de personas.

Las tablas muestreadas se distribuyeron en las distintas avenidas de la zona 1, para tener una mejor identificación de los resultados positivos (Figura 7). La mayor cantidad de *E. coli* se pudo aislar en las ventas ubicadas entre 5ª y 9ª avenida, 0 y 4ª avenida y de la 20 a la 23 avenida, en las cuales el flujo de personas era mayor que el resto de área estimada para la toma de muestra.

X. CONCLUSIONES

1. Utilizando las técnicas microbiológicas tradicionales para identificación de enterobacterias, se aisló y determinó la presencia de *Escherichia coli* en 14 tablas de picar.
2. El 81% de las tablas de picar analizadas presentaban la cantidad >10 UFC/cm² de coliformes totales.
3. En las tablas de picar de madera y polímero se determinó la presencia de *Escherichia coli* en un 28%, no hubo aislamientos de *Shigella* y *Salmonella*.
4. *Escherichia coli* se encuentra mayormente asociada a la contaminación de tablas de picar, tanto de madera como de polímero. *E. coli* fue el microorganismo más aislado, ya que no se aisló *Salmonella* y *Shigella* en las tablas analizadas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar el estudio con las técnicas utilizadas de análisis microbiológico en tablas de pizarra de madera y plástico en ventas ambulantes de hot dogs, con un horario distinto, puede ser este en la mañana (cuando empiezan a vender) y en la tarde (cuando ya tienen un lapso de tiempo más amplio de vender), para comparar si existe una diferencia en la cantidad de microorganismos en ambos horarios. Determinar en cual horario se obtiene el mayor porcentaje de microorganismos y de esta forma lograr aislar *Salmonella* y *Shigella* en las tablas de pizarra.
2. Realizar cuantificación y determinación de coliformes fecales en tablas de pizarra y determinar las enterobacterias presentes que pertenecen a este grupo de coliformes (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Escherichia coli*) y cuáles son las enterobacterias más aisladas en porcentaje a parte de *Escherichia coli*.

XII. REFERENCIAS

- Aministracion Nacional de Medicamentos, A. y. (2011). *Enfermedades transmitidas por alimentos*. Ficha técnica No. 6 Shigelosis.
- Arzú, O., Peirett, H., Rolla, R., & Roibón, W. (s.f.). *Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Nordeste Argentino*. Recuperado el febrero de 2019, de Cátedra Bromatología e higiene alimentaria, UNNE: <https://studylib.es/doc/6429704/evaluaci%C3%B3n-de-riesgo-microbiol%C3%B3gico-en-superficies-inerte...>
- B.D, D. B. (2013). XLD Agar (Xilose Lysine Desoxycholate Agar). En *Instructions for use ready to use plate media*. Heidelberg: BD.
- Bakar, A. (2016). Microbiological evaluation of gram negative bacteria from different street foods responsible for enteric diseases. *East West University*, 1-64.
- BD, B. D. (2014). Instrucciones de uso, medios en placa MacConkey. En *MacConkey II Agar* (págs. 1-4). Heidelberg: BD.
- Becton Dickinson, B. (Abril de 2013). *Instrucciones de Uso, Medios en placa listos para su uso: BD EMB Agar*. Recuperado el 29 de Marzo de 2021, de <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8765>
- Berreto, M., Castillo, M., & Retamal, P. (2016). Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente y su trascendencia en Chile. *Revista de Infectología*, 33(5), 547-557.
- Camacho, A., Giles, M., Ortigón, A., Palao, M., Serrano, B., & Velásquez, O. (2009). Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más probable o NMP). En U. Facultad de Química, *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos* (págs. 1-17). Ciudad de Mexico: UNAM.
- CDC. (08 de abril de 2021). *Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades*. Obtenido de <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-and-food-sp.html#:~:text=La%20Salmonella%20se%20puede%20encontrar,trocitos%20de%20pollo%20empanizado%20y>
- Cercenado, E., & Cantón, R. (2008). *Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales*. España: Eimc.

