

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* O157:H7, EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN MERCADOS MUNICIPALES DE LA CAPITAL DE GUATEMALA

ANDREA MARILÍ PÉREZ MONTÚFAR

Médica Veterinaria

GUATEMALA JUNIO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus*
Y *Escherichia coli* O157:H7, EN QUESOS FRESCOS
ARTESANALES EXPENDIDOS EN MERCADOS MUNICIPALES DE
LA CAPITAL DE GUATEMALA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ANDREA MARILÍ PÉREZ MONTÚFAR

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, JUNIO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M.V. MSc Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br, Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Juan René Cifuentes López

ASESORES

M. V. JULIA VIRGINIA BOLAÑOS DE CORZO
Dra. JAQUELINE ESCOBAR MUÑOZ
M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* O157:H7, EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN MERCADOS MUNICIPALES DE LA CAPITAL DE GUATEMALA

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

DEDICATORIAS

A MI SEÑOR Y SAVADOR JESÚS

Por ser mi mejor amigo, mi ayuda y fortaleza en todo momento, ya que por su amor y su bondad he llegado hasta este día.

A MIS PADRES

Por ser la mayor bendición que Dios pudo darme. Por su amor, su apoyo incondicional y su ejemplo. !!!Son los mejores papás del mundo!!!! Los quiero muchísimo.

A MIS HERMANOS

Por su amor y apoyo.

A MIS AMIGOS

Eu, Heidy, Cesia, Isra, Paul, Chepe, Shary Obed y los de la foto José, Ángel, Carol, Wendy, Héctor, Juanito y Romilio por estar pendientes de mi ayudándome siempre que los necesité, se que estuve en sus oraciones durante estos años.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

Luz, Rosío, Nicole, Plinio, Rudy, Goofy y Checha por compartir conmigo los mejores años de la carrera, trabajos, exámenes, giras, etc. gracias por estar en las buenas y en las malas, por compartir conmigo sus conocimientos, amistad y cariño.

AGRADECIMIENTOS

A MI DIOS

No alcanzan las palabras para agradecerle a Dios sus bondades y misericordias para conmigo durante estos años, es por Él que hoy alcanzo una meta más. Gracias por ser una fuente inagotable de sabiduría y fortaleza para mí.

A MIS PADRES

Gracias por cada esfuerzo y sacrificio que hicieron por mí, gracias por madrugar conmigo, por su apoyo económico, sus oraciones y consejos. Este logro es de los tres.

A MIS HERMANOS

Gracias por su apoyo y compañía en las noches de desvelo y de medio dormir que nunca se nos olvidarán.

A MIS ASESORES

Por su ayuda en la elaboración y redacción de mi tesis, por compartir conmigo sus conocimientos y su tiempo, en especial a la Dra. Jacqueline Escobar por su dedicación, disponibilidad, confianza y amistad.

AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA FMVZ

Por su ayuda y paciencia conmigo.

A MIS CATEDRÁTICOS

Por todas sus enseñanzas y conocimientos compartidos.

A todas las personas que no mencioné por nombre pero que de una u otra forma me ayudaron y apoyaron para alcanzar esta meta. Que Dios los bendiga.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	
3.1 General.....	4
3.2 Específicos.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	
4.1 Enfermedades Transmitidas por Alimentos ETA´s	5
4.1.1 ETA´s en Guatemala:.....	7
4.2 Queso Fresco Artesanal	
4.2.1 Definición.....	7
4.2.2 Características Generales y Composición del Queso Fresco	8
4.2.3 Características que lo hacen susceptible a la contaminación	8
4.2.4 Microbiología del queso fresco	9
4.2.5 Valores Microbiológicos de referencia para queso fresco según COGUANOR y parámetros del RTCA	9
4.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	
4.3.1 Clasificación y Características Generales	11
4.3.2 Características de cultivo	12
4.3.3 Factores de virulencia	13
4.3.4 Intoxicación alimentaria	15
4.3.4.1 Epidemiología	16

4.3.4.2 Fisiopatología.....	16
4.3.4.3 Diagnóstico.....	17
4.3.4.4 Tratamiento	17
4.3.4.5 Prevención.....	17
4.3.5 Brotes de intoxicación alimentaria por <i>Staphylococcus aureus</i> asociados al consumo de lácteos a nivel mundial	17
4.4 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	19
4.4.1 Características generales y clasificación	19
4.4.2 Características bioquímicas y de cultivo	20
4.4.3 Factores de virulencia	22
4.4.4 Epidemiología	23
4.4.5 Patogénia	24
4.4.6 Manifestaciones clínicas	24
4.4.7 Prevención	26
4.4.8 Brotes por <i>Escherichia coli</i> O157:H7 a nivel mundial.....	26

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales.....	29
5.1.1 Descripción del área	29
5.1.2 Recursos humanos	29
5.1.3 Recursos de tipo biológico	29
5.1.4 Materiales de campo	30
5.1.5 Materiales y equipo de laboratorio	30
5.1.6 Centros de referencia	31

5.2 Metodología	31
5.2.1 Muestreo	31
5.2.2 Procedimiento de laboratorio	32
5.2 Metodología	31
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
VII. CONCLUSIONES	39
VIII.RECOMENDACIONES.....	40
IX. RESUMEN	41
SUMMARY.....	43
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
XI. ANEXOS.....	52

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición del Queso Fresco.....	8
Cuadro 2.	Características Microbiológicas del Queso Fresco.....	10
Cuadro 3.	Parámetros Microbiológicos para Queso Fresco Establecidos por RTCA.....	11
Cuadro 4.	Resultados pruebas bioquímicas (IMVIC) Positivas a <i>Escherichia coli</i>	33

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama del Análisis Microbiológico Realizado para *Staphylococcus aureus* .54
- Figura 2.** Diagrama del Análisis Microbiológico Realizado para *Escherichia coli* O157:H7
.....55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Resultados Obtenidos del Análisis Microbiológico de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Tabla 2	Resultados Obtenidos del Análisis Microbiológico de <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	37
Tabla 3.	Registro e Identificación de Muestras.....	53
Tabla 4.	Resultados de Laboratorio.....	54
Tabla 5.	Mercados Municipales de Ciudad de Guatemala	60

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.	Muestras Positivas y Negativas a <i>Staphylococcus aureus</i>	35
-------------------	---	----

I. INTRODUCCIÓN

La calidad nutricional y la inocuidad de los alimentos son factores importantes que repercuten en la salud y la calidad de vida de las personas.

Los alimentos en general representan un medio de cultivo ideal para el desarrollo de microorganismos patógenos y sus toxinas, pero el queso fresco artesanal en especial es un alimento susceptible a la contaminación microbiana no solo porque su composición favorece al crecimiento y desarrollo de microorganismos, sino también porque las condiciones en que este producto artesanal se procesa, no son higiénicamente las adecuadas, propiciando aun más su contaminación con microorganismos dañinos a la salud de los consumidores.

La elaboración de queso fresco artesanal en Guatemala está distribuida mayormente en las poblaciones rurales en donde existen empresas familiares informales dedicadas al procesamiento de la leche.

Para garantizar la seguridad y salubridad de los productos alimenticios se deben de tomar en cuenta un conjunto de condiciones y medidas de control de calidad desde la materia prima hasta la obtención del producto final, pero también es crucial lograr condiciones adecuadas de almacenamiento, transporte y manipulación del producto en los mercados donde se comercializa. Los alimentos en cualquier establecimiento autorizado deben cumplir normas higiénicas y sanitarias y estar controlados por las autoridades competentes.

Con el objetivo de determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos artesanales que se expenden en los

mercados municipales de la capital de Guatemala, el presente estudio analizó muestras de estos quesos utilizando pruebas específicas de laboratorio para cada análisis microbiológico, se elaboraron las recomendaciones pertinentes de acuerdo a los resultados obtenidos.

II. HIPÓTESIS

No hay presencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 en los quesos frescos artesanales expendidos en los mercados municipales de la capital de Guatemala.

III. OBJETIVOS

3.1 General

Realizar un diagnóstico sobre la inocuidad en quesos frescos artesanales expendidos en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

3.2 Específicos

Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales expendidos en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

Determinar la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos artesanales expendidos en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

Determinar la proporción de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O57:H7 en quesos frescos artesanales expendidos en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS ETA´S

Las enfermedades transmitidas por alimentos son un conjunto de enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos y/o agua contaminados en cantidades suficientes que pueden afectar la salud del consumidor, como por ejemplo la dosis infectante de *Staphylococcus aureus* en el alimento es de 10^5 bacterias por gramo de alimento y de *Escherichia coli* O157:H7 es de 10 a 100 bacterias por gramo de alimento.

La contaminación bacteriana suele ser la de mayor frecuencia, siendo *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* entre las bacterias más comunes. (41,11)

Cuando se ingieren alimentos contaminados con toxinas elaboradas por estos microorganismos patógenos se produce una intoxicación alimentaria. Estas toxinas pueden provocar enfermedades después de ser eliminado el microorganismo del alimento ya que la mayoría son termoestables por lo cual pueden mantener su efecto tóxico aun durante el almacenamiento, preservación y preparación de los alimentos. (1)

Los microorganismos patógenos pueden crecer y desarrollarse en una gran variedad de alimentos si se propician condiciones favorables para su desarrollo y producción de toxinas. Los alimentos de alto contenido nutricional como los lácteos son considerados alimentos de alto riesgo ya que son alimentos que

debido a su alto contenido proteico, alto porcentaje de humedad, baja acidez y un estricto requerimiento de control de temperatura durante su elaboración y conservación, son susceptibles al crecimiento de bacterias patógenas. Por ello se recomienda realizar el manejo cuidadoso de los mismos durante la elaboración, almacenamiento y compra. (11, 1)

Las fuentes de contaminación de los alimentos son varias: el propio alimento, las superficies de contacto, el medio ambiente y los propios seres vivos (11).

