



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO Y RESISTENCIA MICROBIANA
DE BACTERIAS AISLADAS DE LAS MAYONESAS QUE SE
EXPENDEN EN LOS PUESTOS DE COMIDA RÁPIDA
AMBULATORIOS EN LOS ALREDEDORES DE LA ESCUELA
SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: HENRY FERNANDO LEMA CARRASCO

DIRECTORA: DRA. ANA KARINA ALBUJA LANDI

Riobamba-Ecuador

2024

© 2024, Henry Fernando Lema Carrasco

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, para cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Henry Fernando Lema Carrasco, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 07 de mayo de 2024



Henry Fernando Lema Carrasco

1850623131

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, “**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO Y RESISTENCIA MICROBIANA DE BACTERIAS AISLADAS DE LAS MAYONESAS QUE SE EXPENDEN EN LOS PUESTOS DE COMIDA RÁPIDA AMBULATORIOS EN LOS ALREDEDORES DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**” realizado por el señor: **HENRY FERNANDO LEMA CARRASCO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

M.Sc. Simón Bolívar Moreano B.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



2024/05/07

Dra. Ana Karina Albuja Landi

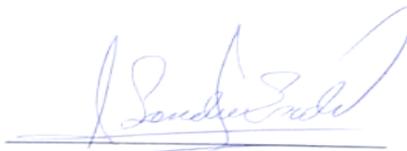
DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2024/05/07

Dra. Sandra Noemi Escobar Arrieta

ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2024/05/07

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi familia, por su amor incondicional, paciencia y sacrificios que hicieron posible este logro. A mis amigos, por su apoyo y alegría compartida en los momentos de estudio y celebración. A mis profesores, por su invaluable orientación y sabiduría que guiaron mis pasos en este camino académico. A todos aquellos que de alguna manera contribuyeron a este proyecto, su influencia ha dejado una huella imborrable en mi formación. Que este trabajo sea un tributo a su confianza y apoyo. ¡Gracias por ser parte de este viaje!

Henry

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi familia por su amor, comprensión y apoyo incondicional a lo largo de este camino. Su paciencia y su ánimo fueron fundamentales para mantenerme motivado y enfocado en la culminación de este proyecto.

Extiendo mi especial agradecimiento a mi directora, Anita Albuja, por su indispensable orientación y tutoría. Su experiencia, paciencia y compromiso me guiaron y me ayudaron a superar los obstáculos de la investigación.

También quiero expresar mi gratitud a Yolanda Buenaño, quien colaboró conmigo durante este proyecto. Sus valiosos comentarios, sugerencias y críticas constructivas contribuyeron en gran medida a mejorar la calidad de este trabajo.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a amigos, quienes me brindaron su apoyo incondicional en todo momento. Sus palabras de aliento y disposición para compartir sus experiencias fueron una fuente constante de inspiración para mí.

Henry

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Planteamiento del Problema.....	3
1.2. Limitaciones y delimitaciones.....	4
1.2.1. <i>Limitaciones</i>	4
1.2.2. <i>Delimitaciones</i>	5
1.3. Problema General de Investigación.....	5
1.4. Problemas específicos de Investigación.....	5
1.5. Objetivos.....	6
1.5.1. <i>Objetivo General</i>	6
1.5.2. <i>Objetivos Específicos</i>	6
1.6. Justificación.....	6
1.6.1. <i>Justificación Teórica</i>	6
1.6.2. <i>Justificación Metodología</i>	7
1.6.3. <i>Justificación Practica</i>	7

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1. Antecedentes de la investigación.....	8
2.2. Referencias Teóricas.....	9
2.2.1. <i>Comida Rápida</i>	9

2.2.2. Salsas	9
2.2.3. Mayonesas	10
2.2.4. Ingredientes y preparación de la mayonesa	10
2.2.5. Huevos	10
2.2.6. Aceites.....	11
2.2.7. Análisis microbiológico.....	11
2.2.8. Análisis microbiológico de la mayonesa.....	11
2.2.9. Seguridad alimentaria.....	13
2.2.10. Enfermedades transmitidas por alimentos	14
2.2.11. Parámetros para la identificación de una ETA	14
2.2.12. Características de las enfermedades transmitidas por alimentos	14
2.2.13. Principales enfermedades causadas por alimentos.....	15
2.2.14. Microorganismos indicadores de calidad sanitaria	15
2.2.15. Técnicas microbiológicas para la cuantificación e identificación de microorganismos	17
2.2.16. Medios de cultivo.....	17
2.2.17. Tipos de medios de cultivo	17
2.2.18. Técnicas de siembra en microbiología	18
2.2.19. Técnica de cuantificación por el método de Recuento en Placa.	19
2.2.20. Técnica de cuantificación por el método del Número más Probable.....	19
2.2.21. Tinción Gram	20
2.2.22. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias	20
2.2.23. Pruebas API	21
2.2.24. Pruebas PCR	22
2.2.25. Antibiograma por el método de Kirby-Bauer	22
2.2.26. Resistencia Bacteriana.....	22
2.2.27. Tipos de resistencia	23
2.2.28. Mecanismos de resistencia.....	23
2.2.29. Resistencia a los antimicrobiano en los alimentos.....	24

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO.....	25
3.1. Enfoque de Investigación.....	25

3.2. Nivel de investigación.....	25
3.3. Diseño de investigación.....	25
3.3.1. Según la manipulación o no de la variable independiente.....	25
3.3.2. Según las intervenciones en el trabajo de campo	25
3.4. Tipo de estudio	25
3.5. Población y Planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra.....	25
3.5.1. Población y planificación.....	25
3.5.2. Muestra.....	26
3.5.3. Criterios de inclusión	26
3.5.4. Criterios de exclusión.....	26
3.6. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	26
3.6.1. Equipos, materiales y Reactivos.....	28
3.6.2. Metodología.....	28

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	34
4.1. Cuantificación de microorganismos indicadores de Calidad Sanitaria	34
4.2. Aislamiento e identificación de bacterias	39
4.3. Evaluación de la susceptibilidad bacteriana.....	45

CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES.....	50

BIBLIOGRAFIA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2- 1: Requisitos microbiológicos de la mayonesa.....	12
Tabla 3- 1: Esquema del procedimiento general para la realización del estudio.	27
Tabla 3- 2: Listado de materiales equipos y reactivos utilizados en la realización del presente estudio	28
Tabla 4- 1: Recuentos de Aerobios Mesófilos en muestras de mayonesa en los puestos de comida rápida ambulatorios alrededor de la Epoch por muestreo.....	34
Tabla 4- 2: Cuantificación de Mohos y Levaduras en las muestras de mayonesa por muestreo.	35
Tabla 4- 3: Cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> por muestreo.	35
Tabla 4- 4: Determinación de Coliformes por el método del número más probable por muestreo.	35
Tabla 4- 5: Determinación de <i>Escherichia coli</i> por el método del número más probable en los dos muestras.....	36
Tabla 4- 6: Detección de <i>Salmonella</i> en 10 puestos de expendio.....	36
Tabla 4- 7: Identificación de Cocos-grampositivos	39
Tabla 4- 8: Identificación de Bacilos-Gram negativos.	40
Tabla 4- 9: Identificación de bacterias por PCR	44
Tabla 4- 10: Interpretación del antibiograma para <i>Staphylococcus spp.</i>	45
Tabla 4- 11: Interpretación del antibiograma para Enterobacterias.....	46

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 3- 1: Preparación del agua de peptona al 0,1% y las respectivas diluciones.	29
Ilustración 3- 2: Procedimiento para la determinación de aerobios mesófilos, <i>Staphylococcus aureus</i> y mohos y levaduras.	29
Ilustración 3- 3: Descripción del procedimiento para la determinación de coliformes y <i>E. coli</i>	30
Ilustración 3- 4: Descripción del procedimiento para la determinación de <i>Salmonella spp.</i>	30
Ilustración 3- 5: Procedimiento para el aislamiento de colonias bacterianas.	31
Ilustración 3- 6: Procedimiento para realizar la Tinción Gram.	31
Ilustración 3- 7: Procedimiento para la identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas.	32
Ilustración 3- 8: Procedimiento para la realización de pruebas API.....	33
Ilustración 3-9: Procedimiento para la realización del Antibiograma.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: PUNTOS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

ANEXO B: TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

ANEXO C: SIEMBRA EN MEDIOS DE CULTIVO

ANEXO D: CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

ANEXO E: AISLAMIENTO Y TINCIÓN GRAM

ANEXO F: REALIZACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS, PRUEBAS API

ANEXO G: REALIZACIÓN DE ANTIBIOGRAMA E INTERPRETACIÓN DE ANTIBIOGRAMA

RESUMEN

La mayonesa es un aderezo tradicional que se utiliza para acompañar diversos platos de comida rápida. Sin embargo, su elaboración a partir de ingredientes crudos y deficientes prácticas de higiene durante su preparación, manipulación y comercialización, la hacen susceptible a la contaminación microbiológica y proliferación de microorganismos capaces de producir enfermedades de origen alimentario. Por lo tanto, el objetivo principal de este proyecto de investigación fue realizar un estudio microbiológico y de resistencia microbiana de bacterias aisladas de las mayonesas que se expenden en los puestos de comida rápida ambulatorios en los alrededores de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se evaluó la carga microbiana de 10 muestras por duplicado siguiendo lo establecido en la norma INEN 2295: Mayonesa, Requisitos. La siembra en medios de cultivo selectivos que permitieron la cuantificación de UFC/g de: Aerobios Mesófilos, Mohos y Levaduras, *Staphylococcus aureus* y Coliformes. Se evidenció un incumplimiento a la normativa del 80% para Aerobios Mesófilos, Mohos y Levaduras y *Staphylococcus aureus*, seguida de un 80% de contaminación simultánea de Coliformes y *Escherichia coli*. Finalmente, se determinó la presencia presuntiva de *Salmonella spp* en el 20% de las muestras analizadas. Se aislaron 20 cepas bacterianas y se identificó al *Staphylococcus aureus* con una frecuencia del 15%, al *Staphylococcus epidermidis* en un 30%, y al *Staphylococcus xylosum* en un 5%. *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* se identificaron en un 15% y 10% respectivamente y mediante PCR se identificó a *Citrobacter freundii* y *Klebsiella michiganensis*. La sensibilidad microbiana indicó que el género *Staphylococcus* presenta mayor resistencia a la Penicilina, mientras que las enterobacterias fueron resistentes a la Ampicilina. Se concluye que las muestras analizadas superan el índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad de la mayonesa.

Palabras clave: <CALIDAD MICROBIOLÓGICA>, <MAYONESAS>, <IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA>, <REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)>, <SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA>

07012-DBRA-UPT-2024



ABSTRACT

Mayonnaise is a traditional dressing used to accompany various fast food dishes. However, its preparation from raw ingredients and poor hygienic practices during its preparation, handling and marketing, make it susceptible to microbiological contamination and proliferation of microorganisms capable of producing foodborne diseases. Therefore, the main objective of this research project was to conduct a microbiological and microbial resistance study of bacteria isolated from mayonnaise sold in fast food stands in the surroundings of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. The microbial load of 10 samples was evaluated in duplicate according to INEN 2295: Mayonnaise, Requirements. The sowing in selective culture media that allowed the quantification of CFU/g of: Mesophilic Aerobes, Molds and Yeasts, *Staphylococcus aureus* and Coliforms. There was evidence of 80% non-compliance for Mesophilic Aerobes, Molds and Yeasts and *Staphylococcus aureus*, followed by 80% simultaneous contamination of Coliforms and *Escherichia coli*. Finally, the presumptive presence of *Salmonella* spp was determined in 20% of the samples analyzed. Twenty bacterial strains were isolated and *Staphylococcus aureus* was identified with a frequency of 15%, *Staphylococcus epidermidis* in 30% and *Staphylococcus xylosum* in 5%. *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* were identified in 15% and 10%, respectively, and *Citrobacter freundii* and *Klebsiella michiganensis* were identified by PCR. Microbial sensitivity indicated that the *Staphylococcus* genus presented greater resistance to Penicillin, while enterobacteria were resistant to Ampicillin. It is concluded that the analyzed samples exceed the maximum permissible index to identify the good quality level of mayonnaise.

Keywords: <MICROBIOLOGICAL QUALITY>, <MAYONESES>, <BIOCHEMICAL IDENTIFICATION>, <POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)>, <BACTERIAL SUSCEPTIBILITY>.



Mgs. Evelyn Carolina Macías Silva

INTRODUCCIÓN

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), aproximadamente 2.500 millones de personas compran alimentos preparados en las calles (Moloi et al., 2021). La comida rápida ambulatoria se ha convertido en una cotidianidad de la vida moderna, proporcionando a las personas opciones prácticas, sabrosas, pero poco saludables en su diario vivir. El éxito de este tipo de comida se basa en la creciente demanda de alternativas rápidas y cómodas, lo que empuja al consumo de estos productos indistintamente del tiempo, espacio o lugar para consumirlos. Sin embargo, se desconocen los niveles de microorganismos en estos alimentos, además de su seguridad en la salud humana. Por lo tanto, conocer la calidad microbiológica de los alimentos de puestos ambulantes es un factor crucial para reconocer los problemas de seguridad relacionados con los alimentos que se ofrecen en los mismos (Lenetha, 2021).

De acuerdo con (León & Ortiz, 2023). En Latinoamérica, la venta ambulante de comida se ha convertido en un factor de riesgo potencial para la salud de los consumidores, a causa de las deficientes y limitadas condiciones de sanidad e higiene en la mayoría de los puestos ambulatorios. Se han realizado algunos estudios donde se detallan la estrecha relación que existe entre la inocuidad de estos alimentos con las prácticas de higiene de los manipuladores y que las causas probables de contaminación son los utensilios, equipos e incluso ingredientes crudos que se agregan a alimentos listos para el consumo. Es importante destacar que los alimentos contaminados ponen en peligro la salud de la población al causar diversas enfermedades que pueden ser agudas o crónicas, las cuales, son transmitidas por los alimentos a través de microorganismos patógenos o sustancias tóxicas presentes en ellos.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), también conocida como “intoxicación alimentaria”, son un problema de salud pública. Estas enfermedades pueden ser causadas por bacterias, parásitos, toxinas o virus. Entre los patógenos más comunes se encuentran *Salmonella* y *Escherichia coli*, que causan 52 000 y 37 000 muertes al año, respectivamente (OMS, 2021). Los informes anuales indican que 1 de cada 6 norteamericanos se enferma al consumir alimentos o bebidas contaminados. En Ecuador, para el año 2020 se reportaron 8.924 casos de ETA a nivel nacional con descenso del 54% en relación con el año 2019. En la provincia de Chimborazo, se reportaron 10 casos de ETA hasta el último reporte disponible correspondiente al primer trimestre del año 2021 (MSP, 2021).

De acuerdo con la Organización Mundial de la salud (OMS), los últimos años, han aumentado significativamente las estadísticas de incidencia en Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) alrededor del mundo.

Los brotes hallados se han atribuido al consumo de alimentos contaminados debido al tratamiento inadecuado de alimentos, ya sea, por una mala práctica de conservación o manipulación de parte del consumidor, deficiencias en los controles de calidad durante el proceso de producción, distribución, transporte, así como a errores en la implementación de programas de saneamiento y buenas prácticas de manufactura en la industria alimentaria (Marín et al, 2020).

La seguridad en los alimentos depende de diversos factores como: calidad de las materias primas prácticas de preparación, manipulación, almacenamiento y distribución de los alimentos. Además, para el control de una ETA se depende estrictamente de las adecuaciones necesarias en infraestructura, servicios básicos disponibles, capacitaciones en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y verificación por parte de las autoridades sanitarias (Marín et al, 2020). La preparación y venta de alimentos en los espacios públicos es una actividad tradicional en países en vías de desarrollo, además de su aprobación popular debido a su accesibilidad, variedad y bajo costo. Se pueden hallar alimentos crudos listos para comer, tales como ensaladas de verduras o frutas, alimentos precocidos o cocidos, aderezos y una gran variedad de bebidas. Sin embargo, existe una intuición de inseguridad al consumir estos alimentos, debido a las posibles prácticas de manipulación antihigiénicas con las que se los prepara, datos que se han corroborado con la detección de altos niveles de contaminación en algunos estudios realizados (León & Ortiz, 2023).

La mayonesa es muy utilizada en puestos que comercializan comida rápida ambulatoria, ya que puede usarse como aderezo en los platillos que se sirven en estos establecimientos. Sin embargo, debido a su alto contenido en grasas, nutrientes, además de erróneas prácticas de almacenamiento y conservación, es propicio de generar un ambiente óptimo para el desarrollo y reproducción de microorganismos, de tal manera que, si no se la maneja adecuadamente, puede facilitar la transmisión de patógenos en cadena, todo lo antes mencionado se asocia a que los puestos ambulantes de comida, normalmente se encuentran expuestos a la intemperie, incluso sus prácticas de aseo e higiene no son las adecuadas al momento de preparar los alimentos (Anuranjini, 2017).

En el Ecuador la normativa técnica ecuatoriana INEN dicta una serie de parámetros microbiológicos que los diferentes productos alimenticios deben de cumplir para poder ser aptos para el consumo humano de esta manera el objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica de salsa de mayonesa expendida en puestos de comida rápida ambulatorios cercanos a la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo (ESPOCH) y determinar la frecuencia de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella ssp.* presentes en las muestras de mayonesa mediante la norma NTE INEN 2295: MAYONESAS.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema

Actualmente, los estilos de vida acelerados y la falta de tiempo llevan a las personas a optar por consumir comida rápida como una solución espontánea conveniente. Los olores, sabores, marketing u ofertas atractivas, incluyendo los costos más bajos en comparación con otras opciones de alimentación saludables, contribuyen al aumento en el consumo de este tipo de comida (Benítez, 2021). Sin embargo, es importante destacar que los establecimientos donde se expende este tipo de comida generalmente son lugares que funcionan como emprendimientos o incluso a veces clandestinos, que no disponen de un permiso de funcionamiento donde se hayan evaluado buenas prácticas de sanitización, a más de la falta de capacitación del personal que labora en los mismos y el desconocimiento sobre prácticas seguras de manipulación de alimentos. Por esta razón, estos sitios de comida rápida ambulatorios son potenciales propagadores de un mayor riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos en los consumidores (Popkin, 2022).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) por lo general son de carácter infeccioso y/o tóxico. Entre sus principales causas destacan bacterias, virus, parásitos y sustancias químicas que pueden ingresar al organismo por medio del agua o alimentos contaminados (OMS, 2020). Además, se estima que cada año aproximadamente 600 millones de personas se enferman en el mundo por el consumo de alimentos contaminados y que 420 000 mueren por esta tal razón.

Según datos otorgador por el Ministerio de Salud Pública (MSP), durante el año 2023 se han notificado 6.825 casos de Intoxicación Alimentaria (IA) en el Ecuador, que en su mayoría fueron reportados en la provincia de Pichincha con 2.605 casos, asimismo, en la provincia de Chimborazo se han reportado un total de 299 casos, donde el grupo etario más afectado corresponden de 20 a 49 años y las mujeres como el sexo más prevalente (MSP, 2023).

La mayonesa es el aderezo tradicional usado en la preparación de diversos tipos de platos de comida rápida que se expenden en puestos ambulatorios. Puede utilizarse para decorar, servir o elaborar los platillos (Mosquera & Pineda, 2021). La mayonesa es elaborada mediante una emulsión de aceite vegetal y yema de huevo. Además, es un producto relativamente estable desde el punto de vista microbiológico debido a su alto contenido de grasa y a la adición de ingredientes ácidos. Sin embargo, debido a la ineficacia en su preparación y conservación, puede transformarla en un caldo de cultivo para microorganismos patógenos.

