

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

**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.**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR
AMALIA CAROLINA GIRÓN CALLEJAS

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, MAYO DE 2007

I. INDICE

II.	Resumen	2
III.	Introducción	4
IV.	Antecedentes	
	A. Municipio de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez	6
	B. Escuela “República Federal de Centroamérica”	6
	C. Refacción escolar	7
	D. Control microbiológico de los alimentos	10
	E. Control microbiológico de superficies	12
	F. Análisis microbiológico de agua	13
V.	Justificación	14
VI.	Objetivos	15
VII.	Materiales y Métodos	16
VIII.	Resultados	28
IX.	Discusión de resultados	30
X.	Conclusiones	33
XI.	Recomendaciones	34
XII.	Referencias	35
XIII.	Anexos	38

II. RESUMEN

Para evaluar la calidad microbiológica de la refacción de la escuela “República Federal de Centroamérica” se analizó la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus* en 100 bebidas nutritivas muestreadas aleatoriamente en enero y febrero del año 2007.

Los coliformes totales, coliformes fecales, y *Escherichia coli* fueron evaluados con el método estándar de tubos de fermentación múltiple, con sus fases presuntiva, confirmatoria y completa. *Staphylococcus aureus* fue analizado con el método estándar de conteo directo en placa en agar Baird-Parker.

Para establecer los límites microbiológicos aceptables de las bebidas nutritivas (no normado por COGUANOR) se consideró lo indicado en las normas del *Codex alimentarius* -principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para alimentos de la FAO- respecto a las prácticas de higiene para la leche y productos lácteos (CAC/RCP 57-2004), alimentos para lactantes y niños (CAC/RCP 21-1979), y de principios generales de higiene de los alimentos (CAC/RC 1-1969, Rev 4 (2003)). Por lo tanto para este estudio se consideraron “aceptables” aquellas bebidas nutritivas con un recuento de coliformes totales < 3 NMP/100 mL, coliformes fecales < 3 NMP/100mL, *Escherichia coli* ausente, y *Staphylococcus aureus* < 10 UFC/mL. El análisis de los resultados se realizó con estadística inferencial, estimando el porcentaje de refacciones no aptas con un intervalo de confianza del 95%.

También se investigaron las posibles fuentes de contaminación, mediante el muestreo por conveniencia de 20 superficies (16 tazas, 2 cubetas y 2 cucharones) y del agua empleada en la preparación de la refacción y limpieza de utensilios. La evaluación de superficies se hizo con base a los límites aceptados por US Public Health Service; y el agua por los límites COGUANOR NGO 29 001:99 1ra revisión Agua Potable Especificaciones. El análisis de los resultados se hizo en forma descriptiva.

El análisis microbiológico de detección y cuantificación de bacterias coliformes, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*, permitió estimar, con un 95% de confianza, que el 43% de las bebidas nutritivas que están ingiriendo los niños de la escuela “República Federal de Centroamérica”, no son aptas para consumo humano. El 98% de estas bebidas nutritivas no son aptas para consumo humano, son atribuibles a los recuentos de bacterias coliformes, y el 2% restante corresponde a aislamientos de *S. aureus*. No hubo aislamiento de *E. coli*, es decir que hay deficiencias sanitarias no atribuibles a contaminación fecal.

El alto porcentaje de bebidas nutritivas no aptas para consumo humano debido a los recuentos no aceptables de bacterias coliformes y la presencia de *S. aureus*, indican que hubo contaminación posterior al tratamiento térmico o que este fue ineficiente.

En ninguna de las superficies evaluadas se aisló *Escherichia coli*, sin embargo, todas las superficies, a excepción de un cucharón, presentaron valores elevados en el recuento aeróbico total y el 25% de las tazas tuvieron recuentos “no aceptables” de coliformes totales. Por lo tanto la falta de sanitización ambiental pudo conducir a la contaminación de las bebidas nutritivas terminadas y por ende a la reducción de la seguridad y calidad microbiológica de estas.

Según los criterios microbiológicos evaluados en el análisis del agua entubada de la escuela “República Federal de Centroamérica” de San Lucas Sacatepéquez, esta es sanitariamente segura para consumo humano.

Con base en los resultados del análisis microbiológico de las bebidas nutritivas, es necesario que la escuela “República Federal de Centroamérica”, por intermedio de la alcaldía municipal y con el apoyo del Centro de Salud de la localidad, establezca un programa permanente de control y evaluación de la calidad microbiológica de la refacción escolar.

III. INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país en el que las condiciones socioeconómicas corresponden al perfil de los países llamados en vías de desarrollo; en ese contexto, se explica el porqué de algunas políticas gubernamentales de apoyar directamente a las poblaciones vulnerables a padecer de deficiencias nutricionales, particularmente deficiencias protéico-calóricas. Algunos segmentos de la población infantil, particularmente la que asiste a establecimientos educativos públicos, se ha focalizado como población vulnerable que debe ser atendida, considerando que este problema de salud afecta el rendimiento escolar de los niños, ya que si están mal nutridos prestan menos atención en clase; esta es la razón de mayor importancia por la que las escuelas proporcionen a sus alumnos refacciones nutritivas. Además del criterio nutricional, es importante considerar la inocuidad microbiológica de los alimentos durante el proceso de preparación, y de esta manera proteger adecuadamente a los consumidores de las enfermedades o daños causados por los alimentos que pudieran estar contaminados, y así garantizar que sean aptos para el consumo humano (1).

En la escuela pública “República Federal de Centroamérica” del municipio de San Lucas Sacatepéquez se provee a los escolares una refacción consistente en un vaso diario de una bebida nutritiva (Incaparina, mosh, leche, leche con chocolate, arroz con leche y arroz con chocolate).¹

Para evaluar la calidad microbiológica de la refacción de la escuela “República Federal de Centroamérica” se analizó la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus* en 100 bebidas nutritivas muestreadas aleatoriamente en enero y febrero del año 2007. También se investigó las posibles fuentes

¹ Tohon E. 2006. Refacción escolar. Escuela pública “República Federal de Centroamérica” San Lucas Sacatepéquez. (Entrevista personal).

de contaminación, mediante el muestreo por conveniencia de superficies y del agua empleada en la preparación de la refacción. La finalidad de este estudio fue hacer recomendaciones pertinentes para la mejora de la calidad de la refacción escolar mediante el aseguramiento de la inocuidad de dicho alimento.

IV. ANTECEDENTES

A. Municipio de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez:

El municipio de San Lucas Sacatepéquez tiene una extensión territorial de 24.5 km², se encuentra a una altitud de 2,062 metros sobre el nivel del mar a una latitud de 14° 33 minutos, con un clima templado. El número de habitantes es 24,000 distribuidos en la cabecera de San Lucas Sacatepéquez, las aldeas Choacorrál, Manzanillo, Zorzoyá y la embaulada, además de los caseríos Chicaman, Chipablo y San José Chiquel (2).

El municipio cuenta con un puesto de salud ubicado en la cabecera. El mismo es atendido por dos enfermeras auxiliares y un médico practicante del Ejercicio Profesional Supervisado. Este centro de salud es el encargado, entre otras funciones, del control y evaluación del agua potable. Entre las principales causas de morbilidad registradas por este puesto de salud están las infecciones respiratorias superiores, amigdalitis, infecciones del tracto urinario, síndrome diarréico agudo, amebiasis, parasitismo, bronconeumonía, otitis, caries dentales y diferentes traumas.

Con respecto a la infraestructura educativa, la niñez y juventud sanluqueña es atendida por tres sectores: instituciones públicas, privadas y por cooperativa (3).

