

PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* EN ALIMENTOS Y MANIPULADORES DE RESTAURANTES ESCOLARES DEL SUR DEL DEPARTAMENTO DEL TOLIMA.

IBETH ORTEGON MORENO

Trabajo de grado como requisito parcial para optar por el título de Biólogo.

Director

MARTHA LILY OCAMPO GUERRERO
Bacterióloga, sp Microbióloga, c MSc

UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGIA
IBAGUE-TOLIMA

2017



FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

TITULO PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* EN ALIMENTOS Y MANIPULADORES
DE LOS RESTAURANTES ESCOLARES DEL SUR DEL DEPARTAMENTO DEL TOLIMA

AUTORES IBETH ORTEGON MORENO 0701 5019 2010

DIRECTOR MARTHA LILY OCAMPO GUERRERO

JURADOS MARCO FIDEL AVILA
MONICA OBANDO

CALIFICACIÓN 4,7

APROBADO

REPROBADO

OBSERVACIONES _____

FIRMAS

[Signature]
JURADO 1.

[Signature]
JURADO 2.

[Signature]
Director del Trabajo

[Signature]
Director del programa (E)

Ciudad y fecha: Ibagué, 27 de Julio de 2017

A Dios, por dotarme de fortaleza, sabiduría y entendimiento durante todo este tiempo, a mi Madre y Hermanos por apoyarme siempre en todo sentido y a mi pareja Steven por su amor y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

La Autora expresa sus agradecimientos a:

A la profesora Martha Lily Ocampo Guerrero por sus dedicación, conocimiento y apoyo en la realización de esta investigación.

Al grupo de Investigación en Genética y Biotecnología Vegetal y Microbiana GEBIUT quienes me aceptaron y apoyaron durante todo este tiempo.

A los trabajadores de los Centros de desarrollo infantil (CDI) y de colegios tanto rurales como urbanos de los nueve municipios evaluados, especialmente a las manipuladoras de alimentos quienes colaboraron con total disposición e interés facilitándonos la toma de muestras y permitiéndonos el normal desarrollo del proyecto.

Al ICBF por el aporte de información oportuna y conveniente sobre los centros de desarrollo infantil, la cual fue muy fructífera y de gran importancia para esta investigación.

A mis compañeros de laboratorio Juan, Natalia y Lizeth quienes adelantaron otros proyectos de tesis, por su compañía y apoyo durante todo el desarrollo del proyecto.

A mis compañeros y amigos de Universidad María Edy, Daniela, Tatiana, Alejandra, Edward y Niyireth por su constante interés, buenos deseos y energías positivas dirigidas al desarrollo y culminación de esta Investigación.

CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVOS	19
1.1 OBJETIVO GENERAL	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2. MARCO REFERENCIAL	20
2.1 RESTAURANTES ESCOLARES	20
2.1.1 Centros de Desarrollo Infantil	20
2.1.2 Programa de alimentación escolar (PAE)	21
2.2 CARACTERISTICAS GENERALIDADES DE <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.3 IMPACTO SOCIAL DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS	22
2.4 VIRULENCIA	23
2.5 INTOXICACION POR <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.6 ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS (SE)	26
2.7 INTOXICACIÓN ALIMENTARIA ESTAFILOCÓCICA (IAE)	27
2.7.1 Periodo de incubación y sintomatología	27
2.7.2 Dosis-respuesta	27
2.8 FUENTES Y FACTORES QUE FAVORECEN LA CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS POR <i>S. aureus</i> Y PRODUCCIÓN DE TOXINAS	29
2.8.1 Manipuladores de alimentos como fuente de contaminación	29
2.8.2 Animales	31
2.8.3 Equipos, utensilios y otros	31
2.9 FACTORES Y AGENTES QUE INIBEN EL CRECIMIENTO DE <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.9.1 Desinfectantes	32
2.9.2 Efectos de la Temperatura	33

2.10 ANTECEDENTES	34
2.11 MEDIDAS PREVENTIVAS PARA LAS ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA)	35
2.12 BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA Y NORMATIVA	36
3. METODOLOGIA	39
3.1 AREA DE ESTUDIO	39
3.2 ENCUESTA Y ANALISIS DE (BPM)	40
3.3 DISEÑO DE ESTUDIO Y VARIABLES A EVALUAR	40
3.4 TAMAÑO Y TOMA DE LA MUESTRA	41
3.5 RECOLECCION DE LA MUESTRA	41
3.6 AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION BIOQUIMICA	43
3.7 ANALISIS ESTADISTICO	45
3.8 IDENTIFICACION DE PUNTOS CRITICOS DE CONTROL PARA LA DISMINUCION DE ETA	45
4. RESULTADOS	46
4.1 AISLAMIENTOS POSITIVOS DE <i>Staphylococcus aureus</i>	46
4.2 RESULTADOS DEL AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE LAS CEPAS	49
4.2.1 Aislamiento en medio Baird Parker	49
4.2.2 Prueba de coagulasa	50
4.2.3 Prueba de DNAsa	50
4.3 RESULTADOS DEL ANALISIS DE LAS BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA	52
5. DISCUSIÓN	59
6. CONCLUSIONES	62
RECOMENDACIONES	63

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Rangos de producción de enterotoxinas estafilocócicas (SE) bajo diferentes parámetros	27
Tabla 2. Técnicas de confirmación para Intoxicación Alimentaria Estafilocócica (IAE).	28
Tabla 3. Agentes desinfectantes utilizados en el control del patógeno	32
Tabla 4. Prevalencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos y manipuladores, para los diferentes municipios del sur del Tolima	46
Tabla 5. Positivos para <i>S. aureus</i> en alimentos	47
Tabla 6. Positivos para <i>S. aureus</i> en muestras de manipuladores	48

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Tasa máxima de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> en función de la temperatura en diferentes ingredientes proteicos (INS, 2011)	33
Figura 2. Población infantil beneficiaria de restaurante escolar	39
Figura 3. Toma de frotis nasal a manipuladora de CDI	42
Figura 4. Toma de muestra de alimento	42
Figura 5. Análisis de laboratorio para la identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Figura 6. Distribución de prevalencias de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos, en los municipios del sur de Tolima seleccionados para el estudio	48
Figura 7. Crecimiento típico de <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Figura 8. Prueba Coagulasa positiva en <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Figura 9. Tratamiento térmico de las muestras en baño maría para prueba de DNAsa	51
Figura 10. Prueba de DNAsa, después de la aplicación de ácido clorhídrico	51
Figura 11. Prueba DNAsa positivo para <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Figura 12. Orígenes del agua empleada en los restaurantes escolares	53
Figura 13. Periodicidad de los procesos de desinfección de pisos y paredes	54
Figura 14. Área de trabajo limpia y desinfectada	54
Figura 15. Población infantil que utiliza el servicio de restaurante escolar	55
Figura 16. Porcentaje de cumplimiento de los manipuladores de alimentos	56
Figura 17. Control y registro de Temperatura en Centro de Desarrollo Infantil	56
Figura 18. Manipuladora de alimentos con los accesorios de protección en Centro de Desarrollo Infantil	57

LISTA DE ANEXOS

	Pag.
Anexo A. Formato De Encuesta De Bpm Aplicada A Los Manipuladores De Alimentos	72
Anexo B. Formato De Acta De Toma De Muestra	77
Anexo C. Carta De Consentimiento Informado	78
Anexo D. Poster “Diagnóstico De <i>Staphylococcus Aureus</i> Coagulasa Positiva, A Partir De Alimentos Y Manipuladores De Restaurantes Escolares Del Sur Del Departamento Del Tolima”	81
Anexo E. Certificado De Sustentación De Tesis En Modalidad De Poster Titulada “Diagnóstico De <i>Staphylococcus Aureus</i> , A Partir De Alimentos Y Manipuladores De Restaurantes Escolares Del Sur Del Departamento Del Tolima”	82
Anexo F. Medio De cultivo Baird Parker	83

RESUMEN

Las ETA se definen como aquellas afecciones a la salud ocasionadas por agentes químicos o biológicos que ingresan al cuerpo a través de los alimentos (Ocampo, Ruiz y Moreno, 2011). Este grupo de enfermedades afectan anualmente al 30% de la población en países desarrollados y en desarrollo, dentro de los microorganismos de importancia mundial causantes de envenenamiento e intoxicación por consumo de alimentos contaminados se destaca *S. aureus* (Brands, 2005). El problema se evidencia por el número de personas que se enferman e incluso mueren por haber ingerido un alimento no apto para el consumo humano. Por tal razón se realizó un estudio que permita conocer el estado actual de los agentes causales de ETA como *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, en alimentos y manipuladores de restaurantes escolares del sur del departamento del Tolima. Metodológicamente, se analizó un total de 168 muestras, 106 de alimento y 62 de manipuladores, la distribución muestral se definió en función a prevalencias previamente referenciadas. Para el aislamiento se implementó los protocolos establecidos por el INVIMA y la norma 6888-2 (*Staphylococcus aureus* coagulasa positiva). Los datos de las BPM y los resultados microbiológicos se analizaron con el programa EPIINFO versión 7.1.4.0 lo que permitió generar a manera de recomendación las medidas de control para este patógeno.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, alimentos, manipuladores.

ABSTRACT

ETAs are defined as how many health conditions caused by chemical or biological agents that enter the body through food (Ocampo, Ruiz y Moreno, 2011). This group of diseases affects 30% of the population annually in developed and developing countries. Among the microorganisms of global importance that cause poisoning and intoxication due to the consumption of contaminated foods, *S. aureus* (Brands, 2005) stands out. The problem is evidenced by the number of people who get sick and die from eating a food that is not fit for human consumption. For the reasonable reason to carry out the study that allows to know the current state of the causative agents of ETA as coagulase positive *Staphylococcus aureus*, in food and manipulators of school restaurants of the south of the state of Tolima. Methodologically, a total of 168 samples were analyzed, 106 Of food and 62 of manipulators, the sample distribution was defined according to a previous prevalence. For the isolation, the protocols established by the INVIMA and the 6888-2 standard (*Staphylococcus aureus* coagulase positive) are applied. The BPM data and the microbiological results were analyzed with the program EPIINFO version 7.1.4.0 which allowed to generate a way of recommending the control measures for this pathogen.

Keywords: *Staphylococcus aureus* coagulase positive, food, manipulators.

INTRODUCCION

Staphylococcus aureus coagulasa positiva es un microorganismo patógeno de amplia distribución. Posee características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos como lo menciona (Zendejas, Avalos y Soto, 2014). Lo cual representa un grave problema de salud. Este patógeno es uno de los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). La intoxicación por esta bacteria puede causar graves afecciones a la población infantil considerada como vulnerable, siendo *S. aureus* la tercera causa identificada de morbilidad para los niños menores de 5 años por enfermedad diarreica aguda bacteriana (EDA) y la quinta causa identificada de morbilidad para los niños entre los 6 y 11 años, es la diarrea y gastroenteritis, causadas por el consumo de alimentos contaminados con *S. aureus* (Instituto Nacional de Salud, 2011).

El problema se evidencia por el número de personas que se enferman e incluso mueren por haber ingerido un alimento no apto para el consumo humano. A la fecha han ingresado al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) 306 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, en donde la tasa de mortalidad nacional por EDA es de 18,1 casos por 1 000 000 de menores de cinco, los cuales han sido notificados por la entidad territorial; en el Tolima se ha reportado desde la semana epidemiológica 01 hasta la 28 del 2016, 39.160 casos de EDA que corresponden al (2.1%) de la cifra nacional (INS, 2016).

S. aureus es considerado como el agente etiológico más frecuente de las intoxicaciones de origen alimentario. La presencia de este microorganismo se asocia con la contaminación introducida por los manipuladores de alimentos, el incumplimiento de buenas prácticas de manufactura o la utilización de materia prima contaminada, suele contaminar alimentos y, eventualmente, producir una intoxicación aguda debido a la presencia de una toxina emética muy resistente al calor y a las enzimas proteolíticas (Jorda, Marucci, Guida y Pires, 2012, p. 101).

En Colombia, según la información registrada en SIVIGILA durante el año 2009 se presentaron 899 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, de los cuales solo en el 56% se identificó agente el patógeno. Según distribución por tipo de agente, el 18,4% corresponde a la presencia de *S. aureus*, tanto en alimentos (79%), como en muestras biológicas (12,7%) y superficies (8,5%); lo cual evidencia que es la primera causa de brotes de origen alimentario en el territorio nacional. Los alimentos involucrados en estos brotes son: el queso, el pollo en sus diversas preparaciones, el arroz y sus diferentes mezclas con otros alimentos y la carne preparada (INS, 2011).

El sur del Tolima presenta diferentes dificultades sociales, económicas y políticas, dentro de las que se mencionan atraso en la dotación de bienes públicos sociales que son indispensables para lograr unas mejores condiciones de calidad de vida, carencias que generan problemas de salud, especialmente en la población infantil, también se menciona la baja cobertura de acueducto o agua potable en la que para el área rural tan solo corresponde a un 30% y el área urbana 87%; por otro lado también menciona que la tasa de mortalidad infantil para el sur del Tolima es de 44%, el doble del promedio del departamento del Tolima 22% y del promedio nacional que es del 20%, este índice hace evidente las consecuencias que se generan por las deficiencias en el tratamiento del agua para consumo humano, la carencia de educación en salud, los malos hábitos alimenticios e higiénicos, los problemas en la disposición de excretas y basuras, la contaminación ambiental y los altos índices de hacinamiento (Instituto Colombiano de Desarrollo Rural, 2012). Estos factores dan origen a una serie de enfermedades que a su vez, constituyen las principales causas de morbilidad y mortalidad perjudicando a la población infantil considerada como vulnerable, donde los problemas de salud más frecuentes son los trastornos gástricos ocasionados probablemente por intoxicaciones bacterianas.

En gran parte de los municipios de la provincia del sur del Tolima, la seguridad alimentaria merece la mayor atención y coordinación por parte de las instituciones públicas y privadas del estado en el ámbito nacional, departamental y local; puesto que se trata de comunidades rurales indígenas y campesinas en su gran mayoría, que viven

en el límite de la pobreza, con acceso restringido a la propiedad de la tierra, los servicios básicos, el empleo, la educación, la salud y la recreación, que podrán afectar en el mediano plazo la seguridad nutricional de los niños, los jóvenes y los adultos del sur del Tolima (INCODER, 2012).

Dentro de los factores que logran afectar la calidad de los alimentos está la infraestructura y las condiciones sanitarias precarias de cocinas y comedores, factores que pueden llegar a facilitar la contaminación de los alimentos con *S. aureus* enterotoxigénico, esto sumado a la falta de educación de la población sobre los riesgos asociados a la contaminación microbiana de alimentos, es el origen frecuente de la manipulación inadecuada de estos. La contaminación cruzada por *S. aureus*, es uno de los problemas iniciales con este patógeno, dado que en la flora normal existe este microorganismo, el cual logra causar infecciones cutáneas o gastrointestinales que en ocasiones pueden estar asociadas a cepas meticilino resistentes. Alta prevalencia de este microorganismo y sus diferentes biotipos permite que este patógeno sea de alta consideración en los planes de manejo y vigilancia de sanidad de alimentos en el mundo (INS, 2011).