Entre los microorganismos que comúnmente se han hallado en mayonesas se puede mencionar a *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Sánchez, 2022). Estas bacterias se han estudiado en seguridad alimentaria, higiene, sanidad y salud pública. Su presencia en alimentos a niveles elevados son registro de ineficiencia en el proceso de elaboración – comercialización del producto. Además, su prevalencia e incidencia ha aumentado en los últimos años, lo que significa que el sistema de salud opta por tratamientos antibióticos combinados diferentes a los convencionales para combatirlos, esto da como resultado un aumento de la resistencia antibiótica frente a algunos antibacterianos. A su vez, el uso continuo de antibióticos como principios activos en las fórmulas de los químicos usados en la agricultura y la ganadería contribuye al desarrollo de bacterias resistentes que pueden transmitirse a los seres humanos a través de los alimentos (Gonzalez, y otros, 2019).

Entre los alimentos que requieren mayor control incluyen: carne, aves de corral, productos lácteos, pescado, mariscos, productos agrícolas, alimentos procesados y huevos (Puig, y otros, 2011). De esta manera, es importante comprender la relación que existe entre los alimentos y la resistencia bacteriana como un desafío para la salud pública donde se afecta la efectividad de los tratamientos médicos y aumenta el riesgo de infecciones que son difíciles de controlar o diagnosticar.

Por lo tanto, es importante realizar esta investigación, donde el estudio microbiológico y de resistencia en las bacterias aisladas de mayonesas que se expenden en los puestos de comida ambulatorios, permitan evaluar la prevalencia de cepas bacterianas resistentes a los antimicrobianos y los resultados de esta investigación puedan ser de utilidad para desarrollar estrategias de control y prevención promoviendo la importancia de la seguridad alimentaria.

1.2. Limitaciones y delimitaciones

1.2.1. Limitaciones

- La mayonesa puede estar en contacto con diferentes superficies y utensilios durante su preparación lo que dificulta determinar si la contaminación es exclusivamente de la mayonesa.
- La cantidad de muestras recolectadas es limitada y a conveniencia por cuestión de recursos, tiempo y presupuesto disponibles. Esto afecta la representatividad del estudio imposibilitando generalizar los hallazgos en la variedad de mayonesas vendidas en todos los puestos de comida rápida ambulatorios cercanos a la Espoch.

- La disponibilidad de recursos y equipos de laboratorio puede ser limitada, lo que podría afectar la capacidad para llevar a cabo pruebas microbiológicas y de resistencia microbiana en las muestras de manera precisa y oportuna.
- En las mayonesas se pueden encontrar otros ingredientes, como especias y aditivos, que pueden afectar la viabilidad de ciertos microorganismos de tal manera que sea más difícil determinar la verdadera carga microbiana.
- Los microorganismos y su resistencia pueden cambiar con el tiempo, lo que hace que los resultados sean válidos solo para un momento específico.

1.2.2. Delimitaciones

- El estudio se llevará a cabo en los puestos de comida rápida ambulatorios ubicados en los alrededores de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y se centrará en mayonesas que se sirven con alimentos preparados en dichos puestos de comida.
- Se recolectarán muestras de mayonesa de un total de 10 puestos seleccionados al azar y serán procesadas utilizando técnicas estándar de cultivo y siembra en medios de cultivo específicos para identificación de bacterias patógenas.
- Se analizarán las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* debido a su relevancia en la seguridad alimentaria y finalmente se evaluará la resistencia a un conjunto de antibióticos representativos de distintas clases.

1.3. Problema General de Investigación

¿Cuál es el propósito principal de realizar un estudio microbiológico en las mayonesas de los puestos de comida rápida ambulatorios que existen en los alrededores de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo?

1.4. Problemas específicos de Investigación

¿La cuantificación microbiológica en muestras de mayonesas para el consumo humano se encuentran dentro de los límites permitidos por la norma NTE INEN 2295:2010?

¿Qué especies de bacterias se encuentran con mayor frecuencia en las mayonesas analizadas?

¿Cómo puede afectar la resistencia microbiana de las bacterias aisladas frente a la eficacia de los tratamientos antibióticos en casos de infecciones relacionadas con el consumo de estas mayonesas?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Realizar un estudio microbiológico y de resistencia microbiana de bacterias aisladas de las mayonesas que se expenden en los puestos de comida rápida ambulatorios en los alrededores de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Cuantificar microorganismos indicadores de calidad sanitaria (*Salmonella spp*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*) mediante lo especificado en la norma NTE- INEN 2295:2010
- Aislar e identificar las bacterias presentes en las muestras de mayonesa mediante técnicas microbiológicas estándar.
- Evaluar la susceptibilidad de las bacterias aisladas, a diferentes antibióticos mediante el método de Kirby-Bauer.

1.6. Justificación

1.6.1. Justificación Teórica

Según (Galindo et al., 2017) afirma que, en algunos países en vías de desarrollo, un poco más del 50% de los trabajadores pertenecen a la economía informal. Estudios realizados en la Oficina Internacional del Trabajo (OIT) corroboran que entre el 2% y el 9% perteneciente a la población que no se dedica a la agricultura, viven del comercio ambulante, y de este total, el 40% se ha dedicado a la venta de comida ambulatoria. Este tipo de comercio es altamente demandado en zonas rurales o urbanas por su accesibilidad económica, sobre todo, para las personas de bajos recursos, siendo común en América Latina y un factor socioeconómico importante. No obstante, se recalca que los vendedores en estos sitios, suelen carecer de capacitación en higiene alimentaria, en suma, las infraestructura y equipos de conservación es desprovista en estos sitios, lo que implica desatar un riesgo para la salud y puede dar como resultado la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (León et al., 2023). En la actualidad, las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) son considerados un problema de salud pública en el mundo que se han originado por el consumo de alimentos poco seguros debido a prácticas deficientes en el proceso de elaboración, manipulación, conservación, transporte, distribución o comercialización de estos. Inclusive, las características propias de los alimentos pueden resultar determinantes en la contaminación y proliferación de bacterias (Quispe & Sánchez., 2021).

La mayonesa es uno de los aderezos artesanales más usados para la preparación de una diversidad de platos de comida rápida que se expenden en puestos ambulatorios. Puede utilizarse para decorar, servir o elaborar los platillos (Mosquera & Pineda, 2022). Se elabora mediante una emulsión de aceite vegetal y yema de huevo. Sin embargo, debido a la incompetencia del personal o las instalaciones ocupadas para su preparación y conservación, pueden hacer que se transforme en un caldo de cultivo de microorganismos patógenos. Además, en la preparación de mayonesa se utilizan huevos crudos y aceite, estos ingredientes pueden ser susceptibles de contaminación microbiana (Sánchez, 2022). Algunas de las bacterias que pueden presentarse en mayor proporción en mayonesas contaminadas son *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Estos microorganismos pueden causar enfermedades graves en los consumidores que las ingieren (OMS, 2020). Por lo tanto, evaluar la presencia de estos microorganismos indicativos de contaminación, permitirá tomar las medidas de prevención adecuadas para garantizar la seguridad alimentaria.

El análisis microbiológico es un parámetro fundamental para evaluar la calidad y seguridad de las mayonesas, identificando y cuantificando los microorganismos presentes e incluyendo a aquellos patógenos que podrían causar enfermedades transmitidas por alimentos. Por otro lado, las pruebas de resistencia bacteriana son fundamentales en cuanto al problema creciente de la resistencia a los antibióticos, ya que, permiten la identificación de bacterias o cepas resistentes. Esta detección temprana puede ayudar a prevenir su propagación, orientan a un tratamiento médico adecuado y contribuir al desarrollo de políticas de salud mucho más efectivas.

1.6.2. Justificación Metodología

Para abordar esta problemática, se cuenta con un laboratorio de microbiología en el cual se aplicará una metodología rigurosa de análisis, iniciando por la recolección de muestras de mayonesas de distintos puestos de comida rápida ambulatorios en los alrededores de la Espoch-Riobamba, las cuales serán sometidas a estudios microbiológicos detallados para identificar y aislar las bacterias presentes, para posteriormente llevar pruebas de susceptibilidad a los antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones bacterianas.

1.6.3. Justificación Practica

Para definir los resultados de este estudio, se cuenta con la Norma Técnica del Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE INEN) 2295:2010, en la cual se establecen los requisitos microbiológicos que deben cumplir las mayonesas destinadas al consumo humano. Además, se dispone de las normas NTE INEN 1529-(1, 5, 6, 8, 10, 14, 15) que nos ayudan tanto en la preparación medios de cultivo y reactivos, como en la cuantificación y control de microorganismos indicadores de calidad en alimentos.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

En un estudio realizado en la ciudad de Cuenca-Ecuador por Ruiz en el 2014, se planteó determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en mayonesa expendidas como aderezo en los asaderos de pollos ubicadas en el centro histórico de la ciudad de Cuenca.

Donde se analizaron un total de 75 muestras de 25 locales en dos periodos, los resultados fueron evaluados según los requerimientos de la norma ecuatoriana INEN 2295 y cada muestra se analizó por triplicado.

En el primer periodo el autor determinó ausencia de *Salmonella spp.* en todas las muestras y para corroborar estos resultados, en el segundo periodo amplió el tamaño de muestra. Además, analizó condiciones de buenas prácticas de higiene con relación a los locales, personal y envasado del producto. Finalmente logró reafirmar los resultados obtenidos en el primer periodo (Ruiz, 2014).

En su tesis de grado con el tema “Calidad microbiológica de mayonesa expendida en puestos de comida en la vía pública en un distrito de lima en el verano del 2017” Galindo, Buitrón y Vergara analizaron 120 muestras de mayonesa obtenidas en puestos de comida ambulante en la vía pública del distrito de San Martín de Porres-Perú, en las cuales, solo el 17.5% de muestras de mayonesa fueron aptas para el consumo humano según los parámetros microbiológicos de DIGESA. Además, se menciona que los microorganismos encontrados con mayor frecuencia fueron los aerobios mesófilos totales en un 60% de las muestras. (Galindo, y otros, 2017).

Para llevar a cabo la investigación planteada por Robalino en el 2019, se tomaron 180 muestras de alimentos variados en 6 zonas del parque La Carolina en Quito, donde la venta de alimentos ambulantes se da con una gran frecuencia. El estudio microbiológico consistió en la determinación de *Salmonella spp.* mediante la norma NTE INEN 1529-15, determinando que 18 muestras de alimentos que representan el 10% dieron aislamientos positivos para esta bacteria.

Otro estudio realizado en la ciudad de Cuenca-Ecuador en el año 2021. Cullquipuma y Guaman, con el tema “Determinación de *Salmonella spp.* en mayonesas caseras, elaboradas en locales de comida ubicados en la calle larga de la ciudad de Cuenca” analizaron 20 muestras de mayonesas caseras, sin evidenciar la presencia de *Salmonella spp.*, sin embargo, el 45% de las muestras totales resultaron sospechosas las mismas que fueron sometidas a una prueba de confirmación bioquímica, en donde lograron identificar únicamente flora de acompañamiento (Cullquipuma Muños, y otros, 2021).

En una investigación realizada en Manaus-Brasil en el año 2021 bajo el título “Calidad microbiológica y características fisicoquímicas de la mayonesa casera servida en bares de la ciudad de Manaus”. Se recogieron diez muestras en cafeterías de la zona y se evaluaron para detectar la presencia de microorganismos (coliformes a 45 °C, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*). Las muestras presentaron recuentos bajos de coliformes a 45 °C (6,8 NMP/g a 21 NMP/g), ausencia de *E. coli* y de *Salmonella spp* cumpliendo con las normas microbiológicas vigentes en Brasil (Guedes et al, 2021).

2.2. Referencias Teóricas

2.2.1. Comida Rápida

Según (Rodríguez et al, 2011) la comida rápida es un tipo de alimentación que se caracteriza por su preparación y servicio rápido. Se considera comida rápida en los siguientes casos:

- Restaurantes que brindan servicio de entrega rápida (RSR): estos lugares ofrecen comida y bebida, pero no brindan servicio a la mesa.
- Establecimientos de "comprar y llevar" venden comida preparada y al menos el 80% de sus ingresos provienen de las ventas instantáneas, donde los clientes compran la comida para consumirla fuera del establecimiento.
- Vendedores ambulantes que ofrecen un menú limitado de comidas y bebidas preparadas para consumo inmediato en la calle.

2.2.2. Salsas

Las salsas resultan de combinar diversos ingredientes que después de someterse al proceso de cocción adecuado se emplean para realzar el sabor de las comidas, acompañar platos y alimentos preparados. Aunque algunos investigadores las definen como condimentos líquidos, su objetivo va más allá de simplemente alterar el sabor y el aroma. Por otro lado, cuando se utilizan como aderezos, las salsas pueden transformar la apariencia y la textura de los platos, brindando así una experiencia variada y satisfactoria para el consumidor (Diaz, 2020)

2.2.2.1. Tipos de salsas:

- Salsas emulsionadas: son aquellas que se componen de una mezcla de dos líquidos inmiscibles, pero se pueden mezclar realizando movimientos constantes en un determinado período de tiempo. Se pueden elaborar en frío un ejemplo de ello la mayonesa, o en caliente como la salsa holandesa (Loor & Chávez, 2021).

- Salsas no emulsionadas: son aquellas que se producen mediante una mezcla normal de ingredientes, ya sea, en frío o en caliente, y pueden ser líquidos o sólidos. Ejemplos: salsa de tomate o la mostaza, este tipo de salsas se elaboran sin emulsión (Loor & Chávez, 2021).

2.2.3. Mayonesas

Según la norma técnica ecuatoriana NTE-INEN 2295:2010, la mayonesa es una emulsión de aceite en agua. Esta emulsión se hace con aceites vegetales comestibles refinados, vinagre, huevos y sal. Además, puede incluir condimentos, especias y hierbas aromáticas si se desea.

2.2.4. Ingredientes y preparación de la mayonesa

De acuerdo con la Norma NTE-INEN 2295:2010, los ingredientes comúnmente usados en la preparación de la mayonesa son: huevos, sal, condimentos, especias, jugo de frutas, endulzantes naturales, hierbas aromáticas, vegetales, mostaza, productos lácteos y agua.

Para la elaboración de mayonesa se requiere el uso de huevos crudos enteros, claras o yemas, congeladas o deshidratadas, ya sea, solos o en combinación. Además, el aceite utilizado para la preparación de la mayonesa debe ser de origen vegetal y refinado apto para consumo según la normativa INEN del año 2010.

2.2.5. Huevos

El huevo es un alimento con un elevado contenido de nutrientes, fácil de digerir, rico en proteínas y dispone las proporciones ideales de aminoácidos esenciales. No solo debe ser una fuente de proteína y energía, sino también saludable, delicioso y de alta calidad ya que, al disminuir la calidad de los huevos, se reduce la confianza de los consumidores, aumentan los riesgos a la salud y se registran pérdidas económicas significativas (Vera et al, 2020).

La calidad de un huevo se determina en su contenido interior y la apariencia externa de su cáscara. Los cambios en la cáscara pueden deberse a diversos factores como: edad, manipulación, estrés, alimentación o alguna enfermedad que padezca el animal del cual proviene. Los aspectos antes mencionados influyen en cómo luce el huevo externamente y la seguridad que le ofrece al consumidor. En la industria avícola, la demanda de este producto en el mercado está impulsando la necesidad de evaluar, medir y establecer estándares para garantizar la calidad de los huevos (Vera et al, 2020).

El huevo es uno de los alimentos que casi no sufre modificación, alteración o control desde su producción en la granja hasta que llega al consumidor final. Asimismo, es altamente susceptible a dañarse con el tiempo y puede estar contaminado con una variedad de microorganismos patógenos.

Salmonella enteritidis y *Escherichia coli*, son responsables de numerosos brotes de gastroenteritis a nivel mundial, por lo general a estas bacterias se las encuentra en huevos crudos o insuficientemente cocidos, también pueden ser aisladas de la cáscara de los huevos (Guier et al, 2022).

2.2.6. Aceites

La mayoría de los aceites para cocinar, freír y crear alimentos se extraen de plantas, principalmente con semillas oleaginosas como la soja, la canola, el girasol y el maní. Los aceites vegetales comestibles permanecen en estado líquido a temperatura ambiente y están compuestos principalmente de triacilgliceroles (Dunfort, 2016).

Según (Gobena et al., 2018) los microorganismos pueden contaminar el aceite comestible y alterar su composición química, lo que lleva a su deterioro y posibles consecuencias graves para la salud. Los hongos son responsables de la descomposición de los triglicéridos de los aceites causando sabores desagradables como rancidez, acidez y amargura. La contaminación microbiana es común, especialmente cuando no se mantiene una buena higiene en su manipulación y preparación.

2.2.7. Análisis microbiológico

El control microbiológico de los alimentos implica verificar frescura, conservación, producción en condiciones higiénicas y presencia/ausencia de microorganismos patógenos. El criterio microbiológico establece que un producto alimentario es aceptable o no según la presencia o ausencia de microorganismos o sus toxinas en cantidad, tamaño, área o grupo de alimentos (Iriarte, 2006).

2.2.8. Análisis microbiológico de la mayonesa

Según la norma NTE-INEN 2 295:2010, la mayonesa no debe contener microorganismos patógenos ni sustancias derivadas de microorganismos que puedan representar un potencial riesgo para la salud. Por lo tanto, la mayonesa debe cumplir con las siguientes especificaciones microbiológicas.

Tabla 2- 1: Requisitos microbiológicos de la mayonesa

REQUISITOS	n	m	M	c	MÉTODO DE ENSAYO
Recuento de microorganismos mesófilos ufc/g	5	1,0 x 10 ⁴	5,0 x 10 ⁴	2	NTE INEN 1529-5
Coliformes NMP/g	5	< 3	--	0	NTE INEN 1529-6
<i>Escherichia coli</i> NMP/g	5	< 3	--	0	NTE INEN 1529-8
<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g	5	< 1,0 x 10 ²	--	0	NTE INEN 1529-14
Recuento de mohos y levaduras ufc/g	5	2,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ¹	1	NTE INEN 1529-10
<i>Salmonella</i> /25 g	5	Ausencia	Ausencia	0	NTE INEN 1529-15

Fuente: Norma NTE- INEN 2 295:2010 Mayonesa Requisitos.

Realizado por: Lema H., 2023.

- Los aerobios mesófilos pueden crecer en un intervalo de temperatura entre 20°C a 45°C en presencia de oxígeno. Si se detectan niveles elevados de estos microorganismos utilizando la técnica del recuento en placa, se podría señalar que las instalaciones utilizadas para la manipulación y procesamiento de productos carece de cumplimiento con las normas adecuadas de salubridad. (Meza et al, 2018).
- La presencia de hongos y levaduras en los alimentos puede indicar niveles de deterioro y descomposición, estos microorganismos tienen la capacidad de producir micotoxinas que son toxinas que no se degradan fácilmente, lo que significa que consumir alimentos contaminados con altos niveles de estas toxinas puede resultar en una intoxicación, con consecuencias graves. Su recuento se realiza en placa después de haberse incubado a 25 °C. (Meza et al, 2018).
- En cuanto a la determinación de coliformes, estos son indicativos de contaminación del agua o alimentos. En este grupo se hallan diferentes tipos de bacterias como: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* y *Enterobacter*. Estas bacterias son propias de la flora intestinal de humanos y animales de sangre caliente, pero también se las puede encontrar en la naturaleza, como en suelos, semillas y hortalizas.