B. Escuela “República Federal de Centroamérica”:

La escuela “República Federal de Centroamérica” es una institución educativa pública mixta que atiende a estudiantes en un nivel de educación primaria en jornada matutina. Esta escuela se encuentra ubicada en el kilómetro 28.5 de la carretera interamericana en el municipio de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez, Guatemala. La escuela educa a 938 niños, distribuidos de la siguiente manera: 186 en cinco secciones de primero primaria, 169 en cinco secciones de segundo primaria, 197 en cinco secciones de tercero primaria, 161 en cuatro secciones de cuarto primaria, 119 en tres secciones de quinto primaria, y 106 en tres secciones de sexto primaria (4).

Los niños del primer grado de primaria están comprendidos entre 7 y 11 años de edad, los de segundo grado entre 7 y 12, los de tercer grado entre 8 y 14, los de cuarto grado entre 9 y 14, los de quinto grado entre 10 y 14, y los de sexto grado entre 11 y 14 (4).

C. Refacción escolar:

Durante la etapa escolar, se produce una desaceleración de la velocidad de crecimiento lineal con respecto a la que tuvo el niño durante el primer año de la vida, y a la que tendrá posteriormente durante la adolescencia. El crecimiento lineal en un niño sano es regular y sostenido acompañado de un crecimiento, también regular, del peso corporal. Por lo general, las necesidades energéticas de los niños de 7 a 10 años es de 2000 Kcal/día, 30g de proteínas, 78g de grasas, y 260 de carbohidratos; y las necesidades energéticas a los 11 a 14 años es de 2750 y 2500 Kcal/día, 54 y 43g proteínas, 106 y 97g de proteínas, 357 y 325g de carbohidratos para niños y niñas, respectivamente.

Según refiere la Guía de Alimentación para Centros Escolares de Extremadura España, hay un bajo rendimiento escolar en los niños que no desayunan, o lo hacen de una forma incorrecta, lo que supone que la hipoglucemia reduce el rendimiento escolar. Los niños mal nutridos prestan menos atención en clase (5).

La escuela pública “República Federal de Centroamérica” le proporciona a sus alumnos una refacción consistente en un vaso diario de una bebida nutritiva, de manera alterna: Incaparina, mosh, leche, leche con chocolate, arroz con leche y arroz con chocolate. Los alimentos anteriores, son nutricionalmente adecuados para lograr el objetivo de mejorar la condición nutricional de los alumnos; sin embargo, estos como cualquier otro alimento procesado en forma artesanal, sin normas de elaboración y buenas prácticas de manufactura, es susceptible de ser contaminado por patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Shigella*, *Salmonella*, rotavirus, virus de la hepatitis A, protozoos, helmintos, etc (1).

En este establecimiento educativo como en muchos otros que cuentan con el programa de refacción escolar, se ha trabajado, seguramente, con la mejor voluntad pero sin considerar aspectos de garantía de calidad, por lo cual no se cuenta con procedimientos sistemáticos de control de la calidad sanitaria de los mismos; por tales circunstancias, es conveniente hacer la evaluación propuesta en este trabajo, cuyos resultados podrían ser la base para establecer algún programa de garantía de calidad por parte de las autoridades municipales y escolares para beneficio de la población usuaria.

La refacción escolar es preparada de forma casera como se indica más adelante, en la cocina de dicho centro educativo, por una vecina de este municipio contratada específicamente para esta función, los alimentos que preparan son los siguientes (Anexos, Ilustraciones No. 1-6):

1. Leche entera:

La leche que sirven como parte de la refacción escolar en la escuela “República Federal de Centroamérica” es la leche entera en polvo. Una taza de leche preparada aporta 150 calorías, 9g de grasa total, 30mg de colesterol, 12g de carbohidratos totales y 8g de proteínas, y entre los micronutrientes están las vitaminas A, C, D, B₁₂, tiamina, riboflavina, ácido pantotéico, además de calcio, hierro, fósforo, magnesio y zinc.

Para preparar una porción de leche se adiciona 3 cucharadas de leche en polvo a una taza de agua hervida (6).

2. Leche con chocolate:

Esta bebida nutritiva es preparada al mezclar leche entera fluida con chocolate artesanal para bebidas (tabletas de cacao tostado y molido con azúcar). Este chocolate es adquirido en el mercado local y no posee registro sanitario.

3. Incaparina:

La Incaparina es una bebida nutritiva compuesta de harina de maíz, harina de soya, carbonato de calcio, hierro reducido, óxido de zinc, nicotinamida, maltodextrina, vitamina “A” como Palmitato, riboflavina, vitamina B12, mononitrato de tiamina y ácido fólico. Una porción de un vaso (18.75), considerando sólo la Incaparina, contiene en total 73 calorías, 4 gramos de proteína total, 1 gramo de grasa total, 12 gramos de carbohidratos totales y 4 gramos de fibra dietética.

Para preparar un litro de esta bebida se debe mezclar en una olla cuatro cucharadas soperas bien llenas de Incaparina (aproximadamente 75gramos) con cuatro cucharadas de azúcar. Se agrega cuatro vasos de agua fría y se agita hasta disolver completamente. Debe dejarse hervir durante ocho minutos y servir caliente. A la Incaparina de la refacción de la escuela “República Federal de Centroamérica” también se le adiciona leche entera en polvo (7-10).

4. Mosh (avena):

El mosh es un tipo de atol de avena. Una porción de media taza (40 gramos), considerando sólo el cereal, contiene en total 150 calorías, 5 gramos de proteína total, 3 gramo de grasa total, 27 gramos de carbohidratos totales y 25 gramos de fibra dietética.

Para preparar el atol se hierven tres tazas y media de agua con una taza y media de avena, removiendo constantemente. Al mosh de la escuela “República Federal de Centroamérica” también se le adiciona leche entera en polvo (11).

5. Arroz con leche y arroz con chocolate:

El arroz con leche es una bebida nutritiva que consiste en arroz cocido con abundante agua, leche y canela. El arroz es un cereal cuyo consumo está muy extendido, constituye la base de la dieta de casi la mitad de los habitantes del mundo. Además de ser una rica fuente de energía, también constituye una buena fuente de tiamina, riboflavina y niacina. Una porción de arroz blanco (1/4 taza-45g) aporta 160

calorías, 39g carbohidratos, 3g de proteínas y cantidades muy bajas de grasas, fibra y cenizas (6, 12).

El arroz con chocolate es una variante del arroz con leche, al cual se le adiciona chocolate artesanal para bebidas (tabletas de cacao tostado y molido con azúcar) este chocolate es adquirido en el mercado local y no posee registro sanitario.

D. Control microbiológico de los alimentos:

Todas las personas tienen derecho a que los alimentos que ingieren sean inocuos y aptos para el consumo humano. Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) son, en el mejor de los casos, desagradables, y en el peor pueden ser fatales. Los agentes responsables de las ETAs son bacterias y sus toxinas, virus parásitos, sustancias químicas, metales, micotoxinas, herbicidas, plaguicidas, etc. Las ETAs de origen bacteriano son las más frecuentes de todas, siendo los principales agentes etiológicos *Clostridium perfringens*, *C. botulinum*, *Bacillus cereus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, y *Listeria monocytogenes*. (1).

El propósito de evaluar la inocuidad microbiológica de los alimentos es proteger adecuadamente a los consumidores de las enfermedades o daños causados por los alimentos, al garantizar que sean aptos para el consumo humano. Los análisis básicos de un alimento incluyen el análisis de coliformes y *E. coli* ya que permiten detectar contaminación ambiental y fecal, así como *S. aureus* ya que es el agente etiológico más frecuente responsable de intoxicaciones por alimentos (13).

1. Bacterias Coliformes y *Escherichia coli*:

El término coliforme no es taxonómico, pero ha sido empleado para describir a un grupo de bacilos Gram negativo anaerobios facultativos, que fermentan la lactosa produciendo ácido y gas con 48 horas de incubación a 35°C. El grupo de coliformes

incluye a los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*. En 1914 el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos adoptó la enumeración de coliformes como el estándar más conveniente de sanitización (14).

