



Identificación de microorganismos entéricos en áreas de preparación y consumo de alimentos

Identification of enteric microorganisms in food preparation and consumption areas

Identificação de microrganismos entéricos em áreas de preparação e consumo de alimentos

ARTÍCULO ORIGINAL



Escanea en tu dispositivo móvil
o revisa este artículo en:

<https://doi.org/10.33996/revistavive.v7i20.313>

Andrea Carolina Solano 

asolano@utmachala.edu.ec

Cinthia Alexandra Pérez Torres 

cinthybella94@gmail.com

Carmen Elizabeth Silverio Calderón 

csilverio@utmachala.edu.ec

Jovanny Angelina Santos Luna 

jsantos@utmachala.edu.ec

Andrea Mishel Blacio Mite 

mishelblaciomite@outlook.com

Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador

Artículo recibido 19 de marzo 2024 / Aceptado 22 de abril 2024 / Publicado 10 de mayo 2024

RESUMEN

La contaminación de las áreas de preparación al entrar en contacto con los alimentos crudos o cocinados, es por esto que una de las principales causas de la contaminación de las superficies inertes es la inadecuada manipulación de los alimentos a la hora de ser preparados. Con el **objetivo** de controlar la aplicación de normas de higiene en las áreas de preparación y consumo de alimentos mediante análisis microbiológicos para disminuir los riesgos de contaminación alimentaria. Esta investigación es de carácter descriptivo, en la cual se realizó una inspección visual del establecimiento con el propósito de evaluar las condiciones higiénicas sanitarias, mediante la aplicación de la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. Para el análisis microbiológico de las muestras se emplearon las técnicas de inoculación, método de estriado, aislamiento bacteriano, tinción diferencial y utilización de las pruebas bioquímicas como: TSI, SIM, Citrato de Simmons, Urea, Lisina, Catalasa y Oxidasa, además de la utilización de medios de cultivo selectivo y diferencial como agar EMB y agar MacConkey para la identificación de bacterias entéricas como: E. coli, Salmonella, Klebsiella pneumoniae, Shigella, Pseudomona aeruginosa. Los **resultados** arrojaron que la frecuencia bacteriana de las superficies inertes de los restaurantes en el área de preparación de alimentos (mesón y tabla de picar) tienen presencia de bacterias: Salmonella con mayor frecuencia; E. coli, Klebsiella pneumoniae y Pseudomonas aeruginosa de mediana frecuencia y de baja para Shigella, y en el área de consumo de alimentos (mesas) la bacteria de mayor frecuencia es la E. coli y Shigella, la Klebsiella pneumoniae de mediana y Pseudomona aeruginosa se encuentra en baja frecuencia. Se llegó a la **conclusión** que las superficies inertes tanto en el área de preparación como en el área de consumo de alimentos se encuentran contaminados por lo que hay un riesgo de infección alimentaria para los comensales de la Universidad Técnica de Machala.

Palabras clave: Análisis microbiológicos; Bacterias; Contaminación alimentaria; Personal de limpieza; Superficies inertes

ABSTRACT

Contamination of preparation areas when coming into contact with raw or cooked foods, which is why one of the main causes of contamination of inert surfaces is inadequate handling of food when it is being prepared. With the **aim** of controlling the application of hygiene standards in the areas of food preparation and consumption through microbiological analysis to reduce the risks of food contamination. This research is descriptive in nature, in which a visual inspection of the establishment was carried out with the purpose of evaluating the sanitary and hygienic conditions, through the application of the Technical Guide for the Microbiological Analysis of Surfaces in Contact with Food and Beverages. For the microbiological analysis of the samples, inoculation techniques, streaking method, bacterial isolation, differential staining and use of biochemical tests such as: TSI, SIM, Simmons Citrate, Urea, Lysine, Catalase and Oxidase, in addition to use of selective and differential culture media such as EMB agar and MacConkey agar for the identification of enteric bacteria such as: E. coli, Salmonella, Klebsiella pneumoniae, Shigella, Pseudomona aeruginosa. The **results** showed that the bacterial frequency of the inert surfaces of the restaurants in the food preparation area (counter and cutting board) have the presence of bacteria: Salmonella more frequently; E. coli, Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa of medium frequency and low frequency for Shigella, and in the food consumption area (tables) the most frequent bacteria are E. coli and Shigella, Klebsiella pneumoniae of medium and Pseudomona aeruginosa it is at low frequency. It was **concluded** that the inert surfaces in both the preparation area and the food consumption area are contaminated, so there is a risk of food infection for diners at the Technical University of Machala.