Se utilizan como indicadores microbiológicos para evaluar la higiene de los alimentos y se expresa en NMP/g, para su identificación se utiliza la técnica de dilución en tubos, y el medio líquido selectivo es el caldo verde brillante bilis-lactosa (Castro et al, 2023).

- *E. coli* es indicador contaminación en algunos procesos de fabricación, logística o transporte del alimento. Incluso puede apreciarse cuando no se toman en cuenta las medidas básicas de higiene. La determinación de la contaminación consiste en la cuantificación de esta bacteria presente en relación con la cantidad total en la muestra. Específicamente en *E. coli*, se expresa como el número más probable (NMP) por cada 100 gramos de alimento (Quispe & Romero, 2020).
- *Staphylococcus aureus* es un microorganismo oportunista que forma parte de la microflora de la piel y mucosas en el ser humano y los animales. Es importante llevar a cabo un recuento en placa de *Staphylococcus*, dado que es indicador crítico de la calidad microbiológica en los alimentos. Además, puede colonizar superficies debido a que puede formar biopelículas que disminuyen la eficiencia en los procedimientos de limpieza y desinfección (Sánchez y Farrando, 2021).
- La *Salmonella* una bacteria que tiene como hábitat natural el intestino humano o animal por lo que las heces constituyen una fuente de contaminación en alimentos y agua. Los principales alimentos que propician una propagación de este microorganismo son: huevos crudos, derivados como la mayonesa, clara batida, aves crudas y alimentos dejados fuera del refrigerador durante periodos prolongados de tiempo. Su determinación se basa en reportar la presencia o ausencia por cada 25 gramos de muestra (Grados, 2018).

2.2.9. Seguridad alimentaria

La seguridad alimentaria implica contar con alimentos inocuos, seguros y nutritivos para llevar una vida saludable. Sin embargo, la venta ambulante de alimentos sigue siendo una preocupación en este aspecto, ya que puede representar un riesgo al ser una posible fuente de microorganismos u otros agentes patógenos que pueden contaminar los alimentos y hacer que no sean seguros para consumirlos (Troncoso et al, 2022). Los riesgos para la salud relacionados con los alimentos pueden surgir de fuentes biológicas y químicas que se encuentran en el medio ambiente o son producto de actividades humanas a lo largo del proceso de producción, distribución y consumo de alimentos. La contaminación alimentaria puede ocasionar una variedad de problemas de salud, desde molestias digestivas hasta enfermedades más serias como el cáncer, teniendo un impacto considerable en el bienestar de la población, inclusive puede poner en riesgo la vida. Los sistemas globales de seguridad alimentaria y la cadena de suministro enfrentan desafíos constantes debido a nuevos riesgos asociados con la contaminación microbiana (Chen et al, 2023).

2.2.10. Enfermedades transmitidas por alimentos

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) son aquellas que se producen por la presencia de agentes biológicos, químicos o físicos que ingresan al organismo a través del consumo de alimentos o agua contaminada.

Estas enfermedades representan una preocupación importante para el régimen sanitario. Por tanto, es crucial que se adopten prácticas adecuadas en la higiene y sanitización de alimentos para mitigar el riesgo de contraer una ETA (Bosoer et al, 2019, pag 177).

Según la (OPS, 2020) una ETA se define como un incidente en el que dos o más personas desarrollan una enfermedad similar después de consumir un mismo alimento, y los análisis epidemiológicos indican que el alimento es la causa de la enfermedad.

2.2.11. Parámetros para la identificación de una ETA

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), para que se produzca una ETA, es indispensable que el patógeno o sus toxinas estén presentes en el alimento. Sin embargo, la presencia del patógeno no garantiza que la enfermedad se manifieste. En la mayoría de los casos de ETA, se requieren las siguientes condiciones:

- El patógeno presente debe estar cuantitativamente suficiente para causar una infección o para producir toxinas.
- El alimento debe favorecer el crecimiento de los patógenos, es decir, debe tener características intrínsecas que faciliten el desarrollo del agente.
- El alimento debe estar en condiciones intrínsecas y extrínsecas favorables para el crecimiento del microorganismo patógeno y que este pueda producir sus toxinas.
- Se debe ingerir una cantidad considerable del alimento que contenga el agente patógeno para superar la barrera de susceptibilidad del individuo (OPS, 2020).

2.2.12. Características de las enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son causadas por consumir alimentos o agua contaminados con microorganismos en cantidades que pueden enfermar a las personas. Los síntomas comunes de la ETA incluyen malestar estomacal, náuseas, vómitos, diarrea y fiebre. En casos graves, las ETA pueden provocar sepsis, una infección grave de la sangre. Estas enfermedades suelen ser autolimitadas y suelen resolverse en cortos periodos incluso sin la necesidad de un tratamiento farmacológico (Sánchez, 2017).

2.2.13. Principales enfermedades causadas por alimentos

- **Salmonelosis:** Es una enfermedad bacteriana causada por varias cepas de *Salmonella spp.* que se transmite principalmente por el consumo de alimentos o agua contaminados por alguna fuente fecal. Los alimentos mal preparados y almacenados inadecuadamente como: los productos cárnicos, huevos y leche, son los principales vehículos de transmisión. Se manifiesta con síntomas como: fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos, que aparecen dentro de las 12 a 72 horas posteriores a la exposición. Serotipos más virulentos como *Salmonella typhi* pueden prologar la infección y provocar complicaciones más graves como la septicemia (Silva et al, 2018).
- **Intoxicación estafilocócica:** Es causada por la ingestión de alimentos contaminados con enterotoxinas estafilocócicas preformadas. Los manipuladores de alimentos son considerados como la principal fuente de contaminación, ya sea por contacto manual o secreciones respiratorias.

La enfermedad suele ser autolimitada acompañada de náuseas, vómitos, calambres abdominales con o sin diarrea que normalmente se resuelve dentro de 24 horas posteriores a la intoxicación y cuando la situación es más grave especialmente cuando se trata de bebés, ancianos o personas debilitadas causa cambios transitorios en la presión arterial y frecuencia cardíaca (García, 2022)

- **Gastroenteritis:** Es una de las enfermedades prevalentes de la infancia, definida como una inflamación de la mucosa gástrica e intestinal producida en la mayor parte por enterobacterias especialmente *Escherichia coli* y transmitida por los alimentos, agua y superficies contaminadas. Generalmente se manifiesta como diarrea aguda y puede venir acompañada con vómitos, fiebre y dolor abdominal. Es autolimitada y se resuelve en un plazo de 10 días (Jaramillo et al., 2019).

2.2.14. Microorganismos indicadores de calidad sanitaria

En base a algunos estudios realizados por la OMS, las bacterias son los principales causantes de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Los agentes infecciosos más comunes asociados con estas enfermedades incluyen *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Estos patógenos pueden causar enfermedades graves que podrían llegar a ser mortales inclusive síntomas leves como náuseas y diarrea (Fernandez, 2023).

- ***Salmonella spp:***

Es una bacteria Gram negativa, no esporulada y móvil, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y la tribu *Salmonellae*. Este género reúne a más de 2500 serotipos diferentes, los cuales se clasifican según sus antígenos flagelares H y antígenos somáticos O (Soto et al., 2015). Las infecciones causadas por este microorganismo tienen un impacto significativo en la salud pública, siendo la gastroenteritis y la fiebre tifoidea las enfermedades más comunes. Estas enfermedades se distribuyen de manera global y afectan a diversas poblaciones (Soto et al., 2015).

Por otro lado, la *Salmonella* no tifoidea es la principal responsable de la gastroenteritis transmitida por alimentos. Los alimentos asociados con este patógeno son: carne de pollo, carne de cerdo, carne cruda de otros animales y huevos (Soto et al., 2015).

- ***Escherichia coli:***

Es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa, tiene movilidad gracias a sus flagelos peritricos y habita en el intestino de animales de sangre caliente.

Se utiliza como indicador de posible contaminación fecal, dado que se encuentra abundantemente en las heces de humanos y animales. Aunque en el tracto gastrointestinal puede ser inocua, algunas cepas de *E. coli* se vinculan con el desencadenamiento de diarrea y otras enfermedades extraintestinales en humanos (Soto et al., 2015).

- ***Listeria monocytogenes:***

Es Gram positiva, tiene la capacidad de ser patógena dentro de las células, pero no forma esporas. Esta bacteria puede habitar en ambientes con pH bajo (hasta 4.4) y en elevadas concentraciones de sal (hasta 14%). Además, puede desarrollarse a bajas temperaturas, lo que la convierte en un riesgo en alimentos refrigerados. Se encuentra en una variedad de alimentos frescos o procesados, pueden ser de origen vegetal como animal, incluyendo hortalizas, leche, quesos, carnes de vaca, cerdo, aves, embutidos ahumados/fermentados, mariscos crudos y pescado ahumado (Campuzano et al., 2015).

Asimismo, existen 11 serotipos de *Listeria monocytogenes* que difieren por sus antígenos O y H, siendo los serotipos **Ia, Ib y Ivb** los más prevalentes en infecciones humanas. La clínica más frecuente por infección incluye: encefalitis, endocarditis, neumonía, endoftalmitis, artritis séptica, colecistitis y peritonitis (Campuzano et al., 2015).

- ***Staphylococcus aureus:***

es una bacteria que se puede encontrar en suelo y aire, puede causar serios problemas si llega a contaminar alimentos, especialmente cuando estos alimentos, no se mantienen adecuadamente refrigerados. Este microorganismo puede producir toxinas. Los episodios de intoxicación alimentaria suelen ocurrir dentro de las primeras horas después de comer los alimentos contaminados (Taípe, 2019).

2.2.15. Técnicas microbiológicas para la cuantificación e identificación de microorganismos

Para la detección e identificación de patógenos alimentarios se emplean diversas técnicas donde se evalúa la presencia o ausencia del microorganismo o sus toxinas. Se realiza mediante métodos tradicionales que implican el cultivo en medios de enriquecimiento específicos y selectivos para los microorganismos patógenos de interés, seguido de pruebas bioquímicas, inclusive en algunos casos la confirmación serológica de los resultados (Balboa, 2022).

Estas técnicas permiten evaluar cualitativa y cuantitativamente los microorganismos. En el caso de técnicas cuantitativas, se pueden realizar cultivos que involucren la enumeración de microorganismos, se aplican recuentos en placa o la técnica del número más probable, que implica diluciones de la muestra.

Además, la detección e identificación de patógenos alimentarios puede llevarse a cabo mediante métodos moleculares, que han experimentado avances significativos en la ciencia genética, estas técnicas ofrecen una mayor rapidez, sensibilidad y especificidad (Balboa, 2022).

2.2.16. Medios de cultivo

Según lo establecido en la norma NTE-INEN 1529-1, se define a un medio de cultivo como una sustancia nutritiva, sea sólida o líquida, que se emplea en el laboratorio para favorecer el crecimiento de microorganismos, puede ser modificado con la adición de sustancias enriquecedoras, selectivas, indicadoras y tamponantes (INEN 1529-1, 2013).

2.2.17. Tipos de medios de cultivo

- ***Medio diferencial:*** se presenta en forma sólida y contiene sustancias indicadoras. En este medio ciertas especies bacterianas forman colonias que exhiben características físicas distintivas.
- ***Medio de enriquecimiento:*** es no selectivo que carece de sustancias selectivas e indicadoras, permite el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos.

- **Medio de enriquecimiento selectivo:** es líquido y se le añaden una o más sustancias selectivas que inhiben el desarrollo de ciertas especies bacterianas que no son deseadas. Este tipo de medio puede o no contener sustancias indicadoras.
- **Medios para identificación bioquímica:** son aquellos que incluyen sustancias que permiten la identificación metabólica de un sustrato específico por parte del microorganismo.
- **Medio selectivo diferencial:** es sólido, contiene sustancias selectivas e indicadoras, limita el desarrollo de ciertas especies bacterianas mientras permite el crecimiento de las de interés, las cuales forman colonias con características distintivas (Estrada, 2020).

2.2.18. Técnicas de siembra en microbiología

Sembrar o inocular es introducir una pequeña cantidad de muestra en un medio adecuado para iniciar el crecimiento y multiplicación de microorganismos, se realiza según diferentes técnicas, dependiendo del tipo de medio y los requisitos del microorganismo en estudio (Santambrosio, 2009). Existen varios métodos de siembra dependiendo del medio utilizado y los requisitos del microorganismo bajo estudio:

- **Siembra por inmersión:** el inóculo se coloca en una caja de Petri sobre la cual se vierte el medio de cultivo esterilizado. Esta técnica es ideal para microorganismos aerobios.
- **Siembra en doble capa:** es similar a la siembra por inmersión, la diferencia radica en que después de solidificar el medio de cultivo inicial, se añade una capa adicional de medio para cubrirlo. Esta técnica se utiliza para microorganismos anaerobios facultativos y microaerofílicos.
- **Siembra en superficie:** el medio de cultivo estéril se vierte en una caja Petri, se deja solidificar y luego se coloca el inóculo sobre su superficie. Se utiliza el asa de Drigalsky, para extender el inóculo hasta que sea absorbido completamente por el medio.
- **Siembra en estría:** en esta técnica se coloca el medio de cultivo estéril en una caja Petri y se deja solidificar.

Existen varias formas de hacerlo, el objetivo es obtener colonias separadas y claramente visibles:

- **Técnica A:** En primer lugar, se toma una pequeña cantidad de muestra con un asa y se la extiende en forma de estrías paralelas en una cuarta parte de la placa. Posteriormente, se quema el asa para esterilizarla, se la deja enfriar y se gira la placa 90^0 para hacer más estrías, tocando varias veces el área inicialmente sembrada y cubriendo otra parte de la placa. Finalmente, sin quemar el asa de nuevo, se completa el resto de la superficie de la placa con estrías.
- **Técnica B:** Implica hacer varias estrías con el asa que se unto previamente de inóculo, después se quema el asa para esterilizarla, se realizan más estrías perpendiculares a las anteriores, finalmente, se quema de nuevo el asa y se repite el proceso hasta cubrir toda la superficie de la placa (Santambrosio, 2009).

2.2.19. Técnica de cuantificación por el método de Recuento en Placa.

El propósito de este método es cuantificar las bacterias que hay en total en un medio de cultivo. Es importante que el número de colonias que aparezcan en las placas no sea demasiado bajo ni alto. Si el número de colonias es elevado estas podrían fusionarse, esto conllevaría a estimaciones incorrectas.

Por otro lado, si el número es demasiado bajo, el cálculo no será estadísticamente significativo. Por ello, se sugiere que el número de colonias disponga entre 20 y 200 para bacterias, y entre 25 y 100 para hongos. Se utilizan diluciones de la muestra en varias etapas para asegurarse que cumpla con este rango (Ramírez et al., 2017)

2.2.20. Técnica de cuantificación por el método del Número más Probable

El número más probable (NMP) o método de los tubos múltiples es una técnica microbiológica utilizada para estimar el número de células viables de un microorganismo en una muestra de alimentos o agua. Se utiliza cuando las muestras contienen escasas bacterias como para proporcionar un número fiable de células viables mediante el clásico recuento en placa. Se introducen réplicas de caldo líquido en tubos, se inoculan con diferentes cantidades de la muestra y se controla el crecimiento bacteriano.

El crecimiento de microorganismos se indica mediante un cambio de color, enturbiándose el tubo o produciendo gas durante la incubación. El número de microorganismos viables en la muestra original se estima según una tabla NMP, basada en probabilidades estadísticas (Integra Biociencias, 2020).

2.2.21. Tinción Gram

La tinción de Gram es una técnica usada en microbiología para distinguir entre diferentes tipos de bacterias según sus características de coloración, forma, agrupación y estructura de la pared celular. Utiliza el cristal violeta como colorante primario, lugol como mordiente para fijar el cristal violeta en la pared celular, una mezcla de alcohol-acetona para deshidratar la pared celular y cerrar sus poros. Finalmente, la tinción se completa con la adición de fucsina como colorante secundario, que tiñe las bacterias que no retuvieron el complejo cristal violeta-yodo (Corrales & Caycedo, 2020).

Las bacterias Gram positivas retienen el complejo cristal violeta-yodo debido a que su pared celular contiene en mayor cantidad péptidoglicano, por lo que terminan tiñéndose de color violeta o púrpura. Sin embargo, las bacterias Gram negativas no retienen el complejo cristal violeta-yodo debido a su menor cantidad de péptidoglicano y a la solubilidad de su membrana externa ante solventes orgánicos, por lo que, tras la tinción, aparecen de color rosado o rojo, debido a la coloración ocasionada por el colorante secundario fucsina (Corrales & Caycedo, 2020).

2.2.22. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias

- **Prueba de la catalasa:** La catalasa neutraliza el peróxido de hidrógeno generado por las bacterias, lo que resulta en la formación de burbujas, indicando un resultado positivo. Las bacterias aerobias y anaerobias facultativas son las principales productoras de esta enzima. Para realizar la prueba, se mezcla una colonia bacteriana con peróxido de hidrógeno al 3% en un portaobjetos o tubo de ensayo, posteriormente, se observa la formación de burbujas en un lapso de 10 segundos (Shaker & Aziz, 2021).
- **Prueba de coagulasa:** Se utiliza para detectar microorganismos capaces de producir la enzima coagulasa. Es útil en la identificación de *Staphylococcus aureus*, ya que es una bacteria que resulta positiva en esta prueba junto con la prueba de catalasa. La coagulasa es un factor de virulencia importante de *S. aureus* porque durante la reacción esta enzima coagula el plasma sanguíneo. La prueba consiste en combinar plasma sanguíneo con una colonia bacteriana y colocar la mezcla a incubación en baño maría por 4 horas a 37°C, si la bacteria en estudio produce coagulasa, se observará la coagulación del plasma sanguíneo, indicando una reacción positiva (Shaker & Aziz, 2021).
- **Prueba del indol:** Útil para identificar bacterias capaces de producir la enzima triptófana, la cual convierte el aminoácido triptófano en gas indol. Para detectar este gas, se utilizan varios reactivos como el reactivo de Ehrlich o el reactivo de Kovács.

Estos reactivos contienen indicadores que reaccionan con el gas indol, formando un colorante rojo llamado rosindol, indicando un resultado positivo a esta coloración (Shaker & Aziz, 2021).

- **Prueba de ureasa:** Se emplea para detectar la presencia de bacterias capaces de producir la enzima ureasa. La ureasa es responsable de la descomposición de la urea en amoníaco (NH_3) y dióxido de carbono (CO_2). El amoníaco generado durante esta reacción incrementa el pH del medio, volviéndolo alcalino. Cuando el pH alcanza aproximadamente 8.1, se produce un cambio de color en el medio, se vuelve rosado indicando un resultado positivo para la prueba (Shaker & Aziz, 2021).
- **El Agar Hierro de Kligler (KIA):** Es un medio de cultivo utilizado para diferenciar bacterias entéricas según su capacidad para fermentar glucosa y lactosa, además, se puede detectar la producción de sulfuro de hidrógeno (H_2S). En el KIA, la fermentación de la glucosa y lactosa se evidencia por un cambio de color en el medio de rojo a amarillo, mientras que la producción de gas y H_2S provocan fisuras en el agar y un precipitado negro, respectivamente (Shaker & Aziz, 2021).
- **Agar Citrato Simmons:** este medio se emplea para determinar la capacidad de un organismo para utilizar citrato como su única fuente de carbono. Comúnmente se utiliza para distinguir entre diferentes miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. En organismos capaces de utilizar citrato, la enzima citrasa hidroliza el citrato en ácido oxaloacético y ácido acético, posteriormente, el ácido oxaloacético se descompone en ácido pirúvico y CO_2 . El CO_2 reacciona con los componentes del medio para producir un compuesto alcalino, como Na_2CO_3 , lo que aumenta el pH del medio y cambia el color del indicador de pH (azul de bromotimol) de verde a azul. Este cambio de color indica un resultado positivo para la utilización de citrato (Shaker & Aziz, 2021).