Por las razones antes mencionadas en este trabajo se buscó determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en alimentos y manipuladores de restaurantes escolares de la provincia sur del Tolima, con el fin de aportar información básica para la vigilancia en salud pública de las ETA, además de ser una herramienta útil para la caracterización epidemiológica de *S. aureus*, encaminado a la disminución de la tasa de mortalidad y morbilidad presente en la población infantil.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *S. aureus*, en alimentos y manipuladores de los restaurantes escolares de CDI, colegio rural y colegio urbano en poblaciones localizadas en el sur del Tolima, con el fin de generar recomendaciones que permitan disminuir la incidencia de este patógeno.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Aislar e identificar a *S. aureus* en muestras de manipuladores (frotis de manos y nariz) y de alimentos, proporcionados en los restaurantes escolares en la provincia sur del departamento del Tolima.
- Relacionar la información proporcionada por las encuestas de BPM realizadas en los restaurantes escolares del CDI, colegio rural y colegio urbano con la presencia de *S. aureus* en los alimentos y manipuladores.
- Generar recomendaciones que permitan disminuir la incidencia de ETA en la población infantil de la zona sur del Tolima.

2. MARCO TEORICO

2.1 RESTAURANTES ESCOLARES.

2.1.1 Modalidad institucional Centros de Desarrollo Infantil -CDI: los CDI, se conciben como instituciones dirigidas a atender y promover un desarrollo integral a través de la educación inicial, con la participación de profesionales idóneos en temas relacionados con los diferentes componentes de la atención integral, el CDI es un espacio en donde las acciones de salud y nutrición deben ser realizadas con la calidad requerida, además es un escenario propicio para la formación de hábitos de vida saludable. En este sentido, no es suficiente verificar el acceso de los niños y las niñas a los servicios de salud, sino además incluir en la propuesta pedagógica aspectos relacionados con la creación de hábitos saludables y la generación de espacios que garanticen condiciones higiénico sanitarias óptimas para la salud de niños y niñas y el consumo de los alimentos requeridos para su edad, en el CDI se coordinan y armonizan acciones del estado relacionadas con la nutrición, salud y formación y acompañamiento a familias de los niños y niñas de 0 a 6 años (Ministerio de educación Nacional, 2012).

La estrategia de CERO A SIEMPRE definió criterios o estándares de calidad para orientar la gestión de los CDI, con el objetivo de desarrollar un mejoramiento en la calidad de los servicios, en el Estándar 12, se menciona la importancia de implementar acciones educativas para la prevención, detección y manejo de enfermedades prevalentes como EDA en donde se incluyen las familias y los trabajadores del centro de desarrollo, también es importante mencionar el Estándar 16, el cual se refiere a (BPM) cuyo manual debe ser implementado según la normativa vigente en casos donde se presta el servicio de alimentación principalmente, el Estándar 25 también establece la implementación y actualización semestral de el plan de saneamiento básico el cual está orientado a garantizar las condiciones higiénico sanitarias adecuadas en componentes de limpieza y desinfección de espacios, mobiliarios y dotación, además del manejo de residuos sólidos y líquidos, control de plagas y vectores (MEN, 2012).

2.1.2 Programa de alimentación escolar PAE: Es una de las estrategias diseñadas para fortalecer la política de permanencia escolar del MEN, a través de la cual se facilita el acceso de la población objeto a un complemento alimentario, sumando esfuerzos en la atención integral de los beneficiarios del sistema educativo público. Ofrece un complemento alimentario a los niños, niñas y adolescentes en edad escolar, registrados en la matrícula oficial, que aporte los requerimientos de energía, macronutrientes y micronutrientes en los porcentajes que se definan para cada modalidad, durante la jornada escolar que se desarrolla en la zona geográfica rural y urbana dirigido a poblaciones vulnerables (MEN, 2014).

2.2 CARACTERISTICAS GENERALES *S. aureus*.

S. aureus es un microorganismo Gram (+), de forma esférica u ovoide, que se agrupa en racimos, las colonias presentan pigmento dorado, amarillo y a veces blanco, crece mejor en presencia de oxígeno, a temperatura óptima de 30-37°C, en un rango de pH entre 7.0-7.5, posee tolerancia frente a compuestos como telurio, cloruro mercúrico, neomicina, polimixina y ácido sódico (Perdomo y Melendez, 2004). Jay (2005) menciona que el género *Staphylococcus*, pertenece al orden Bacillales, familia *Staphylococcaceae*; donde se han descrito 18 especies de *Staphylococcus* de importancia en alimentos, siendo, la especie coagulasa-positiva como *S. aureus* la que más se transmite por alimentos (Citado por Herrera y Santos, 2015).

S. aureus es un habitante normal de las superficies corporales de la mayoría de los animales de sangre caliente, encontrándose en las mucosas y en la piel, por esta razón la fuente más importante de estas bacterias en los alimentos son los portadores nasales y las personas con heridas y/o forúnculos en manos y brazos que manipulan los alimentos (Herrera y Santos, 2015). Este microorganismo posee una compleja patogenicidad que lo hace causante de infecciones en diversos órganos y, por lo tanto, con un alto impacto epidemiológico, principalmente a nivel hospitalario (Londoño, Ortiz, y Gaviria, 2006). Esta bacteria posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos, el principal impacto de este microorganismo se debe a las

cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM), que tradicionalmente se encontraban limitadas al ámbito hospitalario, produciendo infecciones nosocomiales a nivel mundial (Reyes et al., 2014).

La International Commission on Microbiological Specifications for Foods (CMSF) (2000), menciona que *S. aureus* presenta como característica general coagulasa positiva, aunque se tienen reportes de investigaciones que desvinculan esta relación característica (Citado por Perdomo y Melendez, 2004).

2.3 IMPACTO SOCIAL DE LAS ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR ALIMENTOS.

Las ETA, representan uno de los principales problemas que originan alteraciones en la salud de los consumidores, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo (Avila, 2008). El agente etiológico más frecuente de las intoxicaciones de origen alimentario es *S. aureus*, la presencia de este microorganismo se asocia con la contaminación introducida por los manipuladores de alimento que han incumplido las BPM o han utilizado materia prima contaminada (Jorda, 2014). Existen dos categorías de ETA: las intoxicaciones alimentarias causadas por toxinas producidas por los microorganismos, y las infecciones alimentarias causadas por el crecimiento de los microorganismos en el cuerpo humano, después de haber ingerido alimentos contaminados; Aunque los mecanismos de acción son diferentes generalmente se utiliza el término “intoxicación alimentaria” para referirse a cualquiera de los dos casos (Perdomo y Melendez, 2004).

En el continente americano las ETA figuran entre las primeras cinco causas de muerte en los menores de 5 años, con una incidencia promedio anual de cuatro episodios diarreicos anuales por niño (Acevedo, Granados y Montero, 2014). (De Curtis, Franeschi y De Castro, 2000) mencionan el aumento en el número de personas afectadas por ETA, causadas por la ingestión de alimentos mal procesados o preparados (Citado por Acevedo et al., 2014). Durante el año 1997 se detectaron en el ámbito nacional un total de 55 brotes de ETA, los cuales involucraron un total de 1604 casos.

Las ETA se ponen de manifiesto por diversos síntomas en los que se pueden incluir vómitos, diarrea, cólicos, dolores intestinales, fiebre y postración. Se considera por lo tanto que la mayoría de los alimentos son peligros potenciales para el consumidor cuando no se manipulan de manera adecuada (De Curtis et al., 2000).

2.4 VIRULENCIA.

S. aureus se caracteriza por presentar múltiples factores de virulencia (Camussone y Calvino, 2013). Estos factores de virulencia contribuyen a la su supervivencia y desarrollo de este microorganismo, siendo desencadenantes de las manifestaciones clínicas y responsables de la gravedad de sus infecciones. Se le considera como un patógeno perfecto, equipado para colonizar, invadir y diseminarse. Además, posee gran facilidad para obtener elementos exógenos por transferencia horizontal dentro de su misma especie o con otras diferentes, esta capacidad le ha permitido adaptarse fácilmente al medio y a los agentes microbianos a través de la adquisición de factores de resistencia a antibióticos los cuales han sido codificados por plásmidos, secuencias de inserción y transposones, lo que conlleva a la problemática mundial por la complejidad de las infecciones causadas por esta bacteria (Correa y Jiménez, 2009).

Entre los factores de virulencia más comunes se destacan varias hemolisinas (α , β , γ , δ), la leucocidina de Pantón Valentine (PVL), las toxinas exfoliativas A y B, el grupo de las toxinas pirógenas superantígenos (PTSAg) que incluye la toxina del choque tóxico y las enterotoxinas estafilocócicas (SE), y las modulinas, solubles en fenol (Ricardo, Buevas, Escobar y Tovar, 2015). La resistencia de *S. aureus* a los antibióticos betalactámicos es causada principalmente por la adquisición del gen *mecA*, que se encuentra en un elemento genético móvil llamado casete estafilocócico cromosómico *mec* (SCC*mec*). El gen *mecA* codifica para una proteína modificada de unión a la penicilina conocida como PBP2a (Penicillin Binding protein 2a), que se caracteriza por su poca afinidad a los antibióticos beta-lactámicos. En un principio, las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) se asociaron con infecciones intrahospitalarias, pero desde el año 1990 se las ha reportado en la comunidad como causa de infecciones en la piel y los

tejidos blandos, en niños y en adultos jóvenes sin factores de riesgo predisponentes a infecciones hospitalarias; los primeros casos se informaron en Australia y Estados Unidos, y desde entonces se han diseminado por todo el mundo, tal evolución epidemiológica de este patógeno ha cambiado hasta el punto que se han presentado infecciones causadas por SARM en personas sanas no relacionadas con tratamientos intrahospitalarios, sobre todo en comunidades cerradas como grupos familiares, reclusos, niños en guarderías con prácticas higiénicas inadecuadas (Ricardo et al., 2014).

S. aureus produce alrededor de 11 serotipos distintos de SE, además de otras toxinas de gran virulencia para los mamíferos denominadas toxina del síndrome del shock tóxico-1 (TSST-1) y toxinas exfoliativas ETA y ETB. Estas enterotoxinas causan intoxicaciones alimentarias por la ingesta de productos contaminados, generalmente de origen cárnico y lácteo (INS, 2011).

2.5 INTOXICACION POR *Staphylococcus aureus*.

las ETA son producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas, animales o producidas por microorganismos o sustancias químicas o radioactivas que se incorporan a ellos de manera accidental, incidental o intencional en cualquier momento desde su producción hasta su consumo (Martínez, Lamk, & Alvarez, 2014). Las enterotoxinas son proteínas antigénicas, las cuales presentan una toxicidad por producir una reacción antígeno-anticuerpo, desencadenando el cuadro clínico de la intoxicación (Perdomo y Melendez, 2004).

La intoxicación alimentaria por *Staphylococcus sp.* se conoce como estafiloenterotoxiosis o estafiloenterotoxemia y se produce como consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen toxinas preformadas, *Staphylococcus sp.* una vez que llegan a los alimentos, si las circunstancias lo permiten, se multiplican y producen toxinas, generalmente la contaminación suele ocurrir después de ser cocidos los

alimentos, cuando no son conservados adecuadamente, lo que favorece la multiplicación del patógeno (Valdiviezo, Villalobos y Martínez, 2006).

Los tipos de enterotoxina que produce el *S. aureus* se clasifican en A, B, C, D, Y E siendo la más frecuentemente implicada en casos de intoxicación la enterotoxina A (Perdomo y Melendez, 2004). Se considera que el envenenamiento estafilocócico alimentario también llamado gastroenteritis estafilocócica causado por toxinas de *S. aureus*, es una de las enfermedades de origen alimentario más frecuentes en todo el mundo (Martínez et al., 2014).

Son escasos los trabajos reportados sobre la presencia de *S. aureus* en alimentos, en Colombia se han presentado casos de (ETA) ocasionados por el consumo de quesos en Valledupar, considerando las industrias lácteas como un riesgo latente de salud pública, esta problemática se presenta por la vulnerabilidad que exhibe el queso fresco ya sea por su constante manipulación o por el calentamiento o tratamiento inadecuado en su producción (Reyes et al., 2014). El efecto que tiene la temperatura sobre el microorganismo no es tan representativo, por tal razón la detección de la enterotoxina prima sobre la obtención de la evidencia de las células viables de *S. aureus*, además la toxina de *S. aureus* tiene la propiedad de ser termoestable. Las enterotoxinas estafilocócicas son de las pocas toxinas bacterianas, de naturaleza proteica, que son termorresistentes, la intoxicación se debe a las toxinas preformadas en los alimentos, cuando el organismo causal ya está creciendo en su interior, generalmente entre los alimentos mayormente implicados en la intoxicación por este patógeno se encuentran los productos cárnicos, embutidos, aves, leche y productos de pastelería como crema y huevo (Perdomo y Melendez, 2004). Esta contaminación puede ocurrir directamente desde los animales de consumo, los cuales pueden estar infectados, o puede resultar de la manipulación o manejo inadecuado de alimentos durante su procesado, almacenamiento o comercialización, ya que los seres humanos pueden ser portadores de este microorganismo (Martínez et al., 2014). Este autor también menciona que algunos alimentos como las ensaladas frescas preparadas, son más propensos a la

contaminación, debido a que no son sometidas a un proceso de conservación o mantenimiento específico.

Por tanto, la estrategia principal para la prevención de las ETA, considera la intensidad del tratamiento térmico necesario para destruir los patógenos presentes o reducir su carga microbiológica, así como el control de la temperatura de mantenimiento hasta el consumo del alimento para prevenir la multiplicación bacteriana. Por tal razón suministrar comidas seguras desde el punto de vista higiénico-sanitario es una responsabilidad del manipulador en gran medida, no obstante, las autoridades sanitarias requieren verificar y validar regularmente su preparación y conservación, a través de inspecciones y análisis, con el fin de medir la efectividad de los controles implementados, tanto en el lugar donde se preparan, como en los puntos de venta y/o distribución (Martínez et al., 2014). Además cabe resaltar junto con Ubach (1988) la importancia de la forma como se manipulan los alimentos a lo largo de toda la cadena de preparación, ya que este suele ser el factor principal que determina la carga bacteriana final que presenta el alimento al momento de su consumo (Citado por Iriarte, 2011).

2.6 ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS (SE).

El principal factor de virulencia de *Staphylococcus spp.* Involucrado en la Intoxicación Alimentaria Estafilocócica (IAE) es la producción de enterotoxinas termorresistentes. Las SE son polipéptidos antigénicos compactos no ramificados con un único puente disulfuro y se ha postulado que el sitio activo de la molécula se halla en la región de este puente. Tienen un peso molecular bajo (26.000-34.000 Da) y una estructura química muy similar entre ellas.

S. aureus produce cinco toxinas típicas: SEA, SEB, SEC, SED y SEE las cuales producen emesis en primates. Adicionalmente, *S. aureus* puede producir otros tipos de SE, igualmente súper-antigénicas, pero que no producen emesis en primates y son: SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ Una misma cepa puede producir más de un tipo de enterotoxina. Los genes que codifican las SE están localizados tanto

en DNA cromosomal como en islas de patogenicidad, fagos, transposones y plásmidos. Las SEB, SEC y SED son producidas en la fase estacionaria del crecimiento como metabolitos secundarios; por otro lado, las SEA y SEE son producidas durante toda la fase logarítmica de crecimiento. La SEA y SED están implicadas en la mayoría de los brotes de intoxicación alimentaria. Según su tipo, las SE son altamente termorresistentes, sus valores D varían generalmente desde 5 - 10 minutos a 121°C hasta varias horas a 180°C. La SEB a un a_w de 0,99 tiene un D149 de 100 minutos. Las SE no son producidas a temperaturas menores de 10°C, su rango de producción se encuentra entre 10 a 48°C con un óptimo de producción entre 40 y 45°C como lo muestra la Tabla 1 (INS, 2011).