A pesar que los coliformes son fáciles de detectar, su asociación con contaminación fecal es cuestionable ya que algunos coliformes se encuentran de forma natural en el ambiente. Esto llevó a la introducción de los coliformes fecales como indicadores de contaminación fecal. Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales, capaz de fermentar la lactosa a 44.5°C. Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en heces fecales, están formados por *Escherichia coli* y ciertas especies de *Klebsiella*. La inclusión de *Klebsiella* en el grupo de coliformes fecales disminuye la correlación de este grupo con la contaminación fecal (14, 15).

Escherichia coli ha sido considerado como el mejor indicador de contaminación fecal, esto basándose en la premisa de que *E. coli* se encuentra de manera abundante en las heces de humanos y animales, y que no se encuentra frecuentemente en otros nichos ecológicos, además que permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas. Otro factor importante a tomar en cuenta es que *E. coli* se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección (16).

Los coliformes totales, fecales y *E. coli* son utilizados como indicadores pero con diferente aplicación. 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 alimenticios (14).

2. *Staphylococcus aureus*:

Staphylococcus aureus es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, catalasa y coagulasa positivo. Algunas cepas de *S. aureus* son capaces de producir una toxina proteica termoestable que puede causar intoxicación alimenticia severa, incluso se le ha

identificado como el agente causal más frecuente de intoxicación individual y familiar por alimentos. Entre los alimentos que han sido implicados en intoxicación alimenticia estafilocócica están la leche, crema, quesos, carnes enlatadas, etc. Los síntomas de esta intoxicación son dolor abdominal, náusea, vómitos, a veces seguida de diarrea. La instalación de los síntomas es rápida (de 30 minutos a 8 horas) y usualmente remite espontáneamente después de 24 horas (17,18, 20).

Este es un microorganismo altamente vulnerable a destruirse por tratamiento con calor y a casi todos los agentes de sanitización. Por lo tanto la presencia de esta bacteria o sus enterotoxinas en alimentos procesados o en los utensilios usados para la preparación de alimentos es, por lo general, un indicador de una pobre sanitización (18,19, 21).

Los alimentos se examinan para la presencia de *S. aureus* para determinar si un alimento es una fuente potencial de intoxicación alimenticia por las toxinas de este microorganismo y para demostrar contaminación post-proceso, la cual esta generalmente ligada al contacto humano o superficies contaminadas que están en contacto con los alimentos. Las conclusiones respecto al hallazgo de *S. aureus* en alimentos deben hacerse con prudencia ya que, independientemente de la cantidad de estafilococos aislados, sí la cepa es productora de enterotoxina, puede ser la responsable de una intoxicación alimenticia (19, 22).

E. Control microbiológico superficies:

La higiene de las superficies, equipos y utensilios, es uno de los pilares donde se asientan las buenas prácticas de manufactura. Los microorganismos patógenos pueden pasar de un alimento a otro por contacto directo o bien a través de quienes los manipulan, de las superficies de contacto, o del agua con que son preparados. Una higiene correcta de los alimentos está determinada por diversos factores, entre los cuales se pueden mencionar las condiciones en que se obtienen los mismos, las características del transporte y

almacenamiento, la estructura de los locales donde se manipulan, y la higiene de los manipuladores de alimentos (13).

El objetivo del análisis de superficies es determinar el grado de contaminación ambiental ya que de las condiciones higiénicas del lugar de trabajo, utensilios, superficies y del propio manipulador, van a depender en gran parte el número y tipo de microorganismos presentes. La supervivencia y crecimiento de los microorganismos en los ambientes de las áreas de trabajo puede conducir a la contaminación de los productos terminados y la reducción de la seguridad y calidad microbiológica de estos. Las fuentes de contaminación de los ambientes incluyen materiales crudos, equipo de proceso, actividades de manufactura, sanitización y procesos de mantenimiento, operarios, desechos, plagas de animales e insectos (23).

F. Análisis microbiológico de agua:

Parámetros fisicoquímicos y biológicos determinan la potabilidad del agua para consumo humano. Entre los parámetros biológicos está la detección y enumeración de microorganismos indicadores, como las bacterias coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*. Los métodos comúnmente empleados para el análisis microbiológico del agua son la fermentación en tubos múltiples y la filtración por membrana. En este estudio es importante el análisis del agua entubada, ya que es la base de la preparación de la refacción escolar de la Escuela República Federal de Centroamérica, y podría ser una fuente de contaminación (13, 14).

V. JUSTIFICACIÓN

La desnutrición proteica-calórica es uno de los principales problemas de salud de la población guatemalteca, siendo los niños en edad escolar uno de los grupos más vulnerables. En el presente año, la escuela pública “República Federal de Centroamérica” del municipio de San Lucas Sacatepéquez, ha implementado una refacción consistente en un vaso diario de una bebida nutritiva (Incaparina, mosh, leche, leche con chocolate, arroz con leche y arroz con chocolate).

La implementación de la refacción escolar es un gran aporte a la nutrición y salud de los escolares sanluqueños, sin embargo no debe descuidarse los aspectos de inocuidad de dicho alimento. Desde el punto de vista microbiológico, los alimentos, en este caso la bebida nutritiva, debe cumplir con requerimientos estándares de inocuidad, como la ausencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, etc.

Asegurar la calidad microbiológica de los alimentos destinados a una población escolar es sumamente importante debido a la posibilidad de que esta población quede expuesta a un riesgo microbiológico (intoxicación alimentaria colectiva) por la falta de seguridad, derivada de procedimientos de elaboración de los alimentos que no estén debidamente controlados desde el punto de vista sanitario. Por esta razón, se realizó este estudio a fin de evaluar la calidad microbiológica de la refacción escolar que reciben los niños de la escuela pública de San Lucas Sacatepéquez, haciendo las recomendaciones pertinentes, a fin de mejorar la calidad de la refacción escolar mediante el aseguramiento de la inocuidad de dicho alimento.

VI.OBJETIVOS

A. Objetivo General

Evaluar la calidad microbiológica de la refacción escolar de la escuela pública “República Federal de Centroamérica” del municipio de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez, Guatemala.

B. Objetivos Específicos

1. Determinar la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en las bebidas nutritivas que constituyen la refacción escolar en la escuela “República Federal de Centroamérica”.
2. Determinar las posibles fuentes de contaminación mediante el análisis microbiológico del agua y utensilios con que se prepara y sirve la refacción escolar.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo y muestra

1. Determinación de la calidad microbiológica de la refacción escolar:

a) **Población:** refacción escolar de la escuela pública “República Federal de Centroamérica”

b) **Tamaño de la muestra:** 100 unidades

c) **Unidad muestral:** un vaso de bebida nutritiva servida de 100mL aproximadamente

2. Evaluación de las posibles fuentes de contaminación

a) **Población:** agua y utensilios con que se prepara y sirve la refacción escolar de la escuela pública “República Federal de Centroamérica”.

b) **Diseño de muestreo:** por conveniencia

c) **Análisis de resultados:** descriptivo

B. Materiales

1. Material y Equipo:

a) Hielera

b) Bolsas plásticas estériles

c) Bolsas plásticas estériles con tiosulfato de sodio

d) Rotulador

e) Pipeteador

f) Incubadora a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

g) Gradillas plásticas

h) Baño de María cubierto con un sistema circulante para mantener la temperatura de $44^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.