2.2.23. Pruebas API

Los sistemas API, representan una forma rápida y sencilla para la identificación de microorganismos a través de pruebas bioquímicas específicas. Estos sistemas constan de una galería plástica que contiene múltiples micropocillos con medios de cultivo deshidratados o sustratos enzimáticos necesarios para las pruebas requeridas. Entre las pruebas que se pueden realizar están: la fermentación de carbohidratos, producción de ácido sulfhídrico, e hidrólisis del medio (Guamán, 2020).

El tipo de pruebas bioquímicas difieren en relación a los microorganismos a identificar, por ejemplo, para la identificación de bacilos gramnegativos se utiliza el sistema API 20E y para identificar los cocos grampositivos se utiliza el sistema API STAHP (Guamán, 2020).

Los micropocillos deben ser llenados por completo con una suspensión bacteriana y en algunos casos se requiere la adición de parafina líquida para crear condiciones anaeróbicas. Los resultados se colocan en una planilla a partir de las reacciones bioquímicas generadas que se manifiestan en los cambios de coloración desarrollados en las galerías, las sumas de las pruebas positivas se convierten en un código de 7 dígitos denominado perfil numérico, el cual al ser ingresado en las bases de datos API determinará el nombre del microorganismo (Guamán, 2020).

2.2.24. Pruebas PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que permite obtener in vitro un gran número de copias de fragmentos de ADN, basándose en el principio de replicación propio de la célula durante la división celular (Llangarí, 2021). La técnica permite sintetizar muchas veces los fragmentos de ADN permitiendo que la identificación de bacterias, virus y parásitos sea más fácil y con una alta especificidad (Sánchez, 2020).

Esta técnica aplica un ciclo de tres etapas, inicia con la desnaturalización del ADN presente en la muestra aplicando temperaturas superiores a 90 °C, luego se da la unión específica de los cebadores a las cadenas sencillas mediante la complementación de bases, finalmente la cadena de ADN se extiende con ayuda de la ADN polimerasa generando una copia al final de cada ciclo (Díaz & Silva, 2021).

2.2.25. Antibiograma por el método de Kirby-Bauer

El antibiograma es una prueba que evalúa la susceptibilidad o resistencia de los microorganismos ante algunas variedades de compuestos antimicrobianos. La técnica que más se utiliza es la de difusión en disco también conocida de Kirby-Bauer. Los resultados de este estudio proporcionan al médico información importante para seleccionar las opciones de tratamiento más adecuadas para sus pacientes. Para la realización de esta prueba se utiliza al organismo patógeno, se lo cultiva en agar **Mueller-Hinton** junto a discos de papel de filtro impregnados con diferentes antimicrobianos. La presencia o ausencia de crecimiento alrededor de los discos sirve como indicativo indirecto de la capacidad de ese compuesto para inhibir el crecimiento de dicho organismo (Hudzicki, 2009).

2.2.26. Resistencia Bacteriana

La resistencia antimicrobiana es la capacidad que tiene un microorganismo de resistir los efectos de los antibióticos, puede ser una característica natural o desarrollarse en el transcurso de una infección (Giono et al., 2020).

La resistencia a múltiples fármacos en bacterias Gram positivas y Gram negativas ha generado desafíos en el tratamiento de infecciones, dificultando el manejo de estas enfermedades con antimicrobianos tradicionales. La detección tardía de los microorganismos responsables y sus patrones de susceptibilidad en pacientes con bacteriemia y otras infecciones graves ha llevado a un uso excesivo e innecesario de antibióticos de amplio espectro en muchos entornos sanitarios (Frieri et al., 2016).

2.2.27. Tipos de resistencia

- **Resistencia natural:** Se refiere a la capacidad innata de las bacterias para resistir a ciertos medicamentos, incluso sin haber sido expuestas con anterioridad a ellos. Esta forma de resistencia puede considerarse como parte del proceso evolutivo y adaptativo de las bacterias, permitiéndoles sobrevivir en una variedad de entornos (García, 2021).

Por otro lado, las bacterias también pueden adquirir resistencia a los antibióticos a través de procesos como la mutación genética o la transferencia horizontal de genes.

- **Resistencia adquirida:** Ocurre cuando las bacterias en un inicio eran susceptibles a un antibiótico, pero desarrollan mecanismos para contrarrestar o neutralizar sus efectos. Este tipo de resistencia puede surgir como resultado de la exposición repetida a antibióticos, también puede deberse a la adquisición de genes de resistencia de otras bacterias (García, 2021).

2.2.28. Mecanismos de resistencia

(Lirola et al., 2022) afirma que la resistencia bacteriana puede surgir a través de diversos mecanismos, entre los principales se encuentran:

- **Alteraciones en el lugar de acción:** Implica cambios en el sitio de unión del antibiótico, ya sea mediante la alteración de sus precursores, directamente sobre el enzima objetivo, o mediante la protección de los sitios de unión.
- **Disminución de la permeabilidad:** Ocurre en las porinas que son la principal vía de entrada para los antibióticos hidrofílicos. Existen mutaciones que afectan la pérdida, modificación o reducción en la expresión de porinas en las bacterias, lo que resulta en una mayor resistencia a los antibióticos que necesitan ingresar al interior celular para ejercer su acción antibacteriana.

- **Bomba de expulsión:** Las bacterias poseen sistemas de bombeo dependientes de energía, como el ATP o la fuerza protón motriz, presentes en su membrana citoplasmática. Estos sistemas suelen utilizarse para eliminar moléculas tóxicas derivadas del metabolismo celular. Sin embargo, algunas bacterias pueden emplear estas bombas para expulsar los antibióticos desde interior de la célula.
- **Inactivación o modificación enzimática:** Este mecanismo involucra la acción de enzimas bacterianas que agregan grupos fosfato, acetilo o adenilo en sitios específicos del antibiótico, modificándolo químicamente e inactivándolo. Esto evita que el antibiótico se una a su objetivo y ejerza su función antibacteriana.

2.2.29. Resistencia a los antimicrobiano en los alimentos

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 2020) los alimentos pueden servir como vehículos de exposición a bacterias resistentes a los antibióticos. Si bien los antimicrobianos son importantes para mantener el bienestar animal y el cuidado de cultivos agrícolas, el uso desmedido de estos, puede provocar la aparición de cepas bacterianas resistentes que se transmiten a través de la cadena alimentaria ocasionando graves problemas de salud e incluso infecciones incontrolables en las cuales los medicamentos de primera elección no son efectivos.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque de Investigación

El enfoque de este estudio es cuantitativo, se utilizó un número limitado de muestras y mediante cultivos microbiológicos se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC/g) presentes en las muestras para evaluar si cumplen o no con los valores permitidos según la norma INEN 2295 Mayonesa Requisitos.

3.2. Nivel de investigación

El nivel de la investigación se centra en un análisis descriptivo y analítico, que permite recolectar datos cuantificables para describir las características y propiedades de los parámetros microbiológicos bajo estudio.

3.3. Diseño de investigación

3.3.1. Según la manipulación o no de la variable independiente

Esta investigación adopta un enfoque no experimental, no hay manipulación intencional de variables para llevar a cabo el estudio. En su lugar, solo se observó el desarrollo de diversos parámetros microbiológicos en condiciones adecuadas.

3.3.2. Según las intervenciones en el trabajo de campo

El estudio es longitudinal, ya que se recolectó 10 muestras por duplicado, las cuales facilitaron la realización del análisis microbiológico previsto.

3.4. Tipo de estudio

Es un estudio de campo, dado que implica la recolección de muestras en el entorno, las cuales fueron analizadas en el laboratorio de Análisis Microbiológicos de la ESPOCH utilizando los métodos microbiológicos adecuados.

3.5. Población y Planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra

3.5.1. Población y planificación

La población de estudio estuvo conformada por los puestos de comida rápida ambulatorios donde se expende mayonesa, como aderezo para este tipo de comida, que se encuentran en los alrededores de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en Riobamba.

Se analizaron 10 muestras por duplicado con el fin de determinar parámetros microbiológicos, basados en la norma NTE INEN 2 295:2010 para mayonesas, los mismos que se especifican en la Tabla 1-2 de requisitos microbiológicos en la sección de marco teórico.

3.5.2. Muestra

Se tomó muestras por conveniencia de 10 puestos de comida rápida ambulatorios ubicados en las calles de ingreso a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

3.5.3. Criterios de inclusión

Puestos de comida rápida ambulatorios que utilicen la mayonesa como aderezo para las comidas rápidas.

3.5.4. Criterios de exclusión

Puestos en los cuales, la mayonesa se expenda en conjunto (mezclado) con el producto.

3.6. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

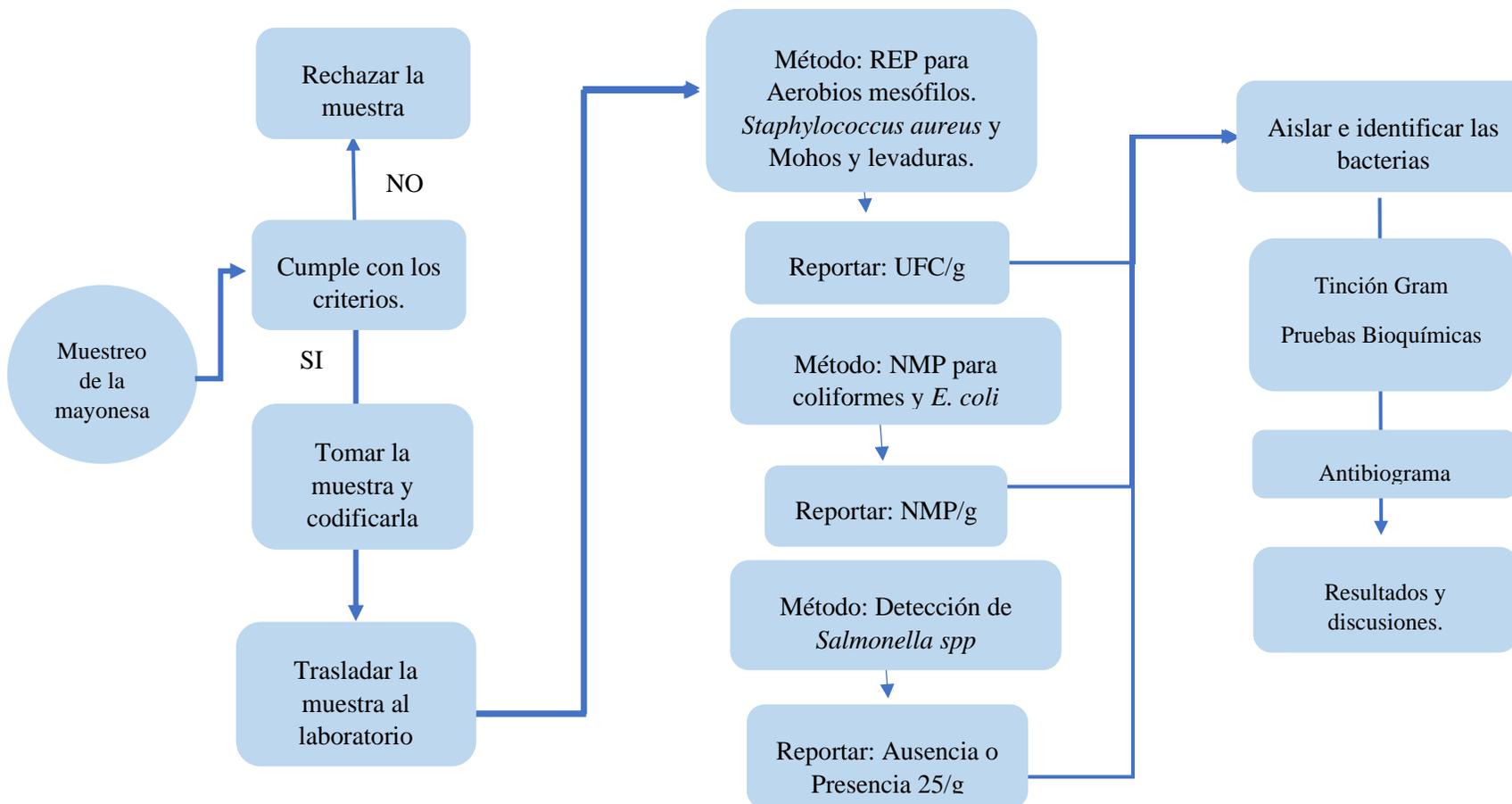
La recolección de muestras se efectuó mediante la técnica estipulada en la norma NTE INEN 1529-2 y el estudio se llevará a cabo siguiendo un procedimiento de 3 etapas, descrito a continuación.

Tabla 3- 1: Esquema del procedimiento general para la realización del estudio.

ETAPA 1: Levantamiento de la información.

ETAPA 2: Desarrollo de la información.

ETAPA 3: Análisis de resultados.



Realizado por: Lema H., 2023.

3.6.1. Equipos, materiales y Reactivos

Tabla 3- 2: Listado de materiales equipos y reactivos utilizados en la realización del presente estudio

Materiales	Reactivos	Equipos
Matraz Erlenmeyer de 100, 250 y 500 mL	Cristal Violeta	Autoclave
Probeta de 100 mL	Lugol	Cámara de flujo laminar
Tubos de ensayo Pyrex	Alcohol-cetona	Incubadora microbiológica
Gradillas	Safranina	Reverbero
Frascos de vidrio tapa rosca de 300 ml	Alcohol al 96%	Baño maría
Micropipetas de 1000 uL y 100 uL	Agua Oxigenada	Balanza analítica
Cajas Petri de vidrio	Agua de Peptona	
Puntas azules y amarillas para micropipetas	Agares: EMB, PCA, Baird-Parker, SS agar.	
Jeringas de 10 mL	Medios: TSI, CITRATO, UREA y SIM	
Asas microbiológicas		
Lámparas de alcohol		

Realizado por: Lema H., 2023.

3.6.2. Metodología

La determinación de microorganismos indicadores de calidad en la mayonesa se realizó siguiendo la norma ecuatoriana NTE INEN 2295 Mayonesas. Requisitos. Se utilizó los métodos de recuento en placa (REP) y del número más probable (NMP). Además, de técnicas de siembra en superficie y por agotamiento.

La preparación de las muestras previo al análisis microbiológico, la preparación de las diluciones, los medios de cultivo y reactivos se detallan a continuación en las ilustraciones.

- **Procedimiento previo al análisis microbiológico de la mayonesa.**

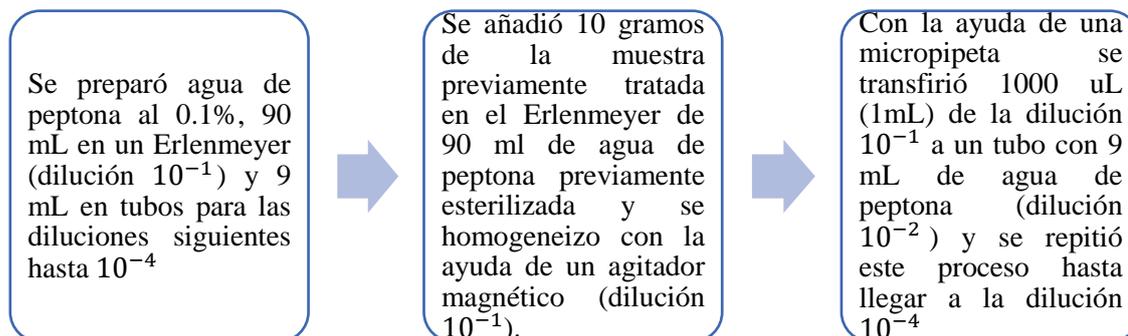


Ilustración 3- 1: Preparación del agua de peptona al 0,1% y las respectivas diluciones.

Fuente: Norma INEN 1529-1

Realizado por: Lema H., 2023

- **Determinación de Aerobios Mesófilos, *Staphylococcus aureus*, Mohos y Levaduras.**

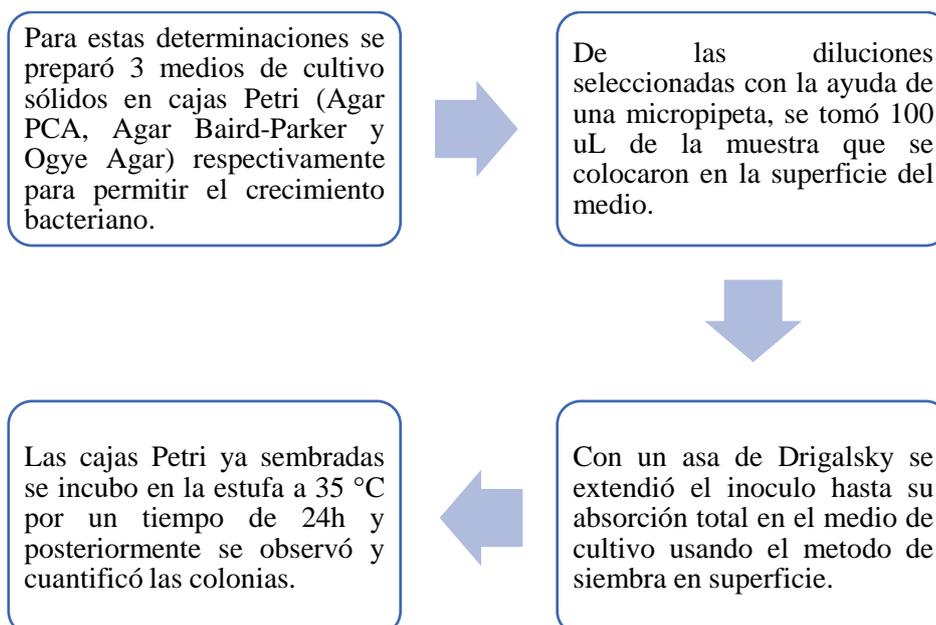


Ilustración 3- 2: Procedimiento para la determinación de Aerobios Mesófilos, *Staphylococcus aureus* y Mohos y Levaduras.

Fuente: Norma INEN 1529-1.

Realizado por: Lema H., 2023.

- **Procedimiento para la determinación de Coliformes y *E. coli*.**

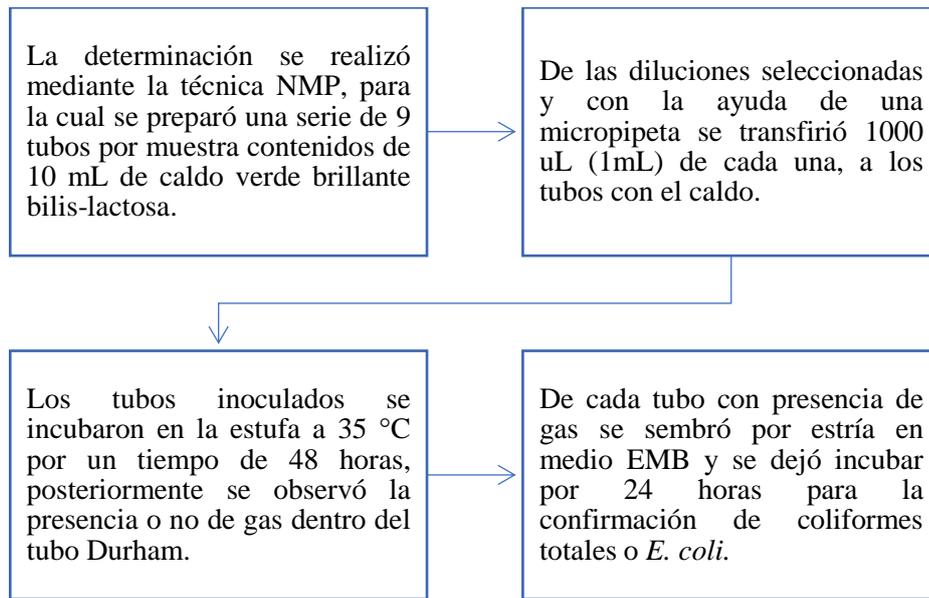


Ilustración 3- 3: Descripción del procedimiento para la determinación de coliformes y *E. coli*.

