



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS "PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
SEDE ARAGUA



**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE
ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN ENSALADAS PARA
PERROS CALIENTES EN MARACAY – EDO. ARAGUA 2023**

**Trabajo de Investigación
presentado como requisito
para aprobar la Asignatura
por:**

Br. Liliana Chabin

Br. Elena Escalante

La Morita, Noviembre 2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS "PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
SEDE ARAGUA



EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN ENSALADAS PARA PERROS CALIENTES EN MARACAY – EDO. ARAGUA 2023.

**Trabajo de Investigación
presentado como requisito para
aprobar la Asignatura por:**

Br. Liliana Chabin

Br. Elena Escalante

Tutores Científicos:

Prof. Alexander Gil

MSc. Ysvette Vásquez

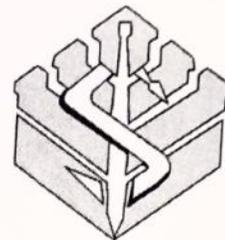
Tutora Metodológica:

Profa. Luisa Figueroa

La Morita, Noviembre 2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA
PROFESORA "OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: "**Evaluación de la resistencia a betalactámicos de enteropatógenos aislados en ensaladas para perros calientes en Maracay-estado Aragua, 2023**" presentado por las bachilleres Liliana Chabín y Elena Escalante con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día lunes trece del mes de noviembre del año dos mil veintitrés, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinadora del jurado, la Tutora Metodológica Profesora Luisa Figueroa.

Por otra parte, se hace constar para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico

M.Sc. Yvette Vásquez
C.I.: 7272093
Tutora Científica

Prof. Alexander Gil
C.I.: 17.017.151
Tutor Científico

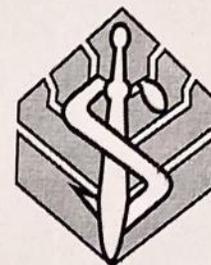
Prof. Nirza Noguera
C.I.: 13357510
Jurado Evaluador

Prof. Luisa Figueroa
C.I.: 13492802
Coordinadora del Jurado





UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS "PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



La Morita, Noviembre 2023

CONSTANCIA DE REVISIÓN Y ACEPTACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO

En mi carácter de Tutor Científico del trabajo titulado: **EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN ENSALADAS PARA PERROS CALIENTES EN MARACAY – EDO. ARAGUA 2023**, el cual es presentado por las Bachilleres Chabin Liliana C.I: V- 25.896.160 y Escalante Elena C.I: V- 25.880.389, para aprobar la asignatura Trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado

Atentamente

MSc. Ysvette Vásquez

C.I: V- 7.272.093



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS "PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



La Morita, Noviembre 2023

CONSTANCIA DE REVISIÓN Y ACEPTACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO

En mi carácter de Tutor Científico del trabajo titulado: **EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN ENSALADAS PARA PERROS CALIENTES EN MARACAY – EDO. ARAGUA 2023**, el cual es presentado por las Bachilleres Chabin Liliana C.I: V- 25.896.160 y Escalante Elena C.I: V- 25.880.389, para aprobar la asignatura Trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado

Atentamente

Prof. Alexander Gil

C.I: V- 17.017.151

DEDICATORIAS

A Dios, la Virgen de Guadalupe y Santa Rita de Casia quienes inspiraron mi espíritu para la realización de este estudio, por darme salud y bendición para alcanzar mis metas como persona y como futura profesional.

A mis padres Kamal Chabin y Gladys Jouayed, no podría haber llegado a este momento de mi vida sin el apoyo constante de ustedes. A lo largo de toda mi vida, siempre han estado ahí para animarme, para impulsarme a seguir adelante y para creer en mí, incluso cuando yo misma no lo hacía. Ahora, al final de este camino de estudios, no puedo sino expresarles mi profundo agradecimiento. Sin su ayuda, no habría podido superar los obstáculos que se me presentaron a lo largo de este camino. Agradezco el esfuerzo que han hecho por mí y por mi educación.

A mis hermanos; la Licenciada María Teresa Chabin y el Ingeniero Antonio Chabin quienes siempre me han motivado a seguir adelante en todo momento. Su apoyo ha sido fundamental para lograr culminar esta etapa, gracias por ser mi mejor compañía y por enseñarme la importancia del esfuerzo, la dedicación y el trabajo constante. Son mi ejemplo a seguir.

A mis 3 ángeles del cielo; mis abuelos Antoine, Mariett y Mikhail, sé que están orgullosos de todo lo que logrado y solamente ustedes saben lo mucho que los tengo presentes en todo lo que hago, gracias por ser esa luz que siempre ha estado en la oscuridad. Y a mi ángel en la tierra; mi abuela Teresa, gracias por estar y compartir conmigo estos momentos tan bellos e importantes para mi vida.

Liliana Chabin

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi madre y abuela, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.

A mi familia y amigos que con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A mis queridos tutores, profesores y licenciados, por apoyarme cuando más lo necesité, por extender su mano en todo momento y por las enseñanzas brindadas cada día.

Elena Escalante Feo

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios y a La Virgen de Guadalupe por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi familia quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido mis mejores guías de vida.

A mis tutores de tesis; la MSc. Ysvette Vásquez, el Licenciado Alexander Gil y la Licenciada Luisa Figueroa, sin ustedes esto no sería posible. Gracias por su paciencia, constancia, dedicación y tiempo con este trabajo de investigación. Ustedes forman parte de este exitoso momento ya que con sus aportes profesionales daban las mejores ideas para llevar a cabo de la mejor manera esta investigación.

Al Instituto De Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana Alonso" BIOMED-UC y al Laboratorio Clínico Delgado Launois por el gran apoyo en prestar sus espacios para la realización de la etapa experimental de esta investigación.

Al Departamento de Microbiología de la Universidad de Carabobo Sede Aragua por su gran ayuda con el donativo de los medios de cultivo y placas de Petri.

Al Licenciado Miguel Tuntunji por ayudar a conseguir los mejores proveedores de insumos de bacteriología para poder obtenerlos en tiempo record.

Al Licenciado Daniel Hernández por siempre estar presente en los momentos más importantes de esta investigación y que gracias a su disposición y grandes conocimientos ayudó a la culminación de este trabajo de investigación.

A la señora Yuleima Cordero por su apoyo en la realización de los medios de cultivo para la siembra de las muestras en estudio, gracias por siempre estar pendiente a que todo lo tuviésemos y nada nos faltara.

A mi mejor amiga Ana Karina de Faria por siempre estar para mí cuando más la he necesitado. En algún momento vivimos momentos especiales cuando ella culminaba su carrera y ahorita ella está conmigo disfrutando esta última etapa.

A mis hermanas que la universidad me obsequió; Nikol Medina y Karen Díaz, por razones de Dios no estamos juntas en este ciclo porque cada una tomó rumbos distintos pero jamás dejaron de estar pendiente de mí durante todos los años de carrera.

A mis incondicionales amigos y futuros colegas Loana Añez, Zoraya Agüero, Johandry Alvarado y Rafael Cárdenas por tantos momentos vividos juntos y por estos años donde siempre nos hemos apoyado en las buenas y malas.

A mis especiales amigas Zuleymi Reyes y Mariana Yhallak por siempre estar cuando más las he necesitado, gracias por estar presentes en los momentos más difíciles y ayudarme a seguir adelante.

A mi amiga desde hace muchos años; la Arquitecto Ana Gabriela Gutiérrez, gracias por estar pendiente en todo momento en el proceso de realización de mi tesis, y por supuesto por siempre dar un toque de magia en el diseño de la presentación de este trabajo de investigación.

A mi primo Eduardo Kouefati por su gran ayuda desde el día uno con una laptop para poder llevar a cabo la redacción del trabajo de investigación.

A mi tía Dalal Manach por siempre alegrarse por mis logros, además de ser un apoyo fundamental en todo momento.

A una persona que admiro y estimo demasiado, mi tía Maribel Sikán por mantenerme siempre en sus oraciones y por festejar cada uno de mis logros aun cuando la distancia es grande.

Y por último y no menos importante; gracias a mi casa de estudios, la Luz de una Tierra Inmortal, la magnífica Universidad de Carabobo por ser mi segundo hogar durante casi 9 años de carrera y por permitirme ser egresada de la mejor casa de estudios del país.

Liliana Chabin

Primeramente, agradezco a Dios por guiarme en mi camino y por permitirme concluir con mi objetivo.

A mi familia, porque son lo más sagrado que tengo en la vida, por ser siempre mis principales motivadores y los formadores de lo que ahora soy como persona, sin ustedes y sus consejos, su amor y su cariño yo no habría llegado hasta donde estoy. Gracias mamá, abuela, hermano, tíos, tías, madrina, primas y primos.

Gracias a mis amigos y compañeros por los buenos momentos que hemos compartido. Hemos aprendido y aprendemos continuamente de todos y de nosotros mismos, tanto profesional como personalmente y eso es enriquecedor en ambos ámbitos.

A mis queridos tutores científicos: MSc. Ysvette Vásquez, el Prof. Alexander Gil y nuestra tutora metodológica Profa. Luisa Figueroa por su gran apoyo y confianza; su capacidad para guiarnos y orientarnos en este largo camino, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación.

Y por supuesto la Universidad de Carabobo, al Instituto De Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana Alonso" BIOMED-UC, al Laboratorio Clínico Delgado Launois y su personal, a mis queridos profesores y licenciados que me apoyaron, gracias por permitirme concluir con una etapa de mi vida, gracias por la orientación y paciencia en el desarrollo de esta investigación.