El período de incubación y los síntomas de estas enfermedades varían dependiendo del agente etiológico, sin embargo los síntomas más frecuentes son vómitos, náuseas, diarrea y fiebre. (41,1)

No todas las personas tienen la misma sensibilidad frente a las bacterias patógenas sin embargo los ancianos, las mujeres embarazadas, los niños y las personas enfermas son las más susceptibles, en ellos los efectos pueden ser más severos. (41,1)

Según la OMS 5 claves para mejorar la inocuidad de los alimentos son:

- ✓ Mantener la limpieza.
- ✓ Separar los alimentos crudos de los cocinados
- ✓ Cocinar bien todos los alimentos
- ✓ Mantener los alimentos a la temperatura adecuada
- ✓ Utilizar agua e ingredientes inocuos (41)

4.1.1 ETA's en Guatemala:

En Guatemala las enfermedades transmitidas por los alimentos contribuyen a la desnutrición crónica de la población, aumentando de forma directa e indirecta la morbilidad y mortalidad infantil principalmente. (35,14)

El país no cuenta con un registro epidemiológico de la morbilidad y mortalidad por ETA's que detalle el agente etiológico ni el alimento implicado en la transmisión de la enfermedad. (35,14)

Los datos reportados a nivel nacional de casos de morbilidad por ETA's fueron para el año 2008, 720,618 casos, para el año 2009, 874,203 y para agosto del 2010 se reportaron 597,262 casos. De los datos reportados para el año 2008 el 6.31% corresponden al departamento de Guatemala, para el 2009 el 6.88% y para el 2010 el 6.19%. (36)

4. 2 QUESO FRESCO ARTESANAL

4.2.1 Definición

Según COGUANOR el queso es un producto lácteo sin madurar o madurado obtenido por la coagulación enzimática y/o ácida de la leche, suero de leche, crema o cualquier combinación de los mismos, después de drenar el suero formado con o sin aplicación de calor y con o sin la adición de otros ingredientes y/o aditivos alimentarios. (22)

El queso fresco es aquel no madurado ni escaldado de textura relativamente

firme, levemente granular, preparado con leche íntegra, semidescremada o descremada, cuajada por enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. (22)

4.2.2 Características Generales y Composición del Queso Fresco

El queso fresco se caracteriza por ser un producto de alto contenido de humedad (60-80%), aroma característico, sabor suave, no tener corteza y tener un período de vida de anaquel corto, requiriendo determinadas condiciones de refrigeración. (1,22)

Cuadro No 1.

Composición del Queso Fresco

	Calorías Kcal	Proteína Total (g)	Carbohidratos Total (g)	Grasa total (g)	Agua %
Queso fresco	127	21.0	5.4	1.8	64.3

FUENTE: INCAP/OPS 1996

4.2.3 Características que lo hacen susceptible a la contaminación

El queso fresco es un alimento poco fermentado, ligeramente ácido (pH 5-5.2), muy líquido (actividad de agua de 0.9), con un bajo porcentaje de sal (menor al 3%), esto aunado a su alto contenido nutritivo lo hacen un medio de cultivo ideal para el desarrollo de microorganismos patógenos como el *Staphylococcus aureus* y la *Escherichia coli*. (1)

Un almacenamiento a temperaturas inadecuadas, el uso de equipo contaminado, una cocción inapropiada y la falta de higiene por parte de los manipuladores son factores predisponentes para su contaminación. (38)

La falta de pasteurización de la leche utilizada en la fabricación del queso fresco, la falta de un control de calidad que garantice su inocuidad durante la elaboración, almacenamiento, transporte y venta convierte a este producto en un riesgo para la población que lo consume. (33)

4.2.4 Microbiología del queso fresco

El queso fresco es un alimento que constituye un sustrato adecuado para el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp*, *Brucella spp.*, *Salmonella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* entre otras. (9)

Es importante señalar que algunas de éstas bacterias son parte de la microbiota intestinal del ganado pudiendo ser eliminadas, pasar al humano directamente con el consumo de productos de origen animal, otras de estas bacterias se identifican como organismos contaminantes de los productos y subproductos pecuarios debido a malas prácticas de elaboración, almacenaje y traslado de alimentos. (1,38)

4.2.5 Valores Microbiológicos de referencia para queso fresco según COGUANOR y parámetros del RTCA

La norma NGO34197 de la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR)

establece las características y especificaciones que deben cumplir los quesos no madurados, tanto los que son producidos en el país como los de origen extranjero. En la actualidad esta norma solo contempla parámetros microbiológicos para *Staphylococcus aureus* por gramo y *Salmonella* en 25gr. (1,6).

Cuadro No 2.

Características Microbiológicas del Queso Fresco

Microorganismos	n	c	M	M
<i>Staphylococcus aureus</i> por gr.	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella</i> sp., en 25 gr	5	0	0	0

FUENTE: Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) NGO-34-197, Ministerio de Economía, Guatemala C.A., 1,999

n = número de muestras que debe analizarse

c = número de muestras que se permite que tenga un recuento mayor que m pero no mayor que M

m = recuento mínimo recomendado

M = recuento máximo permitido.

El Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) establece los parámetros microbiológicos que deben de cumplir los alimentos que se comercialicen en el territorio centroamericano. Para los quesos frescos establece (5):

Cuadro No 3.

Parámetros Microbiológicos para queso fresco establecidos por el RTCA

Parámetro	Plan de muestreo		Límite	
	N	c	M	M
Coliformes fecales	5	1	10 UFC/g	10 ² UFC/g
<i>Escherichia coli</i>		0	-----	<10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>		1	10 ² UFC/g	10 ³ UFC/g
<i>Salmonella spp/25g</i>		0	-----	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes/25g</i>		0	-----	Ausencia

FUENTE: REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO (RTCA)

N = número de muestras que debe analizarse

c = número de muestras que se permite que tenga un recuento mayor que m pero no mayor que M

m = recuento mínimo recomendado

M = recuento máximo permitido.

4.3 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

4.3.1 Clasificación y Características Generales

El género *Staphylococcus* está ubicado junto a otros géneros en la familia Micrococcaceae. El nombre *estaphilococo*, se deriva del vocablo griego *staphyle*, (un racimo de uvas) y de *coco* (un grano o baya). Son cocos Gram positivos, catalasa positivo, no forman esporas, *pilis* ni flagelos; algunas cepas pueden formar cápsula en condiciones especiales y son aerobios o anaerobios facultativos. En la actualidad el género comprende 42 especies diferentes, de las cuales cinco son las que se asocian con mayor frecuencia a enfermedades en el ser humano, estas son: *S. aureus* (el miembro más virulento), *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus* y *S. lugdunensis*. (28, 37)

El *S. aureus* a diferencia de las otras especies de este género es la única que produce la enzima coagulasa, las otras especies son coagulasa negativas. (16,34)

El *Staphylococcus aureus* es un coco inmóvil, de 0,8 a 1 μm de diámetro, al microscopio puede aparecer solo, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa y catalasa, capaz de fermentar glucosa (y también manitol). Su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 35 a 40°C, pero puede crecer a cualquier temperatura entre los 6 y 46 °C. En cuanto al pH se desarrolla entre valores de 4,0 y 9,8 con un pH óptimo de entre 7.0 y 7,5; también soporta tasas elevadas de cloruro sódico, hasta en un 15%. Es bastante resistente a la desecación, la congelación y el calor. (37,24)

Es una bacteria que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza siendo comensal de la piel, las glándulas cutáneas, las mucosas, el aparato respiratorio superior y los tractos intestinal y genitourinario. (28,37)

4.3.2 Características de cultivo

Staphylococcus aureus forma colonias que miden de 1-3mm, lisas, elevadas, brillantes y de bordes enteros. Típicamente, las colonias presentan una consistencia cremosa con una coloración amarillenta o dorada debido a la producción de un pigmento carotenoide; casi todas las cepas tienen un halo de β -hemólisis completa alrededor de la colonia, cuando crecen en medio de cultivo con sangre. (28,37)

El género no presenta exigencias nutritivas crece bien en medios de cultivo

no selectivos, como agar sangre, agar chocolate o agar infusión cerebro-corazón. Existen medios selectivos diferenciales para el cultivo como el agar sal manitol (Chapman), el cual inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias gramnegativas, el medio Baird-Parker, con emulsión de yema de huevo y telurito de potasio, utilizado para aislar estafilococos a partir de alimentos; en este último medio las colonias de *S. aureus* aparecen negras, brillantes y convexas, rodeadas de un halo claro. Otros medios selectivos empleados son el agar sangre suplementado con colistina y ácido nalidíxico y el agar feniletanol, que también inhibe el crecimiento de bacterias gramnegativas. (28,37)

Una vez aislado el *S. aureus*, la identificación puede realizarse mediante pruebas bioquímicas convencionales. Inicialmente, la detección de catalasa permite diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa positivo) de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (catalasa negativos). La fermentación de glucosa permite diferenciarlo del género *Micrococcus*. La prueba de coagulasa es la más utilizada ya que permite la diferenciación del *S. aureus* de todas las demás especies de *Staphylococcus sp.* (28)

Otras pruebas no específicas son la fermentación de manitol y la producción de fosfatasa alcalina. (28)

Se puede realizar la identificación directa de *S. aureus* por técnicas de amplificación genética, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y PCR en tiempo real, sin embargo, estas técnicas tienen un costo elevado. (28)

4.3.3 Factores de virulencia

El *Staphylococcus aureus* posee numerosos factores de virulencia, en su

mayoría componentes de la pared celular, además de una variedad de proteínas con actividad biológica como enzimas y toxinas que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades. (15)