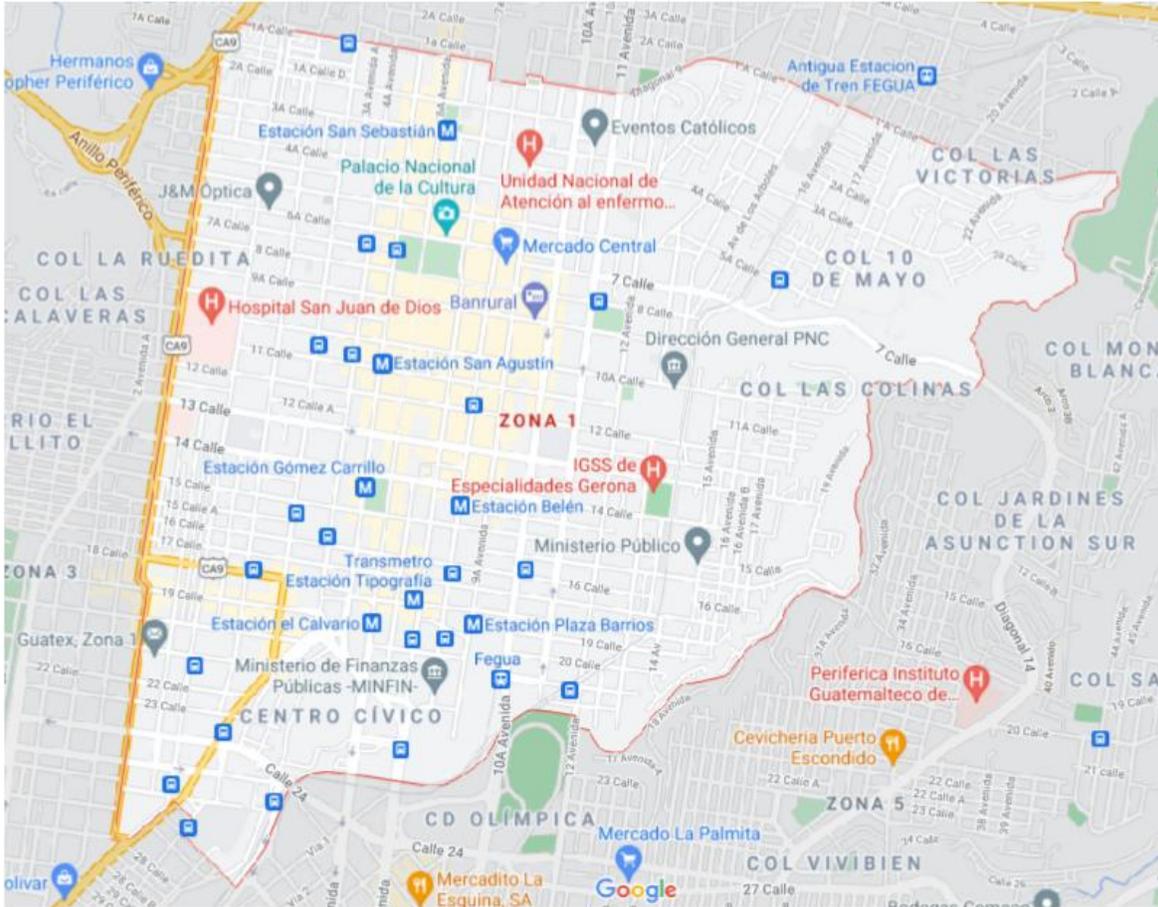
- Condalab. (2019). Caldo de Enriquecimiento GN. *Condalab*, 1-2.
- Del Valle, L., & Salazar, L. (marzo de 2020). *Toque de Queda en Guatemala*. Obtenido de Noticias por país: <https://ariaslaw.com/es/noticia-in/toque-de-queda-en-guatemala>
- EFSA. (2013). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. *EFSA Journal (European Food Safety Authority)*, 11(1), 1-138.
- Escobedo, A. B., Meneses, M., & Castro, A. (2016). Estudio microbiológico (cualitativo y cuantitativo) de superficies inertes que están en contacto con la preparación de alimentos en cafeterías de una universidad pública. *Revista Electrónica sobre cuerpos académicos y grupos de investigación en Iberoamérica*, 3(6), 1-29.
- Friedrich, K., & Agnieszka, S. (2015). Hygienic aspects of using wooden and plastic cutting boards, assessed in laboratory and small gastronomy units. *Journal of Consumer protection and Food Safety*, 4-9.
- García, A., & Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-3431.
- Girón, A. (2007). *Determinación de la calidad microbiológica de la refacción escolar de la escuela pública " República Federal de centroamérica" del municipio de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez, Guatemala*. Guatemala: USAC (Universidad de San Carlos de Guatemala).
- Gonzalez, J., Pereira, N., Soto, Z., Hernández, E., & Villarreal, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*, 30(1), 73-94.
- Guerrero, P., Sánchez, F., Saborido, D., & Lozano, I. (2014). Infecciones por enterobacterias. *Medicine*, 11(55), 3276-3282.
- Hassan, Z., Islam, S., Abid, A., Scott, M., & Alam, S. (2016). Detection of enteribacteria in the popular street food chopti in Dhaka, Bangladesh. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 2(4), 596-602.
- LAB, M. (2021). Agar Bilis y Rojo Violeta. En E. e. cultivo, *Ficha técnica* (págs. 1-3). Ciudad de México.
- Larrea, J., Rojas, M., Romeu, B., Rojas, N., & Heydrich, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.
- León, S. (2002). Shigelosis (disentería bacilar). *Red de Revistas científicas de América Latina, el caribe, España y portugal*, 8(1), 20-23.