Key words: Microbiological analysis; Bacteria; Food contamination; Cleaning personnel; Inert surfaces

RESUMO

Contaminação das áreas de preparo ao entrar em contato com alimentos crus ou cozidos, por isso uma das principais causas de contaminação de superfícies inertes é o manuseio inadequado dos alimentos no momento do preparo. Com o **objetivo** de controlar a aplicação de padrões de higiene nas áreas de preparação e consumo de alimentos através de análises microbiológicas para reduzir os riscos de contaminação alimentar. Esta pesquisa é de natureza descritiva, na qual foi realizada uma inspeção visual do estabelecimento com a finalidade de avaliar as condições sanitárias e higiênicas, por meio da aplicação do Guia Técnico para Análise Microbiológica de Superfícies em Contato com Alimentos e Bebidas. Para a análise microbiológica das amostras foram utilizadas técnicas de inoculação, método de estrias, isolamento bacteriano, coloração diferencial e utilização de testes bioquímicos como: TSI, SIM, Citrato de Simmons, Urea, Lisina, Catalase e Oxidase, além de utilização de meios de cultivo seletivos e diferenciais. meios de cultura como ágar EMB e ágar MacConkey para identificação de bactérias entéricas como: E. coli, Salmonella, Klebsiella pneumoniae, Shigella, Pseudomona aeruginosa. Os **resultados** mostraram que a frequência bacteriana das superfícies inertes dos restaurantes na área de preparo de alimentos (balcão e tábua de corte) apresentam com maior frequência a presença de bactérias: Salmonella; E. coli, Klebsiella pneumoniae e Pseudomonas aeruginosa de média frequência e baixa frequência para Shigella, e na área de consumo alimentar (tabelas) as bactérias mais frequentes são E. coli e Shigella, Klebsiella pneumoniae de média e Pseudomona aeruginosa Está em baixa frequência. **Concluiu-se** que as superfícies inertes tanto na área de preparação como na área de consumo de alimentos estão contaminadas, pelo que existe risco de infecção alimentar para os comensais da Universidade Técnica de Machala.

Palavras-chave: Análise microbiológica; Bactérias; Contaminação de alimentos; Pessoal de limpeza; Superfícies inertes

INTRODUCCIÓN

En Ecuador existe un alto índice de enfermedades transmitidas por alimentos que no han sido controladas en su totalidad, la contaminación cruzada se da por la contaminación de las áreas de preparación al entrar en contacto con los alimentos crudos o cocinados, es por esto que una de las principales causas de la contaminación de las superficies inertes es la inadecuada manipulación de los alimentos a la hora de ser preparados (1). Unido a esto las malas prácticas de manipulación de los alimentos y el desconocimiento del concepto de contaminación cruzada por parte del personal de cocina, potencia el riesgo de contraer las llamadas ETAS (Enfermedades transmitidas por alimentos), con consecuencias desastrosas para la salud de la población (2).

Estas nacen de una manipulación inadecuada de los alimentos a la hora de ser preparados, convirtiéndose las superficies inertes en un fómite. Actualmente es uno de los problemas más importante de salud pública a nivel mundial tanto en países desarrollados como en desarrollo. Los alimentos que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas nocivas causan más de 200 enfermedades graves y crónicas en todo el mundo (2). Según la OMS hace referencia sobre la estimación de la carga mundial de enfermedades transmitidas por los alimentos en donde señalan que 31 agentes contaminantes biológicos que son causantes de la carga de morbilidad, que se

presentan en 600 millones de casos de cada 10 habitantes, consecuentemente la pérdida de 33 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad y 420.000 muertes en todo el mundo, incluidos 125.000 niños menores de 5 años (3).

Las infecciones gastrointestinales son una de las causas importantes de morbilidad, producidas por bacterias entéricas, principalmente *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shigella*, al consumir alimentos y agua contaminados debido a la manipulación inoportuna del personal y de cada una de sus fases de preparación y consumo de los alimentos. Además, las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. Estos cuadros pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor en la región costa del Ecuador (4).

El conocimiento de la carga bacteriana presente en las fases y áreas de preparación de alimentos en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala generará información valiosa para el diseño de un programa de limpieza y desinfección, donde los análisis microbiológicos constituyen evidencia para la evaluación de la higiene (5). El objetivo de esta investigación es controlar la aplicación de normas de higiene en las áreas de preparación y consumo de alimentos mediante análisis microbiológicos para la disminución de los riesgos de contaminación alimentaria en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala, Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en la Universidad Técnica de Machala, la cual se encuentra ubicada en la Av. Panamericana Km. 5 1/2 Vía a Pasaje, Machala, Ecuador, la cual consta de dos patios de comida uno situado en la Facultad de Ciencias Sociales y en la Facultad de Ciencias Empresariales. El universo consta de once restaurantes y 100 mesas en el área de consumo, donde cinco restaurantes y 50 mesas pertenecen a la Facultad de Ciencias Sociales, mientras que, seis restaurantes y 50 mesas son de la Facultad de Ciencias Empresariales, de los cuales se escogió aleatoriamente a cuatro restaurantes de los once y 6 mesas en total, que ha estos se les va a realizar las pruebas microbiológicas en donde se tomaron 42 muestras en total.

El trabajo de investigación fue de diseño no experimental, transversal y descriptivo. En inicio se realizará una inspección visual del establecimiento con el propósito de evaluar las condiciones higiénicas sanitarias, los métodos de higiene y saneamiento de los manipuladores y a su vez las condiciones en las que se opera diariamente. Para el muestreo se seleccionarán puntos específicos de las áreas de preparación y consumo de alimentos de los distintos restaurantes de la Universidad Técnica de Machala. Cada restaurante cuenta con 2 tablas de picar de plástico y 1 de madera, y con sólo 1 mesón de preparación.

Para el trabajo se contó con información de artículos científicos, revistas bibliográficas, sitios web entre otros trabajos académicos.