Algunas cepas se encuentran recubiertas por una cápsula, lo que le otorga al microorganismo una mayor capacidad de adherencia, así como un aumento del efecto antifagocítico. Su pared celular está compuesta por peptidoglicanos y ácidos teicoicos fundamentalmente. El peptidoglicano además de proporcionar forma y estabilidad tiene actividad de tipo endotoxina. Los ácidos teicoicos favorecen la adhesión de la bacteria ya que sirven de mediadores en la unión del *S. aureus* a las superficies mucosas. Otro componente importante que recubre uniformemente la pared celular de la mayoría de las cepas de *S. aureus*, es la proteína A, la cual confiere actividad antifagocítica. La superficie externa contiene también una proteína denominada factor de agregación o coagulasa de unión, la cual puede encontrarse ligada a la célula (*clumping factor*) o de forma libre en el medio, esta proteína puede depositar fibrina sobre la superficie del estafilococo evitando así la fagocitosis. Otras proteínas de superficie median la adherencia a los tejidos del huésped mediante uniones específicas al colágeno, elastina y fibronectina. (15,37)

Entre las enzimas y citotoxinas producidas por *S. aureus* se encuentran cuatro hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta), nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa, su función principal es contribuir a la degradación de los tejidos del huésped facilitando así nutrientes para el crecimiento y desarrollo de la bacteria. Algunas cepas son productoras de exotoxinas, las cuales son miembros de un grupo de toxinas proteicas pirógenas que median un espectro de enfermedades con manifestaciones clínicas y compromisos orgánicos similares, esta familia de toxinas incluye las enterotoxinas estafilicócicas (SEs), la toxina 1

del síndrome de shock tóxico (TSST-1), las toxinas exfoliativas (ETA y ETB) y la leucocidina. (15,19)

Las enterotoxinas son las que causan la intoxicación alimentaria por la ingesta de productos contaminados. Las enterotoxinas son proteínas de cadena simple no ramificadas compuestas por cantidades relativamente grandes de lisina, tirosina, ácido aspártico y ácido glutámico. Son solubles en agua, termoestables y resistentes a la hidrólisis de las enzimas gástricas y duodenales. Afectan los mecanismos de defensa inmunitarios del huésped. Actualmente se diferencian por su actividad serológica no menos de 7 enterotoxinas que se designan A, B, C₁, C₂, C₃, D y E, de estas la enterotoxina A es la que se asocia con mayor frecuencia con intoxicaciones alimentarias. (37)

4.3.4 Intoxicación alimentaria

La intoxicación alimentaria debida a estafilococos es causada por la ingestión de enterotoxinas termoestables, preformadas por una cepa toxigénica de *S. aureus* que contaminó y se desarrolló en el alimento, es en mayor medida una intoxicación por la acción de la toxina bacteriana que una infección debida al efecto directo del microorganismo. (19)

Forma parte del grupo de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS). Los alimentos que se contaminan con mayor frecuencia son las carnes elaboradas, los productos lácteos, ensaladas frías, postres, jamón, pollo, pavo, cerdo, roast beef, huevos y turrone. (4,19)

4.3.4.1 Epidemiología

El hombre es la fuente más importante de estafilococos y es el principal reservorio, siendo la mucosa nasal su hábitat primario, desde donde pasa a otras áreas corporales. Los animales también constituyen reservorios importantes principalmente el ganado y las aves de corral. (37,19)

La contaminación de los alimentos ocurre por contacto directo con la piel del manipulador portador o indirecto a través de micro gotas salivales o el uso de utensilios contaminados. Luego de contaminados los alimentos deben permanecer a temperatura ambiente o más elevada para que el microorganismo se desarrolle y libere la toxina. Las toxinas son termoestables por lo que un calentamiento posterior de los alimentos destruirá la bacteria pero no inactiva las toxinas. Los alimentos contaminados no presentan un aspecto ni sabor diferente. (19,27,37)

El período de incubación es 30min.-10hrs (promedio 2-6 hrs). Los síntomas se manifiestan abruptamente, apareciendo náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea acuosa y no sanguinolenta, mialgias, cefaleas (no fiebre) y en casos graves postración e hipotermia. Generalmente los síntomas duran menos de 24hrs. La letalidad es del 0.03% en población general y del 4% en ancianos y niños. (27)

4.3.4.2 Fisiopatología

Las enterotoxinas actúan uniéndose a las cadenas β del receptor de los linfocitos T en el intestino, provocando la acción enterotóxica, estimulando así el peristaltismo intestinal y ejerciendo efecto también sobre el sistema nervioso central. (19, 27)

4.3.4.3 Diagnóstico

Se basa en la sintomatología del paciente y en la determinación de la presencia de *S. aureus* (10^5 UFC/gr) en los alimentos consumidos. (27)

4.3.4.4 Tratamiento

Se centra en aliviar los espasmos abdominales y la diarrea así como en la reposición hídrica. El tratamiento antibiótico no está indicado. Los anticuerpos capaces de neutralizar la toxina pueden conferir protección, sin embargo la inmunidad es de corta duración. (4,19)

4.3.4.5 Prevención

Buenas prácticas higiénicas antes, durante y tras la preparación de los alimentos reduce las posibilidades de sufrir una intoxicación. Es importante mantener las superficies de cocina y utensilios a utilizar limpios y desinfectados.

La carne una vez cocida de forma adecuada debe consumirse lo antes posible o bien refrigerarse a una temperatura menor a 4°C si no será consumida inmediatamente para evitar el desarrollo bacteriano. Consumir únicamente productos lácteos debidamente pasteurizados. (19)

4.3.5 Brotes de intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus* asociados al consumo de lácteos a nivel mundial

Entre 1993 y el año 2000, en Latinoamérica y el Caribe, ocurrieron 191 brotes

por intoxicación estafilocócica; con 6,433 afectados y 2 muertes, en 40 casos el queso fue el alimento involucrado. (27)

Entre los años 1993 y el año 2002, en Guatemala se reportó un único caso de intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus* causada por queso. (27)

En Uruguay, según datos del Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las ETA, durante el período 1993-2001 han sido declarados 12 brotes de intoxicación estafilococcica, con un total de 164 afectados sin fallecimientos. En 9 de estos brotes los lácteos fueron el alimento responsable. (19)

En julio del año 2000 se reportó en Japón un total de 13,809 casos de intoxicación alimentaria en ocho estados del oeste. Se encontró que el origen del brote fueron tres tipos de leche que habían sido contaminadas por *Staphylococcus aureus* en la válvula de la línea de producción, en una planta de procesamiento de productos lácteos es Osaka. (42)

Bolaños, H; et al: 2007 reporta que en Costa Rica se logró determinar que en los tres brotes de intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus* ocurridas en el año 2005, la toxina del agente etiológico estaba presente en quesos frescos de fabricación artesanal. (3)

En febrero del año 2008 se informó un brote de intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus* en Honduras, donde 39 de 43 personas se infectaron al ingerir alimentos en una guardería. De las 39 personas infectadas 36 eran niños menores de 10 años y 3 adultos. El análisis bacteriológico realizado reportó que el

queso, la mantequilla y la cuajada fueron positivos a *Staphylococcus aureus*, tanto para los alimentos incautados en la guardería como en la bodega distribuidora, siendo identificados los productos lácteos como el medio de transmisión y el *S. aureus* como el agente etiológico del brote. (23)

En julio del año 2010 un control rutinario del inspector de la División de Control de Leche y Productos Lácteos en el condado de Queens, Nueva York reveló que el queso “Cotija Cheese” estaba contaminado con altos niveles de *Staphylococcus aureus*, por lo cual el fabricante retiró voluntariamente el producto del mercado. (26)

4.4 *ESCHERICHIA COLI O157:H7*

4.4.1 Características generales y clasificación

El género *Escherichia coli* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos que miden entre 1-1.5 μ m de diámetro por 2-6 μ m de largo, según las condiciones, pueden aparecer aislados o en pares. Son bacterias no esporuladas, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos. (30,37)

En condiciones normales esta bacteria forma parte de la microflora normal del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente, encontrándose, habitualmente en sus heces, por lo cual su detección en el agua y los alimentos sirve como índice de contaminación fecal de los mismos. (37,39)

La tipificación serológica de *E. coli* se basa principalmente en la determinación del tipo de antígenos O, H y K, lo cual le confiere propiedades antifagocíticas y de resistencia a la bacteria, proporcionándole con ello un alto poder invasivo. (37,29,30)

Las diferentes cepas de *E. coli* dependiendo de los factores de virulencia que poseen se clasifican en los siguientes grupos:

- Enterotoxigénicas (ETEC)
- Enteroinvasivas (EIEC)
- Enteroagregativas (EAEC)
- Enteropatógenicas (EPEC)
- Verotoxigénicas (VTEC)
- Enteroadherente (DAEC)

Escherichia coli O157:H7 pertenece al grupo de las *E. coli* enterohemorrágicas (ECEH), un subtipo de las *E. coli* Verotoxigenicas, la cual sin ser la única variedad serológica que integra el grupo, es el serotipo más prevalente e importante en relación a salud pública, no obstante otros serotipos de ECEH también han sido implicados tanto en brotes como en casos esporádicos. (30,37)

4.4.2 Características bioquímicas y de cultivo

Las *E. coli* crecen en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentan y oxidan en medios con glucosa u otros

carbohidratos, son catalasa positivo, oxidasa negativos y reducen nitratos a nitritos. Producen reacción positiva de rojo de metilo, y negativa de Voges-Proskauer, son H₂S, ureasa y fenilalanina negativas, pero en general indol positivo y decarboxilan la lisina. (29,30)