- Lorente, S. (2015). Supervisión de las operaciones preliminares y técnicas de manipulación. España: Editorial Earning S.L.
- Maps, G. (09 de Marzo de 2021). *Google maps*. Obtenido de https://www.google.com/maps?q=google+maps+zona+1&um=1&ie=UTF-8&sa=X&ved=0ahUKEwikiMG8pMThAhXCrFkKHbozDyYQ_AUIDigB
- MDMADMIN. (18 de septiembre de 2019). *MDM Cientfica*. Obtenido de Beneficios que tiene el agua peptonada: <https://mdmcientfica.com/beneficios-agua-peptonada/>
- Melguizo, D. F. (Septiembre de 2009). *Ficha tecnica LEVINE EMB Agar*. Recuperado el 29 de Marzo de 2021, de <https://www.cromakit.es/pdfs/inserts/254014.pdf>
- Merck. (2009). *Caldo de enriquecimiento GN seg. HAJNA*. Darmstadt: Merck.
- Miller, A., Brown, T., & Call, J. (1996). Comparison of wooden and plyethylene cutting boards: potential for the Attachment and Removal of bacteria from Ground Beef. *Journal of Food Protection*, 59(8), 854-858.
- Nese, O., Cliver, D., & Kaspar, C. (1994). Cuttin boards of palstic and wood contaminated experimentally with bacteria. *Journal of food protection*, 57(1), 16-22.
- OMS, O. M. (20 de febrero de 2018). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 29 de marzo de 2021, de Salmonella (no tifoidea): [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)#:~:text=Los%20alimentos%20insalubres%20son%20la,enfermedades%20diarreicas%20a%20nivel%20mundial.](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)#:~:text=Los%20alimentos%20insalubres%20son%20la,enfermedades%20diarreicas%20a%20nivel%20mundial.)
- Pachón, D. (2009). *Aislamiento, Identificación y serotipificación de enterobacterias del género Salmonella, en una población de Crocodylus intermedius y testudinos mantendso en cautiverio en al estación de biología*. Bogotá: Universidad Javeriana.
- Prats, G., & Mirelis, B. (septiembre de 2018). *Género Shigella: Aspectos prácticos para el laboratorio de microbiología*. Obtenido de Servei de Microbiologia. Control Calidad SEIMC: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Rshigella.pdf>
- Rivera, M., Rodríguez, C., & López, J. (2009). Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de cajamarca, Perú. *Rev Perú Exp. Salud Publica*, 26(1), 45-48.
- Scharlab. (2021). Violet Red Bile Agar (VRB Agar). En Scharlab. Barcelona.

- Silva, L., Randerson, B., Lemos, T. D., Kutz, K., & Cerutti, C. (2017). Factores asociados con la contraccion de enterobacterias resistentes al carbapenem . *Latino-Americana de Entermaagem*, 1-7.
- Simin, H., Tall, B., Bruursema, T., Epstein, P., & Shah, D. (1994). Bacterial Adherence and viability on cuttin board surfaces. *Journal of foo safety*, 14, 157-172.
- Soto, Z., Pérez, L., & Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. *Salud Uninorte*, 32(1), 105-122.
- Tanveer, M., Pailhories, H., Eveillard, M., Irle, M., Aviat, F., Dubreil, L., . . . Belloncle, C. (2020). Testing the antimicrobial characteristics of wood materials: A review Methods. *Antibiotics*, 9(225), 1-32.
- Varela, Z., Lavalle, L., & Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos una mirada en colombia. *Salud Uninorte*, 32(1), 105-122.