Tabla 1. Rangos de producción de SE bajo diferentes parámetros

Parámetros	Producción de toxina	
	Óptimo	Rango
Temperatura (°C)	40 – 45	10 - 48
pH	7 – 8	4,0 – 9,6
a_w	0,98	0,85 - > 0,99 ¹
NaCl (%)	0	0,90 - > 0,99 ²
Potencial redox (E_h) (mV)	> + 200	< - 100 - > + 200
Atmósfera	Aerobia (5 – 20% oxígeno disuelto)	Aerobia - anaerobia

¹Aeróbico; ²Anaeróbico

Fuente: INS (2011).

2.7 INTOXICACIÓN ALIMENTARIA ESTAFILOCÓCICA (IAE).

2.7.1 Periodo de incubación y Sintomatología: La IAE resulta del consumo de alimentos en los que *S. aureus* se ha multiplicado hasta alcanzar niveles que producen SE y puede ser el resultado de combinaciones de múltiples toxinas. Los síntomas de la IAE pueden ser algunos de los siguientes: náuseas, dolor abdominal, emesis, diarrea y postración. En los casos más graves se puede presentar cefalalgia y shock. La intensidad de los síntomas depende de la cantidad de alimento contaminado ingerido, de la concentración de la toxina y de la susceptibilidad individual, la cual esta mediada por la edad y el estado inmunológico de la persona. El tratamiento es básicamente hidratación. La IAE, al ser

una enfermedad auto-limitante se recupera en un plazo de dos días y el periodo de incubación varía entre 0,5 a 8 horas.

2.7.2 Dosis – respuesta: La literatura no reporta un modelo oficial de dosis respuesta para SE: La cantidad de SE que debe ser ingerida para causar IAE no se conoce exactamente, pero se reportan rangos entre 0,1 – 1,0 µg/kg, esta concentración de SE es alcanzada con cargas microbianas superiores a 10⁵ UFC/g. Se ha reportado una dosis de 20 a 100 ng de SE por persona en un brote de IAE en Japón relacionado con la ingestión de leche baja en grasa contaminada y en otros casos como lo es otra dosis reportada asociada al consumo de leche achocolatada fue de 94 ng. Dosis de SE de 20 ng han sido utilizadas en evaluaciones de riesgos como umbral de producción de enfermedad. El menor número de células de *S. aureus* necesarias para la producción del nivel mínimo de SE considerado necesario para producir enfermedad es diferente para cada sustrato y para cada SE. La SEA se ha detectado en concentraciones de 10⁴ UFC/g. En leche, se ha detectado SEA y SED con recuentos de 10⁷ UFC/g pero no por debajo de este nivel. Empleando una cepa productora de SEA, SEB y SED, la SEB y SED se detectaron cuando el recuento alcanzó 6 x 10⁶ UFC/mL (1 ng/mL de SE), mientras que la SEA (4 ng/mL) fue detectada con un recuento de 3 x 10⁷ UFC/mL. No otros investigadores investigaron 31 brotes de IAE, en los cuales se reportaron recuentos de *S. aureus* coagulasa positiva entre 7,6 x 10² y 7,5 x 10⁹ UFC/g y se detectó SE en 25 de los 31 alimentos implicados (80%) (INS, 2011). El diagnóstico de IAE es confirmado generalmente por al menos una de las técnicas que se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Técnicas de confirmación de IAE.

Técnica	Fuente
a. Recuento mayor o igual a 10 ⁵ UFC <i>S. aureus</i> /g de alimento implicado	(Kerouanton et al., 2007) (CDC, 2000)
b. Detección de enterotoxina en alimento implicado	
c. Aislamiento de <i>S. aureus</i> del mismo fagotipo a partir de deposición vómito de dos o más personas enfermas	
a. Recuento ≥ 10 ³ UFC/g <i>S. aureus</i> coagulasa positiva en heces o vómito, ó, recuento ≥ 10 ⁵ UFC/g <i>S. aureus</i> coagulasa positiva en restos del alimento sospechoso	(NZFSA, 2010)
b. Detección de enterotoxina en heces, vómito o restos del alimento sospechoso	

Fuente: INS (2011).

2.8 FUENTES Y FACTORES QUE FAVORECEN LA CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS POR *S. aureus* Y PRODUCCIÓN DE TOXINAS.

Se definen dos tipos de contaminación: la directa y la indirecta, también llamada contaminación cruzada. En la contaminación directa el alimento entra en contacto con la fuente del microorganismo y en la indirecta existen diferentes tipos de vehículos intermediarios en la transferencia desde la fuente al alimento. *S. aureus* enterotoxigénico puede transferirse a los alimentos a través de ambientes y de superficies inertes y vivas. Los factores que determinan los fenómenos de transferencia por contacto están ligados a las características de adherencia de la bacteria, a la superficie y a la cantidad del inóculo. Son pocos los estudios sobre transferencia de bacterias en fenómenos de contaminación cruzada, sin embargo se ha demostrado que las cepas de *S. aureus* que están en las manos de los manipuladores son las mismas de los equipos y utensilios de cocina, evidenciando que este fenómeno contribuye a la carga microbiana de los alimentos que requieren procesos de manipulación (INS, 2011).

2.8.1 Manipuladores de alimentos como fuente de contaminación: Está demostrada la relación existente entre una inadecuada manipulación de los alimentos y la producción de enfermedades transmitidas a través de éstos. (Valdiviezo et al., 2006). La vigilancia de los víveres comercializados es un tema que debe llevar a tomar conciencia del riesgo sanitario y de la importancia en la implementación de acciones correctivas, en la capacitación y en el seguimiento de los manipuladores de alimentos (Bayona, 2012), Al observar la alta frecuencia de brotes de intoxicación por alimentos son múltiples los factores que contribuyen a este efecto; entre ellos, se destacan el inadecuado aseo de los manipuladores, la obtención de materias primas contaminadas, la refrigeración incorrecta de los alimentos terminados y de las materias primas, una deficiente limpieza y desinfección de los equipos y utensilios de trabajo y la localización de los sitios de trabajo, asociados a contaminación ambiental (Bayona, 2012).

Los manipuladores de alimentos que portan *S. aureus* productores de enterotoxinas pueden provocar intoxicaciones alimentarias (Jorda et al., 2012). Dado a que la presencia

de *S. aureus* en las fosas nasales, las fauces y la piel del hombre es frecuente (Fernández, 2008) indica que los manipuladores de alimentos que no utilizan correctamente guantes y barbijos o que no cumplen con otras recomendaciones de buenas prácticas, potencian el riesgo de contaminación de los alimentos en los procesos de elaboración y comercialización (Citado por Jorda et al., 2012).

Antecedentes reportan manipuladores de alimentos portadores de este patógeno y el riesgo que conlleva esta asociación para la generación de ETA, se ha demostrado la presencia de *S. aureus* en 33 (37,5%) de 88 individuos analizados, además 10 de ellos presentaron el gen que codifica para la enterotoxina A y 3 para la enterotoxina C. (Jorda et al., 2012), también se ha aislado este patógeno de muestras nasales provenientes de 35 (33.3%) de 105 manipuladores, los cuales se encontraban colonizados por este microorganismo (Achon, Cabral y Walde, 2012).

(Corrales, Alvarado, Castillo y Camacho, 2011) concluyeron a partir del recuento de *S. aureus* de muestras de manos, superficies y utensilios, que son los manipuladores los principales causantes del aumento en estos recuentos por la inadecuada higiene y educación sanitaria, como se evidenció en los resultados de la encuesta y lista de chequeo donde manifestaron que no realizaban un lavado y secado de manos correcto. En otros casos los manipuladores de alimentos no tienen clara la función de los detergentes ni de los desinfectantes en la limpieza de los lugares de trabajo, situación que es aún más crítica (Ocampo, 2013).

Es importante resaltar que aunque los países cuentan con todos los recursos para una buena conservación de los alimentos y brinden capacitación para dar un adecuado manejo a los productos, la intoxicación estafilocócica sigue siendo un problema ya que se siguen presentando problemáticas reflejadas especialmente en una deficiente conservación y manipulación de los alimentos. Por este motivo, es conveniente resaltar que no basta con tener los recursos materiales y económicos, si los individuos que tienen bajo su responsabilidad el trabajo de elaboración de los alimentos no logran entender el papel relevante de tener en sus manos la salud de los consumidores, por tanto se

requiere un especial control sobre estas personas, los cuales deben emplear gorros, guantes y mascarillas que tapen la entrada de la nariz. Se debe tener en cuenta que la salud de la población es una condición favorable e indispensable para lograr el desarrollo de un país y una forma de preservar la buena salud es mediante la identificación y concienciación de este problema y las enfermedades originadas a partir del mismo (Achon et al., 2012).

2.8.2 Animales: La presencia de *Staphylococcus spp.*, es común en la piel y tegumentos de una amplia variedad de mamíferos y aves, por lo tanto, la presencia de animales en la áreas de preparación de alimentos puede ser una potencial fuente de contaminación con *S. aureus* enterotoxigénico. (INS, 2011).

Los Bovinos son animales propensos a sufrir mastitis por la infección bacteriana por *S. aureus*, en los hatos bovinos de los departamentos del Meta y Cundinamarca se ha encontrado la asociación de la mastitis con diferentes factores como el tipo con tipo de ordeño, número de vacas en ordeño etc. (Parra, Martinez, Pardo y Vargas, 1998). La infección subclínica de la glándula mamaria por *S. aureus* tuvo como factores de riesgo las unidades de producción lechera familiar, el tipo de ordeño, la higiene del mismo y la densidad poblacional de las explotaciones (Ramírez et al., 2011).

2.8.3 Equipos, utensilios y otros: *S. aureus*, puede contaminar el alimento al entrar en contacto con picadoras, cuchillos, utensilios, recipientes de almacenamiento, tablas de corte, y otras superficies de contacto (INS, 2011). También por el inadecuado uso de sustancias químicas para el lavado y desinfección o por una limpieza inapropiada de equipo y utensilios y de superficies y áreas de trabajo (Bejarano y Fandiño, 2011).

2.9 FACTORES Y AGENTES QUE INHIBEN EL CRECIMIENTO DE *Staphylococcus aureus*.

2.9.1 Desinfectantes: La función de un desinfectante es destruir microorganismos y prevenir la diseminación de éstos, sin embargo, ningún procedimiento de desinfección

puede ser eficaz si no está precedido de una cuidadosa limpieza. La rotación de productos antimicrobianos se considera un factor importante a considerar en los planes de limpieza y desinfección implementado por las manipuladoras, debido a que el continuo uso de el mismo desinfectante puede producir en patógenos como *S. aureus* resistencia antimicrobiana, este microorganismo es fácil de destruir por medio de estos aditivos cuando no han formado biopelículas (INS, 2011). Los agentes más utilizados en el control de este patógeno se listan en la Tabla 3.

Otro tipo alternativo de desinfectantes naturales son el vinagre blanco y el limón criollo (Martínez et al., 2014). Estos son aditivos antimicrobianos que aseguran no solo la inocuidad, si no impiden el crecimiento de microorganismos contaminantes además, entre sus bondades está el ser económicos, de fácil acceso y utilidad, no presentan ningún efecto toxico para la salud y mantiene la calidad y características de alimentos que exigen los consumidores sin ningún tipo de contaminación.

Tabla 3. Agentes desinfectantes utilizados en el control del patógeno.

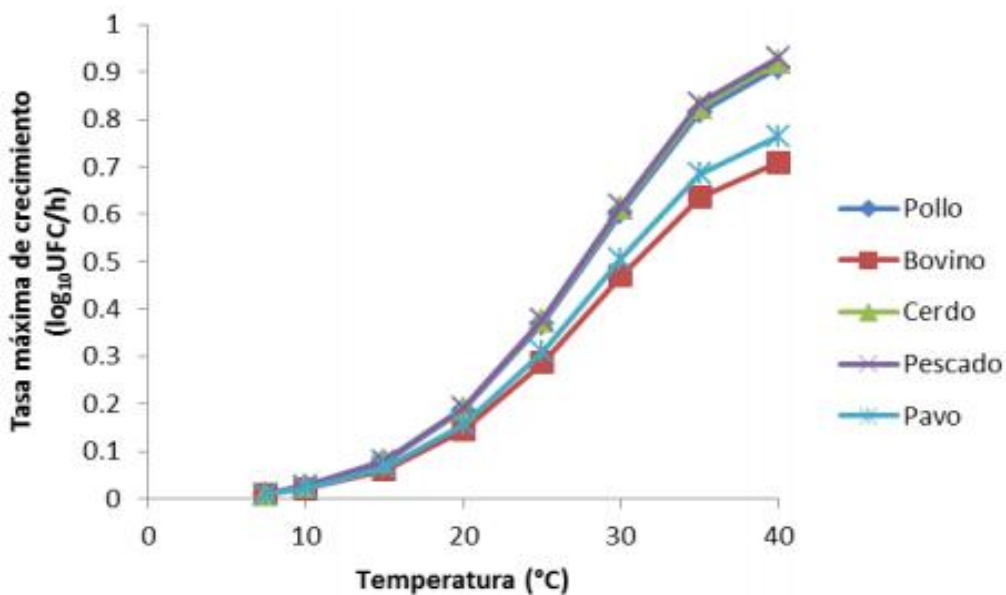
Desinfectante	Concentración	Porcentaje de destrucción	Concentración inicial (UFC/mL)	Aplicación
Clorhexidina	0,5 % p/v	99,97	3×10^6	Operarios
Hipoclorito de sodio	200 ppm	99,9	10^5	Equipos
Ácido peracético	200 mg/L	99,99	10^5	Equipos
Peróxido de hidrógeno	100 ppm	99,99	10^8	Empaques
Alcohol etílico	40%	100	NR	Manipuladores
Compuestos tipo amonio cuaternario	200 ppm	100	10^8	Equipos-manipuladores
Cloro	15 ppm	99,999	10^8	Equipos-alimentos
Jabón	4,1%	99,999	10^5	Operarios
Ozono	0,025 µg/mL	99	10^5	Alimentos
Yodóforos	50 ppm (pH	>99,9	10^8	Equipos-ambientes-

Fuente: INS (2011)

2.9.2 Efectos de la temperatura: La alta temperatura durante un tiempo prolongado de Exposición ejerce efectos perjudiciales se recomienda que los alimentos se cocinen alrededor de 60°C por 30 minutos para que el alimentos quede libre de contaminación por Estafilococos (Chirag & B, 2014), *S. aureus* es resistente la calidad de los alimentos,

a la congelación y a la descongelación, se inhibe a temperaturas inferiores a 5°C y no produce la toxina por debajo de 10°C (INS, 2011). La contaminación microbiana por *S. aureus* debido al crecimiento exponencial en función de la temperatura, es diferente según el tipo de alimento como lo muestra el Figura 1, donde el pollo presenta una mayor tasa de crecimiento en función de la temperatura.

Figura 1. Tasa máxima de crecimiento de *Staphylococcus aureus* en función de la temperatura en diferentes ingredientes proteicos.



Fuente: INS (2011).