Las cepas del serotipo *O157:H7* tienen características que las diferencian del resto de *E. coli* y facilitan su cultivo y detección; así a diferencia de la mayoría de las cepas de *E. coli*, estas no fermentan sorbitol ni ramnosa, son β-glucuronidasas negativas y crecen en presencia de telurito de potasio y cefixima. (10,29)

Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C pero puede crecer a temperaturas entre un rango de 7°C a 50°C. Crece en alimentos acidificados, por debajo de un pH de 4.4 y en alimentos con una actividad de agua (Aw) mínima de 0.95. (2)

Para el estudio de *E. coli O157:H7* se han desarrollado diferentes medios selectivos como Agar MacConkey sorbitol (SMAC), CT-SMAC (con cefixima-telurito de potasio), Agar cefixima-ramnosa (CR-SMAC), medios que contienen MUG (4-metilumbeliferil-β-D-glucurónido) como el agar fluorocult O157 y los que contienen BCIG (5-bromo-4-cloro.3-indolil-β-Dglucurónido). (29,30)

El agar CT-SMAC contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben en gran medida el crecimiento de la microflora gram-positiva. La adición del suplemento de telurito de potasio y cefixima incrementa la selectividad de *E. coli O157:H7* y suprime la flora acompañante. También contiene sorbitol que junto con el indicador de pH rojo neutro, es utilizado para detectar colonias sorbitol positivo y

las convierte en color rojo; por otro lado, cepas sorbitol negativo, como *E. coli* O157:H7, forman colonias incoloras. (18,30)

El agar Fluorocult O157 contiene desoxicolato de sodio lo cual inhibe en gran medida la flora acompañante gram-positiva. El sorbitol contenido en el medio junto con el indicador de pH azul de bromotimo, ponen de manifiesto la degradación del sorbitol, lo que en casos de microorganismos sorbitol positivos se observan colonias amarillas; cepas sorbitol negativo por el contrario, no producen ningún cambio de coloración del medio por lo cual se observan colonias verdosas. La 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronidasa (MUG) contenida en el medio reacciona con gérmenes productores de β -D-glucuronidasa dando 4-metilumberiferona que fluoresce bajo luz UV. Contrariamente a la mayoría de cepas de *E. coli*, la O157:H7 no es capaz de formar β -D-glucuronidasa por lo cual al ser irradiada con luz UV no tiene lugar la formación de fluorescencia. (30)

Las colonias sospechosas son sometidas a pruebas de identificación bacteriológicas de rutina dentro de las que se encuentran la coloración de Gram, la producción de gas, la fermentación de azúcares, la ureasa, el citrato, Voges-Proskauer, indol, rojo de metilo y la de la motilidad. (29,30)

4.4.3 Factores de virulencia

E. coli O157:H7 posee factores de virulencia que le proporcionan la capacidad para provocar colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH) en los humanos. (13)

Su principal factor de virulencia son las citotoxinas llamadas verotoxinas o

“shiga-like toxins”, en sus variantes VT1 y VT2, estas toxinas inhiben la síntesis proteica al inactivar catalíticamente la subunidad ribosomal 60S. (2,29)

Además de las verotoxinas *E. coli* O157:H7 posee otros mecanismos de patogenicidad como el fenómeno de adherencia/destrucción (A/E), el gen cromosomal *eae* y el plasmido pO157. (2,12)

4.4.4 Epidemiología

Los bovinos son considerados el reservorio más importante ya que tanto el ganado de carne como el lechero son portadores de *E. coli* O157:H7. Esta bacteria coloniza el tubo digestivo del ganado y puede encontrarse también en las ubres, por lo cual los productos lácteos y la carne constituyen los vehículos de transmisión más frecuentes hacia el humano. (29)

La principal vía de transmisión son los alimentos contaminados tales como productos cárnicos crudos o mal cocidos, hamburguesas, embutidos fermentados, leche y jugo de manzana no pasteurizados, yogurt, quesos, mayonesa, papas, lechuga, agua entre otros. La contaminación de los alimentos se debe principalmente al contacto con las heces de los animales. Otras formas de transmisión incluyen la contaminación cruzada durante la preparación de los alimentos, el contacto directo del hombre con los animales, y de persona a persona por la ruta fecal-oral. (2,38)

La duración de la excreción de *E. coli* O157:H7 es de aproximadamente una semana o menos en adultos, pero puede ser más largo en los niños. (29)

La dosis infectiva capaz de ocasionar la enfermedad por parte de este grupo bacteriano es de 10 a 100 bacterias por gramo de alimento. (10)

4.4.5 Patogénia

Las verotoxinas son liberadas en el intestino, pasan a la sangre y causan daños en el epitelio vascular. Inducen una coagulación intravascular local y una acumulación de fibrina en el SNC, el sistema digestivo y en los riñones. Estos eventos conducen a un daño intestinal, renal, cerebral o multisistémico. (10)

4.4.6 Manifestaciones clínicas

E. coli O157:H7 produce en los seres humanos una infección que puede ser asintomática o puede provocar colitis hemorrágica (CH), síndrome urémico hemolítico (SUH) y púrpura trombótica trombocitopénica (PTT).

Los individuos más susceptibles a la infección son los niños y las personas de edad avanzada. (10,30)

El período de incubación puede variar entre 3-8 días, el cuadro clínico inicial incluye un período de 1 a 2 días de vómitos, fiebre baja o ausente, dolores abdominales severos, diarrea sin sangre y evidencia de edema de la mucosa colónica. Luego se desarrolla una diarrea sanguinolenta o colitis hemorrágica durante 4 a 6 días. En la mayoría de los casos la infección es autolimitante sin embargo se estima que un 10% de los pacientes desarrollan el SUH.

El síndrome urémico hemolítico (SUH) generalmente se desarrolla una semana después del comienzo de la diarrea, cuando el paciente está mejorando.

Se caracteriza por insuficiencia renal, anemia hemolítica y trombocitopenia. Los signos clínicos son: palidez, petequias, hematomas, oliguria, edema hipertensión arterial y cambios neurológicos como letargia o convulsiones. La tasa de mortalidad del SUH oscila entre un 3-5% y alrededor del 30% de las personas que lo han padecido, continúan con alteración de la función renal durante muchos años. (2,30,38)

El SUH se puede identificar mediante exámenes de laboratorio y corresponde a una anemia de comienzo agudo, con una hemoglobina menor de 10mg/dl o hematocrito menor a 30%; daño renal reflejado por hematuria, proteinuria, uremia mayor de 50mg/dl en ausencia de deshidratación o creatinina elevada y recuento plaquetario menor a 150,000mm³. Aproximadamente la mitad de los pacientes con SUH requiere diálisis y el 75% transfusión sanguínea. (2,38)

La púrpura trombótica trombocitopénica es la forma del SUH que generalmente se observa en los adultos, especialmente en ancianos.

Habitualmente se produce un menor daño renal que en los niños, pero son más comunes los signos neurológicos entre los que se incluyen el accidente cerebro vascular, convulsiones y deterioro del SNC. (29)

El diagnóstico se realiza mediante el hallazgo de *E. coli* O157:H7 en muestras fecales o en muestras de alimentos para determinar el origen de la infección. (38)

El tratamiento de la colitis hemorrágica es de sostén, incluyendo líquidos y dieta blanda. El uso de antibióticos y antidiarreicos es controversial, generalmente se evitan ya que estos incrementan el riesgo de presentar el SUH.

Los pacientes con complicaciones requirieron de cuidados intensivos incluyendo diálisis, transfusión y/o infusión de plaquetas. Los pacientes que desarrollan insuficiencia renal irreversible pueden necesitar trasplante de riñón. (12,38)

4.4.7 Prevención

Aplicando buenas prácticas de manufactura y de higiene, y estableciendo puntos críticos de control durante toda la cadena de producción del alimento se disminuyen los riesgos de contaminación con *E. coli O157:H7*. Las principales medidas para controlar la transmisión y prevenir la infección son:

- Asegurar prácticas de higiene durante el faenado del ganado.
- Utilizar distintos utensilios de cocina para los alimentos crudos y los cocidos.
- Antes de preparar alimentos lavarse las manos con agua y jabón.
- Asegurar una correcta y homogénea cocción de los alimentos.
- Consumir únicamente leche y subproductos lácteos que estén correctamente pasteurizados.

4.4.8 Brotes por *Escherichia coli O157:H7* a nivel mundial

Riley et al (1983). En 1982 ocurrió el primer brote de colitis hemorrágica en Estados Unidos, 47 personas se infectaron al ingerir alimentos de una cadena de comida rápida. Desde entonces *E. coli O157:H7* ha provocado numerosos brotes de colitis hemorrágica, la mayoría de los cuales han tenido lugar en EE.UU, Canadá, Japón y el Reino Unido. (2)

En 1985 ocurrió un grave brote de *E. coli* O157:H7 en una residencia de ancianos en Ontario, Canadá, en el cual se vieron afectados 55 de los 169 residentes y 18 de los 137 empleados, murieron 19 personas. (12)

Bell 1994, reporta un brote de *E. coli* O157:H7 el cual afectó a un grupo de estudiantes canadienses al visitar una granja en la cual consumieron leche fresca recién ordeñada. (2)

En 1988, se reportó el primer brote en una comunidad del Reino Unido, 24 personas fueron afectadas, en este caso los vegetales fueron asociados a la infección. (3)

Rowe et al 1991 y Rodriguez et al 1995, reportan que entre 1987 y 1991 entre las poblaciones de Alberta (Canadá) y Escocia, se establecieron 1773 casos de infección por *E.coli* O157:H7; 115 casos de SUH y 24 muertes, el consumo de carne fue la fuente más comúnmente implicada. (41)

Thomas et al 1996 reporta que en 1993 se presentó un brote en Sheffield (Inglaterra) en el cual tres niños sufrieron SUH después de haber bebido leche no pasteurizada y en ese mismo año se aislaron en Gran Bretaña cepas de *E. coli* O157:H7 de leche y carne cruda. (40)

Ontario, Canadá mayo del año 2000. En la localidad de Walkerton con una población de 5000 personas, se reportó un brote de *E. coli* O157:H7, cinco personas murieron y 27 fueron hospitalizados. La exposición a *E. coli* se cree que ocurrió entre el 12-15 de mayo. (2)

En 1992 se reportó en Francia un brote de SUH en el cual el alimento transmisor fue el queso fresco y *E. coli* O157:H7 el agente etiológico. Estudios posteriores revelaron el uso de leche cruda para la realización del queso fresco. (2)

En 1997, Inglaterra reportó 2 casos de infección por *E. coli* O157:H7 el alimento transmisor fue el queso tipo Lancashire, el cual fue elaborado con leche cruda. (3)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 Descripción del área

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Los quesos empleados para el estudio se colectaron de queserías ubicadas en los 22 mercados municipales de la capital de Guatemala, seleccionando 2 queserías al azar en cada uno, se tomaron muestras de queso fresco artesanal (4oz).