Los puntos de muestreo de las diferentes áreas de preparación serán: el mesón de preparación de alimentos, tabla de picar de cada restaurante, y en el área de consumo de alimentos, se seleccionaron aleatoriamente tres mesas en los restaurantes de cada facultad y fueron recolectados en 2 estaciones (mañana y tarde). Fueron obtenidas 3 muestras de cada área del restaurante respectivamente, usando un hisopo esterilizado, humedecido con suero fisiológico. Bajo la normativa de transporte y conservación de la muestra se colocó cada hisopo en un tubo previamente esterilizado, tapándose con algodón, y se colocaron en una caja cooler con hielo para mantenerlos a una temperatura de 4°C.

Para el desarrollo de los métodos utilizados, se aplicó la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, Resolución Ministerial N° 461 – MINSA (6) y Control Microbiológico de los Alimentos: toma, envío y preparación de Muestras para el Análisis Microbiológico: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:1999 (7).

Para detección de los microorganismos se emplearon los siguientes métodos:

Método de estriado: Con el asa redonda estéril se coge una fracción de la muestra enriquecida, para inocular en cajas Petri que contienen agar nutritivo, realizando estrías y respectivamente se procedió a incubar a 37°C, durante 48 horas.

Pasada las 48 horas se observaron el crecimiento de las diferentes colonias.

Método de tinción diferencial: Se procedió a extender la muestra en un portaobjeto, se fijó la muestra con ayuda del mechero, ya una vez fijadas las muestras se las colocó en la porta placas y procedimos a realizar la técnica de tinción de Gram. La tinción de Gram se la utiliza para la identificación de diferentes tipos de microorganismos según su coloración, Gram positivos (+) y Gram negativos (-). Las bacterias teñidas de color rosa se las identifica como gram negativas y las de color azul como gram positivas.

Pruebas bioquímicas

Se utilizaron las pruebas de diferenciación bioquímicas para la identificación del género bacteriano de las colonias seleccionadas.

Cada colonia aislada fue aplicada en tubos diferenciales: TSI (Agar triple azúcar hierro), Sim (Agar movilidad, indol, sulfuro de hidrogeno), Lia (Agar lisina hierro); Citrato (Agar citrato); Urea (Agar Urea).

El procedimiento consistió en tomar una muestra de las colonias desarrolladas en los medios de cultivos ya mencionados y se procedió a realizar una nueva siembra, en un tubo inclinado, con la ayuda del asa de siembra por puntura y picadura siguiendo un eje longitudinal, en estos medios diferenciales.

Luego fueron incubados a 37 °C durante 24 horas, posteriormente se realizó la lectura de las

reacciones bioquímicas. Se agregaron 5 gotas del reactivo de Kovacs en los tubos con el medio SIM, para evidenciar la presencia de indol (8).

Análisis estadísticos

Para determinar la frecuencia bacteriana de las superficies inertes de los restaurantes se empleó el paquete estadístico SPSS versión 21.

RESULTADOS

En Ecuador existe un alto índice de enfermedades transmitidas por alimentos que no han sido controladas en su totalidad. Las malas prácticas de manipulación de los alimentos y el desconocimiento del concepto de contaminación cruzada por parte del personal de cocina, potencia el riesgo de contraer las llamadas ETAS (Enfermedades transmitidas por alimentos), con consecuencias desastrosas para la salud del consumidor.

Con el objetivo de realizar el chequeo de esta actividad en las tres áreas de restaurantes de la Universidad Técnica de Machala, el monitoreo en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias Sociales Tabla 1. Se observaron que en el horario de la mañana se encontraron mayor variedad color de las colonias se encontraron en el horario de la mañana (7:30 am) con colores blancos, cremas, amarillos y verdes, con predominio de GRAM-bacilos, estafilococos en los BAR 1 y 2 en el área de mesas, y cremas, GRAM+ con bacilos, diplobacilos y estafilococos en el área de consumo.

Tabla 1. Monitoreo bacteriano en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias Sociales.

HORA	COLOR DE COLONIAS	BAR 1		BAR 2		AREA DE CONSUMO	
		GRAM+	GRAM-	GRAM+	GRAM-	GRAM+	GRAM-
7: 30 am	Blancas	Cocos Stafilococos	Bacilos		Stafilococos		
	Cremas		Stafilococos Bacilos		Stafilococos Bacilos	Bacilos Diplobacilos Streptobacilos	Bacilos
	Amarillas		Bacilos				Bacilos
	Verdes		Bacilos				
11: 30 am	Blancas			Stafilococos		Cocos	
	Cremas	Stafilococos	Bacilos	Stafilococos			Bacilos

Mientras que en el caso de Facultad de Ciencias Empresariales Tabla 2, se encontraron resultados similares con mayor presencia en horario de 7:30 am, donde en los Bar 3 y 4 con

bacilos GRAM- y de color crema para GRAM+ con bacilos, diplobacilos y estafilococos en el área de consumo.

Tabla 2. Monitoreo bacteriano en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias Empresariales.

HORA	COLOR DE COLONIAS	BAR 3		BAR 4		AREA DE CONSUMO	
		GRAM+	GRAM-	GRAM+	GRAM-	GRAM+	GRAM-
7: 30 am	Blancas					Bacilos Diplobacilos Streptobacilos	
	Cremas		Bacilos		Bacilos		Bacilos
	Amarillas		Bacilos		Bacilos		
11: 30 am	Cremas		Bacilos		Bacilos	Cocos Stafilococos	
	Amarillas	Cocos					

Continuamos con las características de las bacterias en la Facultad de Ciencias Sociales, con predominio de CEPAS de color crema, olor fuerte,

foma irregular, borde entero, textura cremosa y bacterias GRAM- Tabla 3.