2.10 ANTECEDENTES.

Los lácteos en especial el queso es uno de los alimentos que proporciona las condiciones físico-químicas adecuadas para que *S. aureus* se propague de tan forma que logre causar intoxicación además de la fácil contaminación por factores ambientales o antropogénicos debido a su constante manipulación reflejándose en la elevada carga microbiana de muestras de queso analizadas, lo cual refleja las deficiencias higiénicas en la manipulación del queso fresco artesanal que se comercializa en los mercados estudiados, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor, esta carga

microbiana podría indicar una contaminación a partir de la piel, la boca o las fosas nasales de portadores de la infección que manipularon el alimento. Otras fuentes de contaminación pueden ser el material, el equipo de trabajo y las materias primas de origen animal como la leche de vaca (Cristóbal y Maurtua, 2003).

Son pocos los estudios sobre transferencia de bacterias en fenómenos de contaminación cruzada, se demostró que las cepas de *S. aureus* que están en las manos de los manipuladores son las mismas de los equipos y utensilios de cocina, evidenciando que este fenómeno contribuye a la carga microbiana de los alimentos que requieren procesos de manipulación (Castillo, 2013).

Un estudio que evaluó la calidad de la leche y del suero costeño en el Norte de Colombia, indicó que las altas cargas microbianas que presentaron los sueros costeños artesanales son consecuencias de las deficientes condiciones higiénico-sanitarias para la elaboración en los diferentes municipios (Grandos, Acevedo y Torres, 2012).

2.11 MEDIDAS PREVENTIVAS PARA LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS.

Se ha calculado que cada año mueren 1,8 millones de personas como consecuencia de enfermedades diarreicas, cuya causa puede atribuirse en la mayoría de los casos a la ingesta de agua o alimentos contaminados. Una preparación adecuada de los alimentos puede prevenir la mayoría de las enfermedades de transmisión alimentaria. Cinco claves para la inocuidad de los alimentos son: mantener la limpieza; Separar alimentos crudos y cocinados; cocinar completamente; mantener los alimentos a temperaturas seguras; y usar agua y materias primas seguras (Organización Mundial de la Salud, 2007).

Las medidas preventivas radican en proteger al hombre de la infección y en reducir la prevalencia de patógenos contaminantes. Antes la evidente situación en la que los manipuladores están involucrados en la contaminación alimentarias por malas prácticas higiénicas, debe tomarse medidas efectivas que disminuyan la incidencia de ETA.

(Campos, 2000) indica quien plantea que los manipuladores que se diagnostiquen como portadores de gérmenes patógenos deben ser separados del trabajo y no se reintegrarán al mismo hasta que se compruebe el estado satisfactorio de salud de los mismos, otras medidas importantes son:

- La inspección veterinaria de las carnes y del sacrificio de aves, y la supervisión de la pasteurización de la leche y de productos derivados del huevo, importantes en la protección del consumidor
- Educación para la salud de manipuladores de alimentos y amas de casa sobre la cocción de los alimentos de origen animal y su refrigeración, así como de la higiene personal y ambiental
- Medidas preventivas al nivel de la concepción y organización: adecuación de los locales, elección del material (facilidad de limpieza), calidad de los fluidos
- Lucha contra los vectores de contaminación (insectos, roedores)
- Elección de personal capacitado
- Medidas preventivas a nivel del funcionamiento limpieza
- Implementación de Medios destructivos los cuales son todas las técnicas estabilización o de destrucción de los microorganismos indeseables o de aquellos que pueden serlo (técnicas de conservación).

2.12 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA Y NORMATIVA.

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son una herramienta básica para la obtención de productos seguros para el consumo humano, que se centralizan en la higiene y en la forma de manipulación. La OMS (2001) ha definido las BPM, como el

método moderno para el control de las enfermedades transmitidas por alimentos a utilizar por parte de los gobiernos e industrias (Bastías, Cuadra, Muñoz y Quevedo, 2013).

La aplicación de las (BPM) en restaurantes y cafeterías, constituye una garantía de calidad e inocuidad que redundará en beneficio del empresario y del consumidor en vista de que ellas comprenden aspectos de higiene y saneamiento aplicables en toda la cadena productiva, incluido el transporte y la comercialización de los productos. Es importante el diseño y la aplicación de cada uno de los diferentes programas, con diligenciamiento de formatos para evaluar y realimentar los procesos, siempre en función de proteger la salud del consumidor, ya que los alimentos así procesados pueden llevar a cabo su compromiso fundamental de ser sanos, seguros y nutricionalmente viables (Mora, 2009).

El (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013) publicó la resolución 2674 de 2013 Por la cual se reglamenta el artículo 126 del Decreto-ley 019 de 2012 y se dictan otras disposiciones define las BPM como principios básicos y prácticos generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los productos en cada una de las operaciones mencionadas cumplan con las condiciones sanitarias adecuadas, de modo que se disminuyan los riesgos inherentes a la producción, además establece los siguientes artículos de relevancia para los manipuladores y las buenas prácticas de manufactura:

- Artículo 5°. Condiciones básicas de higiene en la fabricación de alimentos Buenas Prácticas de Manufactura: Las actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos, se ceñirán a los principios de las BPM contempladas en la presente resolución
- Artículo 12. Educación y capacitación: Todas las personas que realizan actividades de manipulación de alimentos deben tener formación en educación sanitaria, principios básicos de BPM y prácticas higiénicas en manipulación de

alimentos. Igualmente, deben estar capacitados para llevar a cabo las tareas que se les asignen o desempeñen, con el fin de que se encuentren en capacidad de adoptar las precauciones y medidas preventivas necesarias para evitar la contaminación o deterioro de los alimentos

Esta resolución también establece que los procedimientos mecánicos de manufactura, tales como, lavar, pelar, cortar, clasificar, desmenuzar, extraer, batir, secar, entre otros, deben realizarse de manera tal que se protejan los alimentos y las materias primas de la contaminación.

La autoridad sanitaria en cumplimiento de sus actividades de vigilancia y control, verificara el cumplimiento del plan de capacitación para los manipuladores de alimentos que realiza la empresa según el Decreto 3075 de 1997 por el cual se reglamenta parcialmente la ley 09 de 1979 y se dictan otras disposiciones, en este sentido el manipulador de alimentos debe ser entrenado para comprender y manejar el control de los puntos críticos que están bajo su responsabilidad y la importancia de su vigilancia o monitoreo; además, debe conocer los límites críticos y las acciones correctivas a tomar cuando existan desviaciones en dichos límites, dentro de este decreto los siguientes párrafos contienen información relevante para los manipuladores de alimentos:

Parágrafo 1o. Los manipuladores de alimentos de los restaurantes y establecimientos de consumo de alimentos deben recibir capacitación sobre manipulación higiénica de alimentos, a través de cursos a cargo de la autoridad local de salud, de la misma empresa o por personas naturales o jurídicas debidamente autorizadas por la autoridad sanitaria local. Para este efecto se tendrán en cuenta el contenido de la capacitación, materiales y ayudas utilizadas, así como la idoneidad del personal docente.

Parágrafo 2o. La autoridad sanitaria competente en cumplimiento de sus actividades de vigilancia y control verificara el cumplimiento de la capacitación para los manipuladores de alimentos a que se refiere este artículo.

Todas las personas que han de realizar actividades de manipulación de alimentos deben tener formación en materia de educación sanitaria, especialmente en cuanto a prácticas higiénicas en la manipulación de alimentos. Igualmente deben estar capacitados para llevar a cabo las tareas que se les asignen, con el fin de que sepan adoptar las precauciones necesarias para evitar la contaminación de los alimentos.

La higiene de los alimentos comprende el conjunto de condiciones y medidas necesarias para garantizar la seguridad y salubridad de los productos alimentarios, incluida la manipulación por el consumidor desde el momento en que adquiere el Alimento en un punto de venta hasta que lo prepara y consume (Cristóbal & Maurtua, 2003), también se encuentra la ley 9 de 1979 la cual dicta medidas sanitarias.

3. METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDIO.

El área de estudio comprendió los restaurantes escolares pertenecientes a una institución educativa del área rural, una del área urbana y los centros de Desarrollo Infantil de cada municipio perteneciente a la provincia del sur del Tolima, estos municipios son (San Antonio, Planadas, Roncesvalles, Chaparral, Ortega, Coyaima, Natagaima, Ataco y Rioblanco) Figura 2.

Figura 2. Población infantil beneficiaria de restaurante escolar en San Antonio.



Fuente: Autor

3.2 ENCUESTA Y ANÁLISIS DE BPM.

Se diseñó una encuesta exploratoria para conocer de manera general las condiciones sanitarias y las BPM de cada restaurante escolar y se aplicó en los 9 municipios de la provincia sur del departamento del Tolima. (Anexo A), para el diseño se tomó como base la encuesta planteada por Puentes (2014) en el proyecto “Determinación de *Listeria monocytogenes* en ensaladas listas para el consumo, en los restaurantes satélites y aledaños de la Universidad del Tolima.

3.3 DISEÑO DE ESTUDIO, VARIABLES A EVALUAR.

Estudio observacional, descriptivo y de corte transversal. Se tomaron muestras de hisopado nasal y manos en manipuladores de alimentos de restaurantes escolares (CDI, colegio rural y colegio urbano); también se tomaron muestras de alimentos entre (derivados lácteos, cárnicos y ensaladas) en las tres instituciones de cada población.

Las variables a evaluar fueron la presencia de *S. aureus* en la flora nasal y en manos de los manipuladores, y en los alimentos suministrados en los restaurantes escolares de las instituciones a evaluar en cada población. También se tuvo en cuenta medidas Higiénicas utilizadas por los manipuladores de alimentos (uso de guantes, tapa bocas y gorros) etc.

3.4 TAMAÑO Y TOMA DE LA MUESTRA.

El estudio se realizó de forma no probabilística y por conveniencia. Para estimar el tamaño de la muestra se aplicó la fórmula planteada por (Thrusfield, 2007), se tuvo en cuenta la prevalencia de *S. aureus* en alimentos no industriales según reportes registrados desde el año 2007 - 2010 con un total de 6.113 (3,85%) alimentos contaminados (que presentaron un recuento mayor de 100 UFC/g (INS, 2011), con un nivel de confianza 95% y una prevalencia esperada del 3.85%, se calculó el número mínimo de muestras con la siguiente fórmula descrita por Thrusfield (citado por Arcos, 2013):

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

Donde:

z^2 = Coeficiente del nivel de confianza prefijado (1.96²) ya que el nivel de confianza es de 95%

p = proporción esperada en este estudio 3.85% (0,0385)

q= 1-p

d= precisión en este estudio un 5%

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot 0,0385 \cdot (1 - 0,0385)}{0,025} = 74,48.$$

El numero minimo de muestras es de 74, en este estudio se tomaron 168 distribuidas entre 106 de alimento y 62 de manipuladores.

3.5 RECOLECCION DE LA MUESTRA.

Para las muestras de alimentos se tomaron 100 gramos de cada alimento entre materia prima y preparados, el tipo de alimento estuvo a disposición de lo que se estuviera preparando en su momento y de lo que se encontraba almacenado, posteriormente se colocaron dentro en bolsas ziploc estériles y almacenados finalmente en neveras con gel refrigerante (Figura 4). Para la toma de muestra de los manipuladores se utilizaron hisopos estériles humedecidos con agua peptonada y se procedió a tomar la muestra por cada manipulador tanto de fosas nasales como de manos y uñas (Figura 3), finalmente la muestra de hisopos se sembró directamente *in situ* en cajas de Petri con agar Baird-Parker; las muestras recolectadas fueron registradas en el acta de muestra (Anexo B).

Figura 3. Toma de frotis nasal a manipuladora de alimentos - CDI de Coyaima.



Fuente: Autor

Figura 4. Toma de muestra de alimento-CDI de Coyaima.



Fuente: Autor

3.6 AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA.

Para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva se realizó el protocolo establecido por la norma ISO 6888-2 y por el INVIMA, el cual consistió inicialmente en preparar placas con Agar Baird- Parker (Anexo G) de la marca OXOID, posteriormente se preparó la muestra pesando 10 g del alimento el cual se suspendió en frascos con 90 ml de solución salina peptonada, también se preparó diluciones hasta 10^{-3} Por cada muestra de alimento, luego de cada dilución se tomó 0.1ml y se sembró en placas con Baird-Parker por triplicado, después de la incubación por 24 horas a 37°C se realizó el conteo de las colonias típicas de *S. aureus*, de estas se tomaron 5 colonias por cada caja de Petri y se sembró en tubos con 5 ml de medio caldo Infusión cerebro corazón (BHI),

de la marca OXOID; luego se incubó a 37°C/24 horas, para la prueba de coagulasa se tomó 0.3ml de la siembra en BHI y se suspendió en tubos estériles que contenían 0.3 ml de plasma humano, se incubó a 37°C/24 horas, una vez finalizado el tiempo de incubación, se hizo la lectura de los tubos que presentaron coagulación del plasma, comparándolos con los controles positivos y negativos, el control positivo se tomó de Culti-Loops™ *S. aureus subsp. aureus* ATCC® 25923™ de la marca Termo Fisher Scientific, a las muestras que dieron como resultado coagulasa positiva se les realizó la prueba de Termonucleasa, para la cual se prepararon placas de Petri con agar DNAsa de la marca OXOID, la siembra se realizó a partir de las muestras en BHI que dieron positivas para coagulasa de las cuales se tomó 0.3 ml y se suspendió en tubos estériles, estos fueron sometidos a punto de ebullición en el baño María por 15 minutos, posteriormente, se realizó un sembrado grueso en las placas de DNAsa, después de la incubación 37°C/ 24h, a las placas que presentaron crecimiento de *S. aureus* se les adicionó cloruro de sodio 1N, las muestras que dieron positivas presentaron un halo transparente alrededor del crecimiento bacteriano, lo que indica que esa cepa de *S. aureus* coagulasa positiva degrada el ADN, es termorresistente y enterotoxigénico (Figura 5).

Figura 5. Análisis de laboratorio para la identificación de *S. aureus*.



Finalmente sobre el número total de colonias típicas contadas en el agar Baird Parker y la proporción de colonias confirmadas con la prueba de coagulasa, se realizó el cálculo de *S. aureus*, utilizando como factor de corrección la relación:

$$\frac{\text{colonias positivas}}{\text{colonias examinadas}}$$

Ejemplo:

Recuento en 10^{-2} 35 colonias= 3.500

Colonias examinadas= 5

Colonias positivas= 5

$$3500 \times \frac{5}{5} = 3.500 \text{ ufc/g ó ml}$$

Cuando se presenta ausencia de colonias típicas en la prueba presuntiva Baird-Parker; expresar los resultados como:

Staphylococcus aureus coagulasa positiva < 100 ufc/g ó ml.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El componente descriptivo, el procesamiento de los datos y los gráficos se realizaron a través del programa Excel 2010 y EPIINFO versión 7.1.4.0.

3.8 IDENTIFICACIÓN DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL PARA LA DISMINUCIÓN DE ETA.

Las diferentes encuestas realizadas se sistematizaron y analizaron bajo el programa EPIINFO, estableciendo los puntos críticos de control en función a las falencias identificadas en las encuestas de BPM; de esta manera, se definieron los lineamientos y recomendaciones que se deben implementar para el control de los patógenos causantes de ETA al interior de los restaurantes escolares que prestan su servicio a la población infantil de los diferentes establecimientos educativos.

4. RESULTADOS.

4.1 AISLAMIENTOS POSITIVOS DE *Staphylococcus aureus*..

De las 106 muestras de alimentos recolectadas, 31 fueron positivas para coagulasa y 3 de éstas fueron DNAsa positivo, arrojando una prevalencia de (29.24%) 31/102; de manipuladores, se recolectaron 62 muestras, de éstas, 5 fueron positivas para coagulasa y 1 para DNAsa con una prevalencia de (8.06%) 5/62; como lo muestra la Tabla 4.