5.1.2 Recursos Humanos

- Estudiante investigador
- Asesores Médicos Veterinarios
- Técnicos de laboratorio

5.1.3 Recursos de tipo biológico

- 44 Muestras de queso fresco artesanal (4oz)

5.1.4 Materiales de Campo

- Bolsas plásticas
- Hielera
- Hielo
- Marcadores
- Maskin tape
- Guantes desechables
- Libreta de apuntes
- Lapiceros

5.1.5 Materiales y equipo de laboratorio

- Reactivos y Medios de cultivo
 - Agua peptonada
 - Caldo m-TSB
 - Agar CT- SMAC
 - Agar Fluorocult E.coli O157:H7
 - Agar Baird-Parker
 - Agar infusión cerebro corazón (BHI)
 - Pruebas bioquímicas
 - Coagulasa
 - Catalasa
 - IMViC
- Incubadora
- Horno
- Balanza
- Tijeras

- Pinzas
- Incinerador de asas bacteriológicas
- Campana de flujo laminar
- Pipetas volumétricas
- Asas bacteriológicas
- Refrigerador

5.1.6 Centros de referencia

- Biblioteca de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Internet

5.2 METODOLOGÍA

5.2.1 Muestreo

Para la realización del estudio se seleccionaron al azar 2 queserías de cada mercado municipal de la capital de Guatemala.

De cada quesería seleccionada se tomó una muestra de queso fresco artesanal (4oz).

Cada muestra fue identificada y transportada en hielera hacia el laboratorio de Microbiología de la FMVZ.

5.2.2 Procedimiento de laboratorio

➤ Determinación de Staphylococcus aureus

Se utilizó la norma UNE-EN ISO 6888-1:1999:

- ✓ Se pesó en condiciones asépticas 10g de la muestra de queso fresco luego se agregó 90ml de agua peptonada al 0.1%, se mezcló y homogeneizó durante 3 minutos.
- ✓ Se procedió a la siembra en placas de agar Baird-Parker mediante extensión en superficie incubando a 37°C durante 48hrs.
- ✓ Se realizó la lectura macroscópica de las colonias características de Staphylococcus aureus.
- ✓ A partir de estas se realizó la prueba bioquímica de catalasa, sembrando en agar BHI, incubando a 37°C durante 24hrs, a partir de allí se colocó en un portaobjetos una gota de peróxido de hidrógeno luego se tomó una de las colonias y al homogeneizar se observó el desprendimiento de gas.
- ✓ Asimismo se realizó la prueba de coagulasa sembrando la colonia característica en plasma citratado, dejando incubar a 37°C durante 24 hrs. Determinando la formación de coagulo en muestras positivas a *Staphylococcus aureus*.

➤ Determinación de Escherichia coli O157:H7

Se utilizó el método horizontal según la norma UNE-EN ISO 16654.2002

- ✓ Se pesó en condiciones asépticas 25g de la muestra de queso fresco luego se agregó 225ml de Caldo m-TSB, se mezcló y homogeneizó durante 3 minutos, incubándose a 37°C por 8 hrs.
- ✓ A partir de esta suspensión, se sembró por agotamiento en los medios de cultivo, agar CT-SMAC y Agar Fluorocult E. coli 0157, incubando a 37°C

durante 24hrs.

- ✓ De las colonias sugestivas a *E. coli* O157:H7 se sembró en los medios para las pruebas bioquímicas confirmativas. Para las cuales se tomó por separado 3-5 colonias de cada agar, sembrando la batería de pruebas bioquímicas IMViC (SIM, Caldo MRVP, agar Simmons Citrato) para confirmar la presencia de *E. coli*.

Cuadro No 4.

Resultados pruebas bioquímicas (IMVIC) positivas a *Escherichia coli*

Indol	Reacción MR	Reacción VP	Utilización de Citrato
+	+	-	-

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente estudio se llevó a cabo con el fin de determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos producidos de forma artesanal y expendidos en los mercados municipales de la capital de Guatemala. Se seleccionaron al azar dos queserías de cada mercado obteniendo un total de 44 quesos frescos artesanales muestreados.

En la tabla 1, se muestran los resultados obtenidos del análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus*.

Tabla No.1

Resultados obtenidos del análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus* en muestras de queso fresco artesanal distribuido en queserías de mercados municipales de la capital de Guatemala.

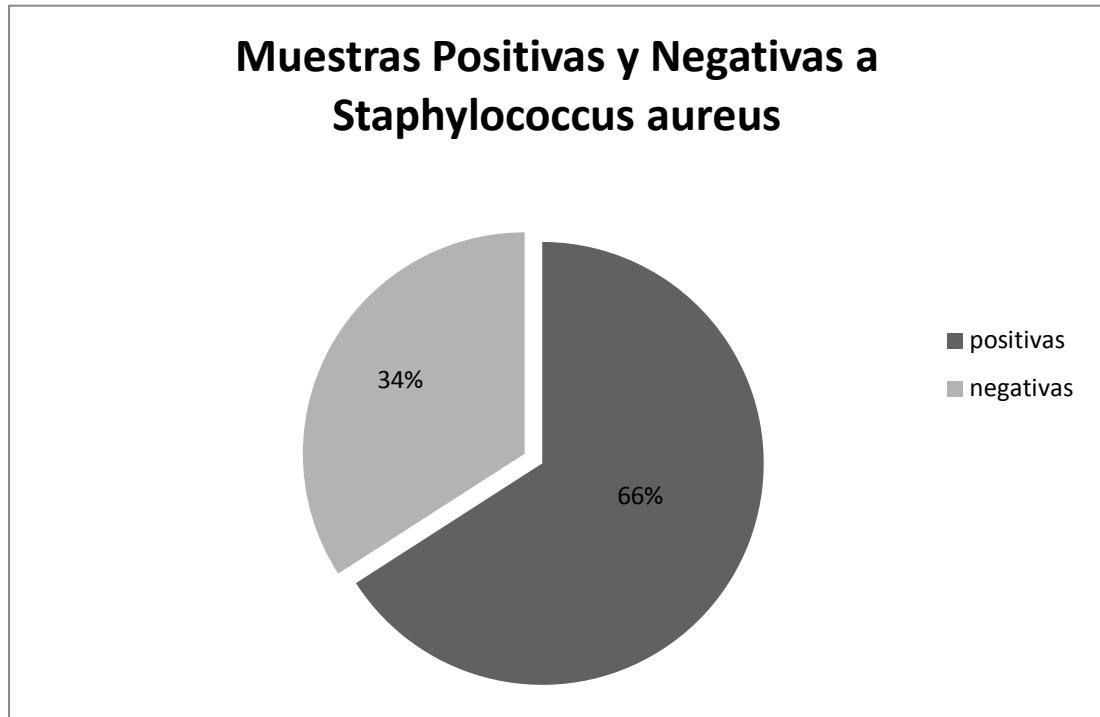
	Muestras positivas	%	Muestras negativas	%	Total Muestras
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	66	15	34	44

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA.

El género *Staphylococcus sp* se identificó en las 44 muestras de queso procesadas en este estudio; sin embargo, se confirmó mediante la prueba bioquímica de coagulasa la presencia de la especie *aureus*, únicamente en 29 muestras (66%).

Gráfica No.1

Determinación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en 44 muestras de queso fresco artesanal distribuido en queserías de mercados municipales de la capital de Guatemala.



En la gráfica anterior se observa el alto porcentaje de muestras positivas (66%) a *Staphylococcus aureus*.

La alta contaminación de estos quesos artesanales con *Staphylococcus aureus* se debe a varios factores entre ellos a una nula o deficiente pasteurización de la leche utilizada como materia prima en su elaboración. (31)

S. aureus puede ser destruido fácilmente a temperaturas utilizadas en la cocción de la cuajada durante la elaboración de los quesos frescos, pero las condiciones sanitariamente deficientes en la producción a nivel artesanal

ocasionan una alta contaminación con *S. aureus* posterior al período de cocción de la cuajada (31).

La mala higiene y manipulación desde el ordeño y conservación de la leche utilizada hasta la elaboración, transporte y comercialización de los quesos artesanales contribuyen a la contaminación de éstos con *S. aureus*, ya que el hombre constituye uno de los reservorios principales de este microorganismo, por lo cual alimentos expuestos a la manipulación humana tienen una alta posibilidad de contaminarse con esta bacteria. (Pascual y Calderón, 2000)

El presente estudio reflejó que en la mayoría de puestos de venta, el queso fresco es exhibido a temperatura ambiente sin refrigeración alguna, en lugares abiertos, manteniendo el producto en estas condiciones durante varias horas. Las temperaturas no adecuadas a las que son sometidos estos quesos durante su comercialización también contribuyen al aumento de la población de *S. aureus*. (Márquez y García, 2007)

Las condiciones anteriormente mencionadas aunadas al alto porcentaje de humedad del producto final (60-80%) proveen un ambiente ideal para el desarrollo e incremento de *S. aureus* en los quesos frescos artesanales.