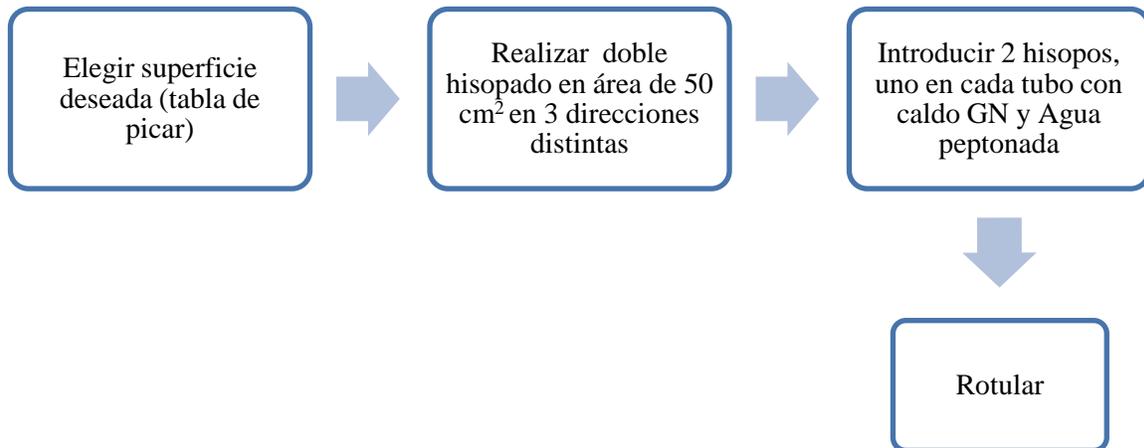
XIII. ANEXOS

Anexo 1. Mapa de zona 1, Ciudad de Guatemala



Fuente: Imagen obtenida de Google Maps (Maps, 2021)

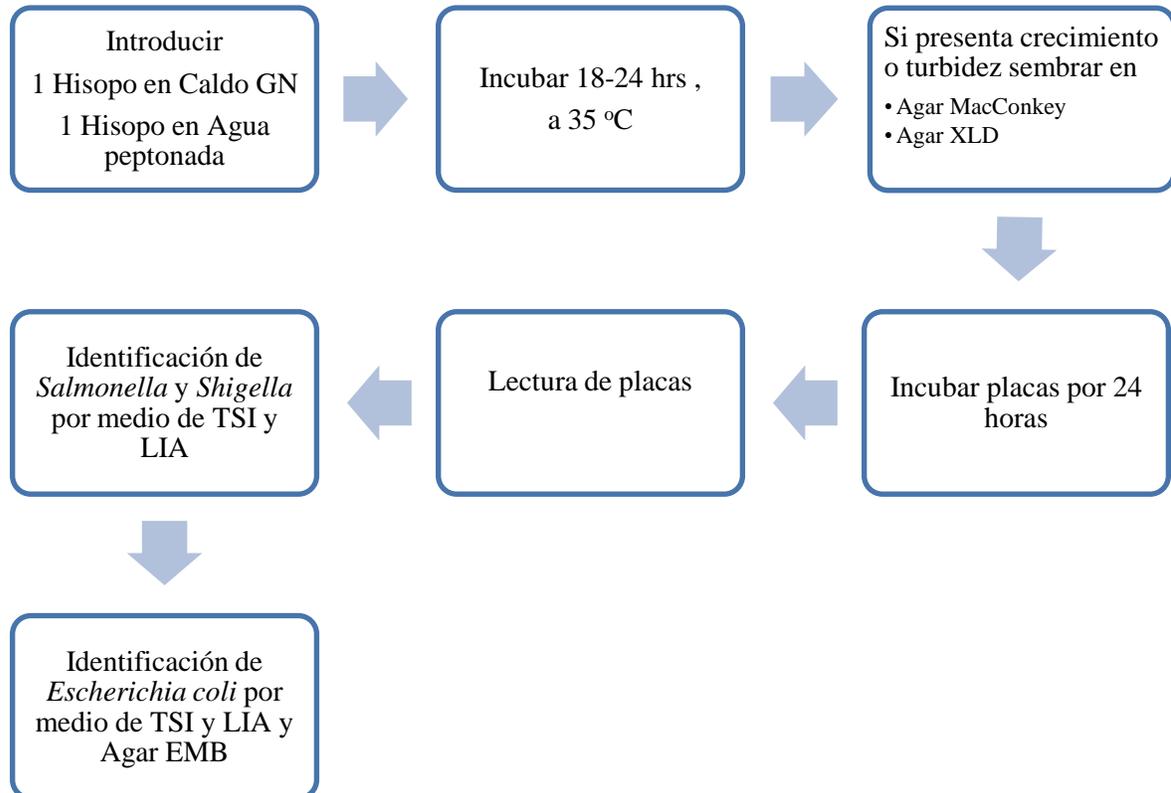
Anexo 2. Procedimiento de recolección de muestra