Tabla 4: Prevalencia de *S. aureus* en alimentos y manipuladores, en los 9 Municipios del sur del Tolima.

Municipio	Fuente	Numero de muestras	Positivos para	
			<i>S. aureus</i>	Prevalencia
San Antonio	Alimentos	16	0	0%
	manipuladores	10	0	0%
Planadas	alimentos	13	4	30.7%
	manipuladores	10	0	0%
Roncesvalles	alimentos	8	1	12.5%
	manipuladores	8	4	50%
Chaparral	alimentos	17	4	23.5%
	manipuladores	8	0	0%
Ortega	alimentos	10	7	70%
	manipuladores	8	0	0%
Coyaima	alimentos	8	3	37.5%
	manipuladores	6	0	0%
Natagaima	alimentos	14	5	35.7%
	manipuladores	6	0	0%
Ataco	alimentos	6	2	33.3%
	manipuladores	2	1	50%
Rioblanco	alimentos	14	5	35.7%
	manipuladores	4	0	0%

Fuente: Autor

El municipio que presentó la prevalencia más alta de *S. aureus* en alimentos fue Ortega (70%); para el caso de los manipuladores solo se encontró personal contaminado en 3

de los 9 municipios evaluados, encontrándose la prevalencia más alta en los municipios de Roncesvalles y Ataco con (50%) los cuales presentaron mayor contaminación en manos que en nariz (Tabla 6), por otro lado el municipio de San Antonio no presentó aislados positivos (Tabla 4) y (Figura 6).

Los alimentos que presentaron la más alta contaminación por este patógeno fueron el pollo crudo y el queso con 5 aislados positivos para cada uno, en cambio en alimentos como el hígado crudo y la leche entera no se detectó este microorganismo, cabe resaltar que los alimento harina para colada y ensalada que no son comúnmente considerados como un alimentos de alto riesgo, presentaron contaminación por *S. aureus* (Tabla 5).

Tabla 5. Positivos para *S. aureus* en alimentos.

ALIMENTOS ANALIZADOS		
TIPO	ALIMENTO	POSITIVOS PARA <i>S. aureus</i> .
CRUDOS	harina para colada	2
	pollo	5
	hígado	0
	carne res	1
	leche en polvo	3
	leche entera	0
LISTOS PARA CONSUMO	yogurt	3
	kumis	1
	avena	1
	queso	5
	chocolate	1
	Pan	1
	Ensalada	2
	huevo tortilla	1
	Colada	2
	Pollo	1
	Carne molida	1
	Carne res	1

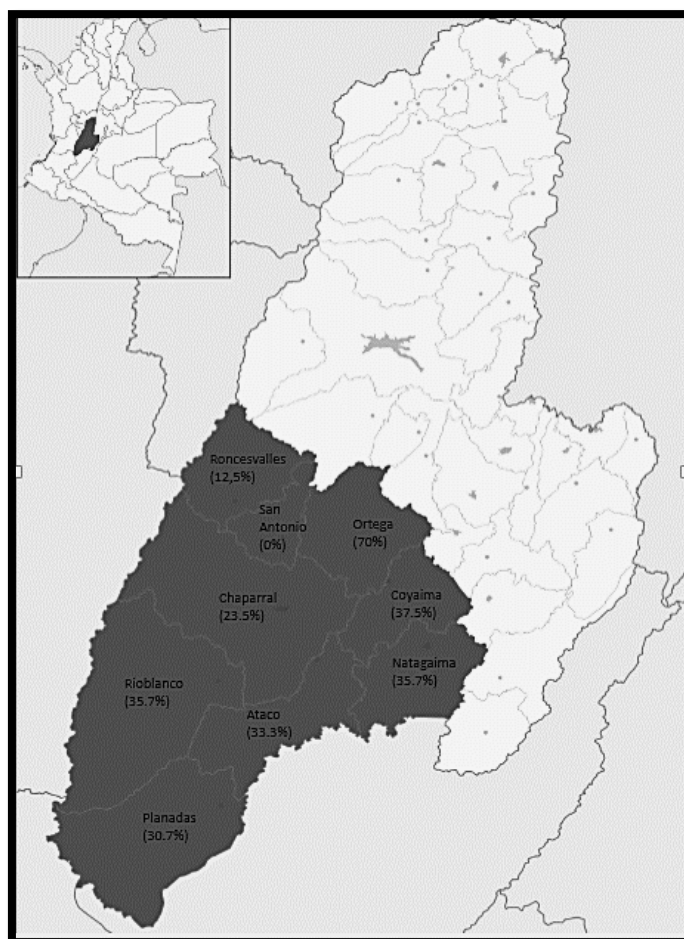
Fuente: Autor

Tabla 6. Positivos para *S. aureus* en muestras de manipuladores.

MANIPULADORES	
TIPO DE MUESTRA	POSITIVOS PARA <i>S. aureus</i> .
Frotis nasal	2
Frotis manos	3

Fuente: Autor

Figura 6. Distribución de prevalencias de *S. aureus* en alimentos, en los municipios de la provincia sur del Tolima.

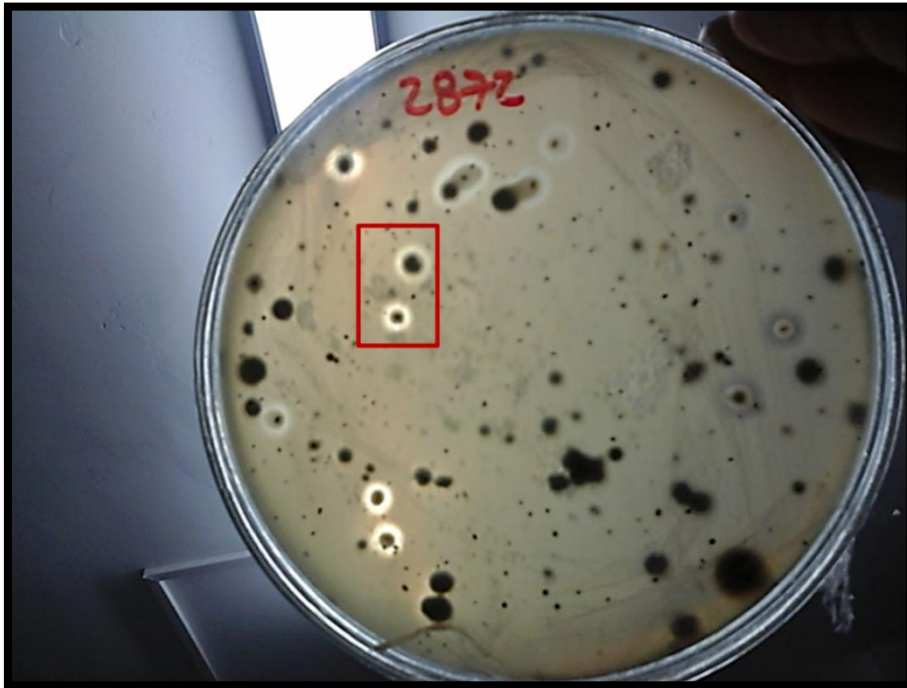


Fuente: Autor

4.2 RESULTADOS DEL AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUIMICA DE LAS CEPAS.

4.2.1 Aislamiento en medio Baird-Parker: Después de la siembra del alimento o el frotis del manipulador en el medio Baird-Parker el cual es específico para este microorganismo y su posterior incubación a 37°C /24h, se observó crecimiento bacteriano; las colonias típicas de *S. aureus* presentan bordes lisos, son convexas, húmedas, brillantes, negras, con un borde blanco fino, rodeadas de una zona opaca y de un halo claro como se observa en la (Figura 7).

Figura 7. Crecimiento típico de *S. aureus*



Fuente: Autor

4.2.2 Prueba de coagulasa: Luego de la identificación presuntiva del microorganismo, se aislaron 5 colonias típicas las cuales se sembraron en caldo BHI, después de la incubación se tomó 0.3 ml de BHI con crecimiento bacteriano y se realizó la prueba de coagulasa, los resultados positivos fueron aquellos tubos que presentaron coagulación completa o parcial de la solución de plasma y BHI como se muestra en la (Figura 8).

Figura 8. Prueba bioquímica Coagulasa positiva en *Staphylococcus aureus*.



Fuente: Autor

4.2.3 Prueba de DNAsa: Finalmente se realizó la prueba de DNAsa para identificar Estafilococos potencialmente patógenos, en primer instancia las muestras dispuestas en BHI fueron sometidas a un tratamiento térmico punto de ebullición por 15 min (Figura 9) para identificar cepas termorresistentes, posteriormente se realizó una siembra gruesa en el medio DNAsa. Después de la incubación del medio con la cepa de prueba, las cepas que resistieron al tratamiento térmico y crecieron en el medio se les adicionó abundante ácido clorhídrico 1N (Figura 10), el cual precipita el ADN polimerizado y hace que el medio se torne opaco, cuando el microorganismo sembrado degrada el ADN produce una zona transparente alrededor de la colonia y se lee como DNAsa positivo (Figura 11).

Figura 9. Tratamiento térmico de las muestras en baño María.



Fuente: Autor

Figura 10. Prueba de DNAsa, después de la aplicación de ácido clorhídrico.



Fuente: Autor

Figura 11. Prueba DNAsa positivo para *S. aureus*.

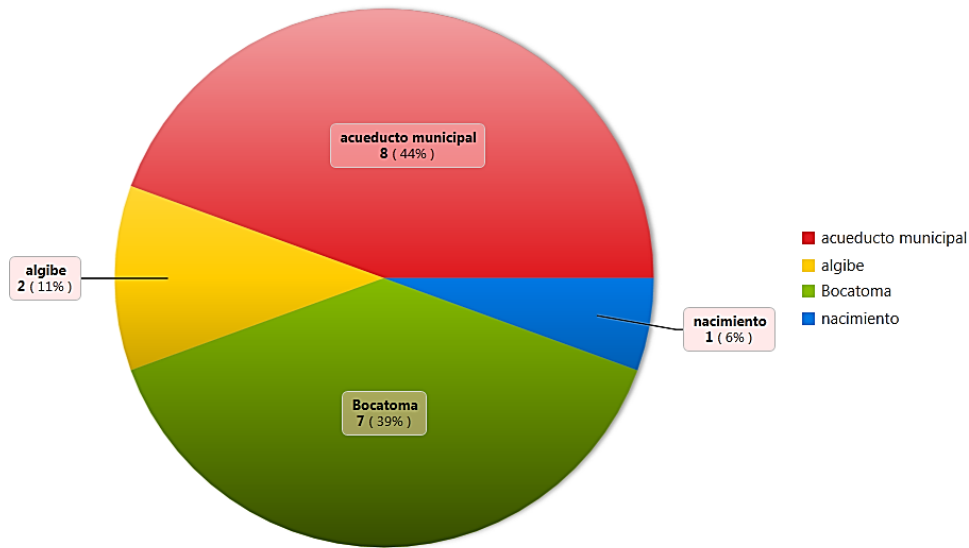


Fuente: Autor

4.3 RESULTADOS DEL ANALISIS DE LAS BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA.

Se aplicó un total de 18 encuestas BPM a los diferentes restaurantes escolares de los municipios evaluados las cuales permitieron conocer el estado actual de cada restaurante en cuanto a las condiciones higiénicas sanitarias y las buenas prácticas de manufactura respecto a los manipuladores. Los resultados de estas encuestas evidenciaron factores de riesgo como la deficiencia en el tratamiento del agua la cual se considera un foco de contaminación para los alimentos en donde la gran mayoría de los restaurantes no utilizan agua potable para la preparación de los alimentos debido a que algunos municipios no cuentan con acueducto municipal y obtienen el agua a partir de otros fuentes como aljibe, bocatoma o directamente del nacimiento del agua. (Figura 12).

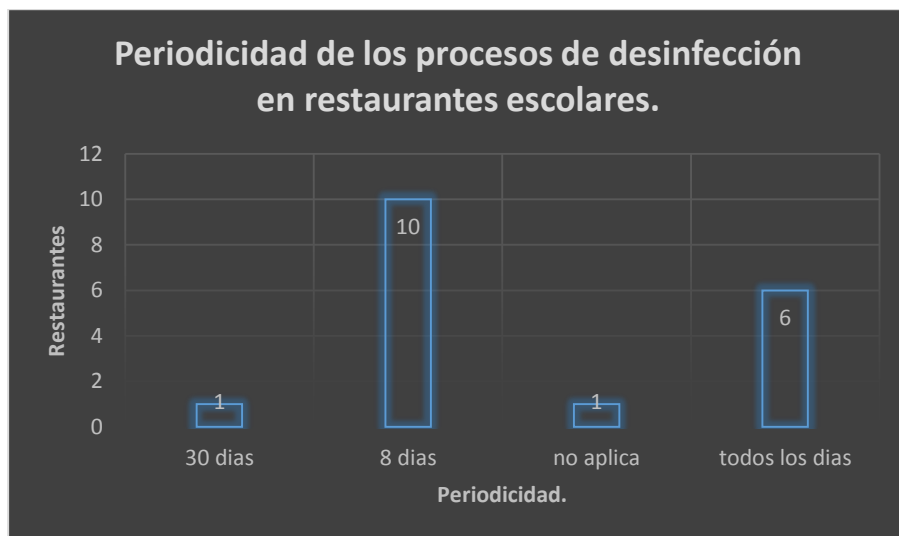
Figura 12. Diferentes fuentes del agua empleada en los restaurantes escolares.



Fuente: Autor

En cuanto a la desinfección del área de trabajo se observó que los restaurantes ejecutan este proceso periódicamente, la mayoría lo hace cada 8 días, seguido de todos los días y solo 1 restaurante realiza la desinfección cada mes (Figura 13). La (Figura 14) muestra el área de trabajo limpia, desinfectada y debidamente organizada.

Figura 13. Periodicidad de los procesos de desinfección de pisos y paredes.



Fuente: Autor

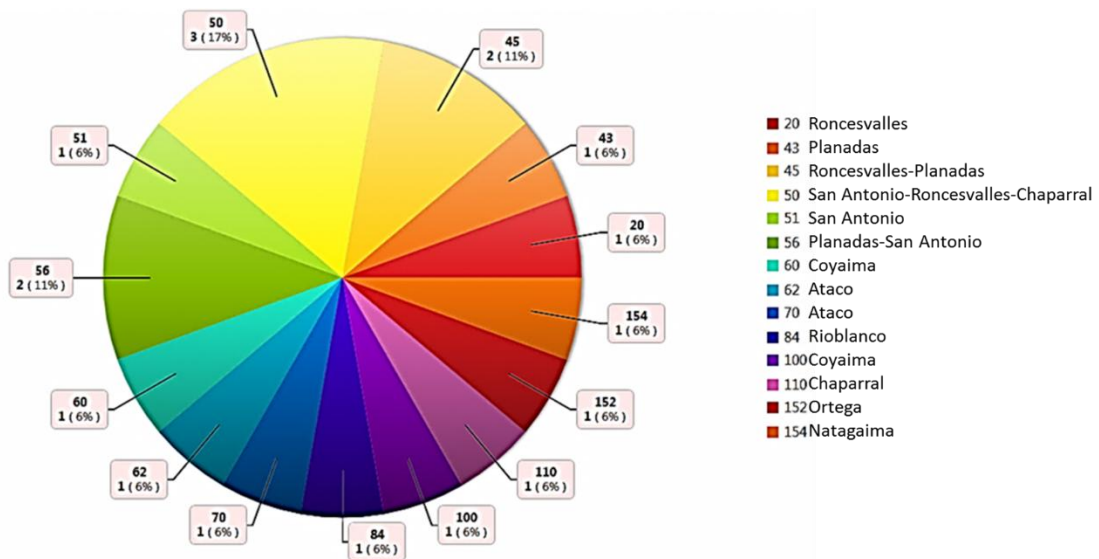
Figura 14. Área de trabajo limpia y desinfectada.