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos del análisis microbiológico correspondiente a *Escherichia coli* O157:H7.

Tabla No.2

Resultados obtenidos del análisis microbiológico de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de queso fresco artesanal distribuido en queserías de mercados municipales de la capital de Guatemala

	Muestras positivas	%	Muestras negativas	%	Total Muestras
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	0	0%	44	100%	44

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Se observa que de las 44 muestras de queso fresco estudiadas el 100% resultaron negativas a *Escherichia coli* O157:H7.

La ausencia de *E. coli* O157:H7 en las muestras analizadas se debe principalmente al proceso de cocción de la cuajada en la elaboración del queso fresco artesanal ya que diversos estudios de inactivación térmica han revelado que *E. coli* O157:H7 es más sensible al calor que las cepas típicas de *Salmonella* spp por lo cual los tratamientos térmicos a una temperatura mayor de 60°C son suficientes para provocar la muerte de la *E. coli* O157:H7. (ICMSF, 1998).

El pH también es un factor que influye directamente en el crecimiento de este microorganismo ya que es incapaz de crecer en medios con pH ≥ 4.5 que contengan ácido láctico (ICMSF, 1998).

Además la leche contiene sustancias naturales con capacidad antimicrobiana como el sistema lactoperoxidasa el cual puede inhibir e inactivar esta bacteria. (Heusvelink *et al.*, 1999; Bastian y Sivelä, 2000)

Sin embargo, no se descarta la posibilidad de la presencia de este microorganismo

en los quesos frescos artesanales expendidos en los mercados municipales ya que la no detección de este pudo deberse a que se encontrase en muy bajas concentraciones. Además hay que tomar en cuenta que el efecto de dilución por el acopio del producto disminuye la posibilidad de aislar la bacteria. (Duncan, *et al.* 1994).

VII. CONCLUSIONES

1. Se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* y la ausencia de *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos artesanales expendidos en los mercados municipales de la capital de Guatemala.
2. De las 44 muestras de queso fresco artesanal analizadas en el presente estudio el 66% resultaron positivas a *Staphylococcus aureus*.
3. De las 44 muestras de queso fresco artesanal analizadas en el presente estudio el 100% resultaron negativas a *Escherichia coli* O157:H7.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar control sanitario de los quesos frescos artesanales por medio de recuentos microbiológicos de estas bacterias, ya que por ser alimentos listos para el consumo son de alto riesgo para el consumidor final.
2. Evitar la venta de quesos frescos artesanales en forma conjunta con productos cárnicos debido al alto riesgo de contaminación cruzada con otros productos de origen animal.
3. Se recomienda la implementación de programas de capacitación, a las personas involucradas en este tipo de producción, en las buenas prácticas de manufactura para mejorar la calidad e inocuidad del queso fresco artesanal.

IX. RESUMEN

El queso fresco artesanal es un alimento de consumo popular en Guatemala, tanto por su sabor como por ser uno de los productos económicamente más accesibles a los consumidores.

Este tipo de queso es un alimento susceptible a la contaminación microbiana ya que se realiza a partir de leche cruda y bajo condiciones de higiene y manipulación deficientes. La mala calidad higiénica de estos productos expone a los consumidores a riesgo de intoxicaciones alimentarias relativamente altos, lo cual puede tener consecuencias lamentables.

Con el objetivo de determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos artesanales expendidos en los mercados municipales de la capital de Guatemala, se analizaron 44 muestras de queso fresco artesanal tomadas al azar de los 22 mercados municipales de la capital.

Se utilizó el agar Baird Parker y la prueba bioquímica de coagulasa para la determinación de *Staphylococcus aureus* y los agares CT-SMAC y FLUOROCULT así como las pruebas bioquímicas IMVIC para la determinación de *E. coli* O157:H7.

Se determinó la presencia de *S. aureus* en el 66% de las muestras evaluadas y la ausencia de *E. coli* o157:h7 en el 100% de las mismas.

Los resultados obtenidos demuestran la importancia de implementar medidas de higiene tanto en la elaboración de los quesos frescos artesanales así como en el almacenamiento, transporte y venta de los mismos.

SUMMARY

The artisanal cheese is a popular consumption food in Guatemala, both for its taste and for being one of the more affordable consumer products.

This type of cheese is very susceptible to microbial contamination because it is made from raw milk and under conditions of poor hygiene and handling. The bad hygienic quality of these products exposes consumers to the risk of relatively high food poisoning, which may have unfortunate consequences.

In order to determine the presence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7 in fresh artisan cheeses expended in the municipal markets in the capital of Guatemala, 44 samples of artisanal cheese were analyzed, taken at random from the 22 municipal markets in the capital.

Using the Baird Parker agar and biochemical testing of coagulase to the determination of *Staphylococcus aureus* and the CT-SMAC agars and FLUOROCULT as well as biochemical IMVIC tests for the determination of *E. coli* O157: H7.

The presence of *S. aureus* was determined in 66% of the evaluated samples and the absence of *E. coli* O157: H7 in 100% of them.

The results obtained show the importance of implementing hygiene measures both in the elaboration of fresh artisanal cheeses as well as the storage, transport and sale of the same.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barrios Centeno, H. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Evaluación y Mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad de San Carlos de Guatemala. Oct. 2006. (en línea) Consultado 7 octubre 2011. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2422.pdf
2. Blanco, M. et al *Escherichia coli* verotoxigénico (ECVT) en España. (en línea) consultado 4 nov. del 2011 disponible en <http://www.usc.es/ecoli/vtese.html>
3. Brotes de diarrea e intoxicaciones transmitidas por alimentos en Costa Rica 2005. (en línea) consultado 16 sep. 2011 disponible en <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v49n4/3545.pdf>
4. Bustos-Martínez, J; Hamdan-Partida; A; Gutiérrez-Cárdenas, M. 2006. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev. Biomed. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México, D.F. México. (en línea) consultado 9 sep. 2011 disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb061746.pdf>
5. Cámara de Productores de Leche. Sector Lechero Guatemalteco. (en línea) consultado 21 oct. 2011 disponible en <http://lecheros.org/Sector%20Lechero%20Guatemalteco.pdf>

6. Castillo Nájera, A. Octubre 2006. Evaluación Sensorial y tipificación nutricional del queso fresco tipo golosina, elaborado a base de leche de vaca y endulzado con miel de abeja. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Zootecnia. (en línea) consultado 14 oct. 2011 Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1027.pdf
7. Criterio microbiológico para la inocuidad de alimentos. Reglamento técnico centroamericano RTCA 67.04.50:08. Ministerio de economía MINECO
8. Diseño de un pasteurizador de leche adaptado a las condiciones del pequeño productor artesanal de quesos. Marzo 2001. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Centro Universitario del Sur, Universidad de San Carlos de Guatemala. (en línea) consultado 21 oct. 2011 Disponible en <http://glifos.concyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%201998.39.pdf>
9. Dr. Ares Cea, J. Calidad de los Quesos, Fundamentos y Aspectos Generales. Centro de Investigación y Formación Agraria *Alameda del Obispo*. Córdoba. (en línea) consultado 14 oct. 2011 disponible en <http://www.insacan.org/racvao/anales/2002/articulos/15-2002-11.pdf>
10. E. coli enterohemorrágica. 2009. The Center for food security & public health. Iowa State University. (en línea) consultado el 4 de nov. del 2011 disponible en http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/ecoli_enterohemorragica.pdf
11. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Causas más Frecuentes en los niños. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Hospital Pediátrico “Juan Manuel Marquez” Cuba. (en línea) consultado 16 sept 2011 Disponible en: <http://www.inha.sld.cu/Documentos/ETAS.pdf>

12. Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC). World Health Organization. (en línea) consultado 4 nov. del 2011 disponible en: <http://www.who.int/media centre /factsheets/fs125/en/index.html>
13. Escherichia coli O157:H7 cultivo y detección de toxinas St1 y St2. (en línea) consultado 21 oct. 2011 disponible en: <http://www.ivami.com/noticiaindiv.php?idnoticia=123&opc=5&id=21&lang=en>
14. FAO Informe Técnico Sobre Ingeniería Agrícola y Alimentaria. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS Y SU IMPACTO SOCIOECONOMICO. Roma 2009. (en línea) consultado 7 oct. 2011 Disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s.pdf>
15. Fueyo Mendoza, J. 2005. Frecuencia y tipos de toxinas superantígenos en *Staphylococcus aureus*. Universidad de Oviedo, departamento de Biología Funcional, Área de Microbiología. (en línea) consultado 9 sep. 2011 disponible en <http://digital.csic.es/bitstream/10261/4806/1/tesis%20fueyo.pdf>
16. García-Rodríguez, JA; Picazo, JJ. 1999. Compendio de Microbiología Médica. Harcourt S. A. España. (en línea) consultado 2 sep. 20011 disponible en http://books.google.com.gt/books?id=OaSu2eowg_wC&pg=PA117&dq=microbiologia+staphylococcus&hl=es&ei=21J6TraQKom3tgfDgNnkDw&sa=X&oi=book_result&ct=bookhumbnail&resnum=7&sqi=2&ved=0CE4Q6wEwBg#v=onepag
17. Informe sobre iniciativas Especiales No. 10. Cuentas Nacionales de Salud: Guatemala septiembre 1998 Partnerships for health reform. (en línea) consultado 1 oct. 2011 disponible en <http://www.phrplus.org/Pubs/Sir10s.pdf>