Anexo 3. Tubos con 9 mL de caldo GN y 9 mL de Agua peptonada e hisopos con muestra para procesar.



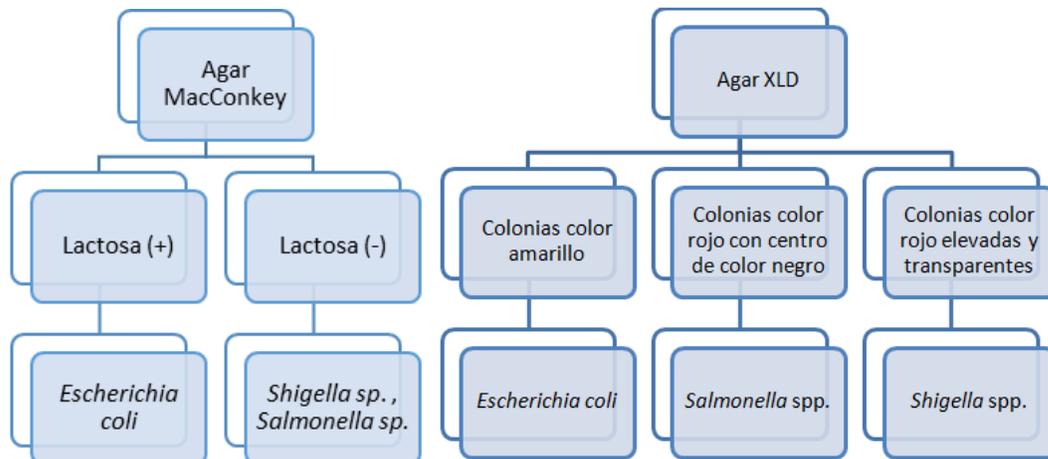
Anexo 4. Procesamiento de la muestra



Anexo 5. Tubos con caldo GN y Agua peptonada con muestra ya tomada.



Anexo 6. Lectura de placas de agar e identificación de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* en agar MacConkey y agar XLD



Anexo 7. *Escherichia coli* en agar MacConkey



Anexo 8. Confirmación de enterobacterias por técnica tradicional .TSI

Especie bacteriana	Superficie TSI	Fondo TSI	Gas	H ₂ S
<i>Escherichia coli</i>	A	A	+	-
<i>Salmonella</i>	K	A	-	+
<i>Shigella</i>	K	A	-	-

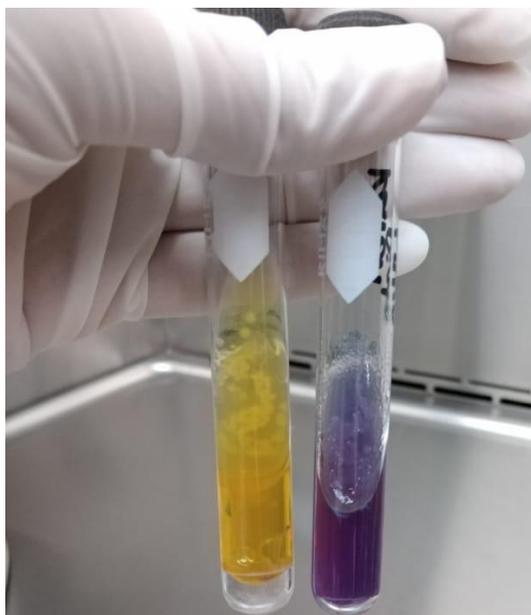
Anexo 9. Confirmación de enterobacterias por técnica tradicional .LIA