- i) Un termómetro del tipo de inmersión, de 1°C-55°C aproximadamente de 55 cm. de largo con subdivisiones de 0.1 °C, certificado por NIST.
- j) Vortex
- k) Asas de nicromo en argolla y en punta
- l) Cámara de Québec
- m) Hisopo estéril de mango de madera de 10 cm
- n) Aparato de filtración ensamblado
- o) Pinzas estériles de metal
- p) Balanza analítica

2. **Reactivos:**

- a) Caldo bilis verde brillante (CBVB)
- b) Caldo Lactosado
- c) Caldo EC (*Escherichia coli*)
- d) Caldo Tripticasa Soya
- e) Caldo Lethen (con tween 80 y lecitina)
- f) Agar ChromoCult
- g) Agar MacConkey
- h) Agar EMB (eosin methylene blue)
- i) Agar Baird-Parker
- j) Agar Manitol-Sal
- k) Plate Count Agar (PCA)
- l) Agar VRB (bilis-rojo-violeta)
- m) Agar Endo-C
- n) Agar TSI (Triple azúcar hierro)
- o) Agar LIA (agar lisina hierro)
- p) Medio semisólido MIO (movilidad indol ornitina)
- q) Agar citrato de Simons
- r) Agar urea
- s) Plasma citratado para prueba de coagulasa

- t) Medio MR-VP (rojo de metilo-Voges Proskauer)
- u) Rojo de metilo
- v) Reactivo de Kovacs
- w) α -nafttol
- x) KOH 40%
- y) Membranas de nitrocelulosa con poro de 0.45 μ m

3. **Cristalería:**

- a) Pipetas estériles graduadas, de 1.0 mL y 10.0 mL
- b) Frasco de dilución hecho de vidrio de borosilicato, con tapadera de rosca de polietileno, equipados con teflón.
- c) Tubos de ensayo con tapón de rosca o tapa de presión.
- d) Campanillas durham
- e) Esparcidores de vidrio
- f) Cajas de Petri estériles desechables

C. Recursos Humanos

1. Bachiller Amalia Carolina Girón Callejas, tesista
2. Licenciada Ana Rodas de García, asesora

D. Metodología:

1. Toma de muestra de la bebida nutritiva

- a) Rotular la bolsa plástica estéril
- b) Abrir la bolsa y depositar en ella una porción de la bebida nutritiva servida en la taza del niño.
- c) Sellar la bolsa y transportarla en cadena de frío de 5 a 8°C (24).

2. Cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en alimentos por el método de Tubos Múltiples de Fermentación

2.1. Fase presuntiva para el grupo coliforme:

- a) Transferir 25mL de la bebida nutritiva a un frasco de vidrio que contenga 225 mL de caldo lactosado (dilución 1:10) y homogeneizar.
- b) Transferir porciones de 10mL de la dilución 1:10, a 3 tubos con 10mL de caldo lactosado doble y campanilla de durham.
- c) Transferir porciones de 1mL de la dilución 1:10, a 3 tubos con 10mL de caldo lactosado simple y campanilla de durham.
- d) Transferir porciones de 0.1mL de la dilución 1:10, a 3 tubos con 10mL de caldo lactosado simple y campanilla de durham.
- e) No utilizar pipetas para dispensar menos del 10% del volumen total. Sostener la pipeta en un ángulo tal que su parte mas baja descansa sobre el tubo. Dejar que la pipeta escurra de 2 a 3 segundos.
- f) No deben pasar más de 15 minutos desde que la muestra diluida. Incubar los tubos por 48 horas +/-2 a 35°C.
- g) Examinar los tubos a las 24 +/- 2 horas y observar sí hay producción de gas (desplazamiento del caldo en las campanillas de durham y efervescencia cuando los tubos se agitan suavemente).
- h) Reincubar los tubos negativos por 24 horas adicionales. Examinar una segunda vez para producción de gas. Realizar la fase confirmatoria a todos los tubos con producción de gas en esta fase (tubos positivos) (14).

2.2. Fase confirmatoria para coliformes totales:

- a) Suavemente agitar cada tubo positivo de la fase presuntiva, y transferir una asada de la suspensión a un tubo de caldo bilis verde brillante (CBVB) con campanilla de durham.
- b) Incubar los tubos con CBVB por 48 horas +/- 2 horas a 35°C.

- c) Examinar sí hay producción de gas en los tubos y registrar resultados.
- d) Reincubar los tubos negativos por 24 horas adicionales. Examinar una segunda vez para producción de gas.
- e) Calcular el número más probable (NMP) de coliformes, tomando como base la proporción de tubos de caldo lactosado que contengan gas para tres diluciones consecutivas, confirmado en esta fase (14, 23).

2.3. Fase confirmatoria para coliformes fecales:

- a) Suavemente agitar cada tubo positivo de la fase presuntiva, y transferir una asada de la suspensión a un tubo de caldo *Escherichia coli* (EC) con campanilla de durham.
- b) Incubar los tubos con caldo EC por 44 +/- 2 horas a 45.5 +/- 0.2 °C.
- c) Examinar sí hay producción de gas a las 24 +/- 2 horas.
- d) Reincubar los tubos negativos por 24 horas adicionales. Examinar una segunda vez para producción de gas.
- e) Utilizar los resultados de esta prueba para calcular en NMP los coliformes fecales (14).

2.4. Fase completa para identificación de *Escherichia coli*:

- a) Estriar una asada de suspensión del 10% de los tubos positivos de caldo EC hacia cajas de Petri con agar ChromoCult y VRB. Incubar de 18-24 horas a 35 °C.
- b) Evaluar la presencia de colonias características de *E. coli* en el agar ChromoCult, colonias moradas (β -D-glucuronidasa positivo), y realizarles una batería de pruebas bioquímicas de identificación.
- c) Reportar NMP/mL de coliformes fecales, y *E. coli* como presente o ausente (14).

3. Presencia de *Staphylococcus aureus*

3.1. Aislamiento de *Staphylococcus aureus*:

- a) Transferir 25mL de la bebida nutritiva a un frasco de vidrio que contenga 225 mL de caldo Tripticasa Soya (dilución 1:10) y homogeneizar. Hacer diluciones 1:100, 1:1000 y 1:10000 en caldo Tripticasa Soya.
- b) Para la dilución 1:100, asépticamente transferir 1 mL de la suspensión de la muestra a 3 cajas de agar Baird–Parker, distribuyéndolo de la siguiente manera: 0.4 ml, 0.3 ml y 0.3 ml.
- c) Para la dilución 1:1000 y 1:10000, asépticamente transferir 1 mL de la suspensión de la muestra a 2 cajas de agar Baird–Parker, distribuyéndolo de la siguiente manera: 0.5 ml y 0.5 ml.
- d) Esparcir el inóculo sobre la superficie de la caja de agar, utilizando esparcidores estériles de vidrio doblado.
- e) Retener las cajas en posición hacia arriba hasta que el inóculo sea absorbido por el agar (aproximadamente 10 minutos). Si el inóculo no es absorbido del todo, colocar las cajas hacia arriba en una incubadora por 1 hora.
- f) Invertir las cajas e incubar 24-48 horas a 35°C (18).

3.2. Recuento de colonias:

- a) Las colonias de *S. aureus* son circulares, suaves, convexas, húmedas, de 2-3 mm de diámetro en cajas no muy pobladas, grises a negras, frecuentemente presentan un margen ligeramente coloreado, rodeadas por una zona opaca y frecuentemente con una zona clara afuera. Las colonias tienen una consistencia pegajosa cuando se tocan con el asa bacteriológica. Ocasionalmente se pueden encontrar cepas no lipolíticas en las que las zonas opacas y claras están ausentes.

Si varios tipos de colonias se observan (parecidas a *S. aureus*) en las cajas seleccionadas, contar el número de colonias de cada tipo y registrar los recuentos separadamente (25).