18. Instrucciones de uso medios listos para usar. MacConkey Agar with sorbitol (en línea) consultado 23 sep. 2011 disponible en <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA-254455.pdf>
19. Intoxicación Alimenticia por *Staphylococcus aureus* (en línea) consultado 16 sep. 2011 disponible en <http://www.bvsops.org.uy/pdf/aureus.pdf>
20. Investigación y recuento de *Staphylococcus aureus*, método de recuento en placa. (en línea). Consultado 23 sep. 2011 disponible en: <http://virus.usal.es/web/demomicroali/Saureus/SaureusPlaca.html>
21. Lemus Godoy, C. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Determinación de Grasa y Reductasa en quesos Frescos de Marcas Comerciales. Tesis. Marzo 2006. (en línea) consultado 7 oct. 2011 disponible en: <http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/062406.pdf>
22. Márquez G. y García C. 2007. Tecnología de alimentos. Microflora patógena del queso. (en línea) consultado el disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/avn/v20n1/art04.pdf>
23. Mejía, M. et. al. 2008. Brote por *Staphylococcus aureus* en una guardería infantil en Choluteca, Honduras. Unidad de Riesgos Ambientales, Región de Choluteca, Hospital Regional del Sur (en línea) consultado 16 sep. 2011 disponible en <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/2009/pdf/Vol77-2-2009-4.pdf>

24. Microbiología de Alimentos. Área de Bromatología. Depto. Química Orgánica. (en línea) consultado 23 sep. 2011 disponible en: http://www.qo.fcen.uba.ar/quimor/wpcontent/uploads/2011/03/GuiaMicroAlimMod-II_2011.pdf
25. Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. 2009. Microbiología Médica. 6ed. Elsevier, España. (en línea) consultado 2 sep. 2011 disponible en: http://books.google.com.gt/books?id=GZ1JI9Aml8C&pg=PA460&lpg=PA460&dq=especies+de+staphylococcus&source=bl&ots=6RTSJ7tH2S&sig=u7wp_o6snFW5R6qs_X2IMnXlw0&hl=es&ei=LXh5TsuKIY5tqe51YUB&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=10&sqi=2&ved=0CGAQ6AEwCQ#v=onepage&q
26. New York: *Staphylococcus aureus* in queso Cotija Cheese. 2010. (en línea) consultado 16 sep. 2011 disponible en: <http://www.fda.gov/Safety/Recalls/ucm222631.htm>
27. Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Intoxicación Alimentaria Estafilococica. (en línea) consultado 9 sep. 2011 disponible en: <http://new.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroETAs/modulo2/modulo2n.html>
28. Pahissa Albert. 2009. Infecciones Producidas por Staphylococos aureus. Marge medica books. (en línea) consultado 2 sep. 2011 disponible en http://books.google.com.gt/books?id=qFRukXHQX6QC&pg=PA152&dq=microbiologia+staphylococcus&hl=es&ei=21J6TraQKom3tgfDgNnkDw&sa=X&oi=book_result&ct=bookthumbnail&resnum=4&sqi=2&ved=0CDwQ6wEwAw#v=onepage&q=staphylococcus&f=false

29. Prats, G. Llobet, T. y Margall, N. *Escherichia coli* O157H7, enterohemorrágica, Servicio de Microbiología, Hospital de Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona. (en línea) consultado 17 oct. 2011 disponible en <http://www.adiveter.com/ftp/articles/articulo1019.pdf>
30. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. (en línea) consultado 4 nov. del 2011 disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S003636342002000500011&script=sci_arttext&lng=pt#cuadro3
31. Ríos A. 1999. Apoyo del departamento de microbiología de alimentos del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INH “RR”) a la investigación de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). RedInstNacHig. “Rafael Rangel”.
32. Rivas, M. Leotta, G. y Chinen, I. 2008 Manual de procedimientos, diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina Shiga a partir de alimentos. Centro regional de referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur. (en línea) consultado el 4 de nov. del 2011 disponible en <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=IhllApW7G8c%3D&tabid=120&mid=460&language=es-ES>
33. Roches Vides, D. 2004. Análisis Microbiológico en Queso Fresco utilizando en método de Inmuno Ensayo. Tesis. Universidad Francisco Marroquín. Escuela de Nutrición. (en línea) consultado oct. 14 2011 disponible en <http://www.tesis.ufm.edu.gt/pdf/4060.pdf>

34. Romero Cabello, R. 2007. Microbiología y Parasitología Humana. 3ed. Ed. Médica Panamericana, México. (en línea) consultado 2 sep. 2011 disponible en: <http://books.google.com.gt/books?hl=es&id=Wv026CUhR6YC&dq=related%3AISBN8429118713&q=staphylococcus#v=snippet&q=staphylococcus&f=fal>
35. Schneider, S. Estudio de caso- enfermedades transmitidas por Alimentos en Guatemala. Consultor Fao, Guatemala. (em línea) consultado 23 sep. 2011 disponible em <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s04.pdf>
36. Sistema de información gerencial de Salud, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social SIGSA. (en línea) consultado 7 oct. 2011. Disponible en: <http://sigsa.mspas.gob.gt/sigsa>
37. Stanchi, N. et al. 2007. Microbiología Veterinaria. 2ª edición. Ed Inter Médica.
38. Villanueva Valencia, M. Universidad Veracruzana “Frecuencia de *Brucella spp*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 en Quesos Frescos sin Pasteurizar colectados en la zona Conurdaba Veracruz-Boca del Rio.” Tesis. Sep. 2010. (en línea) consultado 7 octubre 2011 disponible en: http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/9757/2/MAESTRIA_Mayra%20Villanueva%20Valencia.pdf
39. Wolfgang, J; Hilda, W. y Bernard, A. 1997. Zinsser Microbiology. 20a edición. Ed. Médica Panamericana S.A., Buenos Aires, Argentina.
40. World Health Organization. Escherichia coli infections WHO 2011. (en línea) consultado 21 oct. 2011 disponible en http://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/en/index.html

41. World Health Organization. Inocuidad de los alimentos. OMS 2011. (en línea) consultado 1 oct. 2011 disponible en http://www.who.int/topics/food_safety/es/
42. World Health Organization. Staphylococcal food intoxication in Japan. July 2000. (en línea) consultado 16 sep. 2011 disponible en http://www.who.int/csr/don/2000_07_10/en/index.html
43. Pascual, M. 1989. Microbiología alimentaria: detección de bacterias con significado higienico-sanitario. Centro nacional de alimentación, instituto de salud carlos III. Madrid.

XI. ANEXOS

Tabla 3.
Registro e identificación de muestras

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y
ESCHERICHIA COLI O157:H7, EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES
EXPENDIDOS EN MERCADOS MUNICIPALES DE LA CAPITAL DE
GUATEMALA.

REGISTRO E IDENTIFICACION DE MUESTRAS

Fecha:
Mercado:
Localización:
No. de puesto o Local:
Observaciones:

Tabla 4.
Registro de resultados

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
 DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *ESCHERICHIA COLI* O157:H7, EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN MERCADOS MUNICIPALES DE LA CAPITAL DE GUATEMALA.

RESULTADOS

Fecha:	
Mercado:	
Localización:	
No. de puesto o Local:	
Resultados	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Observaciones:	

FIGURA 1.
Diagrama del análisis Microbiológico Realizado para *Staphylococcus aureus*