Tabla 3. Caracterización bacteriana en la Facultad de Ciencias Sociales.

Nº de CEPAS	COLOR	OLOR	FORMA	COLONIAS			BACTERIAS
				BORDE	TEXTURA		
1	Verde	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa		Bacilos Gram (-)
2	Crema	Característico	Circular	Entero	Cremosa		Cocos Gram (+)
3	Amarillo	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa		Bacilos Gram (-)
4	Blanca	Característico	Circular	Entero	Cremosa		Bacilos Gram (+)
5	Verde	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa		Bacilos Gram (-)
6	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa		Bacilos Gram (-)

Nº de CEPAS	COLOR	OLOR	FORMA	COLONIAS		BACTERIAS
				BORDE	TEXTURA	
7	Crema	Característico	Irregular	Ondulado	Cremosa	Estafilococos Gram (+)
8	Crema	Olor Fuerte	Puntiforme	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
9	Crema	Característico	Circular	Entero	Cremosa	Estafilococos Gram (+)
10	Crema	Característico	Irregular	Ondulado	Cremosa	Estafilococos Gram (+)
11	Crema	Olor Fuerte	Puntiforme	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
12	Blanca	Característico	Irregular	Ondulado	Cremosa	Cocos Gram (+)
13	Crema	Olor Fuerte	Puntiforme	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
14	Crema	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
15	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
16	Blanca	Característico	Puntiforme	Entero	Cremosa	Cocos Gram (+)
17	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
18	Crema	Característico	Irregular	Lobulado	Cremosa	Bacilos, Streptobacilos Gram (+)
19	Amarillo	Olor Fuerte	Puntiforme	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
20	Crema	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
21	Crema	Olor Fuerte	Puntiforme	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
22	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)

Las bacterias en la Facultad de Ciencias Empresariales se caracterizaron por ser de color crema, olor fuerte, forma irregular, borde entero, textura cremosa y organismos GRAM-, Tabla 4.

Tabla 4. Caracterización bacteriana de la Facultad de Ciencias Empresariales.

Nº de CEPAS	COLOR	OLOR	FORMA	COLONIAS		BACTERIAS
				BORDE	TEXTURA	
1	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
2	Amarillo	Característico	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (+)
3	Amarillo	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
4	Crema	Olor Fuerte	Circular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
5	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
6	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
7	Amarillo	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Seca	Bacilos Gram (-)
8	Crema	Olor Fuerte	Irregular	Ondulado	Cremosa	Bacilos Gram (-)
9	Crema	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
10	Crema	Olor Fuerte	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
11	Crema	Característico	Circular	Entero	Cremosa	Cocos, Stafilococos Gram (+)
12	Crema	Olor Fuerte	Puntiforme	Entero	Cremosa	Bacilos Gram (-)
13	Crema	Característico	Circular	Entero	Cremosa	Cocos Gram (+)

De acuerdo con lo identificado para Bar 1, en el área de mesas para preparar alimentos las pruebas bioquímicas resultaron positivas en CITRATO, LISINA, SIM, CATALASA, OXIDASA, en TSI es alcalina sin producir gas ni H₂S y en UREA es negativa; obteniendo como resultado la presencia de *Pseudomona aeruginosa*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos. En el área de consumo Las colonias son de color amarillo, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias es irregular con borde ondulado y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas resultó positivo en LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, sin producir H₂S y en UREA, CITRATO y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia *E. Coli*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos Tabla 4.

Para las tablas de picar, resultó positivo en LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, sin producir H₂S y en UREA, CITRATO y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia *E. Coli*, y en tinción de gram se observó

bacilos negativos. Mientras que, las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias es puntiforme con borde entero y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas resultó positivo en LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, sin producir H₂S y en UREA, CITRATO y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia *E. Coli*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

De acuerdo a los identificado en el BAR 2 en el área de mesas para preparar alimentos nos dio positivo en CITRATO, LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es alcalina/ácida, produce gas y H₂S y en UREA, y OXIDASA es negativa; dando como resultado la presencia *Salmonella*, y en cuanto a la tinción de gram que se observó bacilos negativos.

Para el área identificamos negativa a CITRATO, LISINA, SIM, UREA, y OXIDASA, en TSI es alcalina/ácida, no produce gas ni H₂S y en CATALASA es positiva; dando como resultado la presencia *Shigella*, y en cuanto a la tinción de gram que se le realizó se observó bacilos negativos.

Tabla 5. Caracterización bacteriana de la Facultad de Ciencias Empresariales.

CEPA	BIOQUIMICA																
	CITRATO *C		LISINA *L		SIM *S		PICO/ FONDO	TSI*T				UREA *U		CATALASA*Cat		OXIDASA *O	
	+	-	+	-	+	-		+	H ₂ S	-	+	Gas	-	+	-	+	-
1	✓		✓		✓		alk/alk	✓	✓		✓	✓	✓			✓	✓
2	✓			✓	✓		a/alk		✓		✓		✓	✓			✓
3		✓	✓		✓		a/a	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓
4		✓	✓		✓		a/alk		✓		✓	✓			✓		✓
5	✓		✓		✓		alk/alk	✓	✓		✓	✓	✓	✓			✓
6		✓	✓		✓		a/a	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓
7	✓		✓		✓		a/a		✓	✓		✓			✓		✓
8		✓	✓		✓		a/a	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓
9		✓	✓			✓	a/a		✓		✓		✓		✓		✓
10	✓			✓	✓		a/a		✓	✓		✓			✓		✓
11	✓		✓		✓		alk/a	✓		✓			✓	✓			✓
12		✓		✓		✓	alk/alk		✓		✓	✓			✓		✓
13		✓		✓		✓	alk/a		✓		✓		✓	✓			✓
14		✓		✓		✓	alk/a		✓		✓		✓	✓			✓
15		✓		✓		✓	alk/a		✓		✓		✓	✓			✓
16		✓		✓		✓	alk/a		✓		✓	✓			✓		✓
17		✓	✓		✓		a/a	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓
18	✓			✓		✓	alk/a		✓		✓		✓		✓		✓
19		✓	✓		✓		a/a	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓
20		✓	✓		✓		a/a	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓
21	✓		✓			✓	a/a	✓	✓	✓		✓		✓			✓
22	✓		✓			✓	a/a	✓	✓	✓		✓		✓			✓

Amarillo: *Shigella*; **Turquesa:** *Salmnella*; **Verde:** *E. coli*; **Rojo:** *Pseudomona Aeruginosa*; **Rosado:** *Klebsiella*

*C: Si es de color verde es negativo y si es de color azul es positivo para citrato.

*L: Si es de color morado es positivo y si es de color amarillo es negativo para lisina.

*S: Si hay turbidez y si se extiende más allá de la línea de siembra en el agar es porque hay motilidad en sim.

*T: Si el pico o fondo es de color rojo es alcalino, y si el pico o fondo es de color amarillo es ácido, si se ennegrece hay presencia de H₂S y si hay burbujas o rompimiento del agar es porque hay gas en tsi.

*U: Si es de color amarillo es negativo y si es de color rosado es positivo para urea.

*Cat: Si hay presencia de burbujas es positiva y si no hay es negativa para catalasa.

*O: Si la tirilla cambia a color morado es positivo, si no cambia es negativo en oxidasa.

Tabla 6. Identificación bacteriana mediante las pruebas bioquímicas en la Facultad de Ciencias Empresariales

CEPA	BIOQUIMICA																
	CITRATO *C		LISINA *L		SIM *S		TSI*T				UREA *U		CATALASA*Cat		OXIDASA *O		
	Nº	+	-	+	-	Motilidad		PICO/ FONDO		H ₂ S		Gas		+	-	+	-
1	✓		✓		✓		alk/a	✓		✓		✓	✓				✓
2		✓	✓		✓		alk/alk		✓		✓	✓		✓		✓	✓
3		✓		✓		✓	alk/a		✓		✓		✓	✓			✓
4		✓		✓		✓	alk/a		✓		✓		✓	✓			✓
5	✓		✓		✓		a/a	✓	✓		✓		✓				✓
6	✓		✓		✓		a/a	✓	✓		✓		✓				✓
7	✓		✓		✓		alk/a	✓		✓		✓	✓				✓
8	✓		✓		✓		alk/a	✓		✓		✓	✓				✓
9		✓	✓		✓		a/a		✓	✓		✓	✓				✓
10	✓		✓		✓		alk/a	✓		✓		✓	✓				✓
11		✓	✓		✓		a/alk		✓		✓	✓		✓			✓
12	✓		✓		✓		alk/alk		✓		✓		✓	✓			✓
13		✓		✓	✓		a/a		✓		✓	✓		✓			✓
14		✓	✓			✓	alk/alk		✓		✓		✓		✓		✓

*C: Si es de color verde es negativo y si es de color azul es positivo para citrato.

*L: Si es de color morado es positivo y si es de color amarillo es negativo para lisina.

*S: Si hay turbidez y si se extiende más allá de la línea de siembra en el agar es porque hay motilidad en sim.

*T: Si el pico o fondo es de color rojo es alcalino, y si el pico o fondo es de color amarillo es ácido, si se ennegrece hay presencia de H₂S y si hay burbujas o rompimiento del agar es porque hay gas en tsi.

*U: Si es de color amarillo es negativo y si es de color rosado es positivo para urea.

*Cat: Si hay presencia de burbujas es positiva y si no hay es negativa para catalasa.

*O: Si la tirilla cambia a color morado es positivo, si no cambia es negativo en oxidasa.

En el BAR 3 y área de mesas para preparar alimentos Tablas 6. En las pruebas bioquímicas resultó positivo en CITRATO, LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es alcalina/ácida, produce gas y H₂S y en UREA, y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia Salmonella, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

En las tablas de picar en las pruebas bioquímicas resultó negativa CITRATO, LISINA, SIM, UREA, y OXIDASA, en TSI es alcalina/ácida, sin producir gas ni H₂S y en CATALASA es positiva; dando como resultado la presencia Shigella, y en cuanto a la tinción de gram se observó bacilos negativos. En el BAR 4 en el área de mesas para preparar alimentos resultó positivo en CITRATO, LISINA, UREA, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, sin producir H₂S y en SIM y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia Klebsiella, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

En la tabla de picar en el BAR 4 resultaron positivo en CITRATO, LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es alcalina/ácida, produce gas y H₂S y

en UREA, y OXIDASA es negativa; dando como resultado la presencia Salmonella, y en tinción de gram se observó bacilos negativos. En el área de consumo resultó positivo en CITRATO, LISINA, SIM, CATALASA, OXIDASA, en TSI es alcalina, sin producir gas ni H₂S y en UREA es negativa; obteniendo como resultado la presencia de Pseudomona aeruginosa, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

Para la frecuencia Tabla 7, se determinó que en los mesones hay la incidencia de bacterias como Klebsiella, Pseudomona, las cuales están presentes con una mediana frecuencia, E. coli y Salmonella presentan una baja frecuencia bacteriana en esta superficie. En la tabla de picar se determinó una mayor frecuencia bacteriana de Salmonella, una media frecuencia de E. coli y una baja frecuencia de Shigella. Con respecto al área de consumo se determinó una mayor frecuencia bacteriana de E. coli, Shigella, una mediana frecuencia de Klebsiella y una menor frecuencia por Pseudomona correspondiente a superficies inertes.

Tabla 7. Tabla cruzada de las superficies inertes de los bares de la Universidad Técnica de Machala y la frecuencia bacteriana.

Superficies Inertes	Bacterias Entericas	BAR 1			BAR 2			BAR 3			BAR 4		
		>F	MF	<F									
Mesón	E. coli			1									
	Salmonella									1			
	Shigella									1			
	Klebsiella											2	
	Pseudomona		2										

Superficies Inertes	Bacterias Entericas	BAR 1			BAR 2			BAR 3			BAR 4		
		>F	MF	<F	>F	MF	<F	>F	MF	<F	>F	MF	<F
Tabla de Picar	E. coli		2										1
	Salmonella						1				3		
	Shigella									1			
	Klebsiella												
	Pseudomona												
ÁREA DE CONSUMO				SOCIALES					EMPRESARIALES				
		>F		MF		<F		>F		MF		<F	
	E. coli		3										
	Salmonella												
	Shigella		3										
	Klebsiella				2								
Pseudomona												1	

Mayor frecuencia (> F) = 3; Mediana frecuencia (M F) = 2; Menor frecuencia (< F) = 1

Además se observa que la mayor incidencia de la frecuencia bacteriana según los Restaurantes de Facultad de Ciencias Sociales (Bar 1 y 2) y la Facultad de Ciencias Empresariales (Bar 3 y 4) de la Universidad Técnica de Machala que se analizaron se evidenció que el Bar 4 presentó una mayor frecuencia de Salmonella y una mediana frecuencia de Klebsiella, el Bar 1 obtuvo una mediana frecuencia correspondiente a *E. coli* y Pseudomona, el Bar 2 y 3 tuvieron una baja frecuencia en Salmonella y el Bar 3 también presenta una baja frecuencia para *Shigella*. Al comparar la frecuencia bacteriana de las superficies inertes entre los restaurantes de la Facultad de Ciencias Sociales y Ciencias Empresariales, se determinó que los restaurantes de Ciencias Empresariales presentan mayor frecuencia bacteriana.

La frecuencia bacteriana según las áreas de consumo de alimentos determina, que el área de

consumo de la Facultad de Ciencias Sociales es la que tiene mayor y mediana frecuencia bacteriana de *E. coli*, *Shigella* y *Klebsiella* y la Facultad de Ciencias Empresariales presenta una baja frecuencia de Pseudomona.

DISCUSIÓN

Las ETA representan un importante problema de salud pública a nivel mundial (9); entre los microorganismos principalmente involucrados como contaminantes de alimentos se encuentran bacterias, parásitos, virus, hongos y levaduras, que pueden causar el deterioro de los alimentos o enfermedades asociadas a su consumo (10). Las bacterias implicadas en este tipo de enfermedades se clasifican en dos grupos, el primero causante de infecciones, que se multiplican dentro del tracto gastrointestinal, sus principales representantes son *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Vibrio*

parahemolycus, *Yersinia enterocolitica*, especies termófilas de *Campylobacter spp*, *Escherichia coli* enteropatógena, *Streptococcus spp*, entre otros; (11) y el segundo grupo causantes de intoxicación por producción de toxinas como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* (12).

En el presente estudio realizado en las superficies inertes (mesón, tabla de picar y mesas) de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala se encontró la presencia de bacterias entéricas como: *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomona aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* mediante los análisis microbiológicos, indicando que existe una inadecuada desinfección higiénico sanitaria por parte del personal. En sentido Marin-Méndez et al. (9) obtuvieron un aislamiento de agentes bacterianos en 100,0 % de las muestras de alimentos. Hubo una mayor frecuencia de bacterias Gram negativas (82,0 %) y la menor correspondió a microorganismos Gram positivos (18,0 %). La *Salmonella D* fue el microorganismo más frecuente. Por su parte Hernández et al. (13) donde los géneros de *Salmonella* y *Shigella* presentaron fluctuaciones en el periodo estudiado con un decremento importante en el 2014 debido a la presencia de *Vibrio cholerae*, que ocasionó una epidemia y desplazó al resto de las bacterias patógenas intestinales. De igual manera, en el estudio realizado por Castañeda et al. (14) la presencia de *Salmonella spp* en las muestras de pechugas de pollo evaluadas fue alto,

lo que implica un riesgo potencial para la salud pública (15).

Mientras que, Rodríguez-Julian et al. (16), al identificar los agentes causales que influyen en la aparición de estas ETA notificaron aislamiento de solo tipo de agente bacteriano, con predominio de las bacterias gramnegativas, donde la *Salmonella* fue el microorganismo más identificado. Los principales grupos de alimentos relacionados con la aparición de dichos brotes resultaron ser la carne y sus derivados, así como la ensalada fría. Los que enfatizan que la vigilancia epidemiológica de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos es de vital importancia, permitió identificar el verdadero agente causal en los brotes.

El riesgo de padecer estas enfermedades es mayor en los países de ingresos bajo y mediano, y está vinculado con la preparación de alimentos con agua contaminada, falta de higiene, condiciones inadecuadas en la producción y almacenamiento, bajo nivel de alfabetismo y educación, así como insuficientes leyes en materia de inocuidad de los alimentos o falta de aplicación (17). De acuerdo con lo que ha venido analizando, las ETA constituyen uno de los problemas de salud pública más frecuentes en la vida cotidiana y provienen de las diferentes etapas a lo largo de la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta la mesa. Así, a través de los alimentos se transmite con gran facilidad una cantidad considerable de brotes de

enfermedades. (18,19). La contaminación fecal en los animales de sangre caliente es una fuente probable de gérmenes patógenos humanos, entre los que se destacan la *Salmonella*, el *Campylobacter* y la *Escherichia coli* enterotoxigénica; también se ha demostrado que es una fuente importante de *Listeria monocytogenes* (20).

En correspondencia con esta afirmación, la OMS considera a las ETA como uno de los problemas de salud pública más extendidos en el mundo contemporáneo y se puede afirmar que constituyen una causa muy importante de morbilidad, que lejos de ser un problema del pasado, se ha convertido en un problema emergente. La globalización de los mercados y la complejidad de la cadena alimentaria hacen que la disponibilidad de alimentos seguros sea una ardua tarea en el mundo, pleno de patógenos, alérgenos o contaminantes ambientales, dado el incremento de brotes en los últimos años, como lo describen Olea et al. (21).

De forma general Pires et al. (22) se observaron al identificar microorganismos en muestras de alimentos congelados y sin congelar un aumento de la cantidad y diversidad de bacterias en las muestras sin refrigerar, confirmando que la cadena del frío retrasa el desarrollo de microorganismos en los alimentos, aumentando la vida útil de los mismos. Además, el estudio demuestra la eficacia de la secuenciación masiva del ADN_r16S para estudiar el efecto de la temperatura en el desarrollo de comunidades bacterianas sobre los alimentos.

De ahí que concluyan que la calidad y diversidad de microorganismos aumenta, de forma general, en los alimentos sin refrigerar, confirmando que la cadena del frío retrasa el desarrollo de microorganismos en los alimentos, aumentando así la vida útil de los mismos.

CONCLUSIONES

Se confirmó la presencia de bacterias entéricas como: *E. Coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella* y *Pseudomona Aeruginosa*, en áreas de preparación (mesón y tabla de picar) y consumo de alimentos (mesas) en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala. Las frecuencias bacterianas en las superficies inertes de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala son *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*.

El personal que conforma la Unidad de Bienestar Estudiantil se comprometió al control de la seguridad alimentaria y nutricional de la institución, además de la elaboración de un instructivo sobre las buenas prácticas higiénicas sanitarias que se deben llevar a cabo en cada una de las áreas de estudio y en todos los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.

CONFLICTO DE INTERESES. Los autores manifiestan que no existe conflicto de intereses para la publicación del presente artículo científico.