Fuente: Autor

En cuanto a la población infantil, se determinó que el número total de niños que consumen alimentos en los restaurantes escolares evaluados de todo el sur del Tolima corresponde a 1258 infantes. (Figura 15).

Figura 15. Población infantil que utiliza el servicio de restaurante escolar.



Fuente: Autor

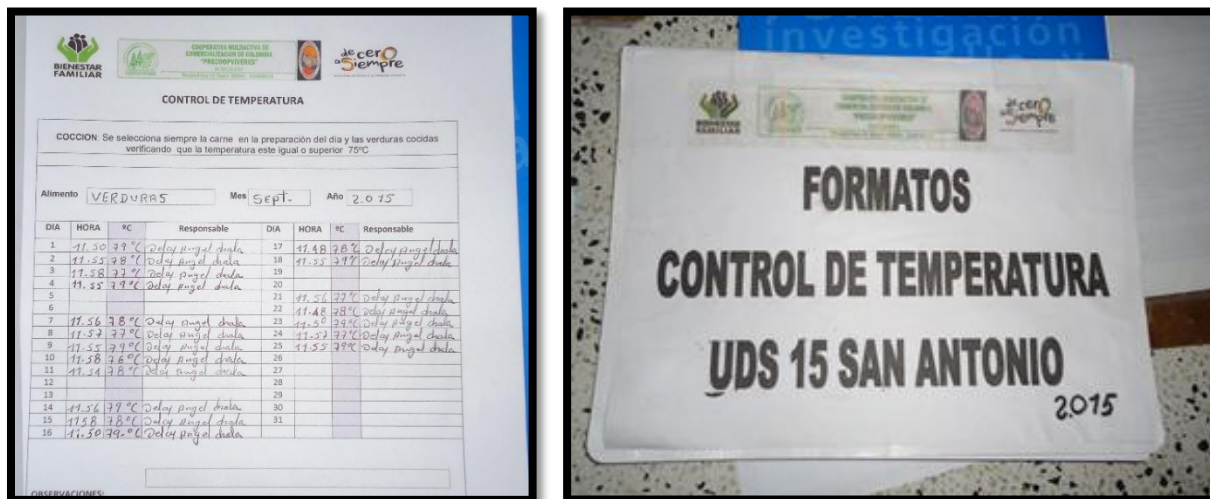
La (Figura 16), evidencia que el 94.44% de los manipuladores cuentan con capacitación vigente de manipulador de alimentos, además este mismo porcentaje cuenta con las medidas y accesorios de protección como gorros y tapabocas (Figura 17), necesarios para evitar la contaminación de los alimentos y del área de trabajo, en cuanto al control de la temperatura de los alimentos, sólo el 50% de los restaurantes practican este proceso y cuentan con los formatos para el registro respectivo (Figura 18).

Figura 16. Porcentaje de cumplimiento de los manipuladores de alimentos



Fuente: Autor

Figura 17. Control y registro de Temperatura en Centro de Desarrollo Infantil.



Fuente: Autor

Figura 18. Manipuladora de alimentos con los accesorios de protección en Centro de Desarrollo Infantil-Chaparral.



Fuente: Autor

Esta investigación contempló la población infantil considerada como vulnerable, los cuales se encuentran entre edades de 1-10 años, en donde la población infantil, con edad entre 5-10, es la que más utiliza el servicio de restaurante escolar con un porcentaje del 39% según análisis de BPM. Además se identificó que el 61% de los manipuladores se practican controles de salud anuales, los demás realizan estos controles de manera semestral y trimestral.

5. DISCUSIÓN

Este estudio permitió obtener prevalencias de *S. aureus* en alimentos y manipuladores de restaurantes escolares. También se asoció las prácticas y conductas de los manipuladores, el origen del agua y las materias primas contaminadas desde su origen, como factores de riesgo para la contaminación de los alimentos. por ende esta investigación se convierte en una instrumento útil para la caracterización epidemiológica de *S. aureus*, además apoya el fortalecimiento de la vigilancia en salud pública de las ETA por este microorganismo en la población infantil, teniendo en cuenta que la zona sur del Tolima presenta grandes dificultades socio-económicas debido a la carencia en la dotación de bienes públicos, problemática que contribuye a la morbilidad y mortalidad en la población especialmente en aquellos más vulnerables, afectando su calidad de vida (INCODER, 2012). En el Tolima, durante el periodo del año 2000-2010 se reportaron casos brotes por IAE en restaurantes escolares de establecimientos educativos por el consumo de preparaciones con pollo, además se presentaron brotes en otros lugares como lo fue en el hogar y en establecimientos penitenciarios (INS, 2011). A pesar de que la IAE se considera como una enfermedad auto limitante al tender a resolverse por sí misma, en todo el mundo se han reportado casos de hospitalización y de muertes por esta enfermedad (INS, 2011).

Por tanto, los datos reportados en este estudio, se consideran como un primer acercamiento a la vigilancia de este microorganismo en esta zona del país, el cual permite avanzar en el conocimiento del papel que juega los manipuladores de alimentos en la contaminación de productos que son para consumo de la población infantil, teniendo en cuenta que a nivel nacional no existen reportes similares.

La prevalencia en alimentos reportada en esta investigación es comparable con la reportada por (Vanegas et al., 2008) en muestras de queso la cual fue de 26% con la diferencia de que en este estudio se evaluó el queso y otro tipo de alimentos. A nivel Internacional se compara con la prevalencia encontrada por (Riquelme, 2007) quien

determino la presencia de *S. aureus* en platos fríos de Chile encontrándolo en el 32% de las muestras analizadas. Dentro de los alimentos que presentaron mayor contaminación se encuentra el queso y el pollo crudo lo que concuerda con la evaluación de riesgo para este microorganismo (INS, 2011). El pollo se considera un alimento de alto riesgo por sus características fisicoquímicas (pH cercano a la neutralidad, actividad de agua alta, y alto contenido de proteínas y grasas) los cual propicia las condiciones adecuadas para el desarrollo de *Staphylococcus aureus* (Mercado et al., 2012). También el proceso de elaboración del queso, su distribución, almacenamiento y transporte en malas condiciones de refrigeración, se asocia como factores de riesgo, especialmente en puntos de empaque y en venta, en donde los alimentos de amplio consumo como el queso son más propensos a la contaminación (Borbolla, Vidal, Piña, Ramírez y Vidal, 2004). También se puede considerar como factor de riesgo la contaminación de leche y derivados lácteos desde los animales de consumo. Fadul y Quecano (2005) sugieren la contaminación de la leche desde el momento de ordeño donde algunas vacas presentan Mastitis enfermedad ocasionada por La presencia de *S. aureus*. También la contaminación de este producto se puede presentar por la manipulación o manejo inadecuado de alimentos durante su procesado, almacenamiento o comercialización (Martínez, Lamk y Alvarez, 2014).

Para el caso de los manipuladores la prevalencia reportada fue relativamente baja encontrándose el patógeno en solo 5/62 (8.06/%) de las muestras, presentándose más contaminación en manos que en las fosas nasales (Tabla 6), esta prevalencia se asemeja a la reportada por Contreras (2013) en el departamento de Santander quien encontró en su investigación que tan solo el 4,44% de estos presentaron el microorganismo. Generalmente en el país, los reportes de prevalencias de *S. aureus* en manipuladores de alimentos presentar niveles más altos, como la reportada por Castilla (2011) en Cartagena, quien determino que este microorganismo estuvo presente en el 63.6% de los manipuladores. Internacionalmente se presenta el mismo caso donde se han reportado prevalencias hasta del 100% en países como Venezuela (Valdiviezo, 2006). Y en Paraguay y Argentina de 33,3 y 33,5% respectivamente (Achon et al., 2012), (Jorda et al., 2012). La baja prevalencia de *S. aureus* en este estudio, indica que la

contaminación de los alimentos se presentó a partir de otras fuentes y no son los manipuladores el principal factor de contaminación, deja ver en evidencia la problemática en las cadenas productivas de los productos elaborados y materias primas, se deduce que estas ya provenían contaminadas desde su lugar de origen, en donde probablemente a través del fenómeno de contaminación cruzada se generó una cadena de contagio entre todos los alimentos y manipuladores. Por tanto los utensilios y equipos según Camargo (2003) deben estar limpios y sanitizados antes de su uso y después de cada interrupción de trabajo para disminuir el fenómeno de contaminación cruzada (Citado por Suanca, 2008).

Todos Los restaurantes escolares indicaron que realizan lavados periódicos del área de trabajo y utilizan para la desinfección Hipoclorito de sodio, el cual según Wildbrett, 2000 es un potencial antibacterial a una concentración de 200mg/L (Citado por Suanca, 2008). Esto se debe a que tan solo en un minuto puede destruir *S. aureus*. Cabe resaltar que no se logró demostrar si realizaban este proceso de manera adecuada ya que la limpieza según Nieto (2003) posee tres etapas: remoción de macropartículas, remoción de micro partículas y remoción de microorganismos teniendo en cuenta que *S. aureus* tiene la capacidad de formar biopelículas y esto dificulta aún más su erradicación (Citado por Suanca, 2008). En cuanto al lavado de manos las manipuladoras indicaron que lo efectúan de manera adecuada, (Anónimo, 2005) sugiere que esta práctica debe iniciar por las uñas, continuando con el pulgar y cada uno de los dedos durante diez veces cada uno, frotando pliegues, codos y antebrazos, enjuagar con los brazos hacia arriba y secar con toalla desechable (Citado por Suanca, 2008).

El Municipio que presentó mayor contaminación de los alimentos fue Ortega en donde se analizaron tres restaurantes, 2 pertenecientes a CDI y un restaurante escolar de Colegio Urbano, este último fue de dónde provenía todos los alimentos en los que se encontró contaminación con *Staphylococcus aureus*, las fuentes de contaminación son diversas ya que este lugar presentó diferentes irregularidades en cuanto a infraestructura, suciedad de los mesones y pisos, ineficiente refrigeración de los alimentos, y una temperatura climática muy elevada a los cuales los alimentos

preparados estaban expuestos lo cual es un detonante para la proliferación de este microorganismo (Figura 23).

Figura 23. Área de trabajo de restaurante escolar urbano en Ortega que no cumple con BPM.



Fuente: Autor

Los municipios de Roncesvalles y Ataco presentaron la prevalencia más alta en manipuladores con un (50%), los cuales pueden ser portadores naturales del microorganismo teniendo en cuenta que del 25 a 50% de la población sana está colonizada por esta bacteria, constituyendo un riesgo por su diseminación y puede ser adquirido a través del contacto con otras personas o por exposición al ambiente (Cervantes, García y Salazar, 2014). También se pudo presentar una colonización temporal por manipular alimentos previamente contaminados desde su lugar de expendio y comercialización, animales de consumo o puntos de fábrica.

6. CONCLUSIONES

- Se aisló *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva en muestras de alimentos y manipuladores, de las cuales tres fueron DNAsa positivo.
- El municipio de Ortega presentó la prevalencia de *S. aureus* más alta en alimentos con (70%), sobre todo en alimentos de materia prima y de origen industrializado, los cuales se encontraron expuestos a una alta temperatura ambiental, deficiente cadena de refrigeración y malas prácticas higiénicas.
- De forma general la mayoría de los manipuladores de los restaurantes realizan BPM particularmente en los CDI, por lo que se deduce que en la mayoría de los casos la contaminación de los alimentos se produjo desde el punto de fabricación o durante su comercialización.
- Los municipios de Roncesvalles y Ataco presentaron la prevalencia de *S. aureus* más alta en manipuladores con (50%), los cuales pueden ser portadores ocasionales o naturales de este microorganismo al colonizarse por la manipulación de materia prima contaminada previamente en su lugar de producción o expendio.
- El queso y el pollo fueron los alimentos con mayor número de aislados positivos, por lo cual se debe intensificar los controles en este tipo de alimento y también en aquellos que no son considerados alimentos de alto riesgo como lo son las ensaladas y harinas.
- Este es el primer reporte de *S. aureus* en muestras de alimentos y manipuladores de restaurantes escolares en el departamento del Tolima, siendo un aporte básico para la vigilancia en salud pública de las ETA, además de ser una herramienta útil para la caracterización epidemiológica de *S. aureus*.

RECOMEDACIONES

Se recomienda una mayor vigilancia y control en los puntos de fábrica y comercialización de los alimentos ya que probablemente en estos lugares se está generando la mayor contaminación con *S. aureus* de las materias primas y de productos terminados e industrializados, teniendo en cuenta que este microorganismo es un problema sanitario que involucra a muchas partes.

... Tener en los restaurantes el protocolo de BPM el cual debe ser metológico y claro para su fácil comprensión e implementación, además de que los manipuladores deben tener un plan de capacitación continuo y permanente en especial los que hacen parte del PAE, el cual debe ser reforzado con charlas, cursos u otros medios de actualización, de tal manera que permita a los manipuladores mantener estrictos controles de calidad, encaminados a la inocuidad alimentaria, brindando productos seguros para la población infantil.

... Al ministerio de Educación prestar mayor atención y seguimiento al (PAE) al encontrarse falencias en cuanto al acceso y el consumo oportuno y permanente de los alimentos en cantidad, calidad e inocuidad necesaria.

... Dar a conocer a las entidades competentes a partir de una socialización los resultados obtenidos en esta investigación, para la toma de medidas correspondientes al caso y el aporte de información útil para la vigilancia epidemiológica de *S. aureus* en esta zona del Tolima que presenta una tasa de mortalidad infantil alta.

REFERENCIAS

- Acevedo, D., Granados, C., & Montero, P. (2014). Caracterización de propiedades fisicoquímicas, textura y calidad microbiológica de Butifarra comercializada en Cartagena (Colombia). *Informacion Tecnologica*, 25(6), 33-38.
- Achon, F., Cabral, L., & Walde, J. (2012). Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del Mercado 4 de Asunción, Paraguay. *ANACEM*, 6(1), 14-17.
- Avila Vega, V. A. (2008). *Evaluación de la calidad microbiologica de los helados elaborados en una empresa del municipio de Soacha y su impacto a nivel local*. (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Barón, S. (1996). *Microbiología Médica, 4º Edición*. Galveston, Texas: Universidad de Texas Medical Branch en Galveston.
- Bastías, J. M., Cuadra, M., Muñoz, O., & Quevedo, R. (2013). Correlación entre las buenas prácticas de manufactura y el cumplimiento de los criterios microbiológicos en la fabrica de helados de Chile. *Chil Nutr Junio*, 40(2), 161-168.
- Bayona, M. (2012). Prevalencia de Salmonella y Enteropárasitos en alimentos y manipuladores de alimentos de ventas ambulantes y restaurantes en un sector del norte de Bogotá, Colombia. *U.D.C.A*, 15(2), 267-274.
- Bejarano Roncancio, J. J., & Fandiño Martínez, M. A. (2011). Caracterización de las condiciones higienico sanitarias y microbiologicas de los puntos operativos del programa nacional de alimentación al adulto mayor PNAAM ICBF 2007. *Facultad de Medicina*, 59(4), 308-318.