Elena Escalante Feo

ÍNDICE GENERAL

PP

Constancia de aprobación del tutor científico.....	iii
Veredicto.....	v
Dedicatorias	vi
Agradecimientos.....	viii
Índice general.....	xii
Lista de tablas.....	xiv
Lista de figuras.....	xv
Resumen.....	xvi
Abstract.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Tipo de investigación.....	13
Población y muestra	13
Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	16
Procedimiento experimental.....	16
Análisis de datos.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
Conclusiones.....	38
Recomendaciones.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ANEXOS.....	48
ANEXOS A: Ensaladas ralladas de los 4 puestos de perros calientes.....	48
ANEXOS B: Mesófilos Aerobios.....	48
ANEXOS C: Coliformes fecales.....	48
ANEXOS D: Coliformes Termotolerantes.....	49
ANEXOS E: Colonias aisladas.....	49
ANEXOS F: Batería Bioquímica sin inocular (Citrato, Kliger, LIA, MIO, Urea).....	49
ANEXOS G: Batería Bioquímica de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	50

ANEXOS H: AmpC <i>Aeromonas</i> spp. (Puesto D, 9no muestreo).....	50
ANEXOS I: AmpC <i>Aeromonas</i> spp. (Puesto A, 6to muestreo).....	50
ANEXOS J: AmpC <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Puesto C, 9no muestreo).....	51
ANEXOS K: Procesamiento (Clínica Lugo).....	51
ANEXOS K-1: Procesamiento (Clínica Lugo).....	51

LISTA DE TABLAS

N°	PP
1. Recuento de Mesófilos Aerobios (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expendidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023	24
2. Coliformes Totales (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expendidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023	26
3. Coliformes Termotolerantes (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expendidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023	27
4. Principales microorganismos aislados en muestras de ensaladas para perros calientes expendidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023.....	28
5. Mecanismo de resistencia antimicrobiano en enteropatógenos aislados en muestras de ensaladas para perros calientes expendidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023	29

LISTA DE FIGURAS

N°	PP
1. Vista aérea de la ubicación de las ventas ambulantes en las zonas seleccionadas del centro de Maracay, Estado Aragua.....	15
2. Investigación de <i>Klebsiella pneumoniae</i> y otros enteropatógenos de importancia clínica.....	22
3. Comportamiento de recuentos de Mesófilos Aerobios (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua durante el período Marzo-Mayo del año 2023.....	25

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”
SEDE ARAGUA

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE
ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN ENSALADAS PARA PERROS
CALIENTES EN MARACAY – EDO. ARAGUA 2023.**

Bachilleres:

Br. Liliana Chabin

Br. Elena Escalante

Tutores Científicos:

Prof. Alexander Gil

MSc. Ysvette Vásquez

Tutora Metodológica:

Profa. Luisa Figueroa

La Morita, Noviembre 2023

RESUMEN

Se realizó una investigación de la resistencia a betalactámicos de enteropatógenos aislados en ensaladas para perros calientes en Maracay – Edo. Aragua 2023, puesto que las ensaladas que se consumen crudas, tales como las empleadas para la elaboración de perros calientes son más propensas a causar una infección de tipo alimentaria. Este estudio consistió en la determinación de la carga de Mesófilos Aerobios, Coliformes Totales y Termotolerantes en estas ensaladas, basados en procedimientos técnicos estandarizados establecidos en las normas COVENIN; además se aislaron e identificaron bacterias enteropatógenas, en las cuales se evaluó la resistencia a betalactámicos. La población estuvo formada por vendedores ambulantes de las Calles: Sánchez Carrero, Vargas y Libertad en el casco central, Municipio Girardot; seleccionando 4 puestos al azar y se realizaron 9 muestreos con un intervalo de tiempo de 7 días, obteniendo un total de 36 muestras. Entre los resultados obtenidos, el 100% de las ensaladas analizadas presentaron contajes elevados de Mesófilos Aerobios (10^4 - 10^7 UFC/g), Coliformes Totales (10^3 - 10^6 UFC/g) y Termotolerantes (10^1 - 10^5 UFC/g) que superaron los límites permisibles establecidos. Las enterobacterias que se aislaron con más frecuencia fueron: *Klebsiella pneumoniae* (26.2%), seguida de *Pseudomonas putida* (10.8%) y *Citrobacter freundii* (7.7%). También se aisló *Aeromonas* spp (3.1%), siendo la bacteria aislada de mayor importancia clínica en el estudio, por su asociación a cuadros clínicos de gastroenteritis aguda. En cuanto a los mecanismos de resistencia encontrados, cabe destacar que se encontró un mecanismo de resistencia intrínseco (AmpC) en seis cepas bacterianas, dos de *Aeromonas* spp. y cuatro de *Pseudomonas aeruginosa*. Estos resultados demuestran que estas ensaladas de perros calientes expandidas en estos puestos ambulantes no están aptas para el consumo humano y es necesario implementar medidas de control que establezcan criterios de aceptabilidad para estos productos, evitando la diseminación de bacterias patógenas causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Palabras clave: *Aeromonas* spp., Ensaladas, ETA, *Klebsiella pneumoniae*

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
SEDE ARAGUA

**EVALUATION OF BETA-LACTAM RESISTANCE OF ENTEROPATHOGENS
ISOLATED IN HOT DOG SALAD IN MARACAY – EDO. ARAGUA 2023.**

Bachilleres:

Br. Liliana Chabin

Br. Elena Escalante

Tutores Científicos:

Prof. Alexander Gil

MSc. Ysvette Vásquez

Tutora Metodológica:

Profa. Luisa Figueroa

La Morita, Noviembre 2023

ABSTRACT

An investigation of the resistance to beta-lactams of enteropathogens isolated in salads for hot dogs in Maracay - Aragua State 2023 was made, since salads that are consumed raw, such as those used for the preparation of hot dogs, are more susceptible to cause a food-borne infection. This study consisted of determining the load of Aerobic Mesophiles, Total Coliforms and Thermotolerants in these salads, based on standardized technical procedures established in the COVENIN norms; in addition, enteropathogenic bacteria were isolated and identified, in which resistance to beta-lactams was evaluated. The population consisted of street sellers in the following streets: Sanchez Carrero, Vargas and Libertad in the central area, Girardot municipality; 4 stalls were selected at random and 9 samplings were carried out with a time interval of 7 days, obtaining a total of 36 samples. Among the results obtained, 100% of the salads analyzed showed high counts of Aerobic Mesophiles (104-107 CFU/g), Total Coliforms (103-106 CFU/g) and Thermotolerants (101-105 CFU/g) that exceeded the established permissible limits. The most frequently isolated enterobacteria were *Klebsiella pneumoniae* (26.2%), followed by *Pseudomonas putida* (10.8%) and *Citrobacter freundii* (7.7%). *Aeromonas* spp. was also isolated (3.1%), being the most clinically important bacterium isolated in the study, due to its association with clinical pictures of acute gastroenteritis. Regarding the resistance mechanisms found, it should be noted that an intrinsic resistance mechanism (AmpC) was found in six bacterial strains, two of *Aeromonas* spp. and four of *Pseudomonas aeruginosa*. These results demonstrate that these hot dog salads sold in these street stalls are not suitable for human consumption and it is necessary to implement control measures that establish acceptability criteria for these products, avoiding the dissemination of pathogenic bacteria that cause foodborne diseases (FBD).

Key words: *Aeromonas* spp., Salads, FBD, *Klebsiella pneumoniae*.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) son un conjunto de patologías adquiridas por consumir alimentos o bebidas contaminados a partir de su origen o por una inadecuada manipulación a lo largo de su preparación, repartición o comercialización. Primordialmente, son ocasionadas por microorganismos como bacterias, virus y parásitos que producen daño a la salud, aunque también pueden ser generadas por la existencia de varias sustancias químicas (plaguicidas). Estas patologías tienen la posibilidad de dañar a toda la población, principalmente los lactantes, niños menores de 5 años, así como personas con patologías crónicas degenerativas (sistema inmunológico comprometido) (Jiménez, 2021).

Según la Organización de las Naciones Unidas (ONU, 2022) las ETA suelen producir trastornos gastrointestinales, dolor abdominal, diarreas, náuseas y vómitos, a veces acompañados de fiebre y en determinados casos pueden desencadenar graves enfermedades. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020) en el informe Estimación de la Carga Mundial de las Enfermedades de Transmisión Alimentaria, el más completo publicado hasta la fecha sobre el impacto de los alimentos contaminados en la salud y el bienestar señala: Las ETA constituyen el problema de Salud Pública más extendido en el planeta, debido a que representa un gran riesgo para la población. Casi un tercio (30%) de todas las muertes por ETA se producen en niños menores de 5 años que representan 9% de la población mundial. Según el informe de la OMS, se presenta una estimación de la carga de las enfermedades de transmisión alimentaria causadas por 31 agentes (bacterias, virus, parásitos, toxinas y productos químicos), cada año hasta 600 millones de personas de todo el

mundo, 1 de cada 10, enferman tras consumir alimentos contaminados. De estas personas, 420.000 mueren, incluidos 125.000 niños menores de 5 años. Los niños corren un riesgo especial de padecer enfermedades diarreicas transmitidas por los alimentos: 220 millones enferman y 96.000 mueren cada año. Se estima que cada año en América, 77 millones de personas se enferman y más de 9000 mueren, de ellas 31 millones son menores de 5 años.

Es necesario en particular educar y capacitar a los productores de alimentos, los proveedores, las personas que manipulan alimentos y el público en general sobre la prevención de las ETA. Las buenas prácticas higiénicas son una fundamental medida de control y defensa de las patologías transmitidas por los alimentos, del mismo modo presentan la inquietud por la limpieza de los alimentos, resultando más confiables y seguros para el consumidor (OMS, 2020).

La higiene alimentaria es fundamental para la salubridad de los alimentos. El consumidor debe saber elegir y reconocer la calidad de los alimentos, además de saber cómo conservarlos y manipularlos adecuadamente, para evitar contaminaciones y pérdidas de la calidad. En países de América es muy común el comercio y consumo de alimentos, frutas, vegetales y bebidas frescas que no se preparan con una higiene adecuada, esto es causa de enfermedades que podrían ser evitadas por medio de la implementación de programas de prevención de estas enfermedades, además, promoviendo el uso de buenas prácticas de manejo, preparación y consumo. Se estima que 60% de los brotes de ETA son de etiología desconocida, aquéllas de origen conocido provienen con frecuencia del sector de producción animal, en cuyos casos la mayor parte son causadas por bacterias (Zúñiga y Caro, 2017).

Hasta la fecha se han descrito más de 250 tipos de ETA. La mayoría son infecciones ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos; las más reportadas son las de origen bacteriano. Entre las más frecuentes reconocidas como agentes causantes de ETA se encuentran *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli* (Puig et al., 2013).

La calidad microbiológica y la vida útil de los alimentos se puede estimar determinando el número de bacterias aerobias y anaerobias, el recuento de bacterias lácticas y esporuladas (que resisten algunos tratamientos térmicos y condiciones de acidez), la presencia de indicadores de contaminación fecal e higiene (Coliformes Termotolerantes y Totales) y de patógenos reconocidos, entre los que podemos citar a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum* (Rodríguez et al., 2010).

Una preocupación importante en la industria de los alimentos es la calidad microbiológica, debido al grave riesgo para la salud que representan las bacterias y hongos. La poscosecha es un punto crítico de control con importantes efectos sobre las características químicas y microbiológicas. La prevención de la contaminación microbiana en el estigma seco requiere buenas prácticas de higiene y análisis de peligros y puntos críticos de control en todas las etapas de producción (Milani, 2020).

Se necesitan programas de control de calidad microbiológica a lo largo de la cadena de producción de alimentos para minimizar los riesgos de seguridad para los consumidores. Los métodos microbiológicos clásicos en alimentos implican, en general, el enriquecimiento y aislamiento de colonias de bacterias en medios sólidos, y la confirmación final mediante identificación bioquímica o serológica. Por lo tanto, son laboriosos, requieren mucho

tiempo y no siempre son confiables. En consecuencia, el desarrollo y optimización de alternativas novedosas para el seguimiento, caracterización y enumeración de patógenos transmitidos por los alimentos es uno de los aspectos clave de la microbiología de los alimentos (Rodríguez y Hernández, 2014).

En Venezuela el problema se acentúa gracias a la proliferación de puestos de comida rápida o ambulantes, que a pesar de ser más económicos y accesibles a la población en general, también es cierto que presenta aspectos negativos como son: las condiciones insalubres de estos establecimientos, la deficiente calidad de los alimentos y la contaminación con microorganismos altamente patógenos, aunado a la carencia de condiciones adecuadas de almacenamiento donde el calor, la humedad, la falta de agua potable, inadecuada disposición de los desechos y la poca vigilancia sanitaria por parte de los entes gubernamentales, incrementa el peligro de contaminación (Delgado, et al., 2018).

Las condiciones ambientales deficientes cobran mayor importancia cuando la venta de alimentos es callejera, ya que la higiene de los productos ofrecidos se ve comprometida por varios factores como son: la calidad de las materias primas, las características propias de los alimentos dependiendo de si son o no perecederos, las instalaciones necesarias para mantener los alimentos a temperaturas adecuadas durante períodos prolongados, entre otros factores que se podrían relacionar con la presencia de riesgo de sufrir ETA. Es necesario que quienes manipulen y elaboren alimentos tengan conocimiento sobre las normas elementales de higiene en ventas ambulantes para que puedan desarrollar la actividad y venta de manera segura, ya que gran porcentaje de vendedores ambulantes no cuentan con un sanitario para sus necesidades, no hacen uso correcto del tapabocas, realizan contaminación cruzada de alimentos y su lugar de trabajo se

encuentra cerca de vertederos de basura o sitios con gran contaminación (Barbosa, 2012).

Las ensaladas que se consumen crudas, es decir, que no se someten a ningún proceso culinario, como la cocción o el hervido, tales como las empleadas para la elaboración de perros calientes son más propensas a causar una infección de tipo alimentaria. La mayoría de las veces, las ensaladas ralladas (crudas) son consumidas sin ningún tratamiento de lavado y/o desinfección adecuado adicional que elimine a las potenciales bacterias patógenas (Gentili et al., 2017).

Por lo que estas ensaladas representan un riesgo importante en las enfermedades transmitidas por alimentos, frecuentemente durante su procesamiento no se cumplen con las condiciones higiénicas necesarias para impedir su contaminación que ocurre desde el riego de las hortalizas con aguas residuales domésticas, el abono con heces de humanos o animales, el lavado poscosecha con agua contaminada, la deficiente protección durante el transporte con su almacenamiento y la inadecuada manipulación durante la preparación y expendio de las ensaladas (Soberon, 2017).

La población en general al presentar malestares gastrointestinales no acude a consulta médica y tiende a automedicarse generando así resistencia a los antimicrobianos (RAM). La RAM surge cuando las bacterias, los virus, los hongos y los parásitos cambian a lo largo del tiempo y dejan de responder a los medicamentos, lo que hace más difícil el tratamiento de las infecciones e incrementa el riesgo de propagación de enfermedades. Como consecuencia de la farmacorresistencia, los antibióticos y otros medicamentos antimicrobianos se vuelven ineficaces, por lo que las infecciones son cada vez más difíciles o imposibles de tratar. La aparición y

propagación de patógenos resistentes a los medicamentos que han adquirido nuevos mecanismos de resistencia, lo que conduce a la resistencia a los antimicrobianos, siguen comprometiendo nuestra capacidad para tratar infecciones comunes. La línea de desarrollo clínico de nuevos antimicrobianos está agotada (OMS, 2021).

La resistencia bacteriana se ha convertido actualmente en un serio problema de salud mundial y requiere del máximo esfuerzo de todas las instituciones gubernamentales que garanticen su control. Dado que este fenómeno tiene como principales consecuencias el fracaso de la terapia antimicrobiana, el incremento de la morbilidad, mortalidad y el aumento en los costos de la atención médica, resulta indispensable su contención a nivel internacional. El incremento de la resistencia mediante la producción de betalactamasas restringe el empleo de los antibióticos betalactámicos como tratamiento empírico en las infecciones ocasionadas por estos microorganismos. Se plantea que los pacientes hospitalizados, los asistidos en centros sociosanitarios, inmunodeprimidos y los que han recibido antibióticos recientemente, son particularmente susceptibles a la colonización por enterobacterias patógenas (García et al., 2014).

En el año 2019 la OMS identificó 32 antibióticos en fase de desarrollo clínico contra la lista OMS de patógenos prioritaria, de los que solo seis se clasificaron como innovadores. Los antibióticos son cada vez más ineficaces, a medida que la farmacorresistencia se propaga por todo el mundo, lo que conduce a más infecciones difíciles de tratar y al aumento de la mortalidad. Se necesitan urgentemente nuevos antibacterianos, por ejemplo para tratar las infecciones debidas a bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos carbapenémicos identificadas en la lista OMS de patógenos prioritarios. Ahora bien, si no se cambia la forma en que se utilizan

actualmente los antibióticos, esos nuevos antibióticos tendrán el mismo destino que los actuales y se volverán ineficaces. La RAM tiene costos considerables para las economías de los países y sus sistemas de salud, ya que afecta a la productividad de los pacientes o sus cuidadores debido a las estancias hospitalarias prolongadas y a la necesidad de una atención más cara e intensiva. Sin herramientas eficaces para la prevención y el tratamiento adecuado de las infecciones farmacorresistentes, la mejora del acceso a antimicrobianos nuevos y existentes de calidad asegurada, aumentará el número de personas para quienes el tratamiento está fallando o que morirán a causa de la infección (OMS, 2021).

Los betalactámicos son antibióticos que tienen como núcleo un anillo central de beta-lactama, estos se unen a enzimas necesarias para la síntesis de la pared celular bacteriana y las inactivan (Werth, 2020). Ocupan un lugar preponderante en la estrategia actual de utilización de antibióticos, tanto a nivel ambulatorio como hospitalario; cuatro clases conforman esta familia: penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos. El conjunto de estas moléculas, con espectros de actividad diversos, permite tratar la mayoría de infecciones bacterianas (Hamon et al., 2021).

Rodríguez (2005), en la Ciudad de Guatemala, Guatemala, analizó ensaladas provenientes de restaurantes de comida rápida con el objetivo de establecer la presencia de *Escherichia coli* en las mismas. Para la realización de este estudio se analizaron 42 ensaladas procedentes de diferentes restaurantes de comida rápida (una ensalada por restaurante) escogidos al azar. A cada ensalada se le analizaron individualmente los siguientes ingredientes: lechuga, pepino, zanahoria y tomate, haciendo un total de 168 análisis. Se utilizó la técnica de vertido en placa utilizando como medio Agar Bilis Rojo Violeta (VRB) y utilizando como control positivo una cepa de

Escherichia coli y como control negativo una cepa de *Proteus vulgaris*. De las 42 ensaladas a base de lechuga analizadas, en el 16.66% se identificó *Escherichia coli* y de los cuatro ingredientes analizados individualmente para cada ensalada, el tomate fue el que presentó la más alta contaminación con *Escherichia coli* (11.9%) y la lechuga no presentó contaminación con dicha bacteria (0.0%). La lechuga, el pepino y la zanahoria fueron los ingredientes que presentaron mayor cantidad de muestras con recuentos de Coliformes mayores que los permitidos por la FDA (de 40 a 96,000 ufc/gramo). Coliformes distintos a *Escherichia coli* como *Klebsiella* ssp. y *Enterobacter* ssp. fueron identificados en un total de 33 de las muestras de pepino, lechuga, zanahoria y tomate analizadas. Los resultados no fueron los esperados, ya que hubo ausencia de *Escherichia coli* en la lechuga y el tomate fue el que presentó la más alta contaminación de *Escherichia coli*, se recomienda a los restaurantes de comida rápida que realicen monitoreos para analizar la comida que se venden en los mismos.

De igual manera, Guerrero (2013), en la Ciudad de Mérida, Venezuela, determinó la calidad microbiológica de los vegetales crudos utilizados en hamburguesas que se expenden en puestos de comida rápida ambulantes, en donde se recolectaron 6 muestras constituidas por ingredientes crudos específicamente de repollo y zanahoria. Se determinó Coliformes Totales (CT), Coliformes Fecales (CF) y *Escherichia coli* por la técnica del número más probable. Obteniéndose Coliformes Totales (CT), Coliformes Fecales (CF) y *Escherichia coli* aislados en los 6 establecimientos en un total ($\geq 1,1 \times 10^3$) NMP/gr en 100% de los vegetales, demostrando que para *Escherichia coli*, 83,3 % de las ensaladas fueron satisfactorios y 16,7 % insatisfactorios para su consumo. Para las bacterias Aerobias Mesófilas se obtuvo un total de ($6,4 \times 10^6$) UFC/ml lo cual fueron inaceptables dentro de los parámetros ubicado en el criterio microbiológico de los alimentos, para la

determinación de *Pseudomonas* ssp., resultó identificada "*Pseudomonas fluorescens*", y en la determinación de *Staphylococcus aureus*, obtener valores entre $(1,1 \times 10)$ UFC/gr y un máximo de $(6,4 \times 10^4)$ UFC/gr, nos 41 permite señalar que un 66,6%, de las muestras son viables para el consumo humano mientras que 33,4% restante son inapropiadas para el consumo. Se consideró desde el punto de vista crítico, que debe ser incluida una normativa obligatoria que rijan la supervisión permanente y estricta a los expendios de comida rápida, creando conciencia de la higiene y de la manipulación inadecuada de los alimentos así como el mal almacenamiento que implica la posibilidad de que un patógeno pueda colonizar los alimentos.

Así mismo, Delgado et al. (2018), en la Ciudad de Maracaibo, Venezuela, determinaron la calidad microbiológica de ensaladas crudas que se expenden en puestos ambulantes de comida rápida, donde se investigaron 15 establecimientos de comida rápida donde se realizaron dos muestreos con intervalos de un mes para un total de 30 muestras. Las ensaladas recolectadas estaban conformadas por: 16 ensaladas de lechuga, 7 con repollo y lechuga y 3 con repollo y tomate; 2 de cebolla y tomate y 2 de lechuga y cebolla. Para el estudio microbiológico, las muestras fueron preparadas según la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN N°1126-89). Del homogenizado, se determinó el conteo Aerobios Mesófilos, *Salmonella*, Coliformes Totales, Fecales y *Escherichia coli*. En relación a Aerobios Mesófilos, de las 30 muestras, 2 (6,67%) mostraron conteos de 225.000 UFC/g; y 28 (93,33%) con recuentos incontables. Para Coliformes Totales, 28 (93,3%) mostraron conteos que oscilaron entre 350×10^7 hasta 730×10^7 y en 2 (6,6%) el conteo promedio fue 197 UFC/g. En el 93,3% (28) de las muestras se observó recuentos elevados para *Escherichia coli*, y en 2 (6,6%) fue menor a 1 UFC/g. *Salmonella* se detectó en 4 (13,3%) muestras. Todos los resultados obtenidos de la investigación indicaron, que

las ensaladas no son aptas para el consumo humano, por no cumplir con los requerimientos mínimos de inocuidad.

Por otra parte, Puig et al. (2019), en la Ciudad de La Habana, Cuba, analizaron 154 aislamientos bacterianos en pescados y mariscos. La susceptibilidad antimicrobiana, se determinó mediante el método de difusión con discos (Kirby-Bauer). Se identificó resistencia en dos cepas de *Salmonella* y seis de *Escherichia coli*, la resistencia se expresó con mayor frecuencia para la ampicilina y la tetraciclina. En *Staphylococcus*, la resistencia fue mayor para la penicilina, se determinó un patrón de multiresistencia para el cloranfenicol, la eritromicina y la tetraciclina. *Vibrio cholerae* fue el género con mayor aislamiento en pescados y mariscos, las cepas resistentes fueron más frecuentes en ostiones y pescados de aguas dulces. Se concluyó que la resistencia antimicrobiana en aislamientos de pescados y mariscos fue baja y la multiresistencia se expresó con poca frecuencia. Entre las bacterias resistentes se encontraron *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus* como contaminante de los productos y *Vibrio cholerae* como microorganismo autóctono de los ecosistemas marinos y acuícolas. Los ostiones fueron los alimentos que se consideraron de mayor riesgo en la diseminación de bacterias resistentes. Teniendo en cuenta las normativas existentes en el país respecto al uso regulado y limitado de antibióticos en la producción acuícola, se recomienda el cumplimiento de estas y enfatizar en las buenas prácticas higiénicas en el procesamiento, elaboración y manipulación de los alimentos.

Por todo lo expuesto se evaluó la resistencia a betalactámicos en enteropatógenos aislados en ensaladas de perros calientes de las ventas ambulantes en la Ciudad de Maracay, Edo. Aragua debido a que la resistencia de los antibióticos es una de las mayores amenazas a nivel mundial que existe para la salud. Esta investigación permitió realizar un

análisis microbiológico en ensaladas ralladas de perros calientes, determinando la carga de Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales y Termotolerantes como indicadores de la calidad microbiológica y de contaminación fecal durante el proceso de elaboración y conservación de las mismas, proporcionando así información de utilidad en el diseño e implementación de las estrategias que aseguren la calidad de estos productos en diferentes establecimientos de comida y así garantizar al consumidor un producto de calidad higiénica y nutricional; además fue útil evaluar la resistencia a betalactámicos debido que es un problema global de epidemiología compleja, adecuado para un enfoque amplio e integrado de “Una Sola Salud”.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la resistencia a betalactámicos de enteropatógenos aislados en ensaladas para perros calientes en Maracay - Edo. Aragua 2023.

Objetivos Específicos

- Cuantificar la carga de bacterias mesófilas, coliformes totales y termotolerantes presentes en ensaladas para perros calientes.
- Determinar la presencia de *Klebsiella pneumoniae* y otros enteropatógenos de importancia clínica aislados en ensaladas para perros calientes.
- Detectar el patrón de resistencia a betalactámicos en *Klebsiella pneumoniae* y otros enteropatógenos aislados en ensaladas para perros calientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación

La investigación fue de tipo descriptiva pues implicó observar y describir el comportamiento de un fenómeno sin influir sobre él de ninguna manera, donde se pudo evaluar la resistencia a betalactámicos de enteropatógenos aislados en ensaladas para perros calientes en ventas ambulantes en Maracay – Edo. Aragua. También fue de tipo transvesal, porque se evaluó un resultado a través de un intervalo de tiempo comprendido entre los meses de Marzo hasta Mayo del año 2023, donde se analizó y observó de manera secuenciada la evolución de los resultados; de igual forma se consideró una investigación no experimental, puesto que estuvo basada en el estudio de variables, sucesos o contextos que se dieron sin la intervención directa del investigador, es decir, se evaluó directamente la ensalada rallada del perro caliente sin esta ser manipulada por el investigador.

Población y muestra

La población estuvo formada por los vendedores ambulantes ubicados en el casco central de la Ciudad de Maracay, Edo. Aragua. Dicho sector estuvo esquematizado por la Calle Sánchez Carrero, Calle Vargas y Calle Libertad (Latitud norte: 10.252088, Longitud Oeste: 67606670). Se hizo un recorrido de estas calles enumerándose cada vendedor para evaluar el número de puestos ambulantes de perros calientes, se seleccionaron al azar 4 puestos de ventas ambulantes y se realizaron 9 muestreos con un intervalo

de tiempo de 7 días, obteniendo un total de 36 muestras de ensaladas de perros calientes. La unidad de análisis de esta investigación estuvo representada por las ensaladas ralladas de perros calientes que se adquirieron a través de un muestreo no probabilístico intencional en dichos puestos de perros calientes. Tomando en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- Criterios de Inclusión: Ensaladas ralladas para perros calientes expendidos en ventas ubicados en el casco central de la Ciudad de Maracay, Edo. Aragua. por la Calle Sánchez Carrero, Calle Vargas y Calle Libertad.
- Criterios de Exclusión: Ensaladas cocidas, ensaladas cesar, vendedores ambulantes que no están ubicados en el casco central de la Ciudad de Maracay, Edo. Aragua. por la Calle Sánchez Carrero, Calle Vargas y Calle Libertad.



Latitud norte: 10.252088 / Longitud Oeste: 67606670

Fuente: (Google Maps, 2023).

Figura 1. Vista aérea de la ubicación de las ventas ambulantes en las zonas seleccionadas del centro de Maracay, estado Aragua.

Universo y tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se determinó utilizando la fórmula para la estimación de una proporción absoluta (Wayne, 1995).

La cual emplea la siguiente fórmula: $Z^2 \cdot P \cdot (1-P)/d^2$ en donde:

$$n: Z^2 \cdot p \cdot q/d^2$$

n = Tamaño de la muestra.

Z = Valor de Z crítico, calculado en las tablas del área de la curva normal. Llamado también nivel de confianza. **(1.96 = nivel de confianza 95%).**

p = Proporción aproximada del fenómeno en estudio en la población de referencia. ***Escherichia coli* (2,4% = 0,024)** (Rios, 2018).

q = Proporción de la población de referencia que no presenta el fenómeno en estudio (1 -p). La suma de la p y la q siempre debe dar 1. Por ejemplo, si p= 0.8 q= 0.2. ***Escherichia coli*: 0,976.**

d = Nivel de precisión absoluta. Referido a la amplitud del intervalo de confianza deseado en la determinación del valor promedio de la variable en estudio. **(0,05 = 95% de precisión).**

De esta forma, tenemos lo siguiente para *Escherichia coli*

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot (0,024) \cdot (0,976)}{(0,05)^2}$$

n = 36 muestras.

Técnica e instrumento de recolección de datos

Se adquirieron aproximadamente 50 g de cada una de las ensaladas seleccionadas al azar. Se escogieron aleatoriamente cuatro puestos de ventas ambulantes que fueron designados con las letras A, B, C y D respectivamente. Las ensaladas se compraron con un intervalo de tiempo de 7 días en cada uno de los puestos de ventas ambulantes y fueron recolectadas por separado en bolsas plásticas estériles, evitando la manipulación directa por parte del expendedor a través de la inversión de las bolsas recolectoras. Las ensaladas fueron procesadas según lo establecido en la Norma COVENIN N° 1126-89 para muestras sólidas.

Procedimiento experimental

Se pesaron 25 g de cada ensalada rallada de repollo con zanahoria en una Balanza Granataria Marca Ohaus de 2.610 gramos y se colocaron en una bolsa plástica estéril por cada mercado. Posteriormente se adicionaron 225 mL de agua peptonada al 0,1% y se incubó por 24 horas a 37°C,

tomándose la solución resultante como una dilución 1:10, a partir de la cual se prepararon diluciones 1:10³ y 1:10⁵, empleando el mismo diluyente.

Recuento de Mesófilos Aerobios, Coliformes Totales y Coliformes Termotolerantes

Una vez preparadas las diluciones se procedió la determinación de Mesófilos Aerobios (MA) mediante la técnica de vertido en placa que se basó en contar las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en un gramo de muestra, y se siguieron las especificaciones de la Norma COVENIN N° 902-87 para la determinación de bacterias aerobias en alimentos, se colocó 1 mL de las diluciones en placas de Petri estériles y se añadió a cada placa de 12 a 15 mL del medio de cultivo Agar Nutritivo previamente fundido. Estas placas se mezclaron y se dejaron solidificar sobre una superficie plana. No transcurriendo más de 20 minutos desde el momento de la preparación de la dilución hasta el agregado del medio de cultivo.

Estas placas se incubaron 24 a 48 horas a 32 °C en una Incubadora Shaker Marca New Brunswick Scientific CO., INC. Y una vez finalizado el periodo de incubación, con la ayuda de un cuenta colonias o en su defecto, un lente de aumento, se contaron todas las colonias, incluyendo las que se observaron con pequeños puntos y se anotó la dilución correspondiente.

- Si las placas de todas las diluciones tuvieron más de 300 colonias, se seleccionaron aquellas que tuvieran el valor más cercano a 300.

- Si las placas de todas las diluciones tuvieron menos de 300 colonias, se seleccionaron aquellas que tuvieran el valor más cercano a 30.
- El número de colonias promedio de las dos placas de una misma dilución se multiplicó por la dilución correspondiente y este resultó ser el resultado final.
- Si las placas de dos diluciones decimales consecutivas presentaron entre 30 y 300 colonias se multiplicaron cada recuento por la dilución correspondiente, se estableció el promedio y este fue el resultado final. Si el recuento más alto fue superior a dos veces el más bajo, se descartaron y se tomaron como resultado el valor más bajo.

Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia por gramo de muestra (UFC/g), multiplicándolo por la dilución correspondiente.

La detección de los Coliformes Totales (CT) y Coliforme Termotolerantes (CTe) en las muestras utilizadas, se realizaron siguiendo los parámetros establecidos en la Norma COVENIN N°1086-84 1ra revisión, se colocó 1 mL de la muestra o sus diluciones en cada placa de Petri, se agregaron a cada placa de 12 a 15 mL de agar Violeta Rojo Bilis previamente fundido, se mezcló convenientemente y se dejó solidificar por 8 o 10 minutos sobre una superficie plana. Una vez solidificado el agar se cubrió con 3 a 4 mL del mismo medio para formar una doble capa. Luego, se invirtieron las placas e incubaron a 37 °C los Coliformes Totales y a 42°C los Coliformes Termotolerantes en una Incubadora marca Labnet International, Inc. Finalizado el periodo de incubación, se seleccionaron las placas que contuvieran no más de 150 colonias, con la ayuda de un cuenta colonias o

en su defecto, un lente de aumento, se contaron como Coliformes las colonias de color rojo oscuro que tuvieron un diámetro no menor de 0,5 mm. El número de unidades formadoras de colonias características, obtenido para cada dilución, se multiplicó por el factor de dilución correspondiente, se promediaron los resultados y el valor final se expresó en unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

Identificación de *Klebsiella pneumoniae* y otros enteropatógenos de importancia clínica

Para el aislamiento e identificación de *Klebsiella pneumoniae* y otros enteropatógenos de importancia clínica se procedió según la Norma COVENIN N° 1126-89 1ra revisión, se pesaron 25g de cada una de las ensaladas para perros calientes en bolsas de polietilenos estériles, previamente tarados. Se añadieron 225 mL de agua peptonada al 0,1% y se incubó por 24 horas a 37°C. Luego, se realizaron las siembras en los agares MacConkey, Salmonella-Shigella y Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) con la dilución 10³. Posterior a las 24 horas se transfirió una asada del medio de enriquecimiento a los agares correspondientes de las pruebas bioquímicas entre las que estaban Citrato, Kliger, LIA, MIO y Urea, donde fueron incubados a 35-37°C por un período de 24 horas. Luego de la incubación se observaron los resultados de las pruebas bioquímicas de *Klebsiella* y otros enteropatógenos de importancia clínica. Al final, se tomaron al azar dos colonias de *Klebsiella pneumoniae* y se les probó la resistencia a betalactámicos.

Detección fenotípica de la resistencia mediante el Método de difusión en agar (Kirby-Bauer)

Para detectar la resistencia a betalactámicos en los enteropatógenos aislados, se evaluó a través del método de difusión en disco (Kirby-Bauer) a las cepas de importancia clínica y epidemiológica. Tomándose a partir de una suspensión del aislamiento y con una densidad bacteriana equivalente a un patrón de McFarland 0,5, se inocularon placas con agar Mueller-Hinton. Sobre el agar se colocaron los discos de antibióticos recomendados como primera elección para el orden *Enterobacterales* según el “Clinical and Laboratory Standard Institute” (CLSI). Se evaluaron los siguientes antibióticos: amoxicilina/clavulánico (AMC/30µg), aztreonam (ATM/30µg), ampicilina/sulbactam (SAM/10/10µg), cefepime (FEP/30µg), ceftazidima (CAZ/30µg), ceftriaxona (CRO/30µg), amikacina (AN/30µg), gentamicina (GM/10µg), ciprofloxacina, (CIP/5µg), levofloxacina (LEV/5µg), imipenem (IMP/10µg), meropenem (MEM/10µg), cefazolina (CZ/30µg), trimetoprima/sulfametoxazol (SXT/1,25/23,75µg), piperacilina-tazobactam (TZP/100/10µg). Fueron usados los aislados de *Escherichia coli* (ATCC: 25922 y ATCC: 35218) como controles en las pruebas de sensibilidad.

Se ubicaron los discos de sensibilidad sobre el agar Mueller-Hinton, según las metodologías descritas por Famiglietti, et al., (2005), para la detección del fenotipo BLEE se usó la sinergia de doble disco, colocando un disco de amoxicilina/clavulánico enfrentado (distancia de 25 mm) a las cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima, ceftriaxone). El fenotipo positivo se determinó, luego de la incubación a 35 °C/ 18 h, por la aparición de ampliación de halo entre los dos discos. Como cepa control positivo se usó la cepa de *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603 y como control negativo la cepa *Escherichia coli* ATCC® 25922. El fenotipo AmpC, se

determinó colocando, a una distancia de 25 mm, un disco de la cefalosporina de tercera generación, ceftazidima, enfrentado a imipenem. Se incubó la placa a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18/24h. La presencia de betalactamasas tipo AmpC se definió para todo aislado que presentó un achatamiento en el halo de inhibición entre el disco de la cefalosporina utilizado y cualquiera de los discos de carbapenem. En los aislados sospechosos de adquisición plasmídica de la enzima AmpC (en ausencia del fenotipo BLEE), ésta se evaluó fenotípicamente, a través de sinergia entre un disco de AFB y colocando a ambos lados, un disco de cefoxitin y uno de cefotaxima, incubándose la placa a $35^{\circ}\text{C}/18\text{ h}$. La aparición de ampliación de halo entre el AFB y cualesquiera de los dos discos se consideraron positivo para el fenotipo.

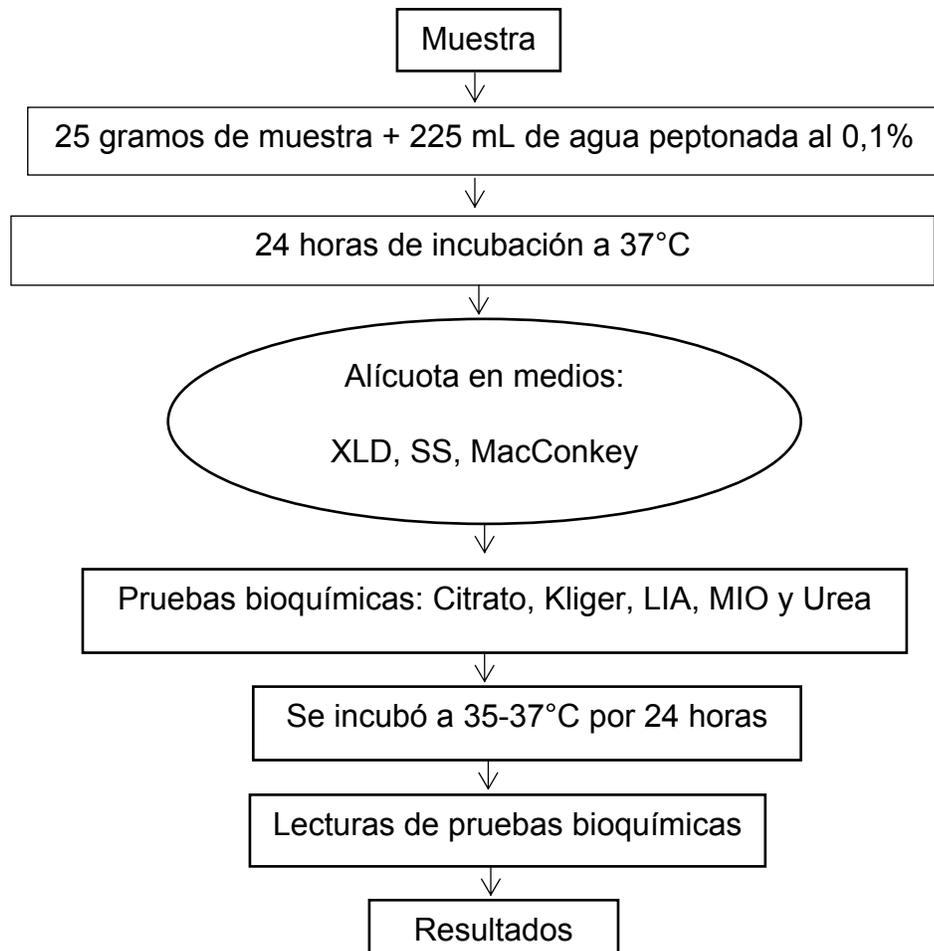


Figura 2. Investigación de *Klebsiella pneumoniae* y otros enteropatógenos de importancia clínica.

Análisis de datos

Se empleó el método de la estadística descriptiva donde los datos fueron caracterizados, organizados y expresados en valores absolutos, utilizándose la media aritmética para obtener los valores promedios de cada prueba que se realizó a tres muestras de cada establecimiento, se registraron y representaron en una tabla.

RESULTADOS

Los valores obtenidos en este estudio se expresaron en (UFC/g), para cada uno de los indicadores entéricos analizados los cuales se utilizaron como referencia para evaluar la calidad e higiene de las ensaladas anallizadas.

En la tabla 1 se muestran los recuentos de Mesófilos Aerobios expresados en Unidades Formadoras de Colonias presentes en un gramo de muestra, observándose que dichos recuentos se encontraron entre 10^4 a 10^7 UFC/g en todos los puestos ambulantes, siendo el puesto C el que obtuvo los recuentos más elevados.

Tabla 1. Recuento de Mesófilos Aerobios (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expendidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023.

Clase (UFC/g)	Puesto A		Puesto B		Puesto C		Puesto D	
	F	%	F	%	F	%	F	%
10^4 - 10^5	5	55,6	6	66,7	3	33,3	4	44,4
10^5 - 10^6	4	44,4	2	22,2	4	44,4	4	44,4
10^6 - 10^7	0	0	1	11,1	2	22,2	1	11,1
Total	9	100	9	100	9	100	9	100

UFC/g: Unidades Formadoras de Colonias presentes por gramo de muestra.

F: Frecuencia

%: Porcentaje

En la figura 3 se observó el comportamiento de los recuentos de Mesófilos Aerobios en los cuatro puestos ambulantes evaluados, denotándose una variabilidad marcada en los diferentes muestreos y en cada uno de los puestos, siendo los puestos A y C quienes presentaron mayores niveles de recuentos de Mesófilos Aerobios durante ese período de tiempo, mientras que el puesto B obtuvo la menor carga bacteriana.

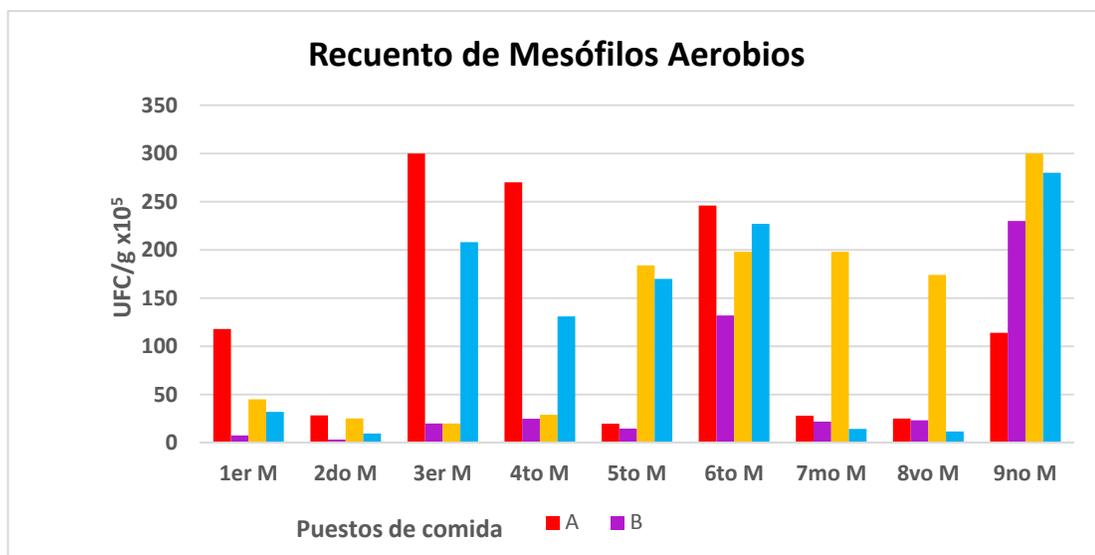


Figura 3. Comportamiento de recuentos de Mesófilos Aerobios (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua durante el período Marzo-Mayo del año 2023.

La tabla 2 muestra el contaje de Coliformes Totales obtenidos en la investigación, observándose que de todos los puestos analizados el puesto C presentó los valores más elevados de Coliformes Totales. Así como se pudo demostrar la presencia de Coliformes Termotolerantes en todas las muestras analizadas, tal cual se muestra en la tabla 3, donde también se denota que el puesto B fue el que obtuvo recuentos más altos de este tipo de bacterias y el puesto A los recuentos más bajos.

Tabla 2. Coliformes Totales (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023.

Clase (UFC/g)	Puesto A		Puesto B		Puesto C		Puesto D	
	F	%	F	%	F	%	F	%
10^3-10^4	1	11,1	0	0	0	0	1	11,1
10^4-10^5	4	44,4	6	66,7	0	0	3	33,3
10^5-10^6	4	44,4	3	33,3	9	100	5	55,6
10^6-10^7	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	9	100	9	100	9	100	9	100

UFC/g: Unidades Formadoras de Colonias presentes por gramo de muestra.

F: Frecuencia

%; Porcentaje

Tabla 3. Coliformes Termotolerantes (UFC/g) en muestras de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023.

Clase (UFC/g)	Puesto A		Puesto B		Puesto C		Puesto D	
	F	%	F	%	F	%	F	%
0-10	0	0	0	0	0	0	0	0
10-10 ²	3	33,3	0	0	0	0	0	0
10 ² -10 ³	3	33,3	7	77,8	6	66,7	5	55,6
10 ³ -10 ⁴	3	33,3	1	11,1	3	33,3	3	33,3
10 ⁴ -10 ⁵	0	0	1	11,1	0	0	1	11,1
Total	9	100	9	100	9	100	9	100

UFC/g: Unidades Formadoras de Colonias presentes por gramo de muestra.

F: Frecuencia

%; Porcentaje

En la tabla 4 se evidenció que hubo gran número de microorganismos aislados, siendo el más común *Klebsiella pneumoniae* y el de mayor relevancia clínica *Aeromonas* spp., siendo este un microorganismo altamente patógeno causante de gastroenteritis pudiendo producir infecciones extraintestinales.

Tabla 4. Principales microorganismos aislados en muestras de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023.

Microorganismos aislados	Puesto A		Puesto B		Puesto C		Puesto D		Total	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	22,2	2	16,7	6	28,6	5	35,7	17	26,2
<i>Acinetobacter</i> spp.	0	0	0	0	2	9,5	0	0	2	3,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	1	4,8	0	0	1	1,5
<i>Citrobacter freundii</i>	2	11,1	1	8,3	2	9,5	0	0	5	7,7
<i>Pseudomonas putida</i>	2	11,1	3	25	1	4,8	1	7,1	7	10,8
<i>Serratia marcescens</i>	1	5,6	0	0	0	0	1	7,1	2	3,1
<i>Pantoea aglomerans</i>	0	0	1	8,3	1	4,8	1	7,1	3	4,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5,6	1	8,3	2	9,5	0	0	4	6,2
<i>Citrobacter koseri</i>	1	5,6	0	0	0	0	1	7,1	2	3,1
<i>Morganella morganii</i>	1	5,6	0	0	1	4,8	0	0	2	3,1
<i>Escherichia coli</i>	1	5,6	1	8,3	1	4,8	0	0	3	4,6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	1	4,8	2	14,3	3	4,6
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1	5,6	0	0	0	0	0	0	1	1,5
<i>Aeromonas</i> spp.	1	5,6	0	0	0	0	1	7,1	2	3,1
<i>Proteus vulgaris</i>	1	5,6	1	8,3	0	0	0	0	2	3,1
<i>Providencia stuartii</i>	0	0	1	8,3	1	4,8	0	0	2	3,1
<i>Pantoea</i> spp.	0	0	0	0	1	4,8	0	0	1	1,5
<i>Proteus mirabilis</i>	1	5,6	1	8,3	1	4,8	1	7,1	4	6,2
<i>Candida krusei</i>	1	5,6	0	0	0	0	0	0	1	1,5
<i>Providencia alcalifaciens</i>	0	0	0	0	0	0	1	7,1	1	1,5
Total	18	100	12	100	21	100	14	100	65	100

F: Frecuencia

‰: Porcentaje

A través del método de difusión en disco (Kirby-Bauer) se evaluó la presencia de mecanismos de resistencia a betalactámicos tales como: Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE), Carbapenemasas y Monofosfato de Adenosina Cíclico (AmpC), encontrándose solo tres cepas productoras de AmpC del total de muestras analizadas.

Tabla 5. Mecanismo de resistencia antimicrobiano en enteropatógenos aislados en muestras de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua 2023.

Mecanismo de resistencia: AmpC	F	%
- <i>Aeromonas</i> spp.	2	33.33
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	4	66.67
Total	6	100

F: Frecuencia

#: Porcentaje

DISCUSIÓN

La calidad microbiológica de los alimentos es evaluada comúnmente a través de los microorganismos que están presentes en ellos. Muchos microorganismos pueden ser empleados para determinar la calidad de un alimento. Los Mesófilos Aerobios se consideran uno de los indicadores microbiológicos de calidad más frecuentemente utilizado. El recuento de estas bacterias brinda información sobre la alteración incipiente de los alimentos, su probable vida útil, la descongelación incontrolada o fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración. Estos microorganismos están presentes en alimentos almacenados a temperatura ambiente o bajo refrigeración cuando se ha roto la cadena de frío. Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario (Alonso y Poveda, 2008).

En la presente investigación se evaluó la calidad microbiológica de ensaladas para perros calientes expandidas en puestos ambulantes en la Ciudad de Maracay – Edo. Aragua. Para ello se determinó el recuento de Mesófilos Aerobios obteniendo en cada uno de los muestreos recuentos que sobrepasaron los límites permisibles para este tipo de alimento ($< 150 \times 10^3$ UFC/g) según (Grupo Pachuca, 2012) y (Ramos, 2017), por lo que se demostró que el 100% de las muestras analizadas presentaron una calidad microbiológica insuficiente para el consumo humano. Estas cifras elevadas de Mesófilos Aerobios (en el rango de 10^4 - 10^7 UFC/g), reflejan que en estos establecimientos no se implementan buenas prácticas de manufactura, desinfección inefectiva, manipulación continua durante su procesamiento; aumentando la posibilidad de la rápida proliferación de las bacterias durante su almacenamiento.

Resultados inferiores fueron obtenidos por Déleg y López (2019), estos investigadores obtuvieron recuentos de Mesófilos Aerobios en el 28,5% de las 42 muestras analizadas; se obtuvieron recuentos mínimos y máximos entre $10^2 - 10^4$ UFC/g en las ensaladas preparadas para el consumo.

Del mismo modo, Gil et al., (2010), analizaron dos mercados y obtuvieron resultados superiores para Mesófilos Aerobios entre $10^5 - 10^{10}$. Dichos investigadores concluyeron que es de vital importancia el lavado de las frutas frescas de concha comestible antes de ingerirlas, puesto que estas pueden llegar a presentar altos niveles de contaminación.

Simultáneamente, en esta investigación se obtuvieron recuentos de Coliformes Totales (10^3 - 10^6 UFC/g) y Coliformes Termotolerantes (10^1 - 10^5 UFC/g) ambos siendo mayor a 100 UFC/g, superando los límites permisibles (Grupo Pachuca, 2012) y (Ramos, 2017), en el 100% de las muestras analizadas; lo que puso en evidencia la contaminación fecal de todas las muestras de dicho estudio, ya que estas bacterias Coliformes son sugestivas de contaminación reciente con excretas de humanos o animales puesto que son específicas de la microbiota que coloniza el tracto intestinal de los mismos.

Resultados obtenidos por Alvarado (2020), consiguió Coliformes Totales con un grado de contaminación de 10^3 UFC/g y Coliformes Termotolerantes $>10^2$ UFC/g representando un alto riesgo para la población. Dicho investigador concluye que el 100% de las 48 muestras analizadas obtuvieron resultados que superan los límites permisibles, siendo menores lo de dicho investigador comparados con la presente investigación.

Desafortunadamente estos resultados ponen en evidencia la carencia de higiene y el incumplimiento de las normas mínimas de salubridad durante la elaboración de estas ensaladas que se emplean a su vez en la preparación de perros calientes expendidos en estos puestos ambulantes.

Esto aunado a la falta de conocimientos de los vendedores acerca de las prácticas correctas de manipulación y preparación de los alimentos, así como la falta de control sanitario por parte de las autoridades pertinentes; dos factores que representan un riesgo potencial para la salud de los consumidores debido a que la presencia de bacterias patógenas contaminantes de las ensaladas pueden ser causantes de serios problemas de salud.

Con referencia a los resultados obtenidos de los microorganismos mayormente aislados, debemos tener en cuenta que numerosas enfermedades de origen alimenticio pueden causar infecciones intestinales. Los patógenos intestinales capaces de provocar un síndrome diarreico pueden ser bacterias, virus, hongos, protozoos y helmintos. Las bacterias solamente son responsables de un bajo porcentaje de gastroenteritis. Sin embargo, muchos pueden ser inactivados por la cocción y otros pueden minimizarse con prácticas adecuadas en la manipulación y almacenaje de los alimentos (higiene, temperatura, tiempo y otras prácticas) (OPS, 2016).

En el presente trabajo, se demostró que el enteropatógeno de mayor relevancia clínica aislado fue *Aeromonas* spp., con una frecuencia de 2 aislamientos de 36 muestras analizadas representando un 3,1%. Estos microorganismos son bacilos gram-negativos ubicuos en ambientes naturales que pueden causar infecciones clínicas intestinales y extraintestinales, principalmente en pacientes comprometidos inmunológicamente. Este microorganismo últimamente ha sido reportado con una frecuencia elevada en individuos con diarrea, ocupando el primer o segundo lugar entre los patógenos entéricos bacterianos más prevalentes, tanto en niños como en adultos. Por otra parte, su papel enteropatógeno ha sido ampliamente debatido, a pesar de que en estos microorganismos se ha descrito una variedad de factores de virulencia, los cuales podrían participar en la

patogénesis tanto de las infecciones sistémicas como de las infecciones intestinales que se le atribuyen. Entre tales factores se encuentran enzimas extracelulares (DNAsa, gelatinasa, proteasas, hemolisinas), además de citotoxinas, enterotoxinas, hemaglutininas y otros, que le confieren al microorganismo el potencial para invadir, adherirse y lesionar los tejidos del hospedador. Algunos estudios que documentan la importancia de *Aeromonas* spp. como patógeno intestinal demuestran que, en algunas regiones, la frecuencia de estos microorganismos puede ser similar, o inclusive superior, a la de los enteropatógenos convencionales como *Salmonella* y *Shigella* (Rincón, et al., 2016).

Moncada y Morales (2017), estudiaron 10 locales y por cada uno analizaron 10 muestras en total, entre los vegetales se encontraban espinaca, perejil y cilantro; El resultado del análisis fue negativo para *Aeromonas* spp. debido a que el microorganismo en las muestras analizadas no fue detectado, estos resultados difieren con la presente investigación donde si hubo aislamientos de *Aeromonas* spp. en las muestras analizadas.

Por otra parte, en dicha investigación se evidenció un elevado recuento de *Klebsiella pneumoniae*, siendo esta la especie con el mayor número de aislamientos (17 aislamientos dentro del total de 36 muestras analizadas, representando un 26,2%), este microorganismo desempeña un importante papel como causa de las enfermedades infecciosas oportunistas, pudiendo provocar distensión abdominal, flatulencia, diarreas agudas y fatiga.

Huete y Brenes (2018), lograron identificar *Klebsiella pneumoniae* en 3/30 muestras (10%), seguida de *Escherichia coli* en 1/30 muestras (3%) y no lograron aislar *Salmonella* spp. Estos resultados difieren con la presente investigación ya que su número de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*

fue menor a los nuestros; sin embargo, dicho estudio tiene similitud con este, puesto que el microorganismo mayormente aislado en su investigación también fue *Klebsiella pneumoniae*. Concluyendo que este Coliforme recientemente ha estado en el punto de mira de toda la comunidad sanitaria, siendo una bacteria multirresistente responsable de un gran número de infecciones intrahospitalarias.

También, se aisló *Pseudomonas putida* con una frecuencia de 7 aislamientos de un total de 36 muestras analizadas, representando el 10,8% y *Pseudomonas aeruginosa* con una frecuencia de 4 aislamientos, representando el 6,2%. Este elevado recuento resulta importante, considerando el hecho de que si en un alimento se detecta la presencia de *Pseudomonas* spp. podría provocar en la población, sobre todo en la más susceptible (niños, embarazadas y adultos mayores), enfermedades gastrointestinales que podrían incluso causar la muerte (Díaz et al., 2022).

Los resultados de Delgado y Morales (2015), resultaron superiores comparados con dicha investigación. Ellos seleccionaron 10 marcas comerciales de agua envasada, obtenidas en distintos puntos de venta analizando un total de 50 muestras de aguas envasadas, de las cuales 2 muestras (8%) resultaron positivas, es decir, contenían dicha bacteria a evaluar, lo cual lo cual garantiza un inadecuado proceso de purificación.

Así mismo, en este estudio se aisló *Escherichia coli* con un número de 3 aislamientos, representando el 4,6% del total de las muestras analizadas. Esta bacteria puede causar enfermedades graves como diarrea, infecciones urinarias, problemas respiratorios e infecciones del torrente sanguíneo dado que posee propiedades colonizadoras, enterotóxicas, citotóxicas o de virulencia invasiva, en ocasiones asociada a la aparición del síndrome hemolítico-urémico (Saborío et al., 2019).

Estos resultados difieren a los obtenidos por Mejía (2018), que determinó coliformes totales, *Escherichia coli* en muestras de lechugas, obteniendo 2,5% (2/80) de *Escherichia coli* de un total de 80 lechugas analizadas. A pesar de la baja contaminación, la presencia de indicadores de contaminación fecal sugiere que las muestras podrían tener una inadecuada calidad microbiológica, representando una fuente de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), si la contaminación no es controlada.

En el presente estudio, se encontró la presencia de un mecanismo de resistencia AmpC (resistencia intrínseca) en cepas de *Aeromonas* spp. con un 33.33% (2/36 muestras) y *Pseudomonas aeruginosa* con un 66.67% (1/36 muestras) del total de bacterias con mecanismos de resistencia presentes.

El género *Aeromonas* spp. ha retomado cada vez más importancia debido a su amplia distribución, su capacidad de propagar la resistencia a los antibióticos de un tipo de bacteria a otro y presentar nuevas resistencias a antimicrobianos. Las bacterias adquieren variabilidad genética con la transferencia horizontal de ADN, en consecuencia, presentan nuevos fenotipos como la resistencia a antibióticos, la patogenicidad, la simbiosis y la capacidad de metabolizar nuevos sustratos; además contribuye en su evolución y adaptación a distintos ambientes (Montes et al., 2023).

De esta manera, Chávez (2020), obtuvo un total 40% (12/30 muestras) positivo para aislamiento de *Aeromonas* spp. y por medio de la técnica de difusión en agar o método de Kirby-Bauer se determinó una sensibilidad variable de las muestras positivas de *Aeromonas* spp. mostrando un resistencia intrínseca (AmpC) en todos los aislamientos.