- b) Cuando las cajas de la dilución menor contienen <20 colonias, estas pueden ser utilizadas.
- c) Si las placas que contienen >200 colonias tienen colonias con apariencia típica de *S. aureus* y las colonias típicas no aparecen a diluciones mayores, utilizar estas cajas para la enumeración de *S. aureus*, pero sin contar las colonias atípicas.
- d) Seleccionar más de una colonia de cada tipo contada y hacerles las pruebas de la producción de coagulasa y manitol sal.
- e) Sumar el número de colonias en las tres cajas de la misma dilución, que han sido confirmadas con la prueba de coagulasa, y multiplicarlo por el factor de dilución de la muestra.
- f) Reportar este número como UFC de *S. aureus* / mL de la bebida nutritiva analizada (18, 23).

3.3. Pruebas de identificación:

- a) Producción de Coagulasa: Transferir las colonias sospechosas de *S. aureus* a tubos pequeños conteniendo 3-4 mL de plasma citratado. Incubar a 35°C y examinar periódicamente durante 4-6 horas para la formación de coágulo, si después este período no se ha formado un coágulo, dejar incubar a temperatura ambiente por 24 horas más. Únicamente un coágulo firme y completo que permanece en su lugar cuando el tubo se mueve o se invierte se considera positivo para *S. aureus*.
- b) Manitol Sal: con un asa bacteriológica inocular en una caja de Petri con Manitol Sal las colonias sospechosas de *S. aureus*. Incubar la placa invertida por 24 horas a 35°C. Evaluar la presencia de colonias manitol sal positivo (colonias de color amarillo) propias de *S. aureus* (18).

4. Análisis de Superficies:

El análisis rutinario de manos y superficies incluye la identificación y cuantificación de coliformes totales, *E. coli* y recuento aeróbico total (RAT). El análisis de *S. aureus* es válido en el caso de que la muestra sea de manos (23).

4.1. Toma de Muestra:

- a) Remover la cubierta de papel de hisopo desde la parte inferior, cuidando de tomar el hisopo solo por la parte de abajo del mango de madera y que esta porción no se introduzca dentro del tubo de ensayo con caldo Letheen.
- b) Abrir el tubo con el caldo Letheen y humedecer el hisopo, presionar y rotar el hisopo contra la pared interior del tubo de ensayo para eliminar el exceso.
- c) Frotar el hisopo sobre la superficie en estudio tres veces, en tres direcciones diferentes, en un área representativa.
- d) Introducir el hisopo en el tubo de ensayo con caldo Letheen (dilución 1:10) cuidando de no contaminarlo y quebrando el mango hasta donde se ha manipulado y cerrarlo.
- e) Transportar en cadena de frío de 5-8°C y analizar dentro de las 24 horas después del muestreo (23).

4.2 Análisis de la muestra:

- a) Tomar 1mL del caldo Leethen inoculado, y depositarlo en una caja de Petri estéril vacía. Verter 20mL de agar PCA a 45°C. Homogeneizar y dejar solidificar.
- b) Tomar 1mL del caldo Leethen inoculado, y depositarlo en una caja de Petri estéril con 10mL de agar VRB. Verter 5mL de agar VRB a 45°C. Homogeneizar y dejar solidificar.
- c) Invertir las cajas de PCA, VRB y Baird-Parker e incubar 24-48 horas a 35°C (23).

4.3 Reporte e interpretación de resultados:

- a) Después del período de incubación, contar el número de unidades formadoras de colonia (UFC) que creció en cada caja de agar PCA, multiplicar por el factor de dilución y reportar el recuento aeróbico en placa como UFC/ 50 cm² del objeto.
- b) Examinar la caja de Petri con agar VRB para la presencia de colonias de color fucsia oscuro, sugestivas de coliformes, realizar un recuento e inocular en caldo BVB para confirmar coliformes totales, y agar ChromoCult para la presencia de coliformes fecales y *E. coli*. Por medio de una batería bioquímica confirmar la presencia de *E. coli*.
- c) Multiplicar el recuento por el factor de dilución y reportar como UFC/ 50 cm² del objeto indicando sí el aislamiento corresponde a coliformes totales o fecales. Indicar la presencia o ausencia de *E. coli*.

5. Cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en agua potable entubada por el método de filtración con membrana

5.1. Toma de muestra:

- a) Desinfectar el chorro con alcohol etílico al 70% y flamear.
- b) Abrir el chorro y dejar correr el agua por 2 a 3 minutos, o por un tiempo suficiente que permita que se limpie la línea de servicio. En el momento de la toma de muestras se debe disminuir el flujo para evitar salpicaduras.
- c) La bolsa plástica estéril debe mantenerse cerrada hasta antes de ser llenada, se debe llenar evitando las salpicaduras y se debe cerrar inmediatamente (26).

5.2. Filtración de la muestra:

- a) Esterilizar el equipo flameando la parte interior del embudo o cuba antes de comenzar una serie.

- b) Preparar dos embudos o cubas de filtración colocando una membrana de filtración en la base de cada uno, colocando los poros y la superficie de la membrana de manera correcta. De manera cuidadosa colocar el embudo y cerrar con el gancho.
- c) Llenar los dos embudos a la marca de 100 mL, y cerrar la boca del embudo con la tapadera. Filtrar la muestra con aspiración parcial. Con el filtro aún colocado, lavar el interior y la superficie del embudo con 3 porciones de 20 ó 30 ml de agua estéril.
- d) Evitar todo tipo de contaminación durante la serie de filtrado. Al finalizar el lavado retire de forma cuidadosa el embudo e inmediatamente remueva la membrana con pinzas estériles, luego coloque cada membrana en una caja de Petri con agar Endo-C tratando de evitar que queden burbujas de aire.
- e) Incubar una caja de Petri en posición invertida a $35 \pm 0.5^{\circ}$ C durante 22 a 24 horas para coliformes Totales.
- f) Incubar la otra caja de Petri en baño maría por 24 a 48 horas a 44.5° C +/- 0.2° C (26).

5.3. **Cuantificación de coliformes totales:**

- a) Cuantificar las colonias sospechosas de coliformes en la caja de Petri con agar Endo-C incubada a 35 °C. Una colonia coliforme típica es aquella que tiene color rosado a rojo. Contar las colonias típicas y atípicas. Las colonias atípicas pueden ser rojas y oscuras, mucoides, o sin brillo. Generalmente las colonias consideradas como no coliformes son de color rosado, azul, blanco o sin color y opacas.
- b) Se debe hacer una verificación de las colonias sospechosas de coliformes, ya que ocasionalmente, algunas colonias de no coliformes pueden producir el brillo metálico y algunas colonias atípicas (rojo oscuro o nucleadas sin brillo) pueden ser coliformes.
- c) Transferir las colonias sospechosas desde la membrana con un asa estéril a un tubo con caldo de Bilis Verde Brillante y campanilla de durham, e incubar a

35 ± 0.5 ° C por 48 horas. La formación de gas reafirma el crecimiento de coliformes totales.

- d) Reportar como número de UFC de coliformes totales/100 mL de agua. Si no se observan colonias características de coliformes se debe reportar como < 1 UFC de coliformes totales / 100 mL (26).

5.4. **Cuantificación de coliformes fecales y presencia de *E. coli*:**

- a) Cuantificar las colonias sospechosas de coliformes que presenten brillo metálico (el brillo puede ocupar un área pequeña o cubrir toda la colonia). en la caja de Petri con agar Endo-C incubada a 44.5 °C.
- b) Para confirmar la presencia de coliformes fecales, transferir un inóculo con asa estéril de la superficie de la membrana a una caja de Petri con MacConkey o EMB. Incubar a 35°C +/- 0.5°C por 24 +/- 2 horas.
- c) Evaluar la presencia de colonias características de coliformes fecales, es decir colonias lactosa positivas, que se observan en MacConkey de color rojo-rosado, y en EMB colonias con centros de color morado oscuro a negro, y bordes claros. Frecuentemente *E. coli* produce en agar EMB colonias con brillo metálico. Realizar la prueba de IMVIC (indol-rojo de metilo-Voges Proskauer-citrato) para confirmar la presencia de *E. coli*.
- d) Reportar el número de UFC/100mL de coliformes fecales y *E. coli* como presente o ausente (27).