- Borbolla Sala , M., Vidal Perez, M., Piña Gutierrez, O., Ramirez Messner, I., & Vidal Vidal, J. (2004). Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, *coliformes fecales*, *Salmonella*, *hongos*, *levaduras* y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. *Salud en Tabasco*, 11(2), 221-232.
- Brands, D. (2005). *Salmonella (Deadly Diseases & Epidemics)*. New York: Chelsea House Publications.
- Bustos Martinez, J., Hamdan Partida, A., & Gutierrez Cardenas, M. (2006). *Staphylococcus aureus*: La reemergencia de un patogeno en la comunidad. *Biomedica*, 17(4): 287-305.
- Campos Díaz, J. (2000). *Estudio higiénico-sanitario de comedores escolares de la isla de Tenerife*. (Tesis Doctoral). Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública y Medicina Legal y Forense, Tenerife.
- Camussone, C., & Calvino, L. (2013). Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus* asociados con infecciones mamarias en bovinos: relevanci y rol como agentes inmunogenos. *Revista Argentina de Microbiología*, 45(2), 119-130.
- Castillo Segovia, G. E. (2013). *“Prevalencia de bacterias patogenas, Listeria monocytogenes Y Staphylococcus aureus, en queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales de Cantón Riobamba*. Riobamba (Ecuador): (Tesis Pregrado). Facultad de Ciencias. Escuela superior Politecnica de Chimborazo.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2000). Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks United States, 1993–1997. Surveillance Summaries 49(ss-1).

- Cervantes, E., Garcia, R. & Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*. 61(1), 28-40
- Chirag, S., & B N, Y. (2014). Determination of Thermal Sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolate CHK3. *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB)*, 2(12), 887-890.
- Corrales Ramírez, L. C., Alvarado Ospina, M. A., Castillo Fonseca, L. A., & Camacho Beltran, Y. C. (2011). Estudio bacteriológico de la calidad del pescadofresco, Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja(*Oreochromis sp.*) comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia). *NOVA - Publicación Científica EN CIENCIAS BIOMÉDICAS*, 9(15), 113 - 214.
- Correa Ochoa, M. M., & Jiménez Quiceno, J. N. (2009). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. *IATREIA*, 22(2), 147-158.
- Cristóbal Delgado, R., & Maurtua Torres, D. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp.* *Panam Salud Publica*, 14(3), 158-164.
- Colombia, Congreso de Colombia, (1979) Ley 9/1979, Santa Fe de Bogotá.
- De Curtis, M. L., Franseschi, O., & De Castro, N. (2000). Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas. *ALAN*, 50(2), 177-182.
- Decreto 3075 de 1997 por el cual se reglamenta parcialmente la ley 09 de 1979 y se dictan otras disposiciones, (. B. (s.f.).

- Fadul Pacheco, L., & Quecano Poveda, M. (2005). *Evaluación de la flora microbiana del queso Paipa durante diferentes periodos de maduración*. Bogotá: Universidad de la Salle.
- Grandos Conde, C., Acevedo Correa, D., & Torres Gallo, R. (2012). Calidad de la leche y del suero costeño de los municipios Turbaco, Arjona y Carmen de Bolívar – Colombia. *LASALLISTA DE INVESTIGACIÓN*, 9(2), 132-137.
- Gutierrez, G., Revollo, S., Espada, A., & Quispe, S. (2007). Identificación mediante PCR del gen codificador de la enterotoxina de *Staphylococcus aureus* en productos lácteos. *Visión Científica*, 2(1), 56-59.
- Herrera, F., & Santos, J. (2015). Genes enterotoxigénicos en cepas de *Staphylococcus spp.*, aisladas a partir de queso elaborado en Pamplona-Colombia. *Revista MVZ Cordoba*, 20 (1), 4472-4481.
- INCODER. (2012). *Caracterización sociodemográfica del área de desarrollo rural del sur de Tolima*. Obtenido de Instituto colombiano de desarrollo rural: www.incoder.gov.co
- Instituto Nacional de Salud. (2011). *Evaluación de riesgos de Staphylococcus aureus Enterotoxigenico en alimentos preparados no industriales en Colombia*. Obtenido de Instituto Nacional de Salud: www.ins.gov.co
- Instituto Nacional de Salud. (2016). *Boletín Epidemiológico semana 28*. Obtenido de Insituto Nacional de Salud: www.ins.gov.co
- Jorda, G., Marucci, R., Guida, A., & Pires, P. (2012). Portación y caracterización de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. *Revista Argentina de Microbiología*, (44): 101-104.

- K rouanton, A., Hennekinne, J.A., Letertre, C., Petit, L., Chesneau, O., Brisabois, A., De Buyser, M.L. (2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *Int J Food Microbiol.* 115(3), 369-75.
- Londoño, J., Ortiz, G., & Gaviria, A. (2006). Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personal de la unidad de terapia intensiva de la Clínica Universitaria Bolivariana, Medellín 2004. *Asociación Colombiana de Infectología*, 10(3), 160-166.
- Luna , Lee , de mandíbula, Joo, Parque, Kim, & koo. (2007). La comparación de antibiograma, la productividad enterotoxina estafilocócica, y los genotipos coagulasa entre *Staphylococcus aureus* aislados de fuentes animales y vegetales en Corea. *J Food Prot*, 70(11), 2541-2548.
- Martínez, K., Lamk, L., & Alvarez, A. (2014). Efecto antimicrobiano del vinagre blanco y del limón criollo sobre *Staphylococcus aureus* en ensaladas de restaurantes del programa de alimentación escolar (PAE) de san Jose de Cúcuta. *LIMENTECH*, 12(1), 48-54.
- Martins, de Almeida, Basso, de Moura, Frazzon, Tondo, & Frazzon. (2013). Estafilococos coagulasa positivos aislados de la carne de pollo: potencial patógeno y resistencia a la vancomicina. *Foodborne Pathog Dis*, 10(9), 771-6.
- Mercado, M., Avila, J., Rey, M., Montoya, M., Gamboa, A., Carrascal, A. K., & Correa, D. M. (2012). Brotes por *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. *Biomedica*, 32. 375-385.
- Ministerio de educación Nacional. (Julio de 2012). *Desarrollo integral en la primera infancia modalidades de educacion inicial centros de desarrollo infantil*. Bogotá: Comision intersectorial para la atencion de la primera infancia "de Cero a Siempre". Obtenido de Ministerio de Educación Nacional sitio web.

Ministerio de Educación Nacional. (2014). *Lineamientos técnicos administrativos del programa de alimentación escolar (PAE)*. Bogotá.

Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). *Resolución 2674*. Bogotá.

MinSalud. (2012). *Análisis de la situación de salud de salud en el Tolima*. Obtenido de Ministerio de salud: <https://www.minsalud.gov.co>

Moura, T. M., Souza Campos, F., Alves Azevedo, P., Van der Sand, S. T., Franco, A. C., Frazzon, J., & Guedes Frazzon, A. P. (2012). Prevalence of enterotoxin-encoding genes and antimicrobial resistance in coagulase-negative and coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from black pudding. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45(5):579-585.

New Zealand Food Safety Authority. (2010). *Staphylococcus aureus*. Issued May. Recuperado de: <http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/Staphylococcus-aureus.pdf>. Consultado septiembre 12 de 2010.

Ocampo Guerrero, M. L., Ruiz Quiñones, N., & Ocampo Moreno, P. (2011). *El control de Listeria monocytogenes, de la planta de proceso a la mesa*. Ibagué: Universidad del Tolima.

Ocampo Moreno, P. A. (2013). *Serotipificación molecular y susceptibilidad antimicrobiana de Listeria monocytogenes, aislada de carne y derivados de origen porcino, en el departamento del Tolima*. (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.

Organización Mundial de la Salud. (2007). *Manual sobre la cinco claves para la inocuidad de los alimentos*. Francia: Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria.

- Parra Arango, J., Martinez Suarez, M., Pardo Castañeda, H., & Vargas, S. (1998). *Mastitis y calidad de la leche en el piedemonte del Meta y Cundinamarca*. Bogotá: Corpoica-Pronatta.
- Perdomo, I., & Melendez, P. (2004). Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigenicos a partir de alimentos. *Revista Colombiana de ciencias quimicas Farmaceuticas*, 33 (1), 59-69.
- Puente, C. (2014). *Determinación de Listeria monocytogenes en ensaladas listas para el consumo en los restaurantes satelitales y aledaños de la Universidad del Tolima*. (Tesis de pregrado), Facultad de Ciencias: Universidad del Tolima, Ibagué.
- Ramírez Vásquez, N., Arroyave Henao, O., Cerón Muñóz, M., Jaramillo, M., Cerón, J., & Palacio, L. G. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Medica Veterinaria*, 22, 31-42.
- Reyes, G., Acosta, I., Atencio, L., González, L., Rivera, J., & Guiñez, J. (2014). Susceptibilidad a antimicrobianos y perfil plasmidico de *Staphylococcus aureus* aislados de quesos artesanales e industriales del municipio Valledupar Cesar-Colombia. *REDIELUZ*, 4(1), 80-86.
- Ricardo Caldera, D. M., Buelvas Doria, F. A., Escobar Perez, J. A., & Tovar Acero, C. (2015). Colonización y factores de virulencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en una población infantil de Montería. *IATREIA*, 28(3), 259-268.
- Suanca Camargo, D. C. (2008). *Diseño de un Programa de Limpieza y desinfección para la "casa de banquetes Gabriel", actual administradora del casino de la empresa Algarra S.A*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.

The Center for Food Security & Public Health. (2007). *Enterotoxina estafilocócica*. Recuperado de: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/entertoxina_B_estafilococica.pdf

Thrusfield, M. (2007). *Veterinary epidemiology*. Oxford: Blackwell Science.

Valdiviezo Lugo, N., Villalobos, L. B., & Martinez Nazaret, R. (2006). Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores publicos en Cumana - Venezuela. *Sociedad Venezolana de Microbiología*, 26(2), 1315-2556.

Zendejas Manzo, G. S., Avalos Flores, H., & Soto Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y metodos de identificación. *Biomedica*, 129-143.

ANEXOS

Anexo A. Formato De Encuesta De Bpm Aplicada A Los Manipuladores De Alimentos.

	DIAGNÓSTICO HIGIENICO SANITARIO DE LOS RESTAURANTES ESCOLARES Y CENTROS DE DESARROLLO INFANTIL DEL ICBF DEL SUR DEL TOLIMA LMM- GEBIUT	Página 69 de 87
		Código: DHSR
		Versión: 01
	<i>Prevalencia de los agentes causales de EDA; Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus C+, Salmonella spp. y Escherichia coli O157: H7, en comedores escolares en la provincia sur del Tolima</i>	

Objetivo: Evaluar el estado de las condiciones higiénico sanitarias de las BPM en los comedores escolares y CDI del Instituto de Bienestar Familiar de la zona sur del Tolima.

Escribir y/o rellenar cada casilla de acuerdo a la situación del punto de muestreo visitado, con letra legible, en caso de no existir datos, plasmar lo faltante en observaciones. Favor no dejar ningún ítem sin responder.

A. DATOS GENERALES DE LA VISITA N°			
Municipio:	Muestreo:		
Hora y Fecha:	Entidad:		
Teléfono:	Dirección:		
Población beneficiada	0-2()	2-5()	5-10()
Persona que recibe visita:			
Cargo:			

B. LOCALIZACIÓN		
1. Zona:		Observaciones:
Urbano ()	Rural ()	
2. Impacto ambiental:		
Mal olor ()	Animales ()	

Contaminación ()	
-------------------	--

C. PRODUCTO ALIMENTARIO				
1. Proveedor		Industrial()	Servicio local ()	
2. Tipo de minuta				
Desayuno ()		Refrigerio ()		Almuerzo ()
Cárnicos				
1. Carne (Kg)/ semana que ingresa al RE o CDI				
2. Procedencia				
Finca ()	Galería ()	Ambulante ()	Tienda ()	Supermercado ()
3. Tipo de carne				
Bovina ()	Porcina ()	Pollo ()	Pescado ()	Otro ¿Cuál? ()
4. Los productos cárnicos procesados son:				
		Observaciones		
Lácteos				
1. Leche (L)/ semana que ingresa al RE o CDI			Queso (Kg)/ semana	
2. Procedencia				
Finca ()	Galería ()	Ambulante ()	Tienda ()	Supermercado ()
3. Tipo de leche				
Cruda ()	Polvo ()	Pasteurizada ()	Saborizada ()	Marca
4. Tipo de queso				
Campesino ()	Pasteurizado ()	Quesillo (fundido) ()	Marca	
5. Tipo de derivado lácteo		Yogurt ()	Avena ()	Kumis ()
6. Otros derivados lácteos			Observaciones	
Bebidas: Refrescos y velas				
1. Bolis unidad (s)/ que ingresa al RE o CDI			Agua envasada unidad (s)	

2. Procedencia				
Casa ()	Fábrica ()	Ambulante ()	Tienda ()	Supermercado ()
3. Agua envasada				
Bolsa ()	Botella ()	Filtro ()	Dispensador ()	Marca
4. Otras bebidas			Observaciones	

D. SERVICIOS				
1. Electricidad	Sí ()	No ()	Observaciones:	
2. Gas	Sí ()	No ()		
3. Agua	Sí ()	No ()		

B. CALIDAD DE AGUA			
1. Agua potable			Observaciones:
Sí ()	No ()	No sabe ()	
2. ¿Realiza análisis microbiológicos del agua?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
3. ¿Con qué periodicidad realiza estos análisis?			
Una vez por mes ()	Una vez por semestre ()	Una vez por año ()	
Otro ¿Cuál?			
4. ¿Tiene tanques de almacenamiento?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5. ¿Realiza lavados periódicos de los tanques?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
Otro ¿Cada cuánto?			
6. ¿El agua es potable?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
7. ¿El origen del agua es?			

Acueducto municipal ()	Acueducto Propio ()	No sabe ()	
Otro ¿Cuál?			

E. INSTALACIONES			
1. ¿Qué tipo de cadena de frío utiliza?			Observaciones:
No tiene ()	Congelación ()		
Refrigeración ()	No sabe ()		
Congelación y refrigeración ()			
2. Registre monitoreo temperatura:			
Congelación			
Refrigeración			
3. ¿Realiza análisis en busca de plagas?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4. ¿Las instalaciones, los equipos y utensilios son de fácil limpieza y desinfección?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5. ¿El piso, paredes y techo del lugar de trabajo es de material lavable, con bordes redondos?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
6. ¿Cuenta con suficientes drenajes?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
7. ¿Las fuentes de luz (ventanas, lámparas) se encuentran protegidas?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
8. ¿Realiza periódicamente procesos de limpieza y desinfección?			
No	No ()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			

9. ¿Tienen un programa de mantenimiento de equipos e instalaciones?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
10. ¿Contrata servicios de laboratorio para monitoreo de inocuidad del producto?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
11. ¿Realiza Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES)?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

C. UTENSILIOS, EQUIPOS Y SUPERFICIES			
Realizan desinfección periódica de :			
Utensilios			Observaciones
1.Cuchillos y cucharas			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
2.Tablas de picar			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
3.Recipientes y canastillas plásticas			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4.Bandejas			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5.Guantes			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			
Equipos			Observaciones
1.Neveras			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

2.Licadoras			
Sí ()	No()	No sabe ()	
3.Balanzas			
Sí ()	No()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			
Superficies			Observaciones
1.Paredes			
Sí ()	No()	No sabe ()	
2.Pisos			
Sí ()	No()	No sabe ()	
3.Mesones			
Sí ()	No()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			

D. PERSONAL			
1. ¿Está vigente la capacitación de los manipuladores?			Observaciones:
Sí ()	No()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
Trimestre ()	Semestre ()		
Anual ()	Nunca ()		
2. Se controla adecuadamente el estado de salud o personal del empleado cada:			
Trimestre ()	Semestre ()		
Anual ()	Nunca ()		
3. Se lleva a cabo análisis de microorganismos al personal. (FN, Baciloscopía, FG, coprocultivo)			



Sí ()	No ()	No sabe ()	
4. ¿El personal usa el uniforme adecuadamente según la actividad?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5. ¿Se aplican buenas prácticas higiénicas y medidas de protección necesarias para evitar la contaminación?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
6. ¿Se supervisan las prácticas higiénicas y medidas de protección necesarias para evitar la contaminación?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

E. MANEJO DE RESIDUOS			
1. ¿Tiene plan de manejo de residuos sólidos?			Observaciones:
Sí ()	No ()	No sabe ()	
2. ¿El punto de basuras es distante de las zonas de trabajo?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
3. ¿Tienen punto de disposición final de residuos sólidos?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4. ¿Realizan clasificación de basuras?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

RE: Restaurante escolar

CDI: Centro de desarrollo infantil

Anexo B. Formato De Acta De Toma De Muestra.