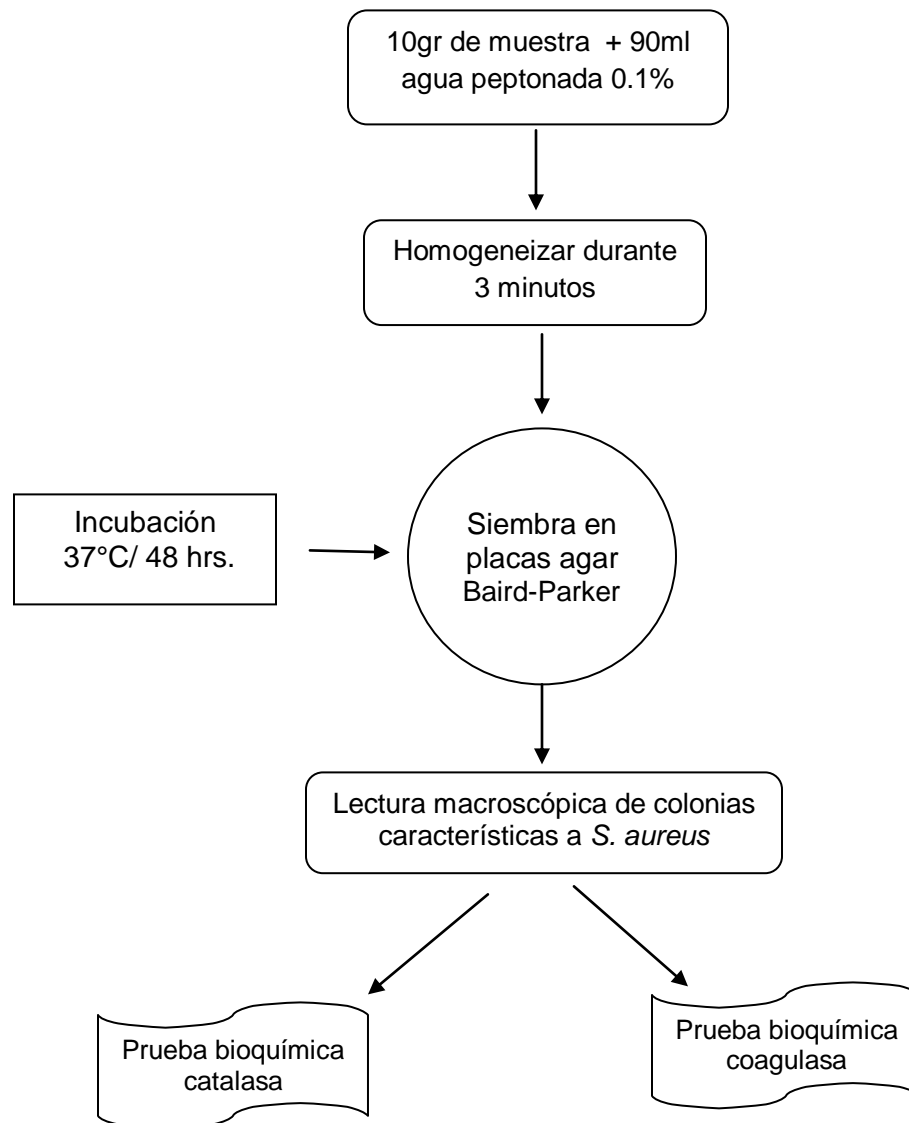
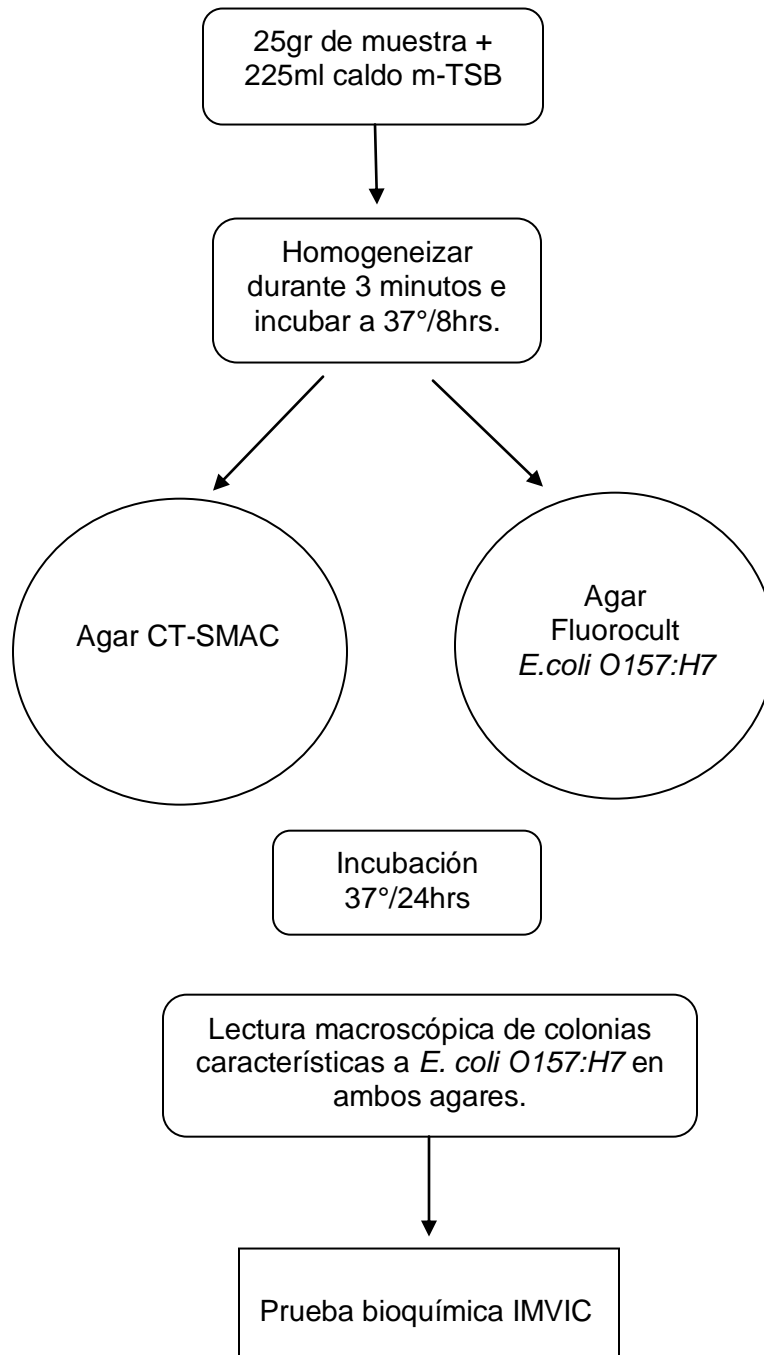


Figura 2.
Diagrama del Análisis Microbiológico Realizado para *Escherichia coli* O157:H7



FOTOS

Staphylococcus aureus



Colonias características de *Staphylococcus aureus*

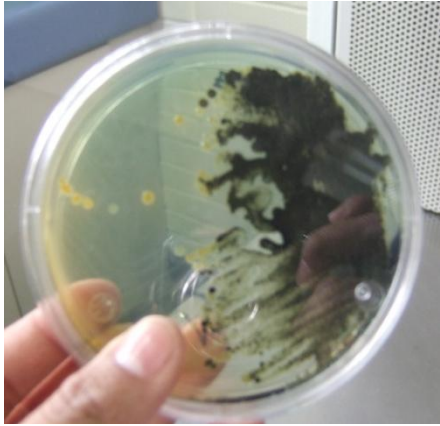


Prueba bioquímica catalasa positiva



Prueba bioquímica coagulasa positiva

***Escherichia coli* O157:H7**



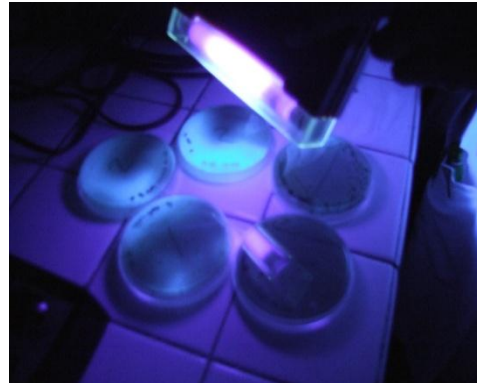
Agar Fluorocult
Colonias negativas



Agar Fluorocult
Colonias negativas



Agar CT-SMAC
Colonias negativas



Irradiación luz UV Agar Fluorocult
Colonias negativas



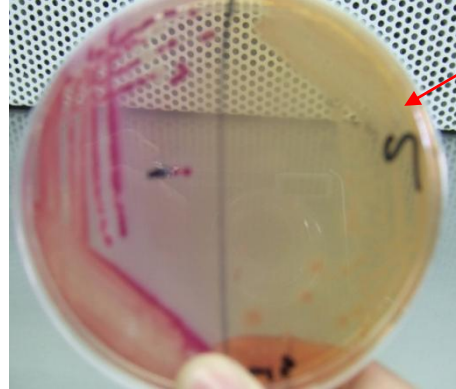
Agar Fluorocult
Colonias Sugestivas



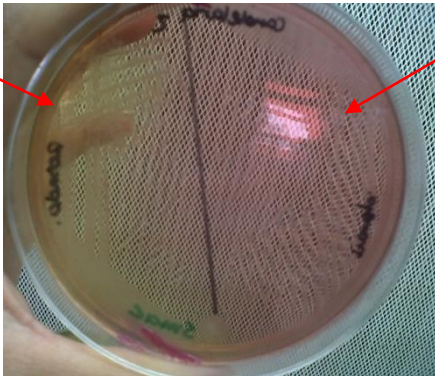
Agar Fluorocult
Colonias Sugestivas



Agar Fluorocult
Colonias Sugestivas



Agar CT-SMAC
Colonias sugestivas



Agar CT-SMAC
Colonias sugestivas *E.coli* o157:H7



Prueba bioquímica IMVIC
negativo *E. coli*

Tabla 5
Mercados Municipales Ciudad de Guatemala

Mercado	Puestos autorizados	Ubicación
CENTRAL	852	9 ^a . Av. entre 7 ^a .y 8 ^a . calle, zona 1
LA TERMINAL	4464	0 Av. entre 7 ^a . y 8 ^a . calle, zona 4
SUR 2	1,176	6 ^a . Av. entre 19 y 21 calle, zona 1
LA PRESIDENTA	507	2 ^a . Av. entre 21 y 22 calle, zona 1
COLÓN	467	13 Av. entre 7 ^a . y 6 ^a . calle, zona 1
PARROQUIA	623	Calle Martí y 11 Ave. zona 6
CERVANTES	143	Ave. Elena y 18 calle, zona 3
LA PALMITA	504	16 Av. entre 26 y 27 calle, zona 5
EL GUARDA	2,989	3 ^a . Av. entre 2 ^a . y 3 ^a . calle, zona 11
VILLA DE GUADALUPE	111	14 Av. entre 18 y 19 calle, zona 10
EL GRANERO	1,152	28 calle final Vía 1, zona 4
SAN MARTÍN DE PORRES	967	18 Av. entre 1 ^a . y 1 ^a . calle "A", zona 6
LA FLORIDA	1,087	12 Av. y 5 ^a . calle, zona 19
EL GALLITO	328	13 calle entre 2 ^a . y 3 ^a . Avenidas, zona 3

SAN JOSÉ MERCANTIL	627	5ª. calle y 12 Av. Quinta Samayoa, zona 7
LA CANDELARIA	73	5ª. Av. y 25 calle, Proyecto 4-3, zona 6
LA REFORMITA	231	11 Av. entre 22 y 23 calles, zona 12
LA ASUNCIÓN	130	35 Av. y 18 calle, zona 5
ROOSEVELT	264	12 Av. y 11 calle, zona 11
SANTA FE	112	11 Av. y 2ª. calle Santa Fe, zona 13
BETHANIA	267	11 Av. y 27 calle, zona 7
JUSTO RUFINO BARRIOS	87	Col. Justo Rufino Barrios, zona 21