Fuente: Norma INEN 1529-6.

Realizado por: Lema H., 2023.

- **Procedimiento para la determinación de *Salmonella spp.***

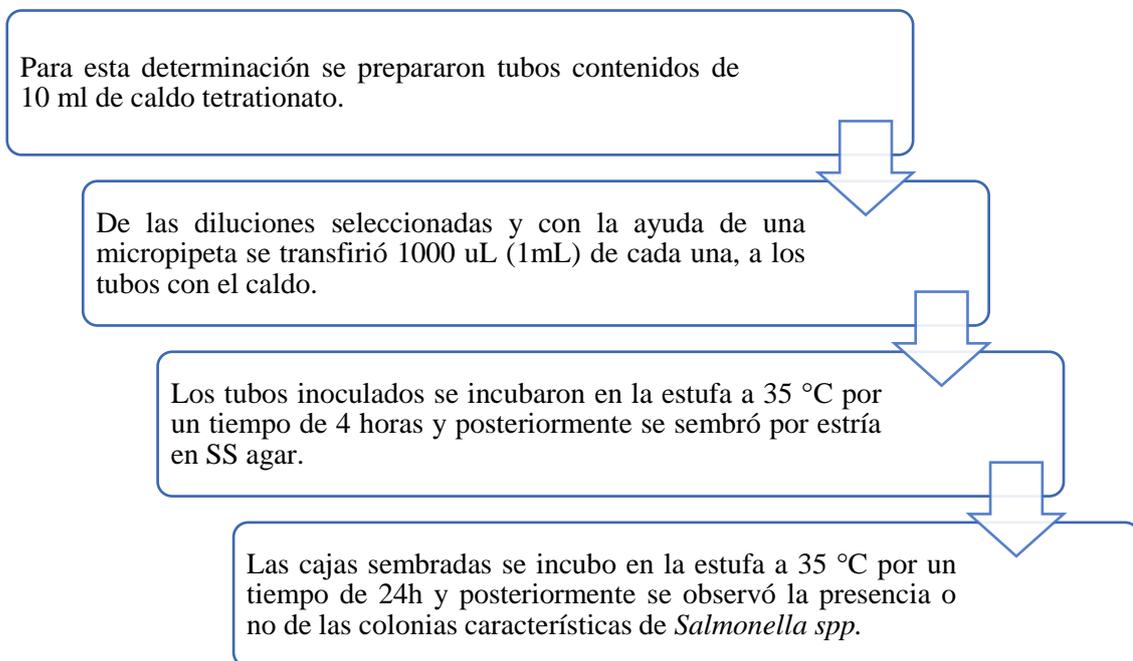


Ilustración 3- 4: Descripción del procedimiento para la determinación de *Salmonella spp.*

Fuente: Norma INEN 1529-15.

Realizado por: Lema H., 2023.

- **Aislamiento de colonias bacterianas.**

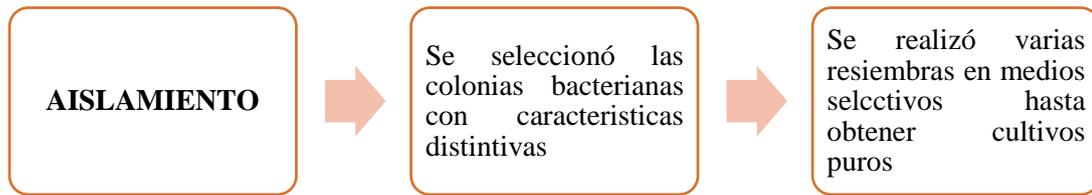


Ilustración 3- 5: Procedimiento para el aislamiento de colonias bacterianas.

Fuente: Corrales & Caycedo, 2020.

Realizado por: Lema H., 2023.

- **Tinción Gram.**

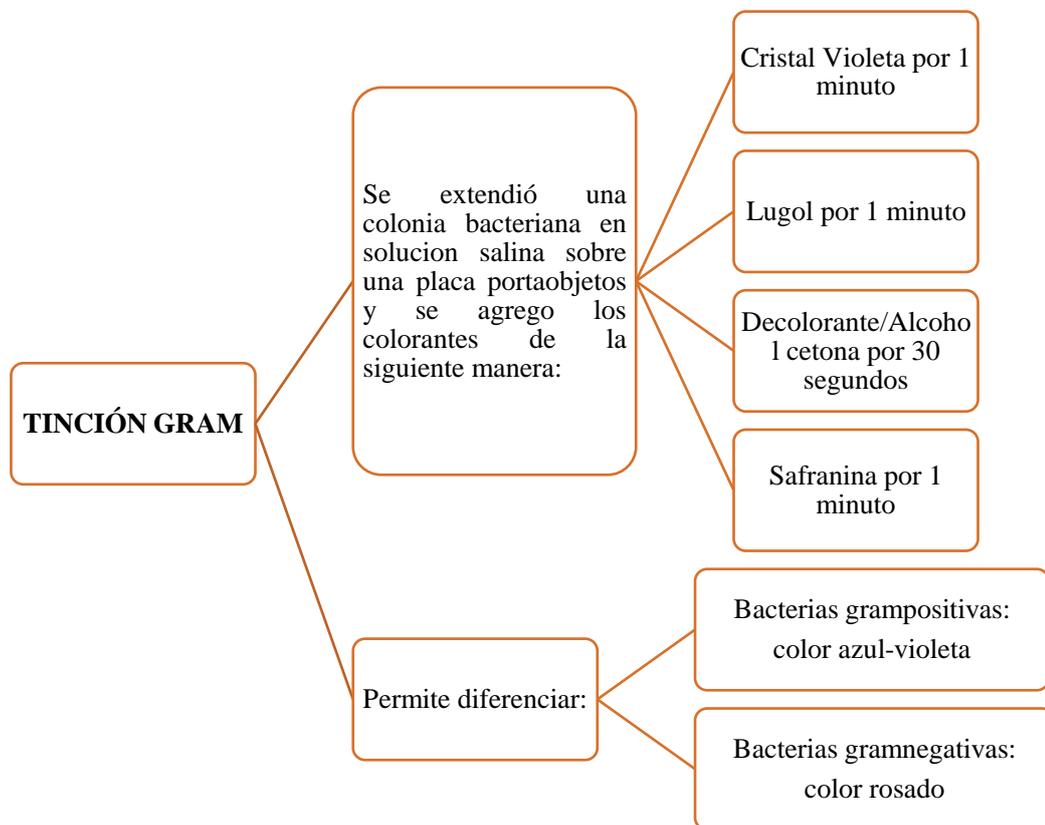


Ilustración 3- 6: Procedimiento para realizar la Tinción Gram.

Fuente: Corrales & Caycedo, 2020.

Realizado por: Lema H., 2023

• **Procedimiento para el Aislamiento e Identificación de Bacterias.**

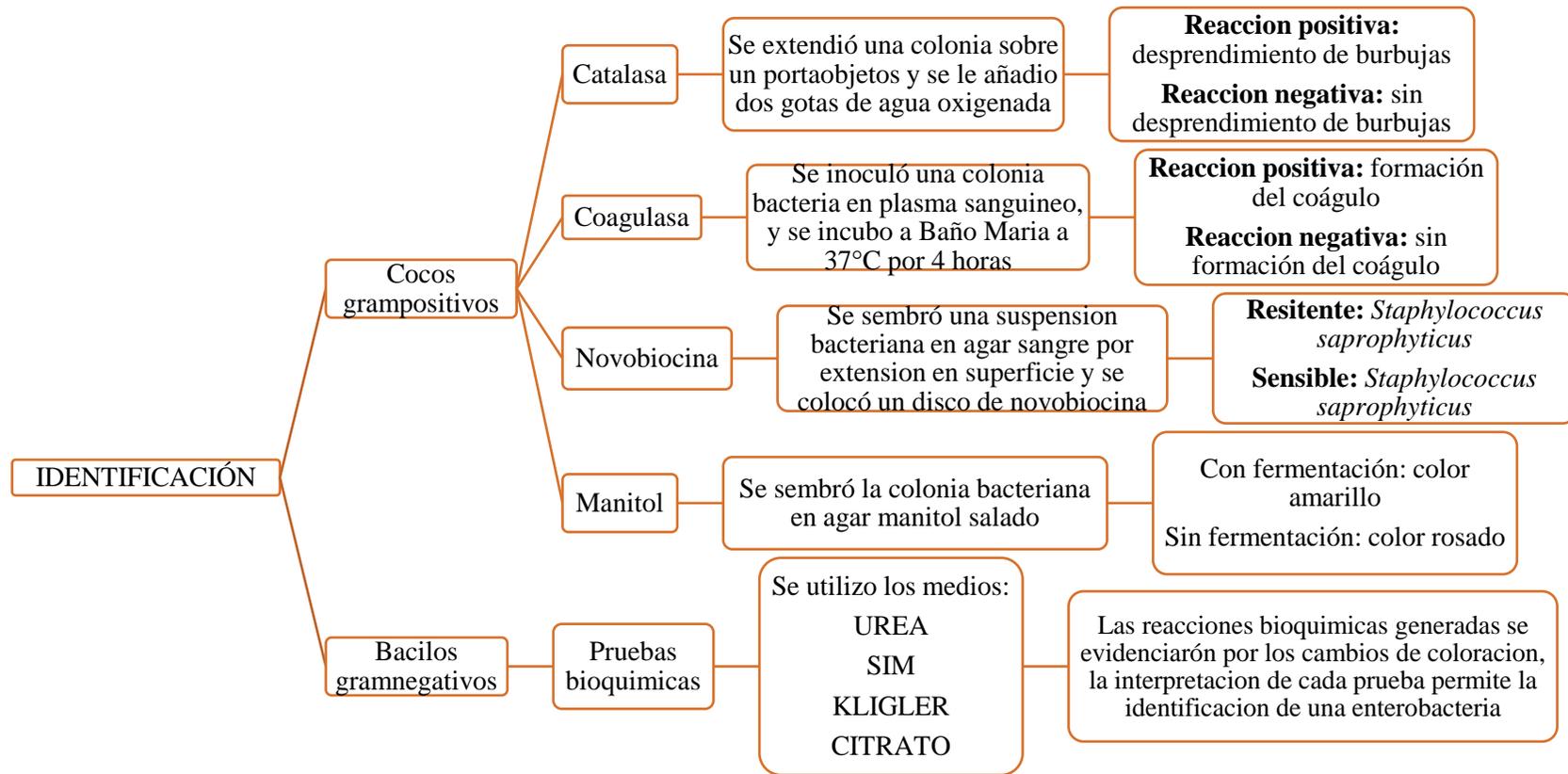


Ilustración 3- 7: Procedimiento para la identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas.

Fuente: Corrales & Caycedo, 2020.

Realizado por: Lema H., 2023.

- **Inoculación en Pruebas API.**

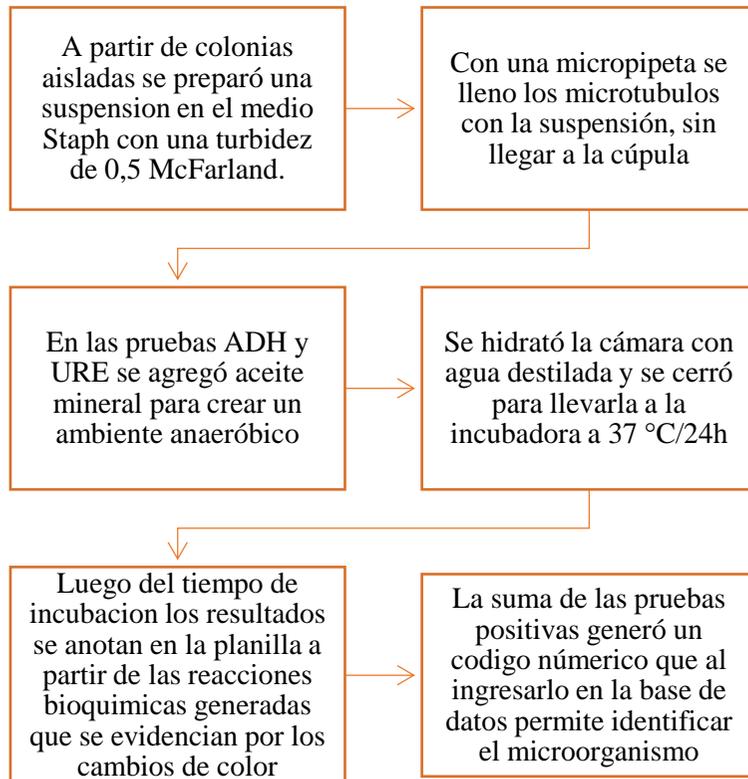


Ilustración 3-8: Procedimiento para la realización de pruebas API.

Fuente: (API STAPH, BIOMERIEUX, 2021).

Realizado por: Lema H., 2023.

- **Antibiograma.**

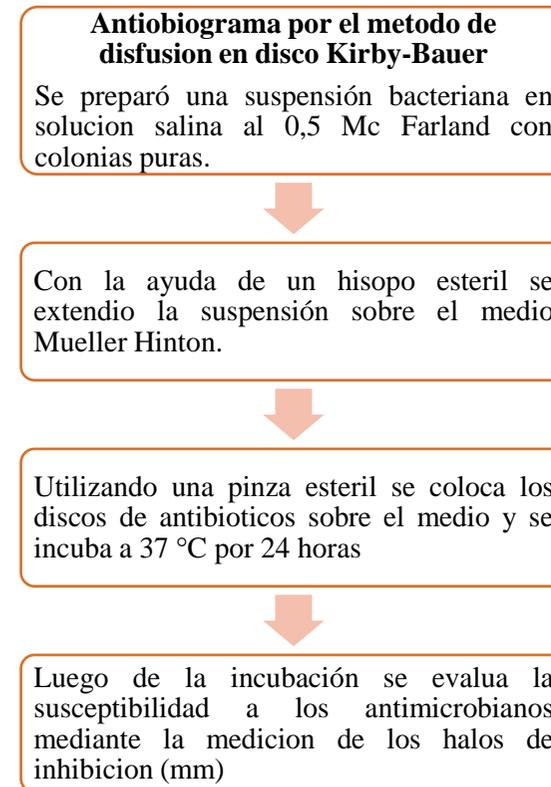


Ilustración 3-9. Procedimiento para la realización del Antibiograma

Fuente: (Hudzicki, 2009).

Realizado por: Lema H., 2023.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Cuantificación de microorganismos indicadores de Calidad Sanitaria

Para la cuantificación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria y el reporte de resultados, se requiere realizar el cálculo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de las diferentes bacterias que se determinaron, esto permitirá definir si las muestras de mayonesa que se analizaron se encuentran dentro del rango aceptable por la normativa INEN 2295 Mayonesa. Requisitos.

$$N = \frac{\sum C}{v(n_1 + 0,1 * n_2)d}$$

Donde:

Σc = suma de las colonias contadas en las placas seleccionadas

v = volumen inoculado en cada caja Petri

n_1 = número de placas de la primera dilución seleccionada

n_2 = número de placas de la segunda dilución seleccionada

d = factor de dilucion de la primera dilución seleccionada

Ilustración 5-4. Formula general para el cálculo de UFC

Fuente: Norma INEN 1529-2

Realizado por: Lema H., 2023

Tabla 4- 1: Recuentos de aerobios mesófilos en muestras de mayonesa en los puestos de comida rápida ambulatorios alrededor de la EsPOCH por muestreo.

Número de muestra	Conteo por diluciones			UFC/g Primer muestreo	Número de muestra	Conteo por diluciones			UFC/g Segundo muestreo
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	INEN 2295 (m=1x10 ⁴)		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	INEN 2295 (m=1x10 ⁴)
1	161	29	3	1,7x10 ⁵	1	164	22	3	1,7x10 ⁵
2	76	13	2	8,1x10 ⁴	2	68	14	2	7,5 x10 ⁴
3	137	21	3	1,4x10 ⁵	3	110	23	3	1,2x10 ⁵
4	176	32	4	1,9x10 ⁵	4	198	31	4	2,1x10 ⁵
5	81	15	2	8,7x10 ⁴	5	264	43	7	2,8x10 ⁵
6	95	10	0	9,5x10 ⁴	6	45	8	1	4,8x10 ⁴
7	0	0	0	<1,0/d	7	0	0	0	<1,0/d
8	0	0	0	<1,0/d	8	0	0	0	<1,0/d
9	78	10	0	8,0 x10 ⁴	9	38	6	1	4,0x10 ⁴
10	257	46	5	2,8x10 ⁵	10	30	7	1	3,4x10 ⁴

1/d= factor de dilución inicial, placa sin crecimiento bacteriano. **m**: índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

Realizado por: Lema H., 2023.

Tabla 4- 2: Cuantificación de Mohos y Levaduras en las muestras de mayonesa por muestreo.

Número de muestra	Conteo por diluciones			UFC/g Primer muestreo	Duplicado	Conteo por diluciones			UFC/g Segundo muestreo
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	INEN 2295 (m:2,0 x10 ¹)		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	INEN 2295 (m:2,0 x10 ¹)
1	264	52	6	2,9x10 ⁵	1	117	22	0	1,3x10 ⁵
2	165	35	4	1,8x10 ⁵	2	23	6	1	2,6x10 ⁴
3	161	21	3	1,7x10 ⁵	3	116	34	2	1,4x10 ⁵
4	225	40	5	2,4x10 ⁵	4	210	48	6	2,3x10 ⁵
5	191	29	3	2,0x10 ⁵	5	215	42	6	2,3x10 ⁵
6	162	26	3	1,7x10 ⁵	6	68	13	2	7,4x10 ⁴
7	0	0	0	1,0x10 ⁰	7	0	0	0	1,0x10 ⁰
8	0	0	0	1,0x10 ⁰	8	0	0	0	1,0x10 ⁰
9	216	46	5	2,4x10 ⁵	9	35	8	1	4,0x10 ⁴
10	123	23	3	1,3x10 ⁵	10	73	13	2	7,8x10 ⁴

m: índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

Realizado por: Lema H., 2023.

Tabla 4- 3: Cuantificación de *Staphylococcus aureus* por muestreo.

Número de muestra	Conteo por diluciones			UFC/g Primer muestreo	Duplicado	Conteo por diluciones			UFC/g Segundo muestreo
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	INEN 2295 m:<1,0x10 ²		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	INEN 2295 m:<1,0x10 ²
1	46	8	1	5,0x10 ³	1	21	8	1	2,6x10 ³
2	11	3	0	1,3x10 ³	2	78	15	2	8,5x10 ³
3	86	13	2	9,0x10 ³	3	128	48	9	1,6x10 ⁴
4	214	80	16	2,7x10 ⁴	4	56	19	3	6,8x10 ³
5	102	31	5	1,2x10 ⁴	5	101	29	3	1,2x10 ⁴
6	176	32	5	1,9x10 ⁴	6	85	13	2	8,9x10 ³
7	0	0	0	1,0x10 ⁰	7	5	1	0	3,0x10 ²
8	0	0	0	1,0x10 ⁰	8	0	0	0	1,0x10 ⁰
9	73	12	3	7,7x10 ³	9	57	19	2	6,9x10 ³
10	41	8	1	4,5x10 ³	10	247	37	4	2,6x10 ⁴

m: índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

Realizado por: Lema H., 2023.

Tabla 4- 4: Determinación de Coliformes por el método del número más probable por muestreo.

Número de muestra	Tubos gas positivos por dilución			NMP/g INEN 2295	Duplicado	Tubos gas positivos por dilución			NMP/g INEN 2295
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
				m: <3					m: <3
1	3	1	0	43	1	1	0	1	7
2	3	3	2	1100	2	3	2	2	210
3	3	2	1	150	3	3	2	2	210
4	3	3	1	460	4	3	3	1	460
5	1	0	1	7	5	3	1	1	75
6	2	0	0	9	6	3	0	0	23
7	0	0	0	0	7	0	1	0	3
8	0	0	0	0	8	0	0	0	0
9	2	2	1	28	9	3	0	0	23
10	2	2	1	28	10	3	2	1	150

m: índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

Realizado por: Lema H., 2023

Tabla 4- 5: Determinación de *Escherichia coli* por el método del número más probable en los dos muestreos.

Número de muestra	Tubos gas positivos por dilución			NMP/g INEN 2295	Duplicado	Tubos gas positivos por dilución			NMP/g INEN 2295
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
				m: <3					m: <3
1	3	1	0	43	1	1	0	1	7
2	3	3	2	1100	2	3	2	2	210
3	3	2	1	150	3	3	2	2	210
4	3	3	1	460	4	3	3	1	460
5	1	0	1	7	5	3	1	1	75
6	2	0	0	9	6	3	0	0	23
7	0	0	0	0	7	0	1	0	3
8	0	0	0	0	8	0	0	0	0
9	2	2	1	28	9	3	0	0	23
10	2	2	1	28	10	3	2	1	150

m: índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

Realizado por: Lema H., 2023.

Tabla 4- 6: Detección de *Salmonella* en 10 puestos de expendio.

Número de muestra	Salmonella 25/g INEN 2295 Ausencia	Duplicado	Salmonella 25/g INEN 2295 Ausencia
1	Ausencia	1	Ausencia
2	Ausencia	2	Ausencia
3	Ausencia	3	Ausencia
4	Ausencia	4	Ausencia
5	Ausencia	5	Ausencia
6	Ausencia	6	Ausencia
7	Ausencia	7	Ausencia
8	Ausencia	8	Ausencia
9	Ausencia	9	Presencia
10	Ausencia	10	Presencia

*Resultados de dos muestreos.

Realizado por: Lema H., 2023.

DISCUSIÓN

En los resultados del estudio microbiológico de las muestras de mayonesa recolectadas en los puestos ambulatorios cercanos a la Espoch-Riobamba, se observó, para el caso de los aerobios mesófilos (**Tabla 4-4**), una frecuencia del 80% (8/10 muestras) en el primer análisis y un 50% (5/10 muestras) en el segundo análisis superan el índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad por la norma NTE INEN 2295. Estos resultados son muy similares al 60,8% reportado por (Galindo et al.,2019), quienes analizaron 120 muestras de mayonesa obtenidas en puestos de comida ambulante de Perú, y encontraron una frecuencia de aerobios mesófilos en 72 muestras. Estos microorganismos permiten evaluar la calidad de la materia prima y problemas de almacenamiento (Anmat, 2004), indicando así una posible contaminación en el ambiente o un incorrecto almacenaje de los insumos utilizados para preparar la mayones

En el estudio de mohos y levaduras (**Tabla 5-4**), se encontró una frecuencia del 80% (8/10 muestras) en los dos muestreos realizados, excediendo el índice de aceptabilidad estipulado en la normativa ecuatoriana. Este valor se asemeja al 75% encontrado por (Machado & Zúñiga, 2018) en 12 muestras de mayonesa obtenidas en 6 puestos de comida ambulante de la ciudad de Cuenca-Ecuador. Estos microorganismos al igual que los aerobios mesófilos, son indicadores de calidad en la materia prima, además su presencia supone deterioro y descomposición en los productos.

En el caso del *Staphylococcus aureus*, un microorganismo presente en la microbiota natural de la piel y mucosas del ser humano (Pérez, 2023). Los resultados del estudio (Tabla 6-4) arrojaron una frecuencia del 80% (8/10 muestras) en los dos muestreos analizados, valor que difiere del 15.8%, obtenido por (Sánchez, 2023) quien analizó 19 muestras de mayonesa de expendio ambulatorio en la ciudad de Ica-Perú. Dado la naturaleza de este microorganismo, esta diferencia en el porcentaje de contaminación indicaría una incorrecta manipulación del producto por parte de los vendedores y comensales del lugar de expendio.

El análisis simultáneo de coliformes (**Tabla 7-4**) y *Escherichia coli*, (**Tabla 8-4**) evidenció que el 80% de muestras (8/10), excede el valor establecido por la INEN 2295, en los dos muestreos. Incluso el valor más alto de 1100 NMP/g supera el resultado de 110 NMP/g reportado en el 60% de muestras (12/20) de mayonesa casera analizadas por (Paiva et al., 2023) en Tocantins-Brasil. Si bien estos microorganismos forman parte de la flora intestinal del ser humano y de los animales, su presencia no necesariamente indica contaminación fecal, por consiguiente, su determinación refleja un proceso deficiente de higiene en la preparación del producto.

En el presente estudio se encontró la ausencia de *Salmonella spp* en el 100% de muestras analizadas en el primer muestreo y la presencia presuntiva de *Salmonella spp* por confirmación bioquímica clásica, en dos muestras analizadas en el segundo muestreo (**Tabla 9-4**). Un estudio similar realizado por (Chávez, 2016) arrojó como resultados la presencia de *Salmonella spp* en un 10.5% (11/105) de muestras de mayonesas elaboradas artesanalmente en pollerías de la ciudad de Huancayo-Perú. De acuerdo con el (MSP, 2023) la *Salmonella* se propaga debido al consumo de agua y alimentos contaminados, aunque principalmente se ha relacionado varios brotes de infección con el consumo de huevos y sus productos derivados crudos como la mayonesa.

El estudio microbiológico evidenció que las muestras 7 y 8 analizadas en los dos muestreos no presentaron crecimiento bacteriano para ningún microorganismo indicador de calidad cuantificado por medio de la Norma INEN 2295. Esto indicaría que las mayonesas expandidas en los dos puestos de muestreo no son preparadas de manera artesanal. Posiblemente son de procedencia comercial y asumiendo que pasan por un proceso de pasteurización deben estar exentas de microorganismos.

4.2. Aislamiento e identificación de bacterias

Para la identificación de los microorganismos, se seleccionó colonias bacterianas de los medios de cultivo iniciales Baird-Parker y Eosina azul de metileno (EMB) y se realizó varias resiembras hasta obtener cultivos puros. Para las bacterias que presentaron características microscópicas (Cocos-grampositivos), se realizó pruebas de catalasa, coagulasa, sensibilidad a novobiocina y fermentación en agar Manitol. Las bacterias (Bacilos-gramnegativos) fueron sometidas a pruebas bioquímicas en medio Kligler, Sim, Urea y Citrato. Las bacterias no identificadas con los métodos convencionales fueron sometidas a pruebas en galerías API y PCR.

Tabla 4- 7: Identificación de Cocos-grampositivos

Cepa Bacteriana	Frecuencia/total de cepas	Características	Catalasa	Coagulasa	Manitol	Novobiocina	Identificación
1	3/20	Colonia negra brillante con un halo transparente	+	+	Con fermentación (color amarillo)	N/A	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	6/20	Colonia pequeña de color negro mucoide	+	-	Sin fermentación	Sensible	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3	1/20	Colonia pequeña de color negro opaca	+	-	Sin fermentación	N/A	Identificación por prueba API: <i>Staphylococcus xylosus</i> 97,8%

+ (Positivo), - (Negativo), N/A (No Aplica), 97.8% de pureza

Realizado por: Lema H., 2023.

Tabla 4- 8: Identificación de Bacilos-Gram negativos.

Cepa bacteriana	Frecuencia/Total de cepas	Características	KLIGLER				SIM		Identificación		
			Glucosa	Gas/Glucosa	Lactosa	SH ₂	Citrato			Urea	
							Indol	Movilidad			
1	3/20	Colonia pequeña de color verde metálico	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>Escherichia coli</i>
2	2/20	Colonia mucoide de color rosado	+	+	+	-	+	-	+	V+	<i>Enterobacter cloacae</i>
3	1/20	Colonia mucoide de color morado	+	+	+	-	-	+	+	V+	No identificada
4	2/20	Colonia redonda color crema con centro morado	+	+	+	-	-	-	+	-	No identificada
5	2/20	Colonia color crema con centro negro	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Salmonella spp</i>

+ (Positivo), - (Negativo), V+ (Variable Positivo)

Realizado por: Lema H., 2023.

DISCUSIÓN

En los resultados de la identificación bacteriana (**Tabla 10-4**) del presente estudio, se encontró al *Staphylococcus aureus* con una frecuencia del 15 % (3/20 cepas). Según Cervantes et al. (2021), la identificación de *S. aureus* se realiza mediante la tinción de Gram y pruebas bioquímicas como la fermentación de manitol y la catalasa. Estas pruebas ayudan a distinguir el género *Staphylococcus* del género *Micrococcus*, que también es catalasa positiva pero no fermenta manitol. La prueba de coagulasa sigue siendo la más utilizada porque se basa en la capacidad de *S. aureus* para producir una enzima que coagula el plasma. Para el caso del *Staphylococcus epidermidis*, que se caracteriza por ser coagulasa negativo y novobiocina sensible se observó una frecuencia del 30% (6/20 cepas). Un estudio realizado por (Fernández, 2020) señala la importancia del test de novobiocina para diferenciar al *S. epidermidis* del *S. saprophyticus*, que también es coagulasa negativa, pero resistente a la novobiocina. El *Staphylococcus xylosum* un coco grampositivo y coagulasa negativo fue identificado en una sola muestra mediante la prueba Api Staph 30.

Estos microorganismos se caracterizan por habitar frecuentemente en la piel y mucosas del ser humano y animales. Su presencia indica una incorrecta manipulación o contaminación de la materia prima para la fabricación de un producto. Un estudio realizado por (Jorda et al., 2012) señaló que la frecuente contaminación de alimentos por *Staphylococcus epidermidis* proviene de los manipuladores que no utilizan guantes y mascarilla en los procesos de elaboración y comercialización de productos alimenticios. (López et al., 2010) manifiesta que las principales fuentes de contaminación de *Staphylococcus aureus* en los alimentos preparados artesanalmente son: la presencia de ingredientes crudos o poco cocidos, el manipulador, la presencia de animales domésticos en los sitios de elaboración y los equipos mal desinfectados. Las cepas de *Staphylococcus xylosum* no son consideradas patógenas y se encuentran con mayor frecuencia en la carne cruda y la leche. Además, son utilizados como iniciadores de fermentación en productos cárnicos como salchichas y jamón, la presencia de este estafilococo en otro tipo de alimentos se atribuye a una contaminación cruzada por el contacto de superficies y los mismos alimentos con este tipo de productos cárnicos (Leroy et al., 2007).

De acuerdo con (Farrando, 2021) el género *Staphylococcus* produce una gran variedad de enterotoxinas termorresistentes, que causan intoxicaciones alimentarias generalmente después del consumo de alimentos contaminados por una mala manipulación, estas enfermedades de transmisión alimentaria suelen ser autolimitadas acompañadas de vómitos y diarrea que normalmente se resuelven en un periodo de 48 horas.

Las pruebas bioquímicas permitieron identificar *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* en las muestras de mayonesa (**Tabla 11-4**). (Aranguren, 2015) señala que las pruebas bioquímicas se basan en la detección de diversas enzimas que participan en el metabolismo bacteriano.

Estas pruebas se realizan en medios de cultivo especiales que contienen los sustratos sobre los cuales actúan las enzimas y un indicador que revela la degradación del sustrato o la formación de un metabolito específico. Además, estas pruebas evalúan la capacidad de reducir ciertos iones, así como la presencia o ausencia de flagelos. *Escherichia coli* se caracteriza por ser un bacilo gramnegativo que produce indol a partir de triptófano, tiene la capacidad de fermentar la glucosa y lactosa con producción de gas y no utiliza el citrato como fuente de carbono y energía (Umpierrez, 2016). *Enterobacter cloacae* es un bacilo gramnegativo móvil que tiene la capacidad de fermentar la glucosa, su reacción de indol es negativa con citrato y ureasa positiva (Silva & Martínez, 2018)

Estos bacilos gramnegativos pertenecen a la familia de Enterobacterias y se los puede encontrar en el suelo, agua, alimentos y como parte de la microbiota de animales y tracto intestinal del ser humano. Su presencia no necesariamente indica contaminación fecal directa, pero si la deficiencia de prácticas higiénicas durante la preparación de productos alimenticios (Bayona, 2009). La investigación realizada por (Valdivieso, 2006) indica que la contaminación fecal de los alimentos a través de las manos de los manipuladores representa un riesgo elevado, pues al evaluar la presencia de bacterias fecales en frotis de las manos de manipuladores de alimentos en comedores públicos de Venezuela encontraron un mayor porcentaje de *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli*. Un estudio realizado por (Serrano et al., 2022) evaluó la presencia de enterobacterias en huevos de gallinas de producción convencional encontrando que la superficie de los cascarones estaba contaminada con patógenos de origen fecal representando un riesgo elevado de contaminación del exterior al interior del huevo a la hora de prepararlo.

(Linzitto, 2019) menciona que las enterobacterias están implicadas en los cuadros diarreicos en humanos y son responsables del 35% de gastroenteritis agudas, que surgen en gran parte de los hábitos higiénicos inadecuados y contaminación de los alimentos. Así mismo (González et al, 2023) señala que entre los patógenos alimentarios que ponen en peligro la salud están las enterobacterias principalmente *Salmonella* (salmonelosis) y *E. coli*, que causan problemas gastrointestinales como náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea.

La presencia de *Salmonella spp* por presuntiva confirmación bioquímica convencional se dio en dos muestras analizadas del segundo muestreo. (Gonzales et al., 2014) manifiesta que el género *Salmonella* se caracteriza por ser bacilos gramnegativos con la capacidad de producir ácido sulfhídrico y que su detección se expresa cualitativamente indicando su presencia o ausencia en diversos productos.

Este agente patógeno pertenece a la familia de las enterobacterias y se encuentra con mayor frecuencia en los huevos de gallina. La investigación realizada por (Salazar et al., 2015) quien evaluó la calidad microbiológica de los huevos de gallina rotos y con fisuras, en Bogotá-Colombia encontró *Salmonella* con una frecuencia del 44% en el cascarón y 55% en el contenido interno. Por otro lado, en un estudio realizado por (Mateos, 2018) establece que la contaminación por *Salmonella* en productos derivados del huevo crudo como las mayonesas se relaciona con un deficiente manejo y almacenamiento del huevo, desde la postura hasta su comercialización.

La frecuencia de *Salmonella spp* 10% (2/20 muestras) en el presente estudio es similar al valor reportado por (Robalino, 2019), quien analizó un total de 180 alimentos de venta ambulante muestreados en el parque “La Carolina” del Distrito Metropolitano de Quito y determino la presencia de *Salmonella spp* en un total de 18 muestras que representan el 10% de aislamientos positivos.

Según (Méndez et al., 2011) la *Salmonella spp*, es de los principales microorganismos involucrados en las enfermedades transmitidas por alimentos. La infección conocida como salmonelosis se puede manifestar en dos formas, fiebre tifoidea o gastroenteritis. De acuerdo con el MSP en el 2021 menciona que la infección con esta bacteria puede originarse por el consumo de alimentos contaminados de origen animal, como huevos y sus derivados crudos, carnes y también por hortalizas contaminadas por fuentes fecales. La (OMS, 2021) manifiesta que la salmonelosis se caracteriza por una aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos. En la mayoría de los casos los síntomas de la enfermedad son leves y los pacientes pueden recuperarse sin tratamiento. Sin embargo, en los niños y ancianos, la deshidratación provocada por los cuadros diarreicos puede poner en peligro la vida.

Tabla 4- 9: Identificación de bacterias por PCR

Código IDgen	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de Identidad
B697	1158	92,5	<i>Citrobacter freundii</i>	16 S	99.57
B698	1378	99.3	<i>Klebsiella michiganensis</i>	16 S	98.68

Realizado por: Lema H., 2023.

Fuente: Laboratorio IDgen.

De acuerdo con (Flórez, 2022) la identificación de los patógenos de transmisión alimentaria mediante métodos moleculares se ha vuelto cada vez más popular en aspectos de calidad y seguridad, y en la producción de alimentos, debido a que estas técnicas suelen ofrecer muchas ventajas. En este estudio los resultados de la PCR revelaron la presencia de dos especies bacterianas distintas en las muestras analizadas: *Citrobacter freundii* y *Klebsiella michiganensis*.

Según (Calva, 2017) *Citrobacter freundii* es un patógeno oportunista, presente en la flora de intestinal de animales y humanos, también suele encontrarse en el suelo, agua, y alimentos. Estos microorganismos tienen la capacidad de utilizar citrato como su única fuente de carbono, fermentan lactosa, producen H₂S, y pueden ser confundidos fácilmente con *Salmonella*. Pertenecen al grupo de los coliformes por lo que es utilizado como un indicador de calidad sanitaria principalmente contaminación fecal. Su presencia en las muestras de mayonesa sugiere una posible contaminación durante el proceso de preparación o manipulación de los ingredientes debido a deficiencias en las prácticas de higiene.

Un estudio realizado por (Tobar, 2020) quien analizó 43 muestras de comida ambulante (incluidas 6 muestras de mayonesa) encontró a *Citrobacter freundii* como la enterobacteria más frecuente (56,2%). En otro estudio del mismo autor se analizó las superficies en contacto con alimentos de los puestos de comida ambulante identificando por pruebas de Biología Molecular a *Citrobacter freundii* en frotis de las manos de los manipuladores de alimentos y en tablas de picar.

De acuerdo con (Wang, 2023) *Klebsiella michiganensis*, aunque menos conocida en el contexto alimentario, también es una preocupación debido a su potencial patogénico. La detección de esta bacteria en las muestras de mayonesa plantea preguntas sobre las prácticas de higiene durante la producción o el almacenamiento de alimentos. Las infecciones por *K. michiganensis* pueden presentar una variedad de síntomas, desde infecciones del tracto urinario hasta neumonía, dependiendo de la cepa y la susceptibilidad del huésped

4.3. Evaluación de la Susceptibilidad Bacteriana

Tabla 4- 10: Interpretación del antibiograma para *Staphylococcus spp.*

ANTIBIÓTICOS					
	CN	AMC	AZM	P	F
	R: <12	R: <13	R: <13	R: <28	R: <14
	I:13-14	I:14-17	I:14-17	I: ---	I:15-16
	S: >15	S: >18	S: >18	S: >29	S: >17
Carga del disco	10 ug	30 ug	15ug	10 UI	300ug
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS					
(Medición de halos en mm)					
<i>Staphylococcus aureus</i>	S (22)	S (30)	S (22)	R (26)	S (22)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S (20)	I (14)	R (0)	R (15)	S (26)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	S (24)	S (30)	I (15)	R (22)	S (32)

(mm) diámetro en milímetros. **R**= resistente, **I**= intermedio, **S**= sensible **CN**: Gentamicina, **AMC**: Amoxicilina + Acido Clavulonico, **AZM**: Azitromicina, **P**: Penicilina G, **F**: Nitrofurantoina

Fuente: Weinstend, 2021. Clinical and Laboratory Standars Institut

Realizado por: Lema H., 2023.

Tabla 4- 11: Interpretación del antibiograma para Enterobacterias.

ANTIBIÓTICOS					
	AM	AMC	CRO	C	F
	R: <13	R: <13	R: <19	R: <12	R: <14
	I:14-16	I:14-17	I: 20-22	I: 13-17	I:15-16
	S: >17	S: >18	S: >23	S: >18	S: >17
Carga del disco	10 ug	30 ug	30ug	30 ug	300ug
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS					
(Medición de halos en mm)					
<i>Escherichia coli</i>	I (14)	S (20)	R (18)	S (26)	S (22)
<i>Enterobacter cloacae</i>	R (11)	R (11)	S (30)	R (7)	I (15)
<i>Salmonella</i>	R (10)	S (26)	S (32)	S (26)	S (22)
<i>Citrobacter freundii</i>	R (11)	R (11)	S (24)	R (11)	S (26)
<i>Klebsiella michiganensis</i>	R (9)	S (18)	I (20)	S (35)	S (24)

(mm) diámetro en milímetros. **R**= resistente, **I**= intermedio, **S**= sensible **CN**: Gentamicina, **AMC**: Amoxicilina + Acido Clavulónico, **AZM**: Azitromicina, **P**: Penicilina G, **F**: Nitrofurantoina

Fuente: Weinstend, 2021. Clinical and Laboratory Standards Institut

Realizado por: Lema H., 2023.

DISCUSIÓN

El estudio de la susceptibilidad microbiana dio como resultados que el *Staphylococcus aureus* aislado en las muestras de la mayonesa presenta **resistencia** a la Penicilina G y **sensibilidad** a: Gentamicina, Amoxicilina + Acido clavulánico, Azitromicina y Nitrofurantoina. De igual forma el *Staphylococcus epidermidis*, presenta **resistencia** a la Penicilina G y Azitromicina, es sensible a la Gentamicina y Nitrofurantoina y con una resistencia intermedia a la Amoxicilina + Acido clavulánico. Por su parte el *Staphylococcus xylosus* también es resistente a la Penicilina G, pero es sensible a la Gentamicina, Amoxicilina + Acido clavulánico y Nitrofurantoina, además presenta una resistencia intermedia a la Azitromicina.

Estos resultados se asemejan a los encontrados por (Kumar et al, 2019) quien analizó 430 alimentos de origen animal (carne, leche, huevos y subproductos) provenientes de ventas ambulantes y encontró que el 82,7% de cepas aisladas del género *Staphylococcus* presentaron resistencia únicamente a la Penicilina. Otro estudio similar realizado por (Tang et al., 2017) reportó que una gran proporción de los aislados alimentarios de *S. aureus* fueron resistentes a la Penicilina y Clindamicina, pero sensibles a la Nitrofurantoina y Gentamicina además de presentar una resistencia intermedia al Cloranfenicol.

La determinación de la susceptibilidad a antibióticos en las cepas de *Staphylococcus aureus* y *epidermidis* aisladas a partir de los frotis de las manos de manipuladores de alimentos mostró que todas las cepas fueron resistentes a la Penicilina y fueron sensibles a la acción de la Oxacilina, Vancomicina y Linezolid. Un estudio comparativo entre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) aislados en cultivos de rutina de pacientes atendidos en el Hospital Universitario de Maracaibo-Venezuela, realizado por (Castellano et al., 2018) reveló que la resistencia a la penicilina y oxacilina fue más frecuente en las cepas de *S. aureus*. Mientras que para el grupo de SCN (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. schleferi*), se encontró un mayor número de cepas resistentes a eritromicina, ciprofloxacina, clindamicina y cotrimoxazol.

De acuerdo con (Torres et al., 2020) la frecuente resistencia a la Penicilina observada en el presente estudio y en los estudios comparativos por las cepas de *Staphylococcus aureus* se debe a que este microorganismo es capaz de producir beta-lactamasas, enzimas que tienen la capacidad de hidrolizar la estructura de la Penicilina, rompiendo el anillo Beta-lactámico presente la estructura del fármaco, volviéndolo ineficaz.

Para el caso de las enterobacterias el estudio dio como resultados que *Escherichia coli* aislada en las muestras presentó **resistencia** a la Ceftriaxona, una resistencia intermedia a la Ampicilina y la sensibilidad frente a la Amoxicilina + Acido clavulánico, Cloranfenicol y Nitrofurantoina. *Enterobacter cloacae* resultó resistente a la Ampicilina, Amoxicilina + Acido clavulánico y Cloranfenicol, además presentó una resistencia intermedia a la nitrofurantoina y sensibilidad a la ceftriaxona.

El estudio realizado por (Tubón, 2022) quien evaluó los perfiles de resistencia antimicrobiana de enterobacterias aisladas de comida ambulatoria en la ciudad de Ambato-Ecuador, mostró que la *Escherichia coli* aislada en el 60.5% de las muestras resultó ser resistente a la Ampicilina y Tetraciclina, además de presentar una resistencia intermedia a la Ceftriaxona. Otro estudio realizado por (Barrionuevo, 2016) señala que *Enterobacter cloacae* aislado de alimentos presenta un mecanismo natural de resistencia a la Ampicilina, además de una sensibilidad aceptable frente a la Ceftriaxona.

La presuntiva *Salmonella spp*, aislada en dos muestras analizadas en el estudio, presentó resistencia únicamente a la Ampicilina, esto coincide con el resultado reportado por (Méndez, 2012) quien analizó muestras de comida ambulatoria a base de huevos, lácteos y productos cárnicos. De un total de 43 muestras siendo dos de ellas mayonesas, logró aislar e identificar *Salmonella spp* la cual luego de la prueba de susceptibilidad antibiótica resultó ser resistente a la Ampicilina y Cloranfenicol y sensible a la Ceftriaxona. Así mismo un estudio realizado por (Cárdenas et al., 2023) quien evaluó la susceptibilidad de 11 cepas de *Salmonella spp* aisladas del contenido interno de huevos de gallina en Sinaloa-México, encontró que las 11 cepas presentaron resistencia a: Ampicilina, Ciprofloxacina y Cefotaxima. Por otro lado (Toledo et al., 2012) realizó test de susceptibilidad a partir de aislamientos de *Salmonella* en manipuladores de alimentos en comedores universitarios de Venezuela notó que el 50% de las cepas aisladas, mostró resistencia solo a la ampicilina, siendo sensibles a Amoxicilina + Acido clavulánico, Cloranfenicol y Nitrofurantoina.

Citrobacter freundii identificado por PCR presentó resistencia a Ampicilina, Amoxicilina + Acido clavulánico y Cloranfenicol y sensibilidad a la Ceftriaxona y Nitrofurantoina. Un estudio realizado por (Méndez, 2022) donde se evaluó la susceptibilidad de *Citrobacter freundii* aislado de alimentos listo para servir en puestos de venta callejera encontró que este microorganismo era resistente a Amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina, cefotaxima, ceftazidima.

Klebsiella michiganensis presenta resistencia únicamente a la Ampicilina, una resistencia intermedia a la ceftriaxona y sensibilidad frente a Amoxicilina + Acido clavulánico, Cloranfenicol y Nitrofurantoina. De acuerdo con (Wang, 2023) no hay estudios exactos de la susceptibilidad antimicrobiana de *K. michiganensis* procedente de alimentos. Sin embargo, su susceptibilidad estaría relacionada con el perfil antimicrobiano del género *Klebsiella*.

(Ferrara, 2022). En su estudio de perfil de resistencia a antimicrobianos de aislados clínicos del género *Klebsiella* detalla que la mayoría de las cepas de *Klebsiella spp.*, fueron resistentes a las penicilinas (ampicilina: 93.3%), inhibidores de folatos (trimetoprima/sulfametoxazol: 94.9%), cefalosporinas (ceftriaxona: 87.7%).

De acuerdo con (García, 2014). En las bacterias gramnegativas, la resistencia a los antibióticos como la penicilina y la cefalosporina se producen principalmente por la liberación de enzimas llamadas betalactamasas. Estas enzimas pueden residir en el genoma bacteriano o en pequeños fragmentos de ADN llamados plásmidos. La producción de betalactamasas puede ser continua o activarse cuando la bacteria se encuentra con estos antibióticos. Las betalactamasas más importantes son las de espectro extendido (BLEE), las AmpC y las carbapenemasas. La propagación de la resistencia mediada por betalactamasas restringe la eficacia de los antibióticos betalactámicos como tratamiento primario para las infecciones bacterianas.

CONCLUSIONES

La cuantificación de microorganismos indicadores de calidad en las muestras de mayonesa mediante la norma NTE INEN 2295, indicó que el 80% de las muestras analizadas superan el índice máximo permisible para establecer el nivel de buena calidad. Los altos porcentajes de carga microbiana para aerobios mesófilos, coliformes, mohos y levaduras, *S. aureus* y *E. coli*, señalan una posible contaminación por una inadecuada manipulación de la materia prima (huevos crudos y/o fisurados) y utensilios utilizados para la preparación artesanal de la mayonesa.

Se aisló un total de 20 colonias bacterianas de los cultivos iniciales de Baird-Parker, Eosina azul de metileno (EMB) y Salmonella-Shigella. De las cuales se identificó mediante pruebas bioquímicas convencionales y pruebas API: *Staphylococcus aureus* (15%), *Staphylococcus epidermidis* (30%), *Staphylococcus xylosum* (5%), *Escherichia coli* (15%) *Enterobacter cloacae* (10%) y *Salmonella spp* (10%). Además, se identificó mediante pruebas PCR y el método Sanger a *Citrobacter freundii* y *Klebsiella michiganensis*.

Al evaluar la susceptibilidad microbiana *Staphylococcus spp*, mostró de forma general resistencia a la Penicilina y sensibilidad frente a la Gentamicina y Nitrofurantoina. Por su parte *Escherichia coli* presentó resistencia a la Ceftriaxona y una resistencia intermedia a la Ampicilina. *Enterobacter cloacae* fue resistente a la Ampicilina, Amoxicilina + Acido clavulánico y Cloranfenicol. La *Salmonella spp* se mostró resistente a Ampicilina y sensible a los demás antibióticos usados. *Citrobacter freundii* presentó resistencia a Ampicilina, Amoxicilina + Acido clavulánico y Cloranfenicol y sensibilidad a la Ceftriaxona y Nitrofurantoina. Y por último *Klebsiella michiganensis* presento resistencia únicamente a la Ampicilina, una resistencia intermedia a la ceftriaxona y sensibilidad frente a Amoxicilina + Acido clavulánico, Cloranfenicol y Nitrofurantoina.

RECOMENDACIONES

- Ampliar el número de puntos de muestreo para lograr generalizar los hallazgos en la variedad de mayonesas vendidas en todos los puestos de comida rápida ambulatorios cercanos a la Espoch.
- Ejecutar simultáneamente estudios microbiológicos de las superficies, utensilios y manipuladores en contacto con la mayonesa para determinar si la contaminación es exclusivamente del producto.
- Dado que la resistencia de los microorganismos puede cambiar con el tiempo se sugiere realizar estudios de susceptibilidad microbiana regulares en las cepas bacterianas aisladas de la mayonesa u otros alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ARGUDÍN, María; et al.** "Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins". *PubMed* [en línea], 2010, (España), vol. 2 (7), págs. 1751-1773. [Consulta: 25 noviembre 2023]. ISSN 2072-6651. Disponible en: www.mdpi.com/journal/toxins.
2. **BALBOA TORRES, Juan Carlos.** Metodología de Detección e Identificación de Patógenos en Alimentos. [En línea]. (Trabajo Fin de Grado). Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales. Jaén-España. 2022. [Consulta: 2023/11/18]. Disponible en:
https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/17983/1/TFG_Balboa%20Torres%2C%20Juan%20Carlos.pdf
3. **BAYONA, Martin.** "Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública en un sector del norte de Bogotá". *U.D.C.A. Acta & División Científica* [en línea], 2009, (Colombia), vol. 12(2), págs. 9-17. [Consulta: 25 noviembre 2023]. ISSN 0123-4226. Disponible en:
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/2312/Articulo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
4. **BENÍTEZ DÍAZ, Eric Enrique.** "Comida Rápida. Aspectos más importantes del menú del individuo moderno". *Journal of Business Sciences* [en línea], 2021, (Ecuador), vol. 3 (9), págs. 36-50. [Consulta: 10 diciembre 2023]. Disponible en:
<https://revista.estudioidea.org/ojs/index.php/eidea/article/view/76/103>
5. **CAMPUZANO, Silvia; et al.** "Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C.". *NOVA* [en línea], 2015, (Colombia), vol. 13 (23), págs. 81-92. [Consulta: 18 noviembre 2023]. ISSN 0124-6039. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>
6. **CASTELLANO GONZÁLEZ, Maribel; et al.** "Frecuencia y resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus*". *Kasmera* [en línea], 2019, (Venezuela), vol. 46(1), págs. 26-39. [Consulta: 18 noviembre 2023]. ISSN: 2477-9628. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/journal/3730/373061527003/373061527003.pdf>
7. **CASTRO-URBINA, Fiorella; et al.** "Microbiología de zanahoria, tomate y repollo de agricultura orgánica y convencional en Costa Rica". *Agronomía Mesoamericana* [en línea], 2023, (Costa Rica), vol. 34(2), [Consulta: 16 noviembre 2023]. ISSN 2215-3608. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/index>.

8. **CERVANTES GARCÍA, Estrella; et al.** "Características generales del *Staphylococcus aureus*". *Latinoamérica de Patología Clínica* [en línea], 2014 (México), vol. 61 (1), págs. 28-40. [Consulta: 28 diciembre 2023]. ISSN 1678-4375. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
9. **CORRALES RAMÍREZ, Lucía. & CAYCEDO LOZANO, Liliana.** "Principios fisicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología". *Nova* [en línea], 2020, (Colombia), vol. 18 (33), págs. 73-100. [Consulta: 16 noviembre 2023]. ISSN: 2462-9448. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v18n33/1794-2470-nova-18-33-73.pdf>
10. **CULLQUIPUMA MUÑOZ, Claudia Elizabeth. & GUAMÁN ARCENTALES, Yadira Belén.** Determinación de *Salmonella spp* en mayonesas caseras, elaboradas en locales de comida ubicados en la Calle Larga de la ciudad de Cuenca. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Católica de Cuenca. Cuenca-Ecuador. 2020. [Consulta: 2023/11/11]. Disponible en: <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/10181>
11. **CHÁVEZ ALANIA, Freddy Leonel.** Frecuencia de *Salmonella spp* en mayonesa preparada en pollerías ubicadas en la ciudad de Huancayo- 2015. [En línea]. (Tesis) (Licenciatura). Universidad Alas Peruanas. Lima-Perú. 2016. [Consulta: 2021/11/17]. Disponible en: https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/592/Tesis_Salmonella_Mayonesa_Pollerías.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. **CHEN, Yi; et al.** "Revisión de métodos de análisis visual para riesgos de seguridad alimentaria". *Ciencia de los Alimentos (Sci Food)* [en línea], 2023, (China), vol. 7(49), págs. 1-13. [Consulta: 11 diciembre 2023]. ISSN 2396-8370. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41538-023-00226-x>
13. **DÍAZ CADENA, Evelyn Alexandra. & SILVA GUAMÁN, Jhonny Alfredo.** Patrón de bandas genéticas en *Pseudomonas aeruginosa* y *Citrobacter diversus* aislados en productos agrícolas y aguas de riego. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico. Riobamba-Ecuador. 2021. [Consulta: 2023/12/26]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/8093?mode=full>
14. **DÍAZ YUBERO, Ismael.** "Cultura alimentaria: salsas. sabor, color, compañía y refinamiento gastronómico". *Distribución y Consumo* [en línea], 2021, (España), vol. 3, págs. 91-107. [Consulta: 14 diciembre 2023]. Disponible en: https://www.mercasa.es/wp-content/uploads/2022/03/10_Salsas.pdf

15. **DUNFORD, Nurhan.** "Edible Oil Quality". *Food & Agricultural Products Center OKLAHOMA* [en línea], 2021. (Estados Unidos), vol. 4, págs.197-201. [Consulta: 8 noviembre 2023]. ISSN 405-744-6071. Disponible en: <https://extension.okstate.edu/fact-sheets/print-publications/fapc-food-and-agricultural-products-center/edible-oil-quality-fapc-197.pdf>
16. **FAO.** "Estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2021". *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura* [en línea], 2021. [Consulta: 8 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/ca8275es/CA8275ES.pdf>.
17. **FIGUEROA, Guillermo; et al.** "Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos". *Revista Médica de Chile* [en línea], 2002, (Chile), vol. 30 (8), págs. 859-864. [Consulta: 15 diciembre 2023]. ISSN 0034-9887. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872002000800003>
18. **FRIERI, Marianne; et al.** "Resistencia a los antibióticos". *Journal of Infection and Public Health* [en línea], 2017, (Estados Unidos), vol. 10, págs. 369–378. [Consulta: 17 noviembre 2023]. ISSN: 1876-0341. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
19. **GALINDO SOTELO, Pedro Miguel; et al.** Calidad microbiológica de mayonesa expendida en puestos de comida en la vía pública en un distrito de Lima en el verano del 2017. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Licenciatura). Universidad Peruana Cayetano Heredia, Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Lima-Perú. 2019. [Consulta: 2023/11/11]. Disponible en: https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7222/Calidad_GalindoSotelo_Pedro.pdf?sequence=1&isAllowed=y
20. **GARCIA FREITAS, Juliana.** Prevalencia de toxina estafilocócica en alimentos contaminados por *Staphylococcus spp.*: Una revisión sistemática y meta-análisis. [En línea]. (Tesis) (Maestría). Universidad Federal de Rio Grande do Norte. Brasil. 2022. [Consulta: 11 noviembre 2023]. Disponible en: https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/55681/1/Prevalenciatoxinaestafilococica_Freitas_2022.pdf
21. **GOBENA, W.** "Microbial Safety and Quality of Edible Oil Examined at Ethiopian Public Health Institute, Addis Ababa, Ethiopia: A Retrospective Study". *Journal of Microbiology & Experimentation* [en línea], 2018, (Ethiopia), vol 6(3), págs. 136-139 [Consulta: 15 de noviembre de 2023]. Disponible en: 10.15406/jmen.2018.06.00203

22. **GONZÁLEZ ROMÁN, Ana Carmen.** “Resistencia a antibióticos y su transmisión a través de alimentos de origen animal”. *Higiene y Sanidad Ambiental* [en línea], 2019, (España), vol. 19(2), págs. 1729-1734. [Consulta: 11 noviembre 2023]. ISSN 1579-1734. Disponible en:
[https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inlinefiles/bc5ceb8b10b7db3_Hig.Sanid_Ambient.19.\(2\).1729-1734.\(2019\).pdf](https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inlinefiles/bc5ceb8b10b7db3_Hig.Sanid_Ambient.19.(2).1729-1734.(2019).pdf)
23. **GRADOS INGA, Natalia Melina.** Factores asociados a la frecuencia de *Salmonella sp* en puestos de venta ambulatorio de alimento del distrito de Amarilis – Huánuco – Perú. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Licenciatura). Universidad Nacional Hermilio Valdizán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria. Huánuco-Perú. 2018. [Consulta: 2023/11/20]. Disponible en:
<https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/3733/TMV%2000280%20G77.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. **GIONO CERESO, Silvia; et al.** "Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla". *Gaceta Médica de México* [en línea], 2020, (México), vol. 156 (2), págs. 172-180. [Consulta: 19 noviembre 2023]. ISSN: 2696-1288. Disponible en:
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S001638132020000200172
25. **GUEDES SILVA, Luiz Henrique; et al.** "Calidad microbiológica y características físico-químicas de mayonesas caseras servidas en lanchonetes de la ciudad de Manaus, Amazonas". *Research, Society and Development* [en línea], 2021, (Brasil), vol. 10 (16), págs. 16-23. [Consulta: 12 noviembre 2023]. ISSN 2525-3409. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.237221>
26. **GUIER SERRANO, Marie; et al.** "Calidad microbiológica y fisicoquímica y sabor de huevos de gallina de producción convencional o pastoreo". *Agronomía mesoamericana* [en línea], 2022, (Costa Rica), vol. 33(1). [Consulta: 4 enero 2024]. ISSN 2215-3608. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/index>.
27. **GUAMÁN BAUTISTA, Gustavo Andrés.** Determinación del perfil de resistencia a antibióticos de las bacterias presentes en el aire del relleno sanitario de Pichacay. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Politécnica Salesiana, Sede Cuenca, Carrera de Ingeniería Ambiental. Cuenca-Ecuador. 2020. [Consulta: 2023/11/20]. Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19490/1/UPS-CT008884.pdf>

28. **HUDZICKI, Jan.** "Protocolo de Prueba de Susceptibilidad por Difusión de Discos de Kirby-Bauer". *American Society for Microbiology* [en línea], 2016, (Estados Unidos). [Consulta: 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>
29. **IRIARTE María.** "Interpretación de resultados de análisis microbiológicos en alimentos: Planes de atributos". *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* [en línea], 2006, (Venezuela), vol. 37 (2), págs. 35-42. [Consulta: 27 diciembre 2023]. ISSN 0798-0477. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772006000200006
30. **JARAMILLO CHÁVEZ, Iván Andrés; et al.** "Consideraciones adecuadas en caso de gastroenteritis aguda en menores de dos años". *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento* [en línea], 2019, (Ecuador) vol. 3 (3), págs. 1586-1598. [Consulta: 15 noviembre 2023]. ISSN: 2588-073X. Disponible en: <http://recimundo.com/index.php/es/article/view/667>.
31. **LAGO MONEO, Juan Aitor; et al.** "El Consumo de Comida Rápida". *Strategic Research Center* [en línea], 2011, (España). [Consulta: 16 noviembre 2023]. ISSN: 1989-9580. Disponible en: <https://static.abc.es/gestordocumental/uploads/sociedad/comida-rapida.pdf>
32. **LINZZITO, Oscar & TUNES, María del Luján.** "Enterobacteriaceae en alimentos". *REIE* [en línea], 2009, (Argentina), vol. 4, págs. 1-10. [Consulta: 17 noviembre 2023]. ISSN 0329-8507. Disponible en: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/92683/Documento_completo.pdfPDF_A.pdf?sequence=1&isAllowed=y
33. **LIROLA ANDREU, Laura; et al,** "La resistencia bacteriana. Generalidades, carbapenemasas y actualidad: una revisión narrativa." *Archivos de Medicina Universitaria* [en línea], 2022, (España), vol. 1, págs. 65-74 [Consulta: 19 noviembre 2023]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/75043/ES%20%20Resistencias.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
34. **LOOR SABANDO, Anthony Josué & LUCAS CHÁVEZ, Cesar Antonio.** Determinación del porcentaje de goma garrofín y ácido acético para efecto estabilizante en salsa picante de piña. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Carrera Agroindustrias. Calceta-Ecuador. 2021. [Consulta: 2023/11/20]. Disponible en: <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1403/1/TTAI11D.pdf>

35. **MACHADO TORRES, Juan Andrés & ZUÑIGA GALARZA, Maleny Mercedes.** Control microbiológico de chuzos y aderezos expendidos en los espacios públicos de la ciudad de Cuenca – Ecuador. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Bioquímica y Farmacia. Cuenca-Ecuador. 2018. [Consulta: 2023/11/23]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/30406/1/Trabajo%20de%20Titulaci3n.pdf>
36. **MANUZ GARCÍA, Carmen.** Uso adecuado de los antibióticos. [En línea]. (Trabajo de fin de grado). Universidad de Cantabria, Facultad de Enfermería. Santander-España. 2021. [Consulta: 2023/11/21]. Disponible en: <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/22483/MANUZ%20GARCIA%2c%20M%20CARMEN.pdf>
37. **MELO, Eveny; et al.** "Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão". *Pubvet Medicina Veterinaria* [en línea], 2018, (Brasil), vol. 12 (10), págs. 1-9. [Consulta: 27 noviembre 2023]. ISSN 1982-1263. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/2602/0f3de0ebab767ca267faa51838f1b223693f.pdf>
38. **MÉNDEZ, Ivan Alberto; et al.** "Caracterización microbiológica de Salmonella en alimentos de venta callejera en un sector universitario de Bogotá, Colombia. Julio a octubre de 2010." *Médicas UIS* [en línea], 2011, (Colombia), vol. 24 (1), págs. 26-32. [Consulta: 19 noviembre 2023]. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/MedicasUIS/2011/vol24/no1/3.pdf>
39. **MESA PÉREZ, Tatiana; et al.** "Calidad microbiológica de chorizos procesados en la plaza de mercado del municipio de Sogamoso, Boyacá". *ISUB* [en línea], 2018, (Colombia), vol. 2(2), págs. 23-34. [Consulta: 21 noviembre 2023]. ISSN 2539-2018. Disponible en: <https://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/888/836>
40. **MINISTERIO DE AGRICULTURA DE CHILE.** "Metodología de recuento de agentes microbianos de control de plagas y de contaminantes biológicos en productos microbianos de control de plagas" [en línea], 2022, (Chile), vol. 1, págs. 1-27. [Consulta: 10 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/d-ris-rai-pa-002-metodologia-recuento-pmcp-v01-final2ok.pdf>
41. **MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL ECUADOR.** "Informe de Situación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Ecuador 2021". *Ministerio de Salud Pública* [en línea], 2021. [Consulta: 8 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/05/Etas-SE-18.pdf>.

42. **MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL ECUADOR.** "Gaceta de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Ecuador". *Ministerio de Salud Pública* [en línea], 2023. [Consulta: 23 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2023/12/Gaceta-de-ETAS-SE-36.pdf>.
43. **MOSQUERA MALDONADO, Marian Maite & PINEDA QUISHPE, María José.** Estudio bibliográfico de los diferentes riesgos que propicien la contaminación por Salmonella en los procesos de fabricación de la mayonesa. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera: Química y Farmacia. Guayaquil-Ecuador. 2020-2021. [Consulta: 2023/12/03]. Disponible en: <https://repositorio.ug.edu.ec/items/4be31086-3b5a-441c-bb44-1c3f084610f3>.
44. **NTE INEN 2295:2010.** *Mayonesa requisitos. Primera revisión.*
45. **NTE INEN 1529-5:2006.** *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Primera revisión.*
46. **NTE INEN 1529-8.** *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y E. Coli.*
47. **NTE INEN 1529-10:1998.** *Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad.*
48. **NTE INEN 1529-14:** *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.*
49. **NTE INEN 1529-15:2009.** *Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección.*
50. **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** Seguridad alimentaria. Hoja informativa [en línea], 2022. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
51. **ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD & ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA.** *Manual para manipuladores de alimentos.* [en línea]. Washington, DC: OPS, 2016. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/31170>
52. **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** Salmonella (no tifoidea). Hoja informativa [en línea], 2022. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)
53. **PAIVA, M; et al.** "Avaliação microbiológica de maionese caseira e açaí self-service comercializados em Araguaína, Tocantins". *Brazilian Journal of Biology* [en línea], 2021 (Brasil), vol. 20 (3), págs. 233-248. [Consulta: 18 noviembre 2023]. ISSN 1678-4375. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/TKH3L7yhR8nCgKPqGDgZmxC/?format=pdf&lang=en>

54. **PAZ-GONZÁLEZ, Alma; et al.** "Enterobacterias en Carne de Cerdo: Agentes Causales de Problemas de Salud Pública". *Journal of Biological and Health Sciences* [en línea], 2023, (México), vol. 1, págs. 1-10. [Consulta: 29 noviembre 2023]. ISSN: 1665-1456. Disponible en: <http://biotecnia.unison.mx>
55. **POPKIN, Barry.** "Does excessive fast-food consumption impair our health?" *The American Journal of Clinical Nutrition* [en línea], 2022, (Estados Unidos), vol. 116 (1), págs. 11-12. [Consulta: 6 diciembre 2023]. Número ISSN 0002-9165. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac110>.
56. **PUIG PEÑA, Yamila; et al.** "Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revisión de la literatura". *Panorama Cuba y Salud* [en línea], 2011, (Cuba), vol. 6 (1), págs. 30-38. [Consulta: 27 noviembre 2023]. ISSN 1995-6797. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4773/477348944006.pdf>
57. **QUISPE RAMÍREZ, Chavely Solanch & ROMERO CAMASCCA, Doris.** Contaminación con *Escherichia coli* en tipos de aderezos expendidos en puestos de comida de un mercado de Huancayo – 2020. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Peruana Los Andes, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Huancayo-Perú. 2021. [Consulta: 2023/11/19]. Disponible en: <https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/3116/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
58. **ROSAS, Rafaela.** "Contaminaciones alimentarias: Cuadros principales, tratamiento y prevención". *Offarm* [en línea], 2007, (España), vol. 26 (6), págs. 95-100. [Consulta: 11 noviembre 2023]. ISSN 0212-8952. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13107676>
59. **RUIZ RAMÓN, Jemmy Carina.** Determinación de *Salmonella spp* en mayonesa preparada en pollerías ubicadas en el centro histórico de Cuenca. [En línea]. (Trabajo de graduación) [Maestría]. Universidad del Azuay, Departamento de Posgrados, Maestría en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria. Cuenca-Ecuador. 2014. [Consulta: 2023/12/05]. Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/3463/1/10162.pdf>
60. **RUBIA FERNÁNDEZ, Anabel.** Técnicas y metodología de detección de patógenos en muestras de alimentos. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales. Jaén-España. 2023. [Consulta: 2023/12/08]. Disponible en: https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/20135/1/TFG_Rubia%20Fernández_Anabel.pdf

61. **SÁNCHEZ ÁLVAREZ, María; et al.** "Aproximación a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real". *Villa Clara* [en línea], 2020, (Cuba), vol. 24(4), págs. 715-720. [Consulta: 27 de diciembre de 2023]. ISSN: 1029-3043. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicentro/cmc-2020/cmc204a.pdf>
62. **SÁNCHEZ, María & FARRANDO, Silvina.** "Enfermedades Transmitidas por Alimentos: Hablemos de *Staphylococcus aureus*". *Revista de Divulgación Científica* [en línea], 2022, (Argentina), vol. 1 (13), págs. 25-30. [Consulta: 22 de noviembre de 2023]. ISSN 2422-6254. Disponible en: <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs/index.php/experticia/article/view/4766>
63. **SÁNCHEZ VELÁSQUEZ, Diana Maritza.** Evaluación microbiológica de mayonesa y rocoto molido de consumo directo y las condiciones higiénico-sanitarias de expendio en el mercado mayorista Arenales - Ica 2022. [En línea]. (Trabajo de Titulación) (Licenciatura). Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", Facultad de Farmacia y Bioquímica. Ica-Perú. 2023. [Consulta: 2023/12/10]. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/items/c0eb020b-e66a-476f-9e73-ee01b95d6b99>
64. **SANTAMBROSIO, Eduardo; et al.** Siembra y recuento de microorganismos. [En línea]. (Trabajo práctico). Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Rosario, Departamento de Ingeniería Química, Cátedra de Biotecnología. Rosario-Argentina. 2009. [Consulta: 2023/11/19]. Disponible en: https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_ano/biotecnologia/practicoIII.pdf
65. **SILVA, Francisco.** "Retrato Microbiológico Complejo Enterobacter cloacae". *Revista Chilena de Infectología* [en línea], 2018, (Chile), vol. 35 (3), págs. 297-298. [Consulta: 27 noviembre 2023]. ISSN 297-298. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v35n3/0716-1018-rci-35-03-0297.pdf>
66. **SOTO VARELA, Zamira; et al.** "Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia". *Salud Uninorte* [en línea], 2016, (Colombia), vol. 32 (1), págs. 105-122. [Consulta: 12 noviembre 2023]. ISSN 0120-5552. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
67. **TAÍPE CARRASCO, Carla.** Calidad microbiológica de ensaladas elaboradas en pollerías del Centro Poblado Las Américas – Abancay. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Facultad de Ingeniería, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Abancay-Perú. 2019, págs. 1-80. [Consulta: 2023/11/12]. Disponible en: https://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/891/T_0557.pdf

68. **TRONCOSO PANTOJA, Claudia.** "Ambientes alimentarios y su rol en la seguridad alimentaria y la malnutrición por exceso". *MediSur* [en línea], 2022, (Cuba), vol. 20 (6), págs.1200-1210. [Consulta: 17 noviembre 2023]. ISSN 1727-897X. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1727-897X2022000601200&script=sci_arttext
69. **VALDIVIEZO LUGO, Nailec; et al.** "Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumana – Venezuela". *Sociedad Venezolana de Microbiología* [en línea], 2006, (Venezuela), vol. 26(2), págs. 95-100. [Consulta: 18 noviembre 2023]. ISSN: 1315-2556. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562006000200006
70. **VERA-RODRÍGUEZ JH; et al.** "Evaluación de la calidad del huevo marrón comercial del cantón La Troncal, Ecuador". *Revista Colombiana de Ciencia Animal* [en línea], 2020, (Colombia), vol. 12(2), págs. 771-780. [Consulta: 18 noviembre 2023]. ISSN: 2027-4297. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/recia/v12n2/2027-4297-recia-12-02-51.pdf>
71. **ZÚÑIGA CARRASCO, Iván Renato & CARO LOZANO, Janett.** "Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud". *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* [en línea], 2017, (México), vol. 37 (3), págs. 95-104. [Consulta: 27 noviembre 2023]. ISSN 0185-185X. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei173e.pdf>



ANEXOS

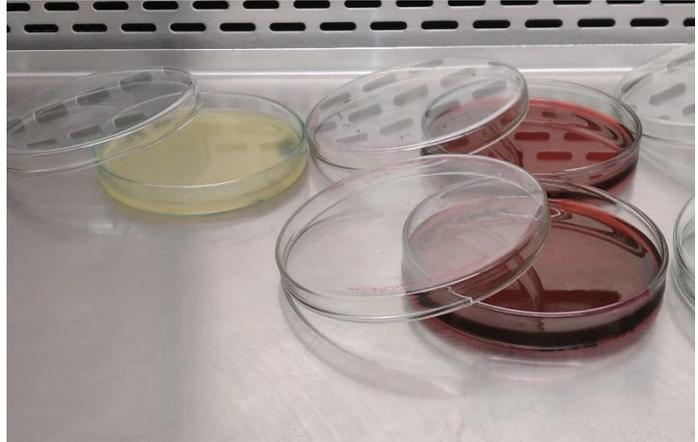
ANEXO A: PUNTOS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



ANEXO B: TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS



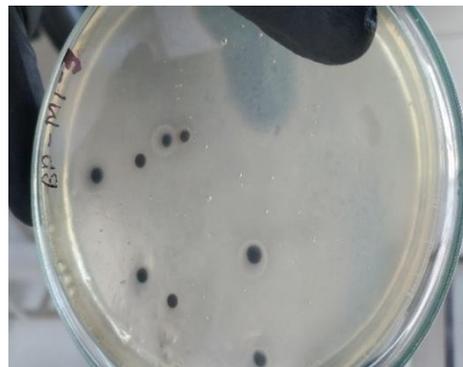
ANEXO C: SIEMBRA EN MEDIOS DE CULTIVO



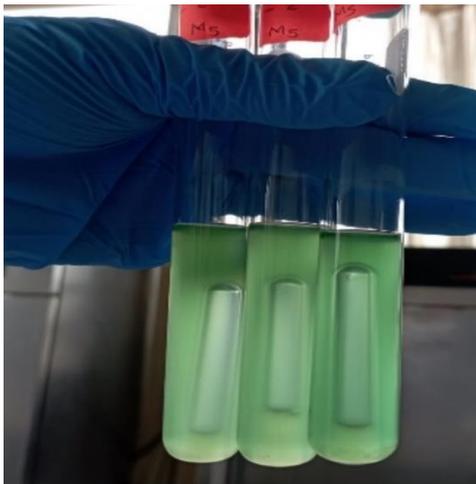
ANEXO D: CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS



Agar Ogye (Mohos y Levaduras)



Agar Baird-Parker (*Staphylococcus*)



Caldo Verde Bilis Lactosa (Coliformes)

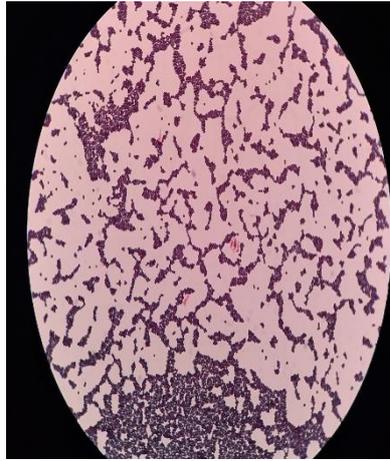


Agar PCA (Aerobios Mesófilos)

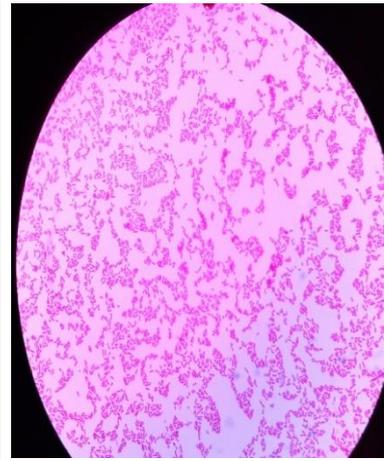
ANEXO E: AISLAMIENTO Y TINCIÓN GRAM



Agar EMB (Coliformes)



Cocos grampositivos



Bacilos Gramnegativos

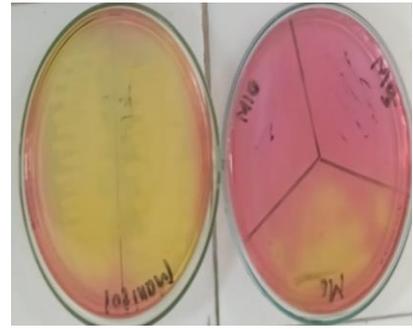
ANEXO F: REALIZACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS, PRUEBAS API



Catalasa



Coagulasa



Agar Manitol



Suceptibilidad a Novobiocina
(Agar Sangre)



Pruebas API



Pruebas Bioquímicas

ANEXO G: REALIZACIÓN DE ANTIBIOGRAMA E INTERPRETACIÓN DE ANTIBIOGRAMA



Agar Mueller-Hinton



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega:

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Henry Fernando Lema Carrasco
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Bioquímica y Farmacia
Título a optar: Bioquímico Farmacéutico
 Dra. Ana Karina Albuja Landi Director del Trabajo de Integración Curricular
 Dra. Sandra Noemi Escobar Arrieta Asesor del Trabajo de Integración Curricular