	ACTA PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE ALIMENTOS, AGUAS, AMBIENTES Y MANIPULADORES - LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y MICORRIZAS-GEBIUT	Página 76 de87
		Código: ATMC
		Versión: 1
	Realizado por: MARTHA LILY OCAMPO GUERRERO Bacterióloga Microbióloga Rgto 8"O" 164	

Proyecto	Prevalencia de los agentes causales de EDA: <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Staphilococcus aureus</i> coagulasa positiva, <i>Salmonella spp</i> y <i>Escherichia coli</i> O157:H7, en comedores escolares en la provincia sur del Tolima.
FECHA: DD-MM-A.	_____
Nombre Institución, Expendio :	_____
Municipio:	_____

NÚMERO DE MUESTRA	DESCRIPCION (LOTE)	Tª	% DE HR	Tª DEL MEDIO AMBIENTE
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
NOMBRE REPRESENTANTE INSTITUCIÓN: _____				
NOMBRE RESPONSABLE DEL PROYECTO: _____				

Anexo C. Carta De Consentimiento Informado.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del operario

Fecha

Testigo

Fecha

***Esta parte debe ser completada por el investigador**

He explicado al Sr.(a) _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

Ibagué, febrero 00 del 0000

Señores

Institución Educativa _____

Municipio de:

Asunto: **Consentimiento informado para el muestreo y cadena de custodia.**

El proyecto “Prevalencia de los agentes causales de EDA: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, *Salmonella* spp y *Escherichia coli* O157:H7, en comedores escolares en la provincia sur del Tolima.” financiado por CCIUT y ejecutado por el laboratorio GEBIUT de la Universidad del Tolima, tiene por objetivo determinar si el microorganismo patógenos objeto de este estudio en restaurantes escolares urbano, rural y CDI del ICBF, de este municipio.

Cabe aclarar, que para poder lograr los objetivos propuestos, se debe realizar un muestreo de materia primas, producto terminado, superficies y ambiente de restaurantes escolares urbano, rural y CDI del ICBF, por lo cual debemos contar con el consentimiento inicialmente de los encargados estos restaurantes en cada institución seleccionada para que autoricen dicho muestreo. La metodología utilizada para la toma de la muestra en las superficies del expendio es mediante un frotis, el cual consiste en frotar con un copito de algodón estéril sobre las superficies y los utensilios utilizados. Por cada muestra en expendios se realizará un acta de muestreo, en el cual se relacionarán las diferentes muestras colectadas y un **CÓDIGO QUE PERMITIRÁ MANTENER LA CADENA DE CUSTODIA Y CONFIDENCIALIDAD.**

Los resultados obtenidos, permitirán identificar el porcentaje las condiciones actuales de las BPM y el estado microbiológico de los alimentos que representen un riesgo para la población infantil vulnerables de la Provincia Sur del Tolima. La entrega de estos

resultados será personalizada, con el propósito de mantener la confidencialidad dentro del estudio y sus implicados, y se harán recomendaciones para que se tomen las respectivas medidas sanitarias y médicas para los empleados, evitando así pérdidas de productos y sanciones de las autoridades sanitarias debido a la mala calidad de los productos terminados. Por otro parte, el estudio servirá como aporte a la salud pública, garantizando la inocuidad de estos alimentos al menos en cuanto a estos organismos se trate.

Además de ello, este estudio servirá como línea base para futuras investigaciones a nivel de Buenas Prácticas de Manufactura en los restaurantes escolares.

Esperamos contar con su colaboración para que los investigadores y estudiantes tesistas, quienes están capacitados en responder a todas sus preguntas, puedan realizar la visita con el fin de recolectar la información y las muestras necesarias (materia cruda, producto terminado frotis a superficies y utensilios), cuyo resultado permitirá la elaboración del estatus sanitario de restaurantes escolares urbano, rural y CDI del ICBF, Provincia Sur del Tolima.

Durante el desarrollo del proyecto las personas involucradas en el muestreo tienen la libertad de solicitar información sobre el avance y desarrollo del proyecto o si desean retirarse del estudio pueden hacerlo, en cualquiera de estos casos pueden comunicarse con:

:

MARTHA LILY OCAMPO GUERRERO

Investigador principal a la línea telefónica

3102693369

E-mail: mlocampo@ut.edu.co

Anexo D. Poster “Diagnóstico de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, a partir de alimentos y manipuladores de restaurantes escolares del sur del departamento del Tolima”



XII CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGÍA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS.
Innovación y Sustentabilidad a través de la microbiología de alimentos
Medellín, Colombia, 27 al 30 de septiembre de 2016.

“DIAGNÓSTICO DE *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, A PARTIR DE ALIMENTOS Y MANIPULADORES DE RESTAURANTES ESCOLARES DEL SUR DEL DEPARTAMENTO DEL TOLIMA”.

Isbeth Ortega Moreno, Martha Lily Coarpo Guerrero
Programa de Biología, Facultad de Ciencias, Grupo de Investigación en Genética y Biotecnología Vegetal y Microbiana – GEBVUT, Universidad del Tolima.

*Autor de correspondencia: isbeth.2016@hotmail.com



INTRODUCCIÓN

Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva tienen alta frecuencia en Colombia (Varegas, 2006). Lugares donde se han reportado brotes por consumo de alimentos contaminados son principalmente restaurantes, hogares y sitios de gran concentración (colegios, escuelas, hogares infantiles). Se conoce que uno de los grupos de mayor riesgo es la población infantil considerada como vulnerable (INS, 2011). En el departamento del Tolima no se encuentran reportes de la presencia de este patógeno en alimentos y en manipuladores, por tal razón el objetivo de esta investigación es determinar la prevalencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, en alimentos y manipuladores de los restaurantes escolares de CDI, colegio rural y colegio urbano en poblaciones localizadas en el sur del Tolima.

JUSTIFICACIÓN

Esta investigación permite identificar la calidad microbiológica de los alimentos y el estado de los manipuladores de restaurantes escolares, a partir de la identificación de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva agente causante de ETA, enfermedades que afectan a la población infantil, con el propósito de aportar al Plan de desarrollo territorial (PDT) de cada municipio, lo cual podría disminuir la morbi-mortalidad en este sector de la población Tolimense por afecciones relacionadas con el consumo de alimentos contaminados.



METODOLOGÍA

ÁREA DE ESTUDIO



en 308 el municipio 126 Manipuladores

FASE DE CAMPO
TOMA DE LA MUESTRA



FASE DE LABORATORIO
ANÁLISIS DE LABORATORIO



Respeto a la bioseguridad
Muestra de Alimentos en Saco de Papel
PCR
Tubo PCR
Tubo PCR
Tubo PCR

RESULTADOS PARCIALES

Se muestreo el 25% de la provincia del sur del Tolima, en alimentos se aislaron 10 muestras positivas con una prevalencia de (25%) y en manipuladores 4 muestras positivas con una prevalencia del (9%) una de estas fue CDiase positivo.

Tabla 1. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva en alimentos y manipuladores, para los diferentes Municipios del sur del Tolima.

MUNICIPIO	Fuente	número de muestras	muestras positivas	Prevalencia
San Antonio	alimentos	18	0	0%
	manipuladores	10	0	0%
Páez	alimentos	13	4	30.7%
	manipuladores	10	0	0%
Roncesvalles	alimentos	8	1	12.5%
	manipuladores	8	4	50%
Chaparral	alimentos	17	4	23.5%
	manipuladores	8	0	0%
Ortega	alimentos	10	7	70%
	manipuladores	8	0	0%

BIBLIOGRAFÍA

-Varegas L. M., González G. L., Martínez L. A., & Subrango, F. (2006). Aislamiento y caracterización de cepas de *Staphylococcus Enterotoxigenico* aislados de queso en Bogotá. *INVT Córdoba*, 13(2)-1286-1290.

-Instituto Nacional de Salud. (2011). Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigenico en alimentos preparados no industriales en Colombia.

-Arcos Ávila, E., Mora Cardona, L., & Fandiño de Rubio, L. (2013). Prevalencia de *Salmonella* spp. en carne porcina, plantas de beneficio y expendios del Tolima. *ORINOQUIA*, 17(1): 59-61.



CONCLUSIONES

-Ortega presentó la prevalencia más alta en alimentos con (70%) y Roncesvalles la más alta en manipuladores con (50%).
-La mayoría de los manipuladores realizan buenas prácticas de manufactura, particularmente en los CDI.
-El queso y el pollo fueron los alimentos con mayor número de aislados positivos.

AGRADECIMIENTOS

Microproyecto Solución de Problemas Regionales en población vulnerable del sur del Tolima. Al Comité Central de Investigaciones - CCI Universidad del Tolima, Secretaría de Educación Departamental, KDF, y al grupo de investigación GEBVUT.

Anexo E. Certificado de sustentación de tesis en modalidad de poster titulada “Diagnóstico de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, a partir de alimentos y manipuladores de restaurantes escolares del sur del departamento del Tolima”



Anexo F. Medio de cultivo Baird Parker.

PREPARACIÓN DE MEDIO BAIRD PARKER.

Materiales y Reactivos.

- ✓ Frascos de vidrio
- ✓ Probeta
- ✓ Pipeta
- ✓ Toallas
- ✓ Pinzas
- ✓ Beaker
- ✓ Base Baird Parker.
- ✓ Yema de huevo
- ✓ Telurio
- ✓ Solución salina Peptonada.

Procedimiento.

Para la preparación de un volumen total de 1000 ml de medio Baird Parker es necesario 50 ml de solución yema de huevo telurito, el cual debe ser agregado cuando la temperatura de la base de Baird-Parker sea de 45°C aproximadamente, mover el frasco de vidrio para homogenizar la solución, posteriormente se procede rápidamente a servir el medio en las cajas de Petri, sellar muy bien con vinipel.

Preparación de Solución Yema de Huevo Telurito (50 ml).

- ml de Telurito de Sodio.
- 22.5 ml de yema de huevo
- 22.5 ml de solución salina peptona

Desinfectar el huevo con alcohol al 70 %, realizar un agujero pequeño en la superficie del huevo con ayuda de la pinza, vaciar la clara en un recipiente aparte, con ayuda de la probeta medir el volumen requerido de yema y de solución salina peptonada, medir los 5 ml de telurito con una pipeta; agregar los tres volúmenes en un recipiente.

Preparación de Telurito de Sodio (3,5%).

Para preparar 20 ml de Telurito es necesario: 0.7g de Telurito de Sodio y 20 ml de agua destilada estéril.

Preparación de Solución salina Peptonada.

Para 1000 ml es necesario: 1g de peptona, 8,5g de Cloruro de sodio y 1000 ml de Agua destilada estéril.

NOTA: Todos los materiales utilizados deben estar debidamente esterilizados.

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 1 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 02

Los suscritos:

IBETH ORTEGÓN MORENO	con C.C N°	1110531743
_____	con C.C N°	_____
_____	con C.C N°	_____
_____	con C.C N°	_____
_____	con C.C N°	_____

Manifiesto (an) la voluntad de:

Autorizar

No Autorizar Motivo: _____

La consulta en físico y la virtualización de **mi OBRA**, con el fin de incluirlo en el repositorio institucional de la Universidad del Tolima. Esta autorización se hace sin ánimo de lucro, con fines académicos y no implica una cesión de derechos patrimoniales de autor.

Manifestamos que se trata de una OBRA original y como de la autoría de LA OBRA y en relación a la misma, declara que la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA, se encuentra, en todo caso, libre de todo tipo de responsabilidad, sea civil, administrativa o penal (incluido el reclamo por plagio).

Por su parte la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA se compromete a imponer las medidas necesarias que garanticen la conservación y custodia de la obra tanto en espacios físico como virtual, ajustándose para dicho fin a las normas fijadas en el Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad, en la Ley 23 de 1982 y demás normas concordantes.

La publicación de:

Trabajo de grado	<input checked="" type="checkbox"/>	Artículo	<input type="checkbox"/>	Proyecto de Investigación	<input type="checkbox"/>
Libro	<input type="checkbox"/>	Parte de libro	<input type="checkbox"/>	Documento de conferencia	<input type="checkbox"/>
Patente	<input type="checkbox"/>	Informe técnico	<input type="checkbox"/>		
Otro: (fotografía, mapa, radiografía, película, video, entre otros)					<input type="checkbox"/>

Fecha Versión 02: 04-11-2016

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 2 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 02

Producto de la actividad académica/científica/cultural en la Universidad del Tolima, para que con fines académicos e investigativos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad del Tolima. Con todo, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada con arreglo al artículo 30 de la Ley 23 de 1982. En concordancia suscribo este documento en el momento mismo que hago entrega del trabajo final a la Biblioteca Rafael Parga Cortes de la Universidad del Tolima.

De conformidad con lo establecido en la Ley 23 de 1982 en los artículos 30 “...**Derechos Morales. El autor tendrá sobre su obra un derecho perpetuo, inalienable e irrenunciable**” y 37 “...**Es lícita la reproducción por cualquier medio, de una obra literaria o científica, ordenada u obtenida por el interesado en un solo ejemplar para su uso privado y sin fines de lucro**”. El artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “**los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores**” y en su artículo 61 de la Constitución Política de Colombia.

- Identificación del documento:

PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* EN ALIMENTOS Y MANIPULADORES DE RESTAURANTES ESCOLARES DEL SUR DEL DEPARTAMENTO DEL TOLIMA.

Título completo: Trabajo de grado presentado para optar al título de:

BIOLOGO

- Proyecto de Investigación correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):


- Informe Técnico correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Artículo publicado en revista:

- Capítulo publicado en libro:

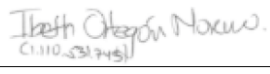
- Conferencia a la que se presentó:

Fecha Versión 02: 04-11-2016

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 3 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 02

Quienes a continuación autentican con su firma la autorización para la digitalización e inclusión en el repositorio digital de la Universidad del Tolima, el:

Día: **08** Mes: **Agosto** Año: **2017**

Autores:	Firma	
Nombre: IBETH ORTEGON MORENO		C.C. 1110531743
Nombre: _____	_____	C.C. _____
Nombre: _____	_____	C.C. _____
Nombre: _____	_____	C.C. _____

El autor y/o autores certifican que conocen las derivadas jurídicas que se generan en aplicación de los principios del derecho de autor.