Especie bacteriana	Superficie LIA	Fondo LIA	Gas	H ₂ S
<i>Escherichia coli</i>	K	K/N	+/-	-
<i>Salmonella</i>	K	K	-	+/-
<i>Shigella</i>	K	A	-	-

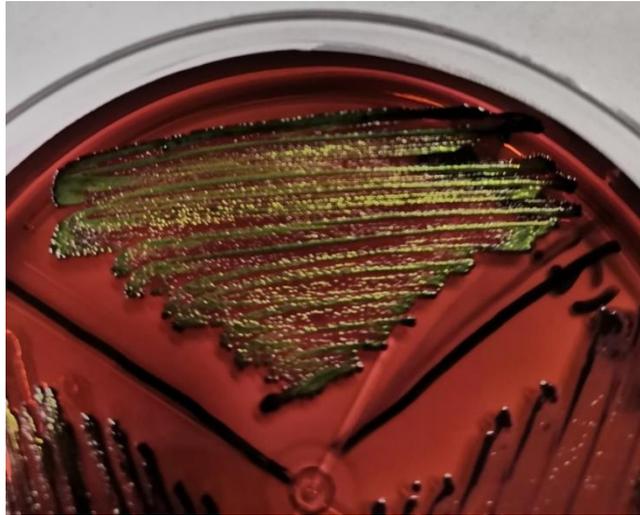
Anexo 10. Confirmación de enterobacterias por técnica de agar EMB

Espece bacteriana	Agar EMB
<i>Escherichia coli</i>	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de color negro azulado con brillo verde metálico
<i>Salmonella</i>	Crecimiento bueno, colonias de gris claro a ámbar
<i>Shigella</i>	Crecimiento adecuado, colonias desde incoloras hasta ámbar claro

Anexo 11. Pruebas bioquímicas (TSI y LIA) positivas para identificación de *Escherichia coli*



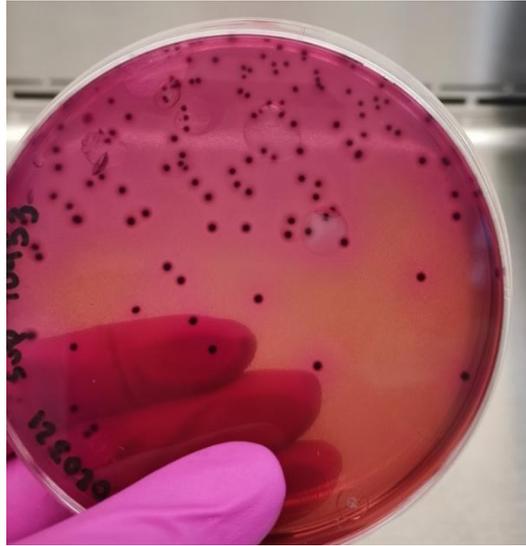
Anexo 12. *Escherichia coli* en agar EMB



Anexo 13. Cuantificación coliformes totales



Anexo 14. Presencia y cuantificación de coliformes en agar VRB.



Anexo 15. Vendedores y ventas ambulantes de hot dogs en centro histórico, que accedieron a colaborar en la toma de muestra de la tabla de picar.



Anexo 16. Vendedor y venta ambulante de hot dogs en centro histórico, que accedió a colaborar en la toma de muestra de la tabla de picar.





Cindy Gabriela Trinidad
Autora



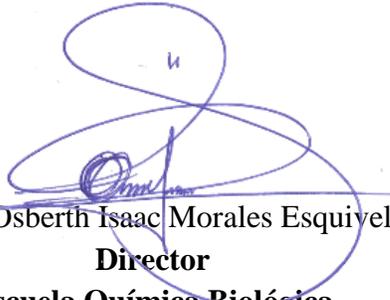
Carolina Cifuentes del valle
Autora



MSc. Martín Gil
Asesor



Dra. Karin Larissa Herrera
Revisora



MSc. Osberth Isaac Morales Esquivel
Director
Escuela Química Biológica



M. A. Pablo Ernesto Oliva Soto
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia