



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTÉRICOS EN ÁREAS DE
PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN RESTAURANTES DE
LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

BLACIO MITE ANDREA MISHIEL
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PEREZ TORRES CINTHIA ALEXANDRA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2019



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTÉRICOS EN
ÁREAS DE PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN
RESTAURANTES DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE
MACHALA

BLACIO MITE ANDREA MISHEL
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PEREZ TORRES CINTHIA ALEXANDRA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2019



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTÉRICOS EN ÁREAS DE
PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN RESTAURANTES DE LA
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

BLACIO MITE ANDREA MISHEL
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

PEREZ TORRES CINTHIA ALEXANDRA
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

SILVERIO CALDERON CARMEN ELIZABETH

MACHALA, 18 DE SEPTIEMBRE DE 2019

MACHALA
2019

Nota de aceptación:

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTÉRICOS EN ÁREAS DE PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN RESTAURANTES DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA, hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



SILVERIO CALDERON CARMEN ELIZABETH

0702531351

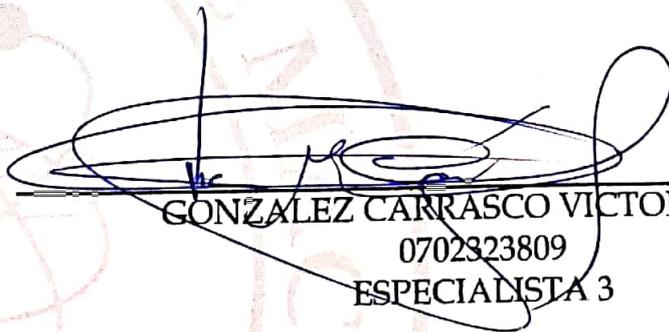
TUTOR - ESPECIALISTA 1



LAM VIVANCO ADRIANA MERCEDES

0704798776

ESPECIALISTA 2



GONZALEZ CARRASCO VICTOR HUGO

0702323809

ESPECIALISTA 3

Machala, 18 de septiembre de 2019

Bares

INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %	1 %	0 %	1 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to UDELAS: Universidad Especializada de las Americas Panama	1 %
	Trabajo del estudiante	
2	dspace.ucuenca.edu.ec	<1 %
	Fuente de Internet	

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 20 words

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Las que suscriben, BLACIO MITE ANDREA MISHEL y PEREZ TORRES CINTHIA ALEXANDRA, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENTÉRICOS EN ÁREAS DE PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN RESTAURANTES DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Las autoras declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Las autoras como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 18 de septiembre de 2019

Andrea Blacio Mite

BLACIO MITE ANDREA MISHEL
0705449494

Cinthia Torres

PEREZ TORRES CINTHIA ALEXANDRA
0706504297

DEDICATORIA

Quiero dedicar el presente trabajo de titulación a Dios por darme salud, vida y la fortaleza para terminar con esta investigación.

Y con todo el cariño y amor se lo dedico a mi papá, hermanos y novio porque son uno de mis pilares fundamentales ya que siempre han confiado y han estado ahí para mí aconsejándome, tolerándome y apoyándome incondicionalmente para que siga adelante con mis estudios y que pueda culminar satisfactoriamente con mi carrera profesional.

Y de manera especial dedico este trabajo a la mujer que me dio la vida y me enseñó a que nunca me tengo que dar por vencida por cumplir con mis sueños, gracias mamá porque desde el cielo me has guiado, protegido y me has motivado para que siga adelante con mis estudios y hoy con orgullo mirando al cielo te puedo decir que te cumplí la promesa de verme convertir en toda una profesional.

-Andrea Blacio Mite

DEDICATORIA

El trabajo de titulación se lo dedico a Dios por la salud, la vida, por siempre guiarme y darme fuerza para seguir adelante con mis estudios.

A mis padres, hermanos y abuelos quienes son pilares fundamentales en mí vida, siempre estuvieron en cada momento dándome consejos, motivándome y sobre todo apoyándome incondicional y desinteresadamente cada día en mi carrera universitaria para mejorar como persona, que son quienes siempre creyeron en mí.

A mi esposo y suegra que me permitieron seguir adelante ayudándome incondicionalmente para cumplir mis metas y objetivos propuestos en mi formación profesional.

A mi hijo quien es mi motor, mi motivación, mis ganas de seguir adelante y de superarme como persona.

- Cinthia Pérez Torres

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por darnos la salud y por guiarnos en cada instante de nuestras vidas, por los conocimientos adquiridos durante nuestra carrera universitaria para nuestra formación profesional.

Agradecemos a nuestros padres por cada consejo y paciencia que nos tuvieron, por siempre habernos apoyado incondicionalmente durante nuestra vida académica e inculcarnos buenos valores.

Agradecemos a nuestra tutora Dra. Carmen Elizabeth Silverio Calderón por habernos guiado durante todo el proceso de titulación, impartiendo sus conocimientos y experiencia profesional para cumplir satisfactoriamente con nuestro trabajo de titulación.

Agradecemos a la Universidad Técnica de Machala por habernos permitido ocupar los laboratorios de la Facultad de Ciencias Química y de la Salud y la Facultad de Ciencias Agropecuarias y porque nos dieron la instrumentación necesaria para adquirir destrezas y habilidades como bioquímicos farmacéuticos.

-Andrea Blacio Mite

-Cinthia Pérez Torres

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el área de preparación y consumo de alimentos de los restaurantes de la Facultad de Ciencias Sociales y Ciencias Empresariales de la Universidad Técnica de Machala, 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, se recolectaron las muestras por triplicado de cada área de los restaurantes respectivamente, mediante la aplicación de la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, Resolución Ministerial N° 461 – MINSA 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. Para el análisis microbiológico de las muestras se emplearon las técnicas de inoculación, método de estriado, aislamiento bacteriano, método de tinción diferencial y la 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, el cual se lo desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud y en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Los resultados obtenidos de la investigación se los analizó mediante el método estadístico SPSS versión 21 para determinar la frecuencia bacteriana de las superficies inertes de los restaurantes en donde se determinó que en el área de preparación de alimentos (mesón y tabla de picar) tienen presencia de bacterias: Salmonella de mayor frecuencia, E. coli, Klebsiella pneumoniae y Pseudomonas aeruginosa de mediana frecuencia y de baja frecuencia 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 frecuencia y la 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. Esta investigación servirá a la Unidad de Bienestar Estudiantil para tomar las medidas

correctivas de vigilancia y control sanitario de las comidas preparadas en los restaurantes de la institución, de tal forma que no afecte la salud de las personas. Por ello es muy importante la identificación de bacterias entéricas presentes en las diferentes áreas de preparación y consumo de alimentos de los restaurantes comprobando que cumplan con la normativa respectiva de los mismos, la cual exige límites microbiológicos de calidad para cada grupo, ofreciendo productos de calidad para el consumidor. A más de aportar con información que permitan describir la realidad higiénica sanitaria está expuesta la población estudiantil, docente, y personal de servicio.

Palabras claves: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS, SUPERFICIES INERTES, CONTAMINACIÓN ALIMENTARIA, BACTERIAS ENTÉRICAS, PERSONAL DE LIMPIEZA.

ABSTRACT

The present research was carried out in the area of food preparation and consumption of the restaurants of the Faculty of Social Sciences and Business Sciences of the Technical University of Machala, 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 which a visual inspection of the establishment was carried out for the purpose of evaluating sanitary hygiene conditions, the samples were collected in triplicate from each area of the restaurants respectively, through the application of the Technical Guide for the Microbiological Analysis of Surfaces in Contact with Food and Beverages, Ministerial Resolution N°461 – MINSA and Microbiological Control of Food: taking, sending and preparing samples for microbiological analysis: Ecuadorian Technical Standard NTE INEN 1 529-2:1999. Microbiological analysis of the samples included inoculation techniques, striation method, bacterial isolation, differential staining method and the use of biochemical tests such as: TSI, SIM, Simmons Citrate, Urea, Lysine, catalase and oxidase, in addition to the 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*, *Pseudomonas aeruginosa*, which was developed in the laboratories of the Faculty of Chemical and Health Sciences and the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Machala. The results obtained from the research were carried out a statistical method called SPSS version 21 to determine the bacterial frequency of the inert surfaces of the restaurants where it was determined that in the area of preparation of food (counter and chopping board) have bacteria present: *Salmonella* of higher frequency, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* of medium frequency and low frequency *Shigella*, and in the area of consumption of food (tables) The most frequent bacteria is *E. coli* and *Shigella*, the median *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* is in low frequency. It was concluded that inert surfaces both in the area of preparation and in the area of food consumption are contaminated so there is a risk of food infection for diners of the Technical University of Machala. This research will be used by the Student Welfare Unit to take corrective measures for the surveillance and health control of meals prepared in the restaurants of the institution, in such a way that it does not affect the health of the people. For this reason it is very important to identify enteric bacteria present in the different areas of preparation and consumption of food of

the restaurants verifying that they comply with the respective norms of the same ones, which requires microbiological quality limits for each group, offering quality products for the consumer. In addition to providing information describing the sanitary hygiene situation, students, teachers and service personnel are exposed.

KEYWORDS: MICROBIOLOGICAL ANALYSIS, INERT SURFACES, FOOD CONTAMINATION, ENTERIC BACTERIA, CLEANING PERSONNEL.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	14
JUSTIFICACIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.1 PROBLEMA GENERAL	18
1.1.1 PROBLEMAS ESPECÍFICOS	18
1.2 OBJETIVOS	19
1.2.1 OBJETIVO GENERAL	19
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
1.3 HIPÓTESIS	20
2. MARCO TEÓRICO	21
2.1 ENFERMEDADES ENTÉRICAS	21
2.2 TIPOS DE ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS	21
2.3 ETAS	22
2.4 ENFERMEDADES HÍDRICAS	22
2.5 ENFERMEDADES ASOCIADAS POR VECTORES	22
2.6 TIFOIDEA	22
2.7 CLASIFICACIÓN DE BACTERIAS	22
2.7.1 BACILOS	22
2.7.2 COCOS	23
2.8 BACTERIAS ENTÉRICAS	23
2.8.1 COLIFORMES FECALES	23
2.8.2 SALMONELLA	23
2.8.3 SHIGELLA	24
2.8.4 ESCHERICHIA COLI	24
2.8.5 KLEBSIELLA	25
2.8.6 PSEUDOMONA AERUGINOSA	25
2.8.6.1 Estructura antigénica	25
2.8.6.2 Factores de virulencia	25
2.9 Clasificación de bacterias contaminantes en el caso de higiene de alimentos	26
2.10.1 MEDIO DE CULTIVO GENERAL	27
2.10.1.1 AGAR NUTRITIVO	27
2.10.2 MEDIOS DE CULTIVOS SELECTIVOS	27
2.10.2.1 AGAR MACCONKEY	27
2.10.3 MEDIOS DE CULTIVOS DIFERENCIALES	27
2.10.3.1 AGAR EMB	27
2.10.3.2 AGAR SALMONELLA – SHIGELLA	27
2.10.3.3 CALDO PEPTONA	27

2.11 PRUEBAS BIOQUÍMICAS	28
2.11.1 PRUEBA DE CATALASA	28
2.11.2 PRUEBA DE CITRATO	28
2.11.3 PRUEBA DE LISINA	28
2.11.4 PRUEBA DE SIM	28
2.11.5 PRUEBA DE TSI	28
2.11.6 PRUEBA DE UREA	28
2.12 TINCIÓN DE GRAM	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1 MATERIALES DE ESTUDIO	29
3.1.1 Observación de campo	29
3.1.2 Registro Fotográfico	29
3.1.3 Revisión Bibliográfica	29
3.1.4 Universo	29
3.1.5 Ubicación Geográfica	29
3.2 MATERIALES DE LABORATORIO	29
EQUIPOS, MATERIALES, SUSTANCIAS Y REACTIVOS	29
EQUIPOS	29
MATERIALES	30
SUSTANCIAS	30
REACTIVOS	30
3.3 MÉTODOS	31
3.3.1 Técnicas de Inoculación	31
3.3.1.1 Método de Hisopado	31
3.3.1.2 Método de Estriado	31
3.3.2 Aislamiento Bacteriano	31
3.3.3 Método de Tinción Diferencial	31
3.4 METODOLOGÍA	32
3.4.1 TIPO DE DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	32
3.4.1.1 Descriptivo	32
3.4.2 OBJETO DE ESTUDIO	32
3.5 VARIABLES	32
3.5.1 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	32
3.5.1.1 VARIABLE INDEPENDIENTE	32
3.5.1.2 VARIABLE DEPENDIENTE	32
3.6 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LAS ÁREAS DE PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS DE LOS RESTAURANTES DE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA.	32
4. RESULTADOS	34
4.1 DISCUSIÓN	55
5. CONCLUSIONES	56

6. RECOMENDACIONES	57
BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS	62

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro 1. Bacterias contaminantes en la higiene de alimentos.	26
Cuadro 2. Toma de muestra en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	34
Cuadro 3. Toma de muestra en la Facultad de Ciencias Empresariales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	35
Cuadro 4. Monitoreo bacteriano en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	36
Cuadro 5. Monitoreo bacteriano en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias empresariales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	37
Cuadro 6. Caracterización bacteriana en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	38
Cuadro 7. Caracterización bacteriana de la Facultad de Ciencias Empresariales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	39
Cuadro 8. Identificación bacteriana mediante las pruebas bioquímicas en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	40
Cuadro 9. Identificación bacteriana mediante las pruebas bioquímicas en la Facultad de Ciencias Empresariales. Fuente: elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	45
Cuadro 10. Tabla cruzada de las superficies inertes de los bares de la Universidad Técnica de Machala y la frecuencia bacteriana. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.	51

ÍNDICE DE GRÁFICO

- Gráfico 1.** Frecuencia bacteria en las superficies inertes (mesón, tabla de picar y mesas) de los bares de la Universidad Técnica de Machala. 52
- Gráfico 2.** Frecuencia bacteriana en los cuatros bares de la Universidad Técnica de Machala. 53
- Gráfico 3.** Frecuencia bacteriana en las áreas de consumo de los alimentos de los bares de la Universidad Técnica de Machala. 54

ÍNDICE DE ILUSTRACIÓN

Ilustración 1. Cepa 1 <i>Pseudomona aeruginosa</i> en agar MacConkey.	41
Ilustración 2. Cepa 5 <i>Pseudomona aeruginosa</i> en agar MacConkey.	41
Ilustración 3. <i>E. coli</i> en agar MacConkey.	42
Ilustración 4. <i>E. coli</i> en agar MacConkey.	42
Ilustración 5. <i>Salmonella</i> en agar MacConkey.	43
Ilustración 6. <i>E. coli</i> en agar EMB.	43
Ilustración 7. <i>Klebsiella pneumoniae</i> en agar MacConkey.	44
Ilustración 8. <i>Klebsiella pneumoniae</i> en agar MacConkey.	44
Ilustración 9. <i>Salmonella</i> en agar MacConkey.	46
Ilustración 10. <i>Shigella</i> en agar MacConkey.	46
Ilustración 11. <i>Shigella</i> en agar MacConkey.	47
Ilustración 12. <i>Klebsiella pneumoniae</i> en agar EMB.	47
Ilustración 13. <i>Klebsiella pneumoniae</i> en agar EMB.	48
Ilustración 14. <i>Salmonella</i> en agar MacConkey.	48
Ilustración 15. <i>Salmonella</i> en agar MacConkey.	49
Ilustración 16. <i>E. coli</i> en agar MacConkey.	49
Ilustración 17. <i>Pseudomona aeruginosa</i> en agar MacConkey.	
50	
Ilustración 18. Preparación de agar nutritivo.	62
Ilustración 19. Preparación de agar EMB.	62
Ilustración 20. Esterilización de agares.	62
Ilustración 21. Dispensación de agar nutritivo.	62
Ilustración 22. Dispensación de agar EMB.	62
Ilustración 23. Permiso de toma de muestra.	62
Ilustración 24. Toma de muestra en la tabla de picar.	63
Ilustración 25. Toma de muestra en mesón de preparación.	63
Ilustración 26. Toma de muestra en mesa de consumo.	63
Ilustración 27. Conservación de la muestra a 4 °C.	63
Ilustración 28. Inoculación de muestra en agar nutritivo.	63
Ilustración 29. Incubación de la muestra a 37.5°C durante 48 horas.	63
Ilustración 30. Crecimiento de colonias en agar nutritivo.	64
Ilustración 31. Inoculación para el aislamiento de colonias.	64
Ilustración 32. Colonias aisladas en agar nutritivo.	64
Ilustración 33. Fijación de la muestra para Tinción de Gram.	64

Ilustración 34. Inoculación de las muestras en pruebas bioquímicas.	64
Ilustración 35. Pruebas Bioquímicas.	64
Ilustración 36. Prueba bioquímica de Citrato.	65
Ilustración 37. Prueba bioquímica de TSI.	65
Ilustración 38. Prueba bioquímica de Lisina.	65
Ilustración 39. Prueba bioquímica de Urea.	65
Ilustración 40. Prueba bioquímica de SIM.	65
Ilustración 41. Crecimiento de colonias en agar MacConkey.	65
Ilustración 42. Crecimiento de colonias en agar EMB.	66
Ilustración 43. Prueba bioquímica de Oxidasa.	66
Ilustración 44. Bacilos Gram +.	66
Ilustración 45. Bacilos Gram -.	66
Ilustración 46. Estafilococos Gram +.	66
Ilustración 47. Cocos Gram -.	66
Ilustración 48. Bacilos, Diplobacilos, Streptobacilos Gram +.	67
Ilustración 49. Socialización de resultados con las autoridades de la Unidad de Bienestar Estudiantil.	67

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.

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 ¹².

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 en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. Los cuadros gastrointestinales 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 Ecuador³.

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 ⁴.

El objetivo de esta investigación será 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.

JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades gastrointestinales no han logrado ser controladas en su totalidad, puesto que 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 ⁵. Los alimentos que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas nocivas causan más de 200 enfermedades graves y crónicas en todo el mundo ⁶.

Según la OMS (2017) hace referencia a una publicación del 2015 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 años⁶.

Las infecciones diarreicas, son las más comunes asociadas al consumo de alimentos contaminados, cada año se muestran 550 millones de personas afectadas a nivel mundial lo que provoca 230.000 muertes ⁶.

En Ecuador se detectaron 30.078 casos de gastroenteritis según estadísticas dadas por el INEC en el 2016 ocupando el cuarto lugar como una de las cinco enfermedades de mayor afectación a la población nacional.

Los microorganismos que producen mayor contaminación en los alimentos son *E. coli*, *Salmonella* – *Shigella*, *Klebsiella*, *Pseudomona aeruginosa* siendo los agentes principales de las enfermedades transmitidas por alimentos que constituye un problema de salud ⁷.

El presente trabajo permitirá determinar las bacterias entéricas presentes en las áreas de preparación y consumo de alimentos en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala y a su vez conocer las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies inertes que toman contacto con los alimentos, además de las buenas prácticas de higiene en la manipulación de los mismos.

Esto servirá a la Unidad de Bienestar Estudiantil para tomar las medidas correctivas de vigilancia y control sanitario de las comidas preparadas en los restaurantes de la institución, de tal forma que no afecte la salud de las personas. Por ello es muy importante la identificación de bacterias entéricas presentes en las diferentes áreas de preparación y consumo de alimentos de los restaurantes comprobando que cumplan con la normativa respectiva de los mismos, la cual exige límites microbiológicos de calidad para cada grupo, ofreciendo productos de calidad para el consumidor. A más de aportar con información que permitan describir la realidad higiénica sanitaria de la cual está expuesta la población estudiantil, docente, y personal de servicio.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades transmitidas por alimentos constituyen a nivel mundial, uno de los problemas más generalizados y de mayor repercusión sobre la salud de personas, afectando generalmente a la población de riesgos como niños, mujeres embarazadas y ancianos ⁸.

Según la Organización Mundial de la Salud, anualmente alrededor del mundo se estima que una de cada diez personas se enferma por el consumo de alimentos insalubres; aproximadamente 600 millones de casos en total y 420.000 personas fallecen por esta causa ⁹.

En la actualidad existe un alto índice de enfermedades e incluso mortalidad, producidas por diversos factores de riesgo, que se presentan dentro de un restaurante, los mismos que se pueden evitar si se toman en cuenta las medidas de prevención adecuadas ¹⁰.

En las superficies inertes de un restaurante pueden presentarse contaminantes químicos, físicos y biológicos, para los cuales debe proveerse de una adecuada protección al personal que en ella labora, siendo necesario determinar las disposiciones (buenas prácticas) que han de adoptarse para lograr este fin ¹⁰.

Hablar de buenas prácticas es hablar de higiene y seguridad a nivel de instalaciones, alimentos y personal tanto de la cocina como de servicio de un restaurante. Siendo además indispensable el control permanente del cumplimiento de normativas predefinidas y la aplicación de medidas correctivas, a fin de reducir al mínimo la contaminación microbiana, que garantizará la obtención de productos y servicios de calidad ¹¹.

La Universidad Técnica de Machala establecida en la provincia de El Oro del cantón Machala tiene once restaurantes estudiantiles que se figuran como un servicio complementario de apoyo a los estudiantes, docentes y personal de servicio, cuya asistencia está justificada por la lejanía del domicilio con respecto al centro y por las deficiencias socioeconómicas o alimentarias que se presentan, llevar a cabo este estudio traería como consecuencia una disminución de los niveles de contaminación y un óptimo servicio prestado, así los mayores beneficiados serían los estudiantes, docentes y personal de servicio.

1.1 PROBLEMA GENERAL

¿Existen bacterias entéricas en superficies inertes del área de preparación y consumo de alimentos en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala?

1.1.1 PROBLEMAS ESPECÍFICOS

- ¿Qué normas de higiene aplica el personal sobre procedimientos de limpieza en áreas de preparación y consumo de alimentos en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala?
- ¿Qué microorganismos entéricos se pueden identificar en áreas de preparación y consumo de alimentos en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala?
- ¿Qué relación tiene la carga microbiológica en áreas de preparación y consumo de alimentos en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

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.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los microorganismos entéricos presentes en diferentes áreas de preparación y consumo de alimentos mediante técnicas microbiológicas en restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.
- Determinar la incidencia bacteriana en superficies inertes de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.
- Socializar los resultados destinados del estudio con las autoridades de la Unidad de Bienestar Estudiantil en el control de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.

1.3 HIPÓTESIS

En las superficies inertes de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala se producen bacterias entéricas que contaminan a los comensales.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ENFERMEDADES ENTÉRICAS

Las enfermedades entéricas son aquellas que afectan al intestino y al estómago que son causantes de diarrea, fiebres, calambres abdominales y otros síntomas, se ha manifestado que en los países desarrollados es la causa principal de mortalidad infantil en donde a un millón de niños de cinco años le causa la muerte. También pueden darse por el consumo de una comida contaminada o agua contaminada, por el contacto directo con animales o con una persona infectada.

Algunos sobreviven a este tipo de enfermedades como cólera, rotavirus y fiebre amarilla, en la infancia causa problemas graves de salud por motivo de diarrea frecuente, en la cual se transmite mediante vía fecal-oral ¹².

Los cuadros clínicos más relevante de las enfermedades entéricas es dolor de cabeza, fiebre, diarrea intensa o moderada, dolor abdominal y otros. La gastroenteritis se presenta frecuentemente en las personas de 20 a 40 años de edad, en los ancianos y niños pueden padecer de efectos fulminantes debido a la pérdida de electrolitos acompañada de la deshidratación a causa de la enfermedad. "Entre las enfermedades del tracto gastrointestinal más frecuentes se encuentran las diarreas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año tienen lugar 1,500 millones de episodios en países en vías de desarrollo, resultando de éstos en 1,5 millones de muertes"³.

2.2 TIPOS DE ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por alimentos se dan por el consumo de agua y alimentos que estén contaminados con agentes biológicos la cual afecte a la salud del ser humano. Dichas enfermedades presentan signos gastrointestinales como diarrea, náuseas, dolor abdominal, fiebre y vómitos, pero en algunos casos suele manifestar complicaciones como meningitis, sepsis e incluso la muerte ⁶.

Las bacterias causantes de enfermedades producidas por los alimentos son *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Clostridium botulinum* y *Staphylococcus* ¹³.

2.3 ETAS

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) son un grupo de enfermedades adquiridas por ingerir alimentos o bebidas contaminados desde su origen o por una inadecuada manipulación durante su preparación, distribución o venta. Fundamentalmente causada por diversos microorganismos como: parásitos, bacterias y virus que provocan un daño a la salud humana ¹³¹⁴.

2.4 ENFERMEDADES HÍDRICAS

Son enfermedades producidas por el agua contaminada causadas por virus y bacterias las cuales pueden causar las siguientes enfermedades como: hepatitis A, cólera, fiebre tifoidea, infección intestinal, diarrea, disentería, gastroenteritis y otras ¹⁵.

2.5 ENFERMEDADES ASOCIADAS POR VECTORES

Vectores como virus, parásitos, bacterias, mosquitos, ácaros, garrapatas, piojos, paludismo, leishmaniasis, fiebre amarilla, enfermedad de Chagas, dengue son causantes de estas enfermedades ¹⁶.

2.6 TIFOIDEA

La tifoidea es una infección bacteriana causada por la bacteria *Salmonella typhi*, que puede producir diarrea, fiebre alta y vómitos. Se da por agua y alimentos contaminados o por contacto directo con una persona infectada. Las personas que tienen dicha enfermedad mejoran a los pocos días de empezar con el tratamiento indicado, aunque unas de ellas pueden morir por causas de complicaciones. Dicha bacteria permanece en el intestino y en torrente sanguíneo del humano ¹⁷.

2.7 CLASIFICACIÓN DE BACTERIAS

2.7.1 BACILOS

Los bacilos son bacterias que tienen forma de bastón alargado y se lo puede encontrar en el ambiente y puede ser Gram positivo y negativo ¹⁸.

El bacilo se lo diferencia por su forma solitaria, los diplobacilo se agrupan en pares, cuando se agrupan en cadenas unidos por sus puntas se las conoce como streptobacilos y formando un muro se la conoce como empalizada ¹⁸.

Se puede encontrar un cocobacilo que este intermedio entre un coco y bacilo o que estén levemente redondeados ¹⁸.

2.7.2 COCOS

Los cocos son organismos vivos, tienen una forma esférica, en algunos casos las células suelen estar agrupadas en diferentes formas. Tienen la capacidad de vivir solas o encadenarse con otras e incluso de formar racimos ¹⁸.

El monococo se lo diferencia por su forma esférica solitaria, a los diplococos se agrupan en pares, cuando se agrupan en cadenas se las conoce como streptococos, cuando están en forma de racimo de uvas de forma irregular se identifica como estafilococos ¹⁸.

2.8 BACTERIAS ENTÉRICAS

2.8.1 COLIFORMES FECALES

“Son bacterias que tienen la capacidad de fermentar la lactosa a 44-45 °C y producción de indol, crecerán en el medio de cultivo, principalmente *E. coli* (90%) y algunas bacterias de los géneros *Klebsiella* y *Citrobacter*. La prueba de coliformes fecales positiva indica un 90% de probabilidad de que el coliforme aislado sea *Escherichia coli*. Se emplea como un indicador de contaminación fecal en alimentos y agua por tanto determina si el alimento ha sido manipulado durante todo el proceso en condiciones que aseguren su higiene”¹⁹.

2.8.2 SALMONELLA

Es una bacteria que pertenece a la familia enterobacteriaceae son bacilos Gram negativos, anaerobio facultativo no esporulado, esta bacteria no fermenta lactosa, pero si fermenta la glucosa, y suelen ser móvil por sus flagelos ²⁰.

La *Salmonella* puede provocar la salmonelosis que es una infección causada por alimentos y aguas contaminadas, presenta los siguientes síntomas náuseas, vómitos, diarrea, fiebre y otros. “*Salmonella* es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua”²¹.

2.8.2.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de la salmonella principalmente es: antígeno O, antígeno H y en otros casos antígeno K que al encontrarse presente se relaciona con el antígeno de virulencia (Vi)²².

2.8.2.2 Factores de virulencia

Existe varios factores de virulencia, pero uno de ellos es la producción de tres toxinas que son: enterotóxicas, sustancias liberadas a los intestinos que producen síntomas gastrointestinales, endotoxinas son parte de la membrana externa de la bacteria

además de estar asociada a los lipopolisacáridos y citóquinas están en la superficie celular que inhibe la síntesis proteica de la célula hospedadora ²².

2.8.3 SHIGELLA

La Shigella, bacilo Gram negativo, inmóvil, anaerobio facultativo no esporulado, oxidasa negativa, catalasa positiva, no fermenta la lactosa, pero si hay fermentación de glucosa sin producción de gas ²³.

La Shigella es un tipo de bacteria que puede infectar el aparato digestivo, provocando un amplio abanico de síntomas, desde la diarrea, los retortijones, los vómitos y las náuseas hasta complicaciones y enfermedades más graves ²³.

Se trata de una infección muy contagiosa y que se puede prevenir lavándose las manos a conciencia ²³.

2.8.3.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de *Shigella* se caracteriza por presentar antígeno somático "O" y esta puede o no poseer antígeno K ²⁴.

2.8.3.2 Factores de virulencia

Se encuentran diferentes factores de virulencia que se adaptan con facilidad en el organismo hospedero donde hay dos factores de virulencia que tienen relación con mutaciones cromosómicas y estructuras móviles, donde los plásmidos permiten que la bacteria tenga mecanismo de resistencia a los diversos antibióticos, de tal manera que el patógeno sea más virulento ²⁴.

2.8.4 ESCHERICHIA COLI

Es una bacteria inofensiva que pertenece a la familia de enterobacterias son bacilos Gram negativos móviles, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas, de catalasa positiva y oxidasa negativa, además reduce nitratos a nitritos. Esta bacteria se encuentra en el intestino del ser humano y en mamíferos sanos ²⁵.

E. coli es productora de la toxina Shiga, se la encuentra en el ambiente, alimentos contaminados, en aguas, a través del contacto con una persona o animal y otros; al ser ingeridos dichos alimentos pueden ser la causa de infecciones, diarrea, intoxicaciones alimentarias, vómitos y otras ²⁶.

2.8.4.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de la *E. coli* se caracteriza por presentar antígeno somático (O), antígeno flagelar (H) y antígeno capsular (K) ²⁷.

2.8.4.2 Factores de virulencia

Los factores de virulencia son de propiedades bioquímicas y genéticas de las bacterias que interactúan con factores del hospedero y causan daño ²⁷.

2.8.5 KLEBSIELLA

Es un género de bacteria inmóvil Gram negativas, de catalasa positiva y oxidasa negativa además fermenta la glucosa, se encuentra en la naturaleza, pero también se la puede encontrar en alimentos, vegetales y aguas ²⁸.

Esta puede causar distintos cuadros clínicos como infecciones al pulmón, a las vías urinarias, tracto intestinal, infecciones en las heridas entre otros, que son infecciones asociadas a la asistencia sanitaria ²⁸.

2.8.5.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de *Klebsiella* se caracteriza por presentar antígeno K, antígeno O y las fimbrias ²⁹.

2.8.5.2 Factores de virulencia

Los factores de virulencia de la *Klebsiella* por secreción bacteriana son de tipo I y tipo II, entre estos factores se encuentran: lipopolisacáridos, fimbrias o pilis, capsular ²⁹.

2.8.6 PSEUDOMONA AERUGINOSA

La *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo Gram negativo aerobias, con motilidad, de catalasa y oxidasa positiva, además de ser una bacteria oportunista, está presente en el suelo, agua y generalmente se reproduce en lugares húmedos, causa enfermedades en personas con defensas afectadas, en especial en individuos con neutropenia ³⁰.

2.8.6.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de las *Pseudomonas* se caracteriza por poseer antígenos somáticos O y flagelares H, fimbrias y cápsula de polisacáridos ³¹.

2.8.6.2 Factores de virulencia

Producen enzimas extracelulares como elastasas, proteasas y dos hemolisinas: fosfolipasa C termolábil y un lipopolisacárido termoestable. La exotoxina A bloquea la síntesis de proteínas responsables de la necrosis tisular ³¹.

2.9 Clasificación de bacterias contaminantes en el caso de higiene de alimentos

Cuadro 1. Bacterias contaminantes en la higiene de alimentos.

BACTERIAS CONTAMINANTES EN EL CASO DE HIGIENE DE ALIMENTOS			
<i>Acetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Bacillus /</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Campylobacter*</i>	<i>Clostridium /</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Enterbacter</i>	<i>Erwina</i>	<i>Escherichia Coli*</i>
<i>Flavabacterium</i>	<i>Kurthia</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Proteus</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella*</i>	<i>Serratia</i>	<i>Shigella*</i>
<i>Staphylococcus*</i>	<i>Streptococcus*</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Leuconostoc</i>	-----	-----	-----
No Esporiformes*		Esporiformes /	
<i>Brucella</i>	<i>Listeria monocytógenes</i>	BACTERIA INTRAHOSPITALARIA	
<i>Yersinia entercolítica</i>		<i>Klebsiella</i>	
Fuente: Manual del Ingeniero de Alimentos ³²			

2.10 CLASIFICACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS DEL ESTUDIO

2.10.1 MEDIO DE CULTIVO GENERAL

Este tipo de medio es utilizado para facilitar el crecimiento de bacterias, virus y microorganismos, como medio de cultivo general se encuentra el Agar Nutritivo.

2.10.1.1 AGAR NUTRITIVO

Es un medio de cultivo no selectivo y no diferencial, usado para el aislamiento y cuenta de todo tipo de microorganismos e importantes en el uso de procedimientos para análisis de materiales de importancia sanitaria como análisis de aguas y alimentos.

2.10.2 MEDIOS DE CULTIVOS SELECTIVOS

Este tipo de medio permite el crecimiento de un tipo de microorganismo determinado, inhibiendo el desarrollo de otros; de los cuales se encuentran al Agar sangre y al Agar MacConkey.

2.10.2.1 AGAR MACCONKEY

Es un medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de *Enterobacteriaceae* y diversos bacilos Gram negativos a partir de muestras clínicas.

2.10.3 MEDIOS DE CULTIVOS DIFERENCIALES

Es un medio de cultivo utilizado para distinguir varios géneros y especies de microorganismos por su crecimiento diferencial en el mismo; como agares diferenciales tenemos el Agar EMB, Agar SS.

2.10.3.1 AGAR EMB

Es un medio selectivo y diferencial de bacilos Gram negativos, idóneo para el crecimiento de todas las enterobacterias, inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram positivas.

2.10.3.2 AGAR SALMONELLA – SHIGELLA

Es un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de bacilos entéricos patógenos en especial de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras clínicas.

2.10.3.3 CALDO PEPTONA

Este caldo es un medio selectivo utilizado para enriquecer todo tipo de microorganismo.

2.11 PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Son utilizadas para la identificación y clasificación de microorganismos empleados para determinar la caracterización bacteriana, entre estas pruebas están: Catalasa, Citrato, Indol, SIM, TSI y Oxidasa.

2.11.1 PRUEBA DE CATALASA

La catalasa es una enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan la catalasa hidrolizan el hidrógeno en agua y el oxígeno gaseoso que se libera produce burbujas.

2.11.2 PRUEBA DE CITRATO

Estudia la capacidad de utilizar el citrato como única fuente de carbono.

2.11.3 PRUEBA DE LISINA

Se lo utiliza para la identificación de diferentes tipos de microorganismo especialmente *salmonella*. Además de determinar la producción de H₂S y gas.

2.11.4 PRUEBA DE SIM

Se utiliza para determinar la producción de sulfuro, formación de indol y movilidad de los microorganismos.

2.11.5 PRUEBA DE TSI

El agar TSI estudia la utilización de la glucosa y lactosa, la producción de gas y ácido sulfhídrico (como producto metabólico final de los aminoácidos azufrados).

2.11.6 PRUEBA DE UREA

Se lo utiliza para la identificación de microorganismos *Enterobacteriaceae* y producción de ureasa.

2.12 TINCIÓN DE GRAM

Es una técnica de tinción diferencial que se basa en el uso de colorantes de contraste que permiten diferenciar las morfologías de las bacterias a través del microscopio.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES DE ESTUDIO

3.1.1 Observación de campo

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 observar las condiciones en las que se opera diariamente.

Para el muestreo se seleccionarán puntos específicos de las áreas de preparación y de consumo de alimentos de los distintos restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.

3.1.2 Registro Fotográfico

Se realizó la respectiva observación a cada restaurante donde se pudo evidenciar que cada restaurante cuenta con 2 tablas de picar de plástico y 1 de madera, y con sólo 1 mesón de preparación.

3.1.3 Revisión Bibliográfica

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

3.1.4 Universo

Nuestro universo consta de once restaurantes y 100 mesas en el área de consumo de la Universidad Técnica de Machala, donde cinco restaurantes y 50 mesas son de la Facultad de Ciencias Sociales y 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 toman 42 muestras en total.

3.1.5 Ubicación Geográfica

La Universidad Técnica de Machala se encuentra ubicada en la Av. Panamericana Km. 5 1/2 Vía a Pasaje, la cual consta de dos patios de comida uno situado al frente a la Facultad de Ciencias Sociales y el otro patio de comida está ubicado frente a la Facultad de Ciencias Empresariales.

3.2 MATERIALES DE LABORATORIO

EQUIPOS, MATERIALES, SUSTANCIAS Y REACTIVOS

EQUIPOS

- Cámara de flujo

- Incubadora MEMMERT
- Estufa MEMMERT
- Autoclave
- Balanza analítica CITIZEN
- Cocineta
- Contador de colonias
- Microscopio LW SCIENTIFIC

MATERIALES

- Cajas Petri estériles
- Erlenmeyer
- Varilla de vidrio
- Mechero
- Asas de platino punta redonda
- Espátula
- Asas de siembra
- Papel aluminio
- Gasa
- Tijeras
- Papel periódico
- Hisopos estériles
- Lápiz graso
- Papel absorbente

SUSTANCIAS

- Agar Salmonella Shigella
- Agar MacConkey
- Agar nutritivo
- Agar EMB
- Agua destilada

REACTIVOS

- Alcohol industrial
- Cristal violeta

- Lugol
- Acetona
- Safranina

3.3 MÉTODOS

Para el desarrollo de los métodos utilizados en el presente trabajo, se aplicó la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, Resolución Ministerial N° 461 – MINSA³³ y Control Microbiológico de los Alimentos: toma, envío y preparación de Muestras para el Análisis Microbiológico: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:1999³⁴.

3.3.1 Técnicas de Inoculación

3.3.1.1 Método de Hisopado

Mediante un hisopo estéril humedecido con suero fisiológico se procede a recolectar las muestras, tanto en el área de preparación como en la de consumo de alimentos, para luego enriquecerlas con agua peptona e incubarlas a 37°C, durante seis horas.

3.3.1.2 Método de Estriado

Con el asa redonda estéril se coge un poco 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 pudo observar el crecimiento de las diferentes colonias.

3.3.2 Aislamiento Bacteriano

Para el aislamiento bacteriano se utilizó la técnica de estriado, aislandose los diferentes tipos de colonias para luego inocular en tubos de ensayo que contienen agar nutritivo, e incubar a 37°C, durante 24 horas.

3.3.3 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.

3.3.4 Método Estadístico

Se utilizará el paquete estadístico SPSS versión 21 para dar a conocer los resultados del estudio.

3.4 METODOLOGÍA

3.4.1 TIPO DE DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.4.1.1 Descriptivo

Este trabajo es de carácter descriptivo. Describiendo el lugar y las áreas de estudio correspondientes a la investigación.

3.4.2 OBJETO DE ESTUDIO

Superficies inertes de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.

3.5 VARIABLES

3.5.1 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

3.5.1.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Presencia de bacterias entéricas

3.5.1.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Nivel de contaminación de superficies

3.6 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LAS ÁREAS DE PREPARACIÓN Y CONSUMO DE ALIMENTOS DE LOS RESTAURANTES DE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA.

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 seleccionó 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, se los colocó en una caja cooler con hielo para mantenerlos a una temperatura de 4°C las muestras.

Se procedió a recolectar la primera toma de muestra en los bares de la Facultad de Ciencias Sociales y Facultad de Ciencias Empresariales a las 7:30 a.m., de manera aleatoria, mediante el método de hisopado en cada una de sus superficies previamente determinadas anteriormente y por triplicado. En el transcurso de la mañana a las 11:30 a.m. se procede a realizar la segunda toma de muestra de las superficies previamente determinadas.

4. RESULTADOS

CUADRO DE TOMA DE MUESTRA N° 1

FECHA DE TOMA DE MUESTRA: Martes 25/Junio/2019

T° AMBIENTE: 25°C

FACULTAD: Ciencias Sociales

BARES: N° 1 y N° 2

TÉCNICA: Estriado

T° MUESTRAS: 4°C

Cuadro 2. Toma de muestra en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

BAR 1					
HORA DE TOMA DE MUESTRA	COCINA		ÁREA DE CONSUMO		
	MESÓN DE PREPARACIÓN	TABLA DE PICAR	MESA 1	MESA 2	MESA 3
7:30 am	✓	✓	✓	✓	✓
11:30 am	✓	✓	✓	✓	✓

BAR 2					
HORA DE TOMA DE MUESTRA	COCINA		ÁREA DE CONSUMO		
	MESÓN DE PREPARACIÓN	TABLA DE PICAR	MESA 1	MESA 2	MESA 3
7:30 am	✓	✓	✓	✓	✓
11:30 am	✓	✓	✓	✓	✓

*Se realizó la toma de muestra por triplicado de las diferentes superficies inertes.

CUADRO DE TOMA DE MUESTRA N° 2

FECHA DE TOMA DE MUESTRA: Lunes 08/Julio/2019

T° AMBIENTE: 25°C

TÉCNICA: Estriado

T° MUESTRAS: 4°C

FACULTAD: Ciencias Empresariales

BARES: N° 3 y N° 4

Cuadro 3. Toma de muestra en la Facultad de Ciencias Empresariales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

BAR 3					
HORA DE TOMA DE MUESTRA	COCINA		ÁREA DE CONSUMO		
	MESÓN DE PREPARACIÓN	TABLA DE PICAR	MESA 1	MESA 2	MESA 3
7:30 am	✓	✓	✓	✓	✓
11:30 am	✓	✓	✓	✓	✓

BAR 4					
HORA DE TOMA DE MUESTRA	COCINA		ÁREA DE CONSUMO		
	MESÓN DE PREPARACIÓN	TABLA DE PICAR	MESA 1	MESA 2	MESA 3
7:30 am	✓	✓	✓	✓	✓
11:30 am	✓	✓	✓	✓	✓

*Se realizó la toma de muestra por triplicado de las diferentes superficies inertes.

CUADRO DE MONITOREO BACTERIANO EN AGAR NUTRITIVO N° 1

FACULTAD: Ciencias Sociales

FECHA: Viernes 28/Junio/2019

BARES: N° 1 y N° 2

T° AMBIENTE: 25°C

Cuadro 4. Monitoreo bacteriano en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias Sociales.

Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

HORA	COLOR DE COLONIAS	BAR 1		BAR 2		ÁREA 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

CUADRO DE MONITOREO BACTERIANO EN AGAR NUTRITIVO N° 2

FACULTAD: Ciencias Empresariales

FECHA: Jueves

11/Julio/2019

BARES: N° 3 y N° 4

T°

AMBIENTE: 25°C

Cuadro 5. Monitoreo bacteriano en agar nutritivo en la Facultad de Ciencias empresariales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

HORA	COLOR DE COLONIAS	BAR 3		BAR 4		ÁREA 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					

CUADRO DE RESULTADOS N°1

FECHA: Viernes 28/Junio/2019

FACULTAD: Ciencias

Sociales

TÉCNICA: Estriado

BARES: N° 1 y N° 2

T° MUESTRAS: 4°C

T° AMBIENTE: 25°C

Cuadro 6. Caracterización bacteriana en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

N° de CEPAS	COLONIAS					
	COLOR	OLOR	FORMA	BORDE	TEXTURA	BACTERIAS
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 (-)
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 (-)

CUADRO DE RESULTADOS N°2

FECHA: Jueves 11/Julio/2019

FACULTAD: Ciencias

Empresariales

T° AMBIENTE: 25°C

BARES: N° 3 y N° 4

TÉCNICA: Estriado

T° MUESTRAS: 4°C

Cuadro 7. Caracterización bacteriana de la Facultad de Ciencias Empresariales.
Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

N° de CEPAS	COLONIAS					
	COLOR	OLOR	FORMA	BORDE	TEXTURA	BACTERIAS
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 (+)
14	Blanca	Característico	Circular	Entero	Cremosa	Bacilos, Diplobacilos, Streptobacilos Gram (+)

CUADRO DE RESULTADOS N°1

FECHA: Sábado 29/Junio/2019

T° AMBIENTE: 25°C

TÉCNICA: Estriado

FACULTAD: Ciencias Sociales

T° MUESTRAS: 4°C

BARES: N° 1 y N° 2

Cuadro 8. Identificación bacteriana mediante las pruebas bioquímicas en la Facultad de Ciencias Sociales. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

CEPA N°	CITRATO *C		LISINA *L		SIM *S		BIOQUIMICA TSI *T				UREA *U		CATALASA *Cat		OXIDASA *O		
	+	-	+	-	Motilidad +	-	PICO/ FONDO	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.

INTERPRETACIÓN: BAR 1

CEPA 1 y 5 (MESÓN): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color verde, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son circulares con bordes enteros y texturas cremosas. En las pruebas bioquímicas 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.

Ilustración 1. Cepa 1
Pseudomona aeruginosa en agar
MacConkey.



Ilustración 2. Cepa 5
Pseudomona aeruginosa en agar
MacConkey.



CEPA 3 (MESÓN): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que 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.

CEPA 6 (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, 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.

Ilustración 3. E. coli en agar MacConkey.



CEPA 8 t (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó 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.

Ilustración 4. E. coli en agar MacConkey.



INTERPRETACIÓN: BAR 2

CEPA 11 (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo pudimos ver 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 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.

Ilustración 5. Salmonella en agar MacConkey.



CEPA 13, 14, 15 t (área de consumo): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo pudimos ver que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias es puntiforme, circular e irregular con bordes entero, ondulado y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas nos dio negativa 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.

CEPA 17,19,20 (área de consumo): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo pudimos ver que las colonias son de color crema, amarilla, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son irregulares, puntiformes, circular con borde ondulado, enteros y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas nos dio positivo en LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, pero no H₂S y en UREA, CITRATO y OXIDASA es negativa; dando como resultado la presencia *E. Coli*, y en cuanto a la tinción de gram se observó bacilos negativos.

Ilustración 6. E. coli en agar EMB



CEPA 21 t (área de consumo): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son circular, puntiforme con bordes enteros y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas resultó positivo en CITRATO, LISINA, UREA, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, sin producir H₂S, en SIM y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia *Klebsiella*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

Ilustración 7. *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConkey



CEPA 22 (área de consumo): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias e irregular, con bordes ondulado y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas resultó positivo en CITRATO, LISINA, UREA, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, sin producir H₂S, en SIM y OXIDASA es negativa; obteniendo como resultado la presencia *Klebsiella*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

Ilustración 8. *Klebsiella pneumoniae* en agar MacConkey



CUADRO DE RESULTADOS N°2

FECHA: Viernes 12/Julio/2019

FACULTAD: Ciencias Empresariales

T° AMBIENTE: 25°C

BARES: N° 3 y N° 4

TÉCNICA: Estriado

T° MUESTRAS: 4°C

Cuadro 9. Identificación bacteriana mediante las pruebas bioquímicas en la Facultad de Ciencias Empresariales. Fuente: elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

CEPA N°	BIOQUÍMICA																
	CITRATO *C		LISINA *L		SIM *S		TSI *T				UREA *U		CATALASA *Cat		OXIDASA *O		
	+	-	+	-	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		✓		✓		✓		✓		✓

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.

INTERPRETACIÓN: BAR 3

CEPA 1 (MESÓN): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, 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 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.

Ilustración 9. Salmonella en agar MacConkey



CEPA 3 t (MESÓN): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color amarillo, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias circular, con bordes entero y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas resultó negativa CITRATO, LISINA, SIM, UREA, y OXIDASA, en TSI es alcalina/ácida, sin producir gas, H₂S y en CATALASA es positiva; dando como resultado la presencia *Shigella*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

Ilustración 10. Shigella en agar MacConkey.



CEPA 4 t (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son circulares con bordes ondulados y una textura cremosa. 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.

Ilustración 11. *Shigella* en agar MacConkey.



INTERPRETACIÓN: BAR 4

CEPA 5 (MESÓN): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son irregulares con bordes ondulados y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas 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.

Ilustración 12. *Klebsiella pneumoniae* en agar EMB



CEPA 6 t (MESÓN): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó ver que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son irregulares con bordes ondulados y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas 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.

Ilustración 13. *Klebsiella pneumoniae* en agar EMB



CEPA 7 (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color amarilla, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias es irregular con borde ondulado y una textura seca. 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; dando como resultado la presencia *Salmonella*, y en tinción de gram se observó bacilos negativos.

Ilustración 14. *Salmonella* en agar MacConkey



CEPA 8 t (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, 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 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.

Ilustración 15. Salmonella en agar MacConkey.



CEPA 9 t (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias es circular con borde entero y una textura cremosa. En las pruebas bioquímicas resultó positivo en LISINA, SIM, CATALASA, en TSI es ácida, produce gas, son 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.

Ilustración 16. E. coli en agar MacConkey.



CEPA 10 t (TABLA DE PICAR): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son circular con bordes entero y una textura cremosa. 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.

CEPA 12 (área de consumo): De acuerdo a su caracterización física en agar nutritivo se observó que las colonias son de color crema, presentan un olor fuerte, la forma de las colonias son puntiforme con bordes enteros y texturas cremosas. En las pruebas bioquímicas 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.

Ilustración 17. *Pseudomona aeruginosa* en agar MacConkey.



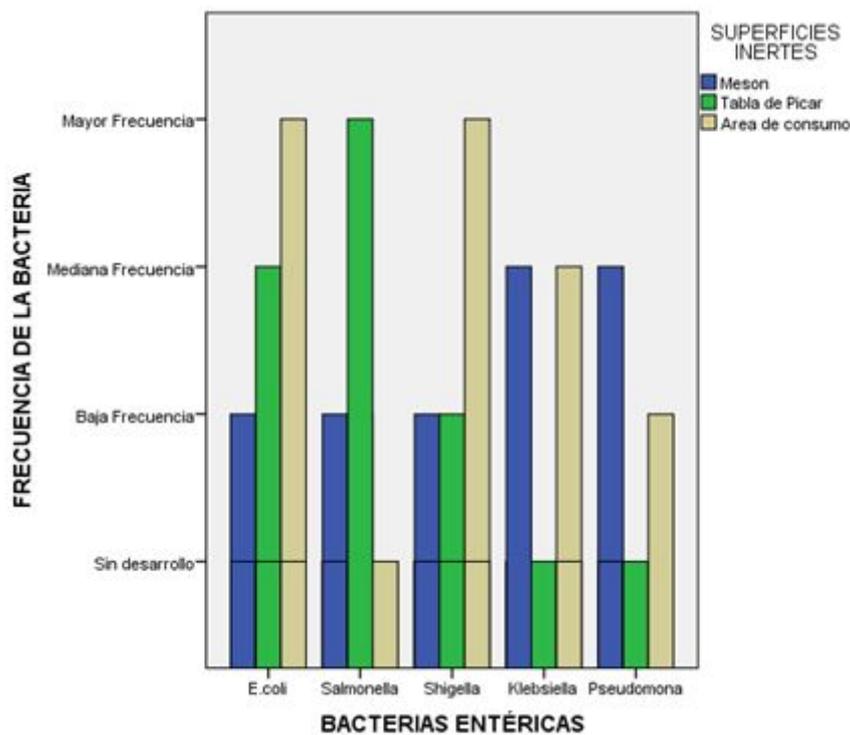
Cuadro 10. Tabla cruzada de las superficies inertes de los bares de la Universidad Técnica de Machala y la frecuencia bacteriana. Fuente: Elaborado por Blacio Andrea y Pérez Cinthia.

SUPERFICIES INERTES	BACTERIAS ENTÉRICAS	BAR 1			BAR 2			BAR 3			BAR 4		
		> F	M F	< F	> F	M F	< F	> F	M F	< F	> F	M F	< F
MESÓN	E. coli			1									
	Salmonella								1				
	Shigella								1				
	Klebsiella											2	
	Pseudomona		2										
TABLA DE PICAR	E. coli		2										1
	Salmonella					1					3		
	Shigella								1				
	Klebsiella												
	Pseudomona												
ÁREA DE CONSUMO		SOCIALES						EMPRESARIALES					
		> F	M F	< F	> F	M F	< F						
	E. coli	3											
	Salmonella												
	Shigella	3											
	Klebsiella		2										
	Pseudomona						1						

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

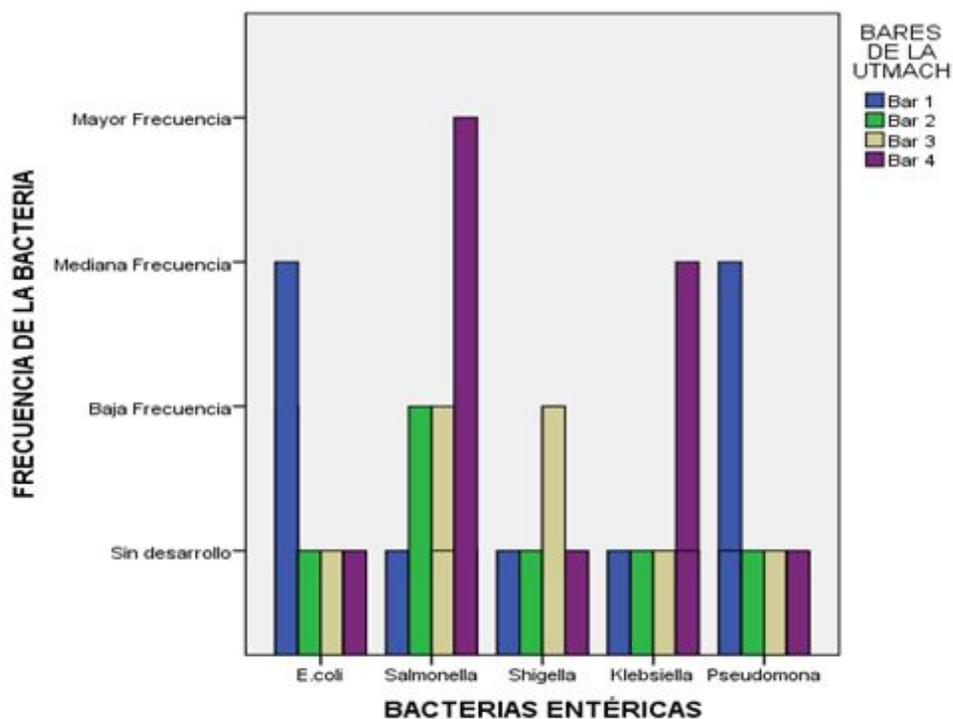
En el gráfico 1 se determinó que en los mesones hay la incidencia de bacterias como *Klebsiella*, *Pseudomona*, las cuales están presentes con una mediana frecuencia, *E. coli* y *Salmonella* presentan una baja frecuencia bacteriana en esta superficie. En la tabla de picar se determinó una mayor frecuencia 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.

Gráfico 1. Frecuencia bacteria en las superficies inertes (mesón, tabla de picar y mesas) de los bares de la Universidad Técnica de Machala.



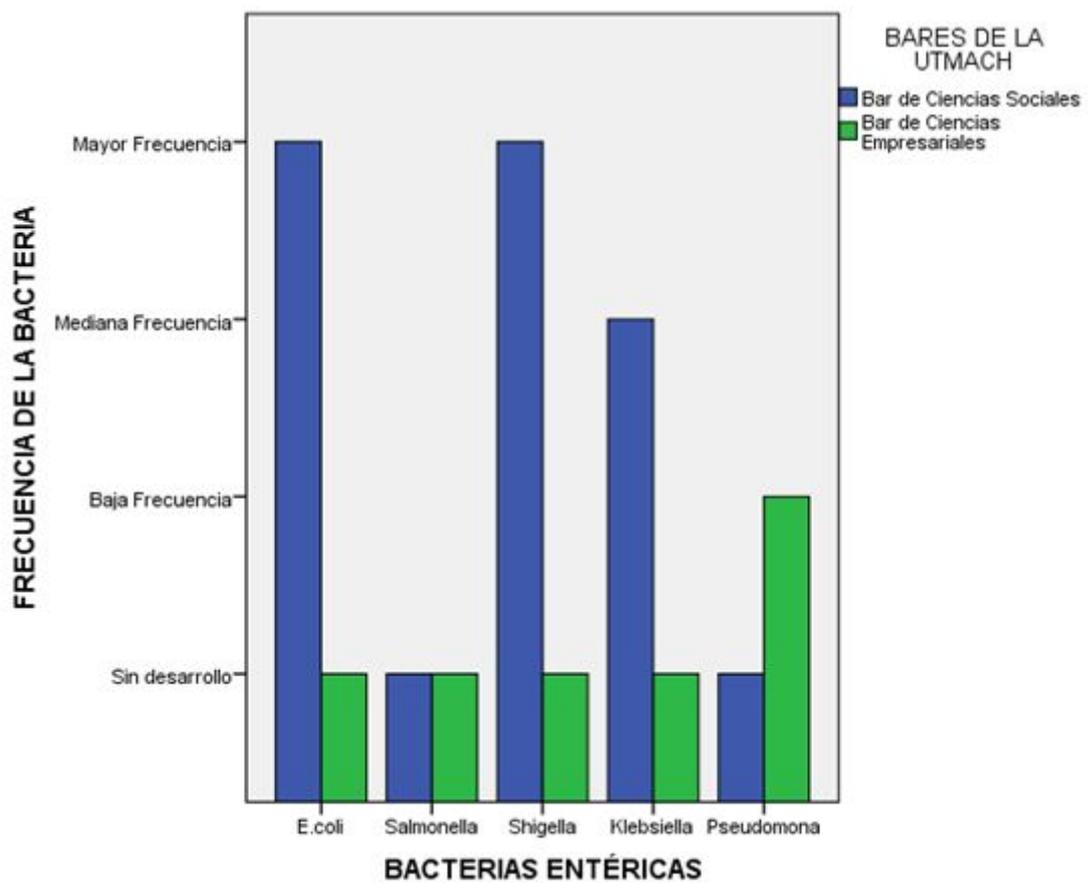
En el gráfico 2 podemos observar que la mayor incidencia de la frecuencia bacteriana según los Restaurantes de Facultad de Ciencias Sociales (Bar 1 y 2) y la Facultad de Ciencias Empresariales (Bar 3 y 4) de la Universidad Técnica de Machala que se analizaron se evidenció que el Bar 4 presentó una mayor 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.

Gráfico 2. Frecuencia bacteriana en los bares de la Universidad Técnica de Machala.



En el gráfico 3 observamos que 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*.

Gráfico 3. Frecuencia bacteriana en las áreas de consumo de los alimentos de los bares de la Universidad Técnica de Machala.



4.1 DISCUSIÓN

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*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* mediante los análisis microbiológicos, indicando que existe una inadecuada desinfección higiénico sanitaria por parte del personal. Comparando con otros estudios que se han realizado como en Bogotá por Martín Bayona reportó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* en alimentos contaminados lo cual manifiesta un riesgo microbiológico en ellos, en otro estudio realizado en el 2016 por Martín, Mengual, Carcedo, López, y Álava obtuvieron como resultado la presencia de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* debido a los malos hábitos de higiene que se dan en los restaurantes al no contar con los protocolos de limpieza respectivamente, en un estudio del 2015 elaborado por Mohamedin, Michel y Tolba dan a conocer sobre la calidad microbiológica de los alimentos donde indicaron la presencia de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, este estudio reveló que la calidad microbiológica de las muestra son inaceptables por lo cual manifiesta una contaminación alimentaria, en el 2016 un estudio hecho por Jibrin, Firdausi, Hamza y Saratu determinaron la presencia de *E. coli*, *Enterobacter spp*, *Shigella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Klebsiella spp*, *Streptococcus spp* y *Vibrio spp* que indican la mala práctica de higiene de los manipuladores de alimentos, que a su vez puede servir como fuente de infección para los comensales, en un estudio realizado en 2016 en Colombia se determinó que en las superficies inertes se encontraron bacterias como: *Pseudomonas spp*, *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*. Al comparar con otros artículos se pudo confirmar que las bacterias más predominantes en superficies inertes son: *E. coli* y *Pseudomonas*.

No es muy común encontrar *Klebsiella* en las superficies inertes ya que esta bacteria es de carácter intrahospitalaria, pero al comparar con otros artículos por Paczosa y López podemos decir que se debe a una contaminación cruzada.

5. 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.
- La frecuencia bacteriana 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 higiénico 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.

6. RECOMENDACIONES

- Instruir al personal encargado de la preparación de alimentos sobre el manual de correctas prácticas de higiene y manipulación de alimentos en restaurantes/cafeterías, para conseguir la inocuidad alimentaria.
- A las superficies inertes se las debe higienizar frecuentemente para eludir la contaminación bacteriana entre la preparación y servicio de alimentos en los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala.
- Evaluar y controlar al personal de limpieza cada tres meses sobre las buenas prácticas higiénico sanitarias que se deben llevar a cabo en cada una de las áreas de estudio de los restaurantes de la Universidad Técnica de Machala

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Rodríguez, H.; Barreto, G.; Sadrés, M.; Bertot, J.; Martínez, S.; Guevara, G. Las Enfermedades Transmitidas Por Alimentos, Un Problema Sanitario Que Hereda e Incrementa El Nuevo Milenio. *Rev. Electron. Vet.* **2015**, 16 (8).
- (2) Escobedo, A.; Meneses, M.; Castro, A. Estudio Microbiológico (Cualitativo y Cuantitativo) de Superficies Inertes Que Están En Contacto Con La Preparación de Alimentos En Cafeterías de Una Universidad Pública. *Cuerpos Académicos y Grup. Investig. en Iberoamérica* **2016**, 3 (2448–6280), 29.
- (3) Godínez, A. Prevalencia y Causas de Enfermedades Gastrointestinales En Niños Del Estado de Hidalgo , México Referencias Factores Asociados Con El Aislamiento Social En Una Muestra de Adultos Mayores Con Seguridad Social Referencias Agradecimiento. **2017**, 59 (2), 2016–2017. <https://doi.org/10.21149/8064>.
- (4) Dahiru, J.; Abubakar, F.; Idris, H.; Abdullahi, S. Bacterial Contamination of Food Handlers at Various Restaurants in Kano State Metropolis, Kano Nigeria. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2016**, 5 (5), 165–170. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.018>.
- (5) Garibay, O.; Soto, D.; Coria, E.; Castrejón, M.; Ramos, G.; Salamanca, M.; Guido, R. Redalyc.Gastroenteritis Eosinofílica. *Redalyc.org* **2014**, 61 (3), 212–218.
- (6) OMS. Inocuidad de los alimentos <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
- (7) Suescún, S.; Avila, S. Evaluación Microbiológica En Programas de Alimentación Escolar En Instituciones Educativas En El Departamento de Boyacá – Colombia. *Nova* **2017**, 15 (28), 93. <https://doi.org/10.22490/24629448.2084>.
- (8) Bayona, M. Evaluación Microbiológica De Alimentos Adquiridos En La Vía Pública En Un Sector Del Norte De Bogotá. *Rev. U.D.C.A Actual. & Divulg. Científica* **2009**, 9–17.
- (9) OPAS. Niños menores de 5 años representan un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria, señala informe de OMS https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11490:ninos

-menores-5-tercio-muertes-enfermedades-transmision-alimentaria&Itemid=135&lang=pt.

(10) González, S.; Lozada, M.; Santiago, I. Análisis Bacteriológico de Superficies Inertes. *Rev. Cubana Hig. Epidemiol.* **2014**, *52* (3), 314–320.

(11) Mohamedin, A.; Michel, M.; Tolba, M. Assessment of the Microbiological Quality of Public Restaurants and Street Vended Ready-To-Eat “Koshari” Meals. *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.* **2015**, *3* (3), 452–458. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v3i3.12933>.

(12) Parra, M.; Durango, J. Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de Las Infecciones Producidas Por Salmonella. *Rev. MVZ Córdoba* **2002**, *7* (2), 187–200.

(13) Soto, Z.; Pérez, L.; Estrada, D. Bacterias Causantes de ETAS En Colombia. *Barranquilla (Col.)* **2016**, *32* (1), 105–122.

(14) Guzmán, C.-.; Rodríguez, V.; Calderón, A. Contaminantes Microbiológicos En Un Mercado Del Sur de Montería: Un Riesgo Para La Salud Pública. *Cienc. y Agric.* **2017**, *14* (2), 89–97. <https://doi.org/10.19053/01228420.v14.n2.2017.7161>.

(15) Estévez, A. Enfermedades de transmisión hídrica <http://www.comda.org.mx/enfermedades-de-transmision-hidrica/>.

(16) OMS. Enfermedades transmitidas por vectores <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>.

(17) Escobar, M.; Puig, O.; Zaldívar, A.; Gallegos, G.; Agüero, A.; Gandarilla, L. Erradicación de Fiebre Tifoidea En Holguín. Logro de La Medicina Cubana 1972-2016. *Correo Científico Médico* **2017**, *21* (4), 979–989.

(18) Vargas, T.; Kuno, A. Morfología Bacteriana. *Rev. Actual. Clin.* **2014**, *49*, 2594–2598.

(19) Campuzano, S.; Mejía, D.; Madero, C.; Pabón, P. Determinación de La Calidad Microbiológica y Sanitaria de Alimentos Preparados Vendidos En La Vía Pública de La Ciudad de Bogotá D.C. *Nova* **2015**, *13* (23), 81. <https://doi.org/10.22490/24629448.1708>.

- (20) Carbó, R.; Miralles, M.; Sanz, R.; Mañas, F.; Guiral, S.; Pérez, E. Brote de Toxoinfección Alimentaria Por Salmonella Entérica Em Um Estabelecimento de Restauración Colectiva. **2005**, 47–57.
- (21) OPS; OMS. Organización Panamericana de La Salud / Organización Mundial de La Salud. Alerta Epidemiológica: Salmonella Entérica Serovar Alerta Epidemiológica Salmonella Entérica Serovar Typhi Haplotipo H58 10 de Octubre de 2018. **2018**, 4.
- (22) Barreto, M.; Castill, M.; Retamal, P. Revista Chilena de Infectología Agente , Hospedero y Ambiente , y Su Trascendencia. *Scielo* **2016**, 33 (5), 1–14. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000500010>.
- (23) Castell, J.; Gutiérrez, G.; Saavedra, R.; Santos, A. Brote de Shigellosis Con 146 Casos Relacionado Con Una Feria. *Gac. Sanit.* **2008**, 22 (1), 35–39. <https://doi.org/10.1157/13115108>.
- (24) Guerrero, C.; Guillén, A.; Rojas, R.; Bravo, N.; Muñoz, P. Serotipos y Resistencia Antibiótica En Shigella Spp Aisladas de Infecciones Intestinales, Lima, 2012 Serotypes. *Rev. ECIPerú* **2013**, 10 (1). <https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2013.0005/>.
- (25) Rodríguez, G. Principales Características y Diagnóstico de Los Grupos Patógenos de Escherichia Coli. *Salud Publica Mex.* **2002**, 44 (5), 464–475. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342002000500011>.
- (26) Gómez, O. Enfermedad Diarreica Aguda Por Escherichia Coli Enteropatógenas En Colombia. *Redalyc.org* **2014**, 31 (5), 577–586. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000500010>.
- (27) Farfán, A.; Ariza, S.; Vargas, F.; Vargas, L. Mecanismos de Virulencia de Escherichia Coli Enteropatógena. *Rev. Chil. infectología* **2016**, 33 (4), 438–450. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182016000400009>.
- (28) Paczosa, M.; Meccas, J. Klebsiella Pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense Michelle. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2016**, 27 (1), 22–31. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15.Address>.

- (29) López, J.; Echeverri, L. K. Pneumoniae: ¿"la Nueva Superbacteria"? Patogenicidad, Epidemiología y Mecanismo de Resistencia. *Redalyc.or* **2010**, 23 (2), 157–165.
- (30) Merino, L. Pseudomonas Aeruginosa: Una Bacteria Con Personalidades Múltiples. *Rev. Argent. Microbiol.* **2007**, 39 (3), 143.
- (31) Moya, A.; Callicó, A.; Cedré, B.; Camacho, F.; Simón, A.; Aménarez, J.; Valmaseda, T.; Ocanto, A.; Cádiz, A.; Esnard, S. Evaluación de La Respuesta de Anticuerpos Hacia Antígenos de Pseudomonas Aeruginosa. *Vaccimonitor* **2007**, 16 (1), 1–7.
- (32) Durán, F. *Manual Del Ingeniero de Alimentos*, 2006th ed.; Ltda, G. L., Ed.; Colombia, 2006; Vol. 111. <https://doi.org/10.1192/bjp.111.479.1009-a>.
- (33) MINSA. Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico de Superficies En Contacto Con Alimentos y Bebidas. **2007**, 461, 1–15.
- (34) NTE INEN 1 529-2:99. NTE INEN 1529-2 (1999) (Spanish): Control Microbiológico de Los Alimentos. Toma, Envío y Preparación de Muestras Para El Análisis Microbiológico. **1999**, 2.

ANEXOS

Ilustración 18. Preparación de agar nutritivo.



Ilustración 19. Preparación de agar EMB.



Ilustración 20. Esterilización de agares.



Ilustración 21. Dispensación de agar nutritivo.



Ilustración 22. Dispensación de agar EMB.



Ilustración 23. Permiso de toma de muestra.



Ilustración 24. Toma de muestra en tabla de picar.



Ilustración 25. Toma de muestra en mesón de preparación.



Ilustración 26. Toma de muestra en mesa de consumo.



Ilustración 27. Conservación de la muestra a 4 °C.

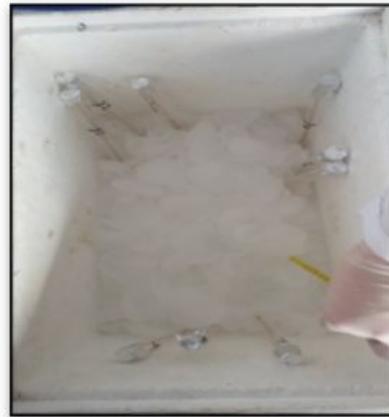


Ilustración 28. Inoculación de muestra en agar nutritivo



Ilustración 29. Incubación de la muestra a 37.5°C durante 48 horas.



Ilustración 30. Crecimiento de colonias en agar nutritivo.

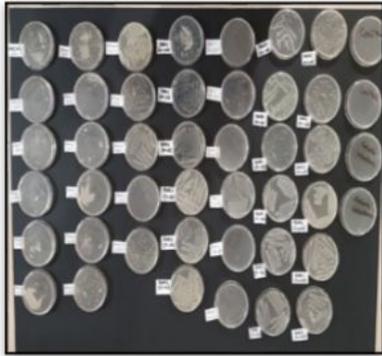


Ilustración 31. Inoculación para el aislamiento de colonias.



Ilustración 32. Colonias aisladas en agar nutritivo.



Ilustración 33. Fijación de muestra para Tinción de Gram.



Ilustración 34. Inoculación de las muestras en pruebas bioquímicas.



Ilustración 35. Pruebas Bioquímicas.



Ilustración 36. Prueba bioquímica de Citrato.



Ilustración 37. Prueba bioquímica de TSI.



Ilustración 38. Prueba bioquímica de Lisina.



Ilustración 39. Prueba bioquímica de Urea.



Ilustración 40. Prueba bioquímica de SIM.



Ilustración 41. Crecimiento de colonias en agar MacConkey.



Ilustración 42. Crecimiento de colonias en agar EMB.



Ilustración 43. Prueba bioquímica de Oxidasa.



Ilustración 44. Bacilos Gram +.

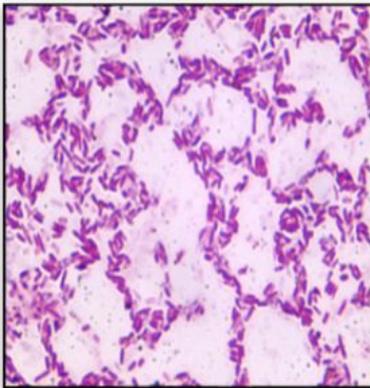


Ilustración 45. Bacilos Gram -.

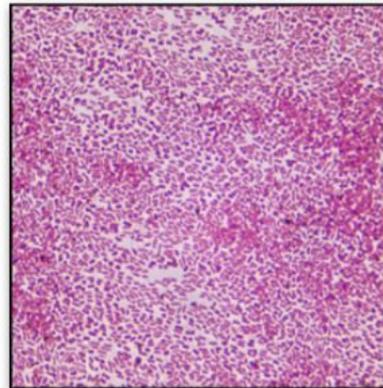


Ilustración 46. Stafilococos Gram +.

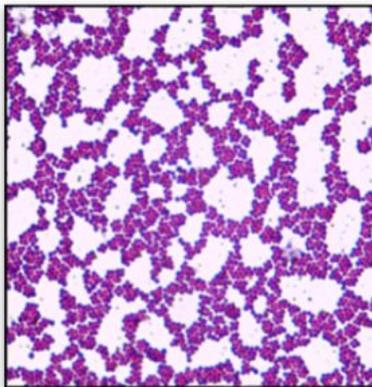


Ilustración 47. Cocos Gram +.

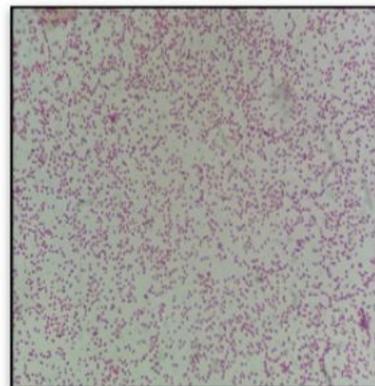


Ilustración 48. Bacilos, Diplobacilos, Streptobacilos Gram +.

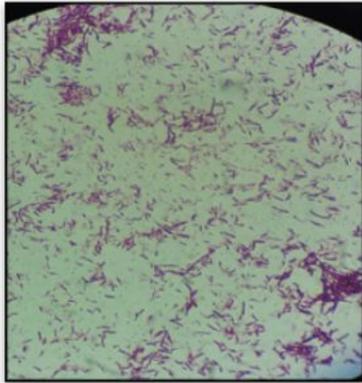


Ilustración 49. Socialización de resultados con las autoridades de la Unidad de Bienestar Estudiantil.