6. **Diseño estadístico**

Para determinar la calidad microbiológica de las bebidas nutritivas se evaluarán cuatro variables: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*; siendo sus criterios de clasificación: aceptable/no aceptable. Considerando que la Comisión Guatemalteca de Normalización (COGUANOR) no ha normado la producción casera de atoles, se considerará para establecer el criterio de

“aceptable/no aceptable”, haciendo las adaptaciones respectivas, lo indicado en las siguientes normas CODEX: Código de prácticas de higiene para la leche y productos lácteos (CAC/RCP 57-2004), Código internacional recomendado para prácticas de higiene para alimentos para lactantes y niños (CAC/RCP 21-1979), y el Código internacional de prácticas recomendado - principios generales de higiene de los alimentos (CAC/RC 1-1969, Rev 4 (2003)). Por lo que para este estudio se considerarán “aceptables” aquellas bebidas nutritivas con un recuento de coliformes totales < 3 NMP/100 mL, coliformes fecales < 3 NMP/100mL, *Escherichia coli* ausente, y *Staphylococcus aureus* < 10 UFC/mL.

Se espera estimar la proporción de unidades muestrales que no cumplen las normas para consumo, con un 95% de intervalo de confianza, un límite de error del 10%, y suponiendo la máxima variación posible; por lo que se evaluarán 100 unidades muestrales. El muestreo se realizará totalmente al azar por medio de una tabla de números aleatorios. El análisis de los resultados se hará con estadística inferencial, estimando el porcentaje de refacciones no aptas con un intervalo de confianza del 95% (28-30).

Para evaluar las posibles fuentes de contaminación se realizará un muestreo por conveniencia del agua y utensilios con que se prepara y sirve la refacción escolar de la escuela pública “República Federal de Centroamérica”. Las superficies serán evaluadas con base a los límites aceptados por US Public Health Service, y el agua por los límites COGUANOR NGO 29 001:99 1ra revisión Agua Potable Especificaciones. El análisis de los resultados se hará descriptivo (31).

VIII. RESULTADOS

Se realizó un muestreo aleatorio con reemplazo en las 25 secciones que conforman el nivel primario de la escuela “República Federal de Centroamérica”. La distribución de las 100 bebidas nutritivas servidas fue: 32 muestras de leche, 21 de arroz con chocolate, 19 de arroz con leche, 14 de mosh, 7 de leche con chocolate y 7 de Incaparina (Anexos, Tabla No. 1).

El análisis microbiológico de dichas muestras -por medio de la técnica de tubos múltiples de fermentación- para la variable “Recuento de coliformes totales”, permitió clasificar como “no aceptable” a 17 muestras de leche, 8 de arroz con chocolate, 8 de arroz con leche, 7 de mosh y 2 de incaparina, lo que en conjunto representó el 42% de las unidades muestreadas (Anexos, Tabla No. 2). De estas 42 muestras, 3 también fueron clasificadas como “no aceptables” para la variable “coliformes fecales”, siendo éstas: 2 de arroz con leche y 1 de mosh (Anexos, Tabla No. 3).

En cuanto a la variable *Escherichia coli*, el 100% de las muestras fueron catalogadas como “aceptables” (Anexos, Tabla No. 4). Para la variable *Staphylococcus aureus* solamente una muestra de arroz con chocolate fue clasificada como “no aceptable”, pero cabe mencionar que la muestra cumplía con los criterios de aceptabilidad para las otras tres variables evaluadas (Anexos, Tabla No. 5).

Con base a la integración de las cuatro variables evaluadas, la proporción de bebidas nutritivas “aptas para consumo humano/no aptas para consumo humano” fue de 57/43, distribuyéndose de la siguiente manera: 15/17 de leche, 12/9 de arroz con chocolate, 11/8 de arroz con leche, 7/7 de mosh, 7/0 de leche con chocolate y 5/2 de Incaparina (Anexos, Tabla No. 6).

Con respecto al tipo y cantidad de superficies, se muestrearon 16 tazas que los escolares utilizaban para servirse la bebida nutritiva, así como 2 cucharones y 2 cubetas de las empleadas para distribuir y servir las bebidas nutritivas (Anexos, Tabla No. 7). Las 16 tazas fueron clasificadas como “no aceptables” para la variable recuento aeróbico total, de igual manera que las 2 cubetas y uno de los cucharones (Anexos, Tabla No. 8). En cuanto a la variable coliformes totales para superficies, 4 de las tazas muestreadas fueron “no aceptables” (Anexos, Tabla No. 9). Sin embargo, el 100% de las superficies evaluadas fueron “aceptables” para la variable *Escherichia coli* (Anexos, Tabla No.10). Es decir que, basado en las tres variables mencionadas, fueron “no aceptables” las 16 tazas, las 2 cubetas y uno de los dos cucharones (Anexos, Tabla No. 11).

Se realizó un análisis microbiológico del agua utilizada en la preparación de las refacciones escolares y limpieza de utensilios, evaluándose los criterios de recuento heterotrófico en placa, coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, resultando valores satisfactorios en cada parámetro, por lo que esta agua fue clasificada como “aceptable”, es decir sanitariamente segura para consumo humano (Anexos, Tabla No. 12).

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para establecer los límites microbiológicos aceptables de las bebidas nutritivas (no normado por COGUANOR) se consideraron aspectos tales como: ser potencial vehículo de enfermedades transmitidas por alimentos, susceptibilidad de ser contaminado por patógenos, probabilidad de crecimiento microbiano durante la manufactura y distribución, tratamiento que recibe la bebida antes de ser consumida (proceso de cocción), la susceptibilidad (edad y estado nutricional, en este caso) de los consumidores a agentes patógenos. Las anteriores consideraciones son las mismas que toma en cuenta las normas del *Codex alimentarius* -principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para alimentos de la FAO- respecto a las prácticas de higiene para la leche y productos lácteos (CAC/RCP 57-2004), alimentos para lactantes y niños (CAC/RCP 21-1979), y de principios generales de higiene de los alimentos CAC/RC 1-1969, Rev 4 (2003)).

El análisis microbiológico, que incluía la detección y cuantificación de bacterias coliformes, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*, permitió estimar- con un 95% de confianza, un límite de error del 10%, y suponiendo la máxima variación posible- que el 43% de las bebidas nutritivas que están ingiriendo los niños de la escuela “República Federal de Centroamérica”, no son aptas para consumo humano.

La detección de las bacterias coliformes es usada como indicador general de las condiciones sanitarias del ambiente donde se procesan o distribuyen los alimentos, y *E. coli* como indicador de contaminación fecal. El 98% de las bebidas nutritivas que no son aptas para consumo humano, tienen recuentos de bacterias coliformes superiores a lo “aceptable” considerado para este estudio, sin embargo en ninguna de estas se aisló *Escherichia coli*. Es decir que, a pesar de no haber contaminación fecal, fue evidenciado deficiencias sanitarias en las bebidas servidas a los escolares.

El restante 2% de las bebidas nutritivas no aptas para consumo humano, corresponde a la presencia de *S. aureus*. Este es un microorganismo altamente vulnerable a destruirse por tratamiento con calor y a casi todos los agentes de sanitización, es decir que la presencia de esta bacteria en las bebidas nutritivas indicó también una pobre sanitización en el procesamiento de esta refacción.

Con respecto al análisis de superficies, se consideró que las únicas superficies que tenían contacto con la bebida nutritiva eran las tazas de los escolares, los cucharones y cubetas empleadas para distribuir y servirla; por lo que fueron muestreadas por conveniencia 20 de estas superficies con el objetivo de determinar el grado de contaminación ambiental. En ninguna de las superficies evaluadas se aisló *Escherichia coli*, es decir que no había contaminación fecal; sin embargo, todas las superficies, a excepción de un cucharón, presentaron valores elevados en el recuento aeróbico total y 4 de las tazas muestreadas tuvieron recuentos “no aceptables” de coliformes totales, con base a los límites aceptados por US Public Health Service.

La supervivencia y crecimiento de los microorganismos en las superficies que tendrían contacto con las bebidas nutritivas pudo conducir a la contaminación de estos alimentos terminados y por ende a la reducción de la seguridad y calidad microbiológica de estos. Las posibles causas de contaminación de estos utensilios pudieron ser un lavado ineficiente y un mal almacenamiento posterior a su uso.

En este estudio se evaluaron los criterios de recuento heterotrófico en placa, coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en el agua entubada de la escuela. Según los límites COGUANOR NGO 29 001:99 1ra revisión, esta agua es sanitariamente segura para consumo humano.

El alto porcentaje de bebidas nutritivas no aptas para consumo humano por recuentos no aceptables de bacterias coliformes y la presencia de *S. aureus*, que son microorganismos que se eliminan fácilmente por tratamiento térmico, en estos alimentos sometidos a calor

indican que hubo contaminación posterior al tratamiento térmico -lo cual es congruente con la evidencia de que las superficies que tienen contacto con estas bebidas no cumplen con los requerimientos sanitarios- o que este fue ineficiente. Lo anterior pone de manifiesto que este alimento procesado en forma artesanal y sin normas de elaboración fue susceptible de ser contaminado por patógenos, por lo que es importante verificar la aplicación correcta de las buenas prácticas de manufactura, y considerar por parte de las autoridades municipales y escolares la implementación de un sistema de gestión destinado a garantizar la inocuidad de los alimentos como el sistema HACCP (análisis de peligros y de puntos críticos de control) para beneficio de la población usuaria.

X. CONCLUSIONES

1. El análisis microbiológico de detección y cuantificación de bacterias coliformes, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*, permitió estimar con un 95% de confianza, que el 43% de las bebidas nutritivas que están ingiriendo los niños de la escuela “República Federal de Centroamérica”, no son aptas para consumo humano.
2. El 98% de las bebidas nutritivas que no son aptas para consumo humano son atribuibles a los recuentos de bacterias coliformes, y el 2% restante corresponde a aislamientos de *S. aureus*. No hubo aislamiento de *E. coli*, es decir que hay deficiencias sanitarias no atribuibles a contaminación fecal.
3. El alto porcentaje de bebidas nutritivas no aptas para consumo humano por recuentos no aceptables de bacterias coliformes y la presencia de *S. aureus*, indican que hubo contaminación posterior al tratamiento térmico o que este fue ineficiente.
4. En ninguna de las superficies evaluadas se aisló *Escherichia coli*, sin embargo, todas las superficies, a excepción de un cucharón, presentaron valores elevados en el recuento aeróbico total y el 25% de las tazas tuvieron recuentos “no aceptables” de coliformes totales. Por lo tanto la falta de sanitización ambiental pudo conducir a la contaminación de las bebidas nutritivas terminadas y por ende a la reducción de la seguridad y calidad microbiológica de estas.
5. Según los criterios microbiológicos evaluados en el análisis del agua entubada de la escuela “República Federal de Centroamérica”, esta es sanitariamente segura para consumo humano según COGUANOR NGO 29 001:99 1ra revisión Agua Potable Especificaciones.

XI. RECOMENDACIONES

1. Con base en los resultados del análisis microbiológico de las bebidas nutritivas de la escuela “República Federal de Centroamérica”, descrito en la presente investigación, es necesario que la referida escuela, por intermedio de la alcaldía municipal y con el apoyo del Centro de Salud de la localidad, establezca un programa permanente de control y evaluación de la calidad microbiológica de la refacción escolar.
2. Se recomienda que el programa de control y evaluación de la calidad microbiológica, sugerido en el inciso anterior, implemente Buenas Prácticas de Manufactura en la preparación de las refacciones escolares.
3. Se recomienda que el programa de control y evaluación de la calidad microbiológica, sugerido en el inciso 1, se apoye como elemento técnico del control sanitario en el sistema de gestión HACCP (análisis de peligros y de puntos críticos de control) destinado a garantizar la inocuidad de los alimentos.
4. Como parte de la filosofía de Extensión Universitaria y de Servicio a la Comunidad, la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por medio del Laboratorio de Análisis Fisicoquímicos y Microbiológicos-LAFYM- propicie un nexo de colaboración con las autoridades municipales de San Lucas Sacatepéquez, con el propósito de dar el seguimiento necesario a la recomendación de que se establezca el programa de evaluación y control sanitario indicado en el numeral 1.
5. Establecer como parte del programa de evaluación y control sanitario, un plan de educación sobre higiene personal y alimentaria a los escolares, esto considerando que el 100% de las tazas evaluadas estaban sanitariamente deficientes.

XII. REFERENCIAS

1. Código Internacional de Practicas Recomendado-Principios Generales de Higiene de los Alimentos. CAC/RCP 1-1969. 2003;4:1-35
www.codexalimentarius.net
2. Comisión Institucional para el Desarrollo y Fortalecimiento de la Propiedad de la Tierra. Monografía Catastral San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez. Guatemala: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, 1999. 70p.
3. Municipalidad de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez. Datos estadísticos. Oficina de Catastro. Municipalidad de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez. Guatemala. 2006.
4. Ministerio de Educación. Boleta del establecimiento y del docente. Formulario de actualización. Dirección departamental de educación Sacatepéquez Coordinadora Técnica de Administración. Ministerio de Educación. Guatemala 2006.
5. Remón J. et.al. Guía de alimentación para centros escolares”. Consejería de Sanidad y Consumo de Extremadura. Dirección General de Salud Pública. España. 2003
http://www.juntaex.es/consejerias/syc/dgcsc/Libro_Guia_Alimentacion_Portada.pdf
6. Nestle. Nido powder milk. Nestlé ® Nido ®.
<http://www.nestleusa.com/PubOurBrands/BrandDetails.aspx?lbid=2F44BE7F-0AA0-40F8-822D-FDC8E0F81E64>
7. Scrimshaw Nevin. The Background and history of Incaparina. Food and nutrition policy.
<http://www.unu.edu/unupress/food/8F022e/8F022E01.htm#A%20look%20at%20the%20Incaparina%20experience%20in%20Guatemala>
8. Wise Robert. The case of Incaparina in Guatemala. Food and nutrition policy.
<http://www.unu.edu/unupress/food/8F022e/8F022E01.htm#The%20case%20of%20Incaparina%20in%20Guatemala>
9. Delgado Hernán. The task of INCAP in the generation of knowledge, methodologies and technologies in support of nutrition and food safety in Central America. XXXV

- Meeting of the advisory committee on health research. Pan American Health Organization, 2000. 22p.
10. Scrimshaw N. et.al. All-Vegetable Protein Mixtures for Human Feeding. V. Clinical Trials with INCAP mixtures 8 and 9 and with Corn and Beans. *Am J Clin Nutr.* 1961; 9:196-205
 11. Quaker ® Oatmeal. Old Fashioned Quaker Oats, hot cereal. Quaker Oatmeal Health Professionals Web Site.
<http://www.quakeroatmeal.com/ourProducts/quakerOats/product.cfm?productid>
 12. Food and Agriculture Organization. El Arroz y la Nutrición Humana. FAO Food and Nutrition Division. 2004. <http://www.fao.org/rice2004/es/f-sheet/hoja3.pdf>
 13. Bañez C & Ramseyer G. Foodborne illness and outbreak investigation manual. Kansas Department of Health and Environment. USA. 2004
 14. Feng P, Weagant SD, and Grant MA. Bacteriological Analytical Manual Online; Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. 8. ed. U.S. Food and Drug Administration, 2001.
<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>
 15. Health Products and Food Branch . Enumeration of Coliforms, Faecal coliformes and of *E. coli*. Proposed Official Method. Government of Canada. Ottawa. 2002.
 16. Bornemann S. et. al. *Escherichia coli*. Bacterial Pathogenesis and Genomics Unit. University of Birmingham. UK. <http://www.micron.ac.uk/organisms/eco.html>
 17. Le Loir Y, Baron F, and Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res.* 2003;2(1):63-76.
<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2003/vol1-2/pdf/sim0009.pdf>
 18. Bennett R and Lancette G. Bacteriological Analytical Manual Online; *Staphylococcus aureus*. 8. ed. U.S. Food and Drug Administration, 2001.
<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>
 19. Center of Food Safety and Applied Nutrition. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook; *Staphylococcus aureus*. U.S. Food and Drug Administration, 2001.
<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap3.html>

20. Lechevallier M and Seidler Ramon. *Staphylococcus aureus* in Rural Drinking Water. Appl. Environ. Microbiol. 1980;30(4):739-742
21. Palumbo S, Smith J, and Kissinger J. Destruction of *Staphylococcus aureus* During Frankfurter Processing. Appl. Environ. Microbiol. 1977;34(6):740-744
22. Health Products and Food Branch. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in cheese. Proposed Official Method. Government of Canada. Ottawa. 2002.
23. Downes FD. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. 4th ed. 2001.
24. Health Products and Food Branch. Collection of Samples. Official Methods for the Microbiological Analysis of Foods. 1993. http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume1/index_e.html
25. Lachica Victor. Accelerated Procedure for the Enumeration and Identification of Food-Borne *Staphylococcus aureus*. Appl. Environ. Microbiol. 1980;39(1):17-19
26. Clesceri LS. Greenberg AE. & Eaton AD. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Membrane Filter Technique for Members of the Coliform Group. 20 ed. Wshington DC. American Public Health Association
27. Evans T. et. al. Coliform Species Recovered from Untreated Surface Water and Drinking Water by the Membrane Filter, Standard, and Modified Most-Probable Number Techiques. Water. Appl. Environ. Microbiol. 1981;41(3):657-663
28. FAO/OMS. Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. CAC/RCP 57-2004
29. FAO/OMS. Código internacional recomendado de prácticas de higiene para alimentos para lactantes y niños. CAC/RCP 21-1979
30. FAO/OMS. Código internacional de prácticas recomendado-principios generales de higiene de los alimentos. CAC/RCP 1-1969, Rev 4 (2003)
31. Daniel W. Bioestadística. 4 ed. México DF. Limusa. 2002.755p.

XIII. ANEXOS

Ilustración No.1 Cocina de la Escuela República Federal de Centroamérica



Ilustración No.2 Ollas empleadas en la preparación de la refacción escolar



Ilustración No.3 Lavatrastos de la cocina de la Escuela República Federal de Centroamérica



Ilustración No.4 Utensilios usados en la distribución de la refacción escolar



Ilustración No. 5 Preparando la bebida nutritiva



Ilustración No.6 Sirviendo la refacción escolar



Tabla No. 1 Tipo y cantidad de bebidas nutritivas muestreadas

Bebida nutritiva	No. muestras
Leche	32
Arroz con chocolate	21
Arroz con leche	19
Mosh	14
Leche con chocolate	7
Incaparina	7
Total	100

Tabla No. 2 Proporción de bebidas nutritivas “aceptable/no aceptable” respecto a la variable “Coliformes Totales”

Bebida nutritiva	Recuento de Coliformes Totales	
	Aceptable (<3 NMP/100mL)	No aceptable (>3NMP/100mL)
Leche	15	17
Arroz con chocolate	13	8
Arroz con leche	11	8
Mosh	7	7
Leche con chocolate	7	0
Incaparina	5	2
Total	58	42

Tabla No. 3 Proporción de bebidas nutritivas “aceptable/no aceptable” respecto a la variable “Coliformes Fecales”

Bebida nutritiva	Recuento de Coliformes Fecales	
	Aceptable (<3 NMP/100mL)	No aceptable (>3NMP/100mL)
Leche	32	0
Arroz con chocolate	21	0
Arroz con leche	17	2
Mosh	13	1
Leche con chocolate	7	0
Incaparina	7	0
Total	97	3

Tabla No. 4 Proporción de bebidas nutritivas “aceptable/no aceptable” respecto a la variable “*Escherichia coli*”

Bebida nutritiva	<i>Escherichia coli</i>	
	Aceptable (ausencia)	No aceptable (presencia)
Leche	32	0
Arroz con chocolate	21	0
Arroz con leche	19	0
Mosh	14	0
Leche con chocolate	7	0
Incaparina	7	0
Total	100	0

Tabla No. 5 Proporción de bebidas nutritivas “aceptable/no aceptable” respecto a la variable “*Staphylococcus aureus*”

Bebida nutritiva	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Aceptable (<10 UFC/mL)	No aceptable (>10 UFC/mL)
Leche	32	0
Arroz con chocolate	20	1
Arroz con leche	19	0
Mosh	14	0
Leche con chocolate	7	0
Incaparina	7	0
Total	99	1

Tabla No. 6 Proporción de bebidas nutritivas “aptas para consumo humano/no aptas para consumo humano” con base a la integración de las cuatro variables evaluadas

Bebida nutritiva	Aptas para consumo humano	No aptas para consumo humano
Leche	15	17
Arroz con chocolate	12	9
Arroz con leche	11	8
Mosh	7	7
Leche con chocolate	7	0
Incaparina	5	2
Total	57	43

Tabla No. 7 Cantidad y tipo de superficies muestreadas

Superficies	Cantidad muestreada
Tazas de los escolares	16
Cubetas	2
Cucharones	2
Total	20

Tabla No. 8 Proporción de superficies muestreadas “aceptables/no aceptables” respecto a la variable “Recuento aeróbico total”

Superficies	Recuento aeróbico total	
	Aceptable (<100 UFC/50cm²)	No aceptable (>100 UFC/cm²)
Tazas de los escolares	0	16
Cubetas	0	2
Cucharones	1	1
Total	1	19

**Tabla No. 9 Proporción de superficies muestreadas “aceptables/no aceptables”
respecto a la variable “Coliformes totales”**

Superficies	Recuento de Coliformes Totales	
	Aceptable (<10 UFC/50cm ²)	No aceptable (>10 UFC/cm ²)
Tazas de los escolares	12	4
Cubetas	2	0
Cucharones	2	0
Total	16	4

**Tabla No. 10 Proporción de superficies muestreadas “aceptables/no aceptables”
respecto a la variable “*Escherichia coli*”**

Superficies	<i>Escherichia coli</i>	
	Aceptable (ausencia)	No aceptable (presencia)
Tazas de los escolares	16	0
Cubetas	2	0
Cucharones	2	0
Total	20	0

**Tabla No. 11 Proporción de superficies muestreadas “aceptables/no aceptables”
respecto a la integración de las tres variables evaluadas**

Superficies	Aceptable	No aceptable
Tazas de los escolares	0	16
Cubetas	0	2
Cucharones	1	1
Total	1	19

Tabla No. 12 Análisis microbiológico del agua utilizada en la preparación de las refacciones escolares y limpieza de utensilios

Análisis	Resultado	Límites COGUANOR NGO 29 001:99
Recuento heterotrófico en placa	<10 UFC/mL	No presenta límites
Coliformes totales	<1 UFC/100mL	<1 UFC/100mL
Coliformes fecales	<1 UFC/100mL	<1 UFC/100mL
<i>Escherichia coli</i>	<1 UFC/100mL	<1 UFC/100mL