FINANCIAMIENTO. Los autores declaran no recibieron financiamiento

AGRADECIMIENTO. Los autores reflejan el esfuerzo y el aporte que las personas aportaron al desarrollo del presente artículo científico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arteaga V, Indio J, Soledispa L, Cedeño N. Control ambiental de enfermedades metaxénicas en Ecuador. *Dominio de las Ciencias*. 2021. 7(4): 130. <https://n9.cl/fbajtv>
2. Núñez G, Herrera F, Copa E, Jaramillo M. Manejo higiénico de los alimentos y enfermedades de transmisión alimentaria. *Boletín de malariología y salud ambiental*. 2022. 62(4): 804-811. <https://n9.cl/kcjsw>
3. Guambi D, Muñoz A, Castro I, Antamba E. La potencialidad de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S) en los conceptos y estilos culinarios: Una Revisión. *FACSalud UNEMI*. 2022. 6(11): 66-75. <https://n9.cl/u0h2f5>
4. Fernández S, Marcía J, Bu J, Baca Y, Chávez V, Montoya H, Ore F. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*. 2021. 5(2): 2284-2298. <https://n9.cl/5w30f>
5. Chiriboga M, Jachero V, García L. Enfermedades transmitidas por bacterias patógenas presentes en los alimentos en América del Sur, artículo de revisión. *Conciencia Digital*. 2023. 6(3.1): 117-141. <https://n9.cl/zelkt>
6. NTE INEN 1 529-2:99. NTE INEN 1529-2. Control Microbiológico de Los Alimentos. Toma, Envío y Preparación de Muestras Para El Análisis Microbiológico. 1999, pp. 2. <https://n9.cl/nlezu>
7. MINSA. Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico de Superficies En Contacto Con Alimentos y Bebidas. 2007, 461, 1-15. <https://n9.cl/76dhi>
8. Sáenz T, Santa A. Microbiología básica coloraciones de bacterias y bioquímica en los medios de cultivos. Editorial: imprenta unión de la universidad Peruana Unión. Perú. 2004
9. Marin-Mendez M, Rodríguez-Julian A, Minier-Pouyou L, Zayas-Tamayo E, Soler-Santana R. Caracterización de agentes bacterianos aislados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. *MEDISAN*. 2020. 24(2):235-251. <https://n9.cl/Ofjayx>
10. Puig-Peña Y, Leyva V, Robert B, Pérez Y. Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en La Habana, 2006-2010. *Rev Cubana Hig Epidemiol*. 2013. 51(1):74-83. <https://n9.cl/w4I91>
11. Carrillo-Inungaray M, López-González R, Alvarado-Sánchez B, Aguilar-Zárate M. Comparación De Los Métodos Fenotípico Y Molecular Para Identificación De Patógenos En Alimentos. *Rev Acad Investig*. 2011. 7:1-20. <https://n9.cl/hcugx>
12. De Toledo C E. Principais bactérias presentes em doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Brazil: Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul; 2011. <https://n9.cl/kem2f>
13. Hernández C, Vázquez-Hernández G, Mesa-Delgado Z, Bermúdez-Alemán RI, Sotolongo-Rodríguez Y, Vázquez-Hernández G. Bacterias enteropatógenas asociadas a enfermedad diarreica aguda en niños. *Acta Médica del Centro*. 2017. 11(2). <https://n9.cl/s35qs>
14. Castañeda R, Pereira A, Pulido A, Mendoza M. Estimación de la prevalencia de Salmonella spp. en pechugas de pollo para consumo humano provenientes de cuatro localidades de Bogotá-Colombia. *Infect*. 2019. 23(1): 27-32. <https://n9.cl/sjglk>
15. Huertas-Caro C, Urbano-Cáceres E, Torres-Caycedo M. Diagnóstico molecular una alternativa para la detección de patógenos en alimentos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2019. 8(3):513-528. <https://n9.cl/1j8qh1>
16. Rodríguez-Julian A, Marin-Mendez M, Minier-Pouyou L, Rizo-Arredondo I, Fuentes-Gómez. Vigilancia epidemiológica de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en la provincia de Santiago de Cuba. *MEDISAN*. 2022. 26(1):47-59. <https://n9.cl/15srn>
17. Montenegro M, Osorio P. Comportamiento de las enfermedades transmitidas por alimentos y estrategias de mejoramiento en cuatro municipios del Quindío, Colombia. *Riuq*. 2019. 31(1): 1-12. <https://n9.cl/fqqj4s>

- 18.** Zamora-Intriago I, Barbosa Y. Los riesgos de manipulación de los alimentos funcionales y su importancia para la salud. *Correo Cient. Méd.* 2019. 23(3): 1-10. <https://n9.cl/0r9l6>
- 19.** Galarza K. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública del mercado de Lima entre mayo 2017 y junio 2018. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018. <https://n9.cl/msrc3>
- 20.** Valenzuela R, González A, Montes R. Evaluación de *Campylobacter* spp. en carne y vísceras de cerdo y pollo por diferentes métodos microbiológicos y moleculares. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia; 2019. <https://n9.cl/61tzv>
- 21.** Olea A, Díaz J, Fuentes R, Vaquero A, García M. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Rev. Chil. Infectol.* 2012. 29(5). <https://n9.cl/1s9s4>
- 22.** Pires V, Rivas R, García-Fraile P. Análisis metagenómico de la evolución de Las comunidades microbianas en alimentos sometidos a refrigeración y en condiciones de ausencia de frío *FarmaJournal.* 2019. 4(2): 73-84. <https://n9.cl/5499n>

ACERCA DE LOS AUTORES

Andrea Carolina Solano. Magíster en procesamiento de alimentos; Magíster en docencia y gerencia en educación superior. Especialista en gerencia en educación superior. Diploma superior en docencia y evaluación de la educación superior, Ecuador.

Cinthia Alexandra Pérez Torres. Bioquímica Farmacéutica, desempeño laboral en farmacia MIA, Ecuador.

Carmen Elizabeth Silverio Calderón. Dra. Bioquímica Farmacéutica. Magíster en salud con enfoque ecosistémico; Magíster en Docencia universitaria; Magíster en Biotecnología molecular. Docente investigador en carrera de Bioquímica y farmacia, experiencia en gestión académica, Tutor de tesis de titulación en pregrado y maestría, Ecuador.

Jovanny Angelina Santos Luna. Licenciada en Enfermería. Magíster en Gerencia en Salud para el Desarrollo Local. Doctora en Ciencias Ambientales. Docente investigadora Universidad Técnica de Machala, Ecuador.

Andrea Mishel Blacio Mite. Bioquímica Farmacéutica. Diplomado en Hematología y Hemoterapia. Cursando Maestría en Seguridad clínica del paciente y atención sanitario. Bioquímica Farmacéutica en el Hospital General Santo Domingo brindando el abastecimiento de medicamentos e insumos médicos, Ecuador.