Pseudomonas aeruginosa puede producir una diversidad de β -lactamasas, algunas de las cuales están codificadas por genes cromosómicos y otras son transportadas por elementos genéticos móviles,

como plásmidos y transposones. La resistencia asociada a β -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* depende también de la eficacia de penetración del fármaco, la capacidad de este patógeno para minimizar la acumulación del fármaco en el espacio periplásmico mediante bombas de expulsión y los efectos cooperativos de diferentes β -lactamasas dentro de la misma célula (Espinoza y Esparza, 2021).

Resultados similares obtuvieron Rojas et al., (2014), en agua embotellada en Venezuela que consiguieron 16 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* de las cuales todas eran productoras de AmpC, esto se correlaciona con esta investigación ya que los 4 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* que representaron el 66.67% fueron también productores de AmpC.

De las 17 cepas evaluadas de *Klebsiella pneumoniae* no hubo ningún mecanismo de resistencia enzimático (Ampc, BLEE, Carbapenemasas) y tampoco mecanismos de resistencia no enzimáticos.

Ruiz et al. (2018), obtuvieron resultados similares ya que tampoco consiguieron mecanismos de resistencia en *Klebsiella pneumoniae* pero sí en *Escherichia coli*. Los resultados mostraron la presencia de *Escherichia coli* productor de BLEE en 19/32 (59,4%) muestras de pollo, no se detectó la presencia de BLEE en las muestras de carne de vacuno. Mientras que AmpC sólo estuvo presente en tres muestras: 2/32 (6,2 %) en muestras de pollo y 1/20 (5,0 %) en muestras de vacuno.

La presente investigación difiere con los resultados obtenidos por Fernández (2021), quien consiguió mecanismos de resistencia enzimáticos tipo BLEE de *Klebsiella pneumoniae* en el 46,15%, es decir, 6 de 13 muestras analizadas de alimentos cárnicos. Además, encontró que las cepas de *Klebsiella spp.* presentaron un comportamiento cepa-dependiente con

respecto a la capacidad de formación de biopelícula, no asociado a un perfil de antibiorresistencia determinado.

Se pone en evidencia la poca higiene y la elevada contaminación existente en las ensaladas de perros calientes que se expenden en los puestos ambulantes, esto se debe a múltiples factores entre los que destacan: inadecuada higiene del personal que labora, prácticas higiénicas erróneas en la manipulación y servicio de los alimentos. Por otra parte también se encuentra asociado el hecho de que los puestos ambulantes no cumplen con las normas mínimas de saneamiento ya que tienen utensilios contaminados, disposición inadecuada de basura y desinfección deficiente. Es necesario implementar un sistema de vigilancia epidemiológica, ejercer un control microbiológico y ambiental periódico en los puestos ambulantes, con el fin de mejorar la calidad sanitaria de los puestos y de los productos, para el resguardo de la salud del consumidor.

CONCLUSIONES

- El 100% de las muestras analizadas sobrepasaron los límites permisibles para la determinación de Mesófilos Aerobios, presentando una calidad microbiológica insatisfactoria para el consumo humano.
- En la determinación de Coliformes Totales obtuvieron un contaje superior a 10^3 UFC/g incumpliendo el límite permisible para estos alimentos, representando el 100% del total de las muestras analizadas.
- El recuento de Coliformes Termotolerantes demostró que el 100% de las ensaladas superan los límites, considerando como normal “cero” para este tipo de alimento, indicando contaminación fecal.
- La contaminación de las ensaladas estudiadas se evidenció además por el aislamiento de Enterobacterias indicadoras de contaminación fecal, donde la más aislada fue *Klebsiella pneumoniae* seguidas por *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, y el de mayor relevancia clínica *Aeromonas* spp., siendo este un microorganismo altamente patógeno causante de gastroenteritis pudiendo producir infecciones extraintestinales.
- Para concluir, se evidencia la elevada contaminación existente en las ensaladas no cocidas, que puede deberse a múltiples factores aumentando así las probabilidades de contaminación y representando un sustrato adecuado para la proliferación de microorganismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales, siendo este un problema global epidemiológico que se puede prevenir requiriendo un planteamiento global y optimizando de manera sostenible el enfoque de “Una Sola Salud”.

RECOMENDACIONES

- El lavado de manos se realizará:
 - Antes de comenzar a trabajar y cada vez que se interrumpe por algún motivo.
 - Antes y después de manipular alimentos crudos y cocidos.
 - Luego de manipular dinero, manipular basura o hacer uso del baño.

- Utilizar gorra, cofia o redcilla en la cabeza (imprescindible porque impide que eventuales suciedades del cabello puedan contaminar los alimentos) y guantes descartables en manos.

- Debe abstenerse de fumar, comer, probar los alimentos con el dedo y/o masticar chicle, durante la preparación de los alimentos.

- Utilizar tapabocas durante la manipulación de los alimentos.

- Evitar cocinar en los siguientes casos: si tiene alguna lesión en las manos, secreciones anormales por nariz, oídos, ojos o si presenta náuseas, vómitos, diarrea, fiebre.

- Preparación de los alimentos:
 - Los utensilios utilizados para la preparación y servido de la comida deben estar siempre en perfecto estado de limpieza.
 - Lavarlos con detergente correctamente diluido y agua caliente, procurando siempre que no queden restos de comida.
 - Cocer los alimentos a temperatura suficiente para asegurar que los microorganismos no se reproduzcan.

- Evitar la contaminación cruzada (contacto de alimentos crudos con cocidos mediante las manos del manipulador o la utilización de la misma superficie sin previa limpieza y/o utensilios de cocina).
 - Cortar la cadena de frío de los alimentos (congelados, refrigerados).
- Establecer normas de regulación local sobre la calidad microbiológica, para así asegurar la inocuidad de los vegetales frescos de consumo masivo.
- Crear programas o estrategias de forma ordenada en cada etapa de la elaboración de los alimentos para así garantizar al consumidor un producto de calidad higiénica.
- Realizar charlas dirigidas a los manipuladores o vendedores sobre la correcta manipulación de los alimentos y los factores externos que afectan la inocuidad de los mismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarador, H. (2020). Coliformes Totales y Fecales en *Lactuca sativa var. iceberg* (lechuga carola) que se expende en los mercados del Distrito de Parcona – Ica, Perú. Repositorio UNICA. Recuperado de: <https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/3583/COLIFORMES%20TOTALES%20Y%20FECALES%20EN%20Lactuca%20sativa.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (18 de Octubre de 2023).
- Alonso, L., y Poveda, J. (2008). Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas petrifilm 3mtm para el análisis de alimentos. Repositorio Javeriana. Recuperado de: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8238/tesis230.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (10 de Septiembre de 2023).
- Barbosa, G. (2012). Descripción de las condiciones higiénicas sanitarias de la venta callejera de alimentos del Parque Nacional – Bogotá D.C. Repositorio Javeriana. Recuperado de: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12016/BarbosaMunozGinaTatiana2012.pdf?sequence=1> (15 de Junio de 2022).
- Chávez, R. (2020). Aislamiento y caracterización fenotípica de *Aeromonas* spp. correlacionada con los parámetros físicos del agua y su sensibilidad a los antimicrobianos en tres sistemas acuáticos de los Andes Ecuatorianos. *uc.edu.e*. Recuperado de: <https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/0b0f2205-d5e6-47fe-99ea-7a7482022443/content> (29 de Octubre de 2023).
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1984). Norma Venezolana COVENIN 1086-84, Alimentos, métodos para recuento de bacterias Coliformes en placa de Petri, 1ra revisión. Recuperado de: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1086-84.pdf> (20 de Julio de 2022).
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1987). Norma Venezolana COVENIN 902-87, Alimentos, métodos para recuento de bacterias aerobias en placa de Petri, 2da revisión. Recuperado de: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/902-87.pdf> (20 de Julio de 2022).

- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1989). Norma Venezolana COVENIN 1126-89, Alimentos, identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico, 1ra revisión. Recuperado de: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1126-89.pdf> (20 de Julio de 2022).
- Déleg, D. y López, C. (2019). Control microbiológico de ensalada de frutas que se expende en espacios públicos de la Ciudad de Cuenca-Ecuador. UCUENCA. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/32057/1/trabajo%20de%20titulacion.pdf> (4 de Noviembre de 2023).
- Delgado, A., Sandrea, L., Bonfini, G., Higuera, Y., Ávila, Y., y Valero, K. (2018). Calidad microbiológica de ensaladas crudas que se expenden en puestos ambulantes de comida rápida de la Ciudad de Maracaibo-Venezuela. *KASMER*. 46(2): 116–126. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/journal/3730/373061528003/html/> (1 de Abril de 2022).
- Delgado, S., y Morales, F. (2015). Detección de *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias heterótrofas de agua envasadas en botellas y bolsas destinadas al consumo humano, comercializadas en la Ciudad de Managua - Nicaragua en el período Diciembre 2014 a Enero 2015. *Repositorio UNAN*. Recuperado de: <https://repositorio.unan.edu.ni/1029/1/58359.pdf> (5 de Noviembre de 2023).
- Díaz, S., Mora, C., Río, L., y Vidal, P. (2022). Tratamiento de las infecciones graves por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente. *ScienceDirect*. 46(9): 508-520. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0210569122001036> (15 de Octubre de 2023).
- Espinoza, D., y Esparza, G. (2021). Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. *Revista Chilena de Infectología*. 38(1): 69-80. Recuperado de: <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182021000100069> (18 de Octubre de 2023).
- Famiglietti, A., Quinteros, M., Vázquez, M., Marín, M., Nicola, F., Radice, M., Galas, M., Pasterán, F., Bantar, C., Casellas, J. M., KovenskyPupko, J., Couto, E., Goldberg, M., Lopardo, H., Gutkind, G., y Soloaga, R. (2005). Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en *Enterobacteriaceae*. *Revista Argentina de Microbiología*. 37(1): 57-66. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/comocitar.ou?id=213016778008>(16 de Febrero de 2023).

- Fernández, R. (2021). Caracterización de antibiorresistencias y formación de biopelícula en cepas de *Klebsiella* spp. de origen alimentario y clínico. *Repositorio USC*. Recuperado de: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/30406/2021_TFG_Veterinaria_Fernandez_Caracterizacion.pdf?sequence=1&isAllowed=y (21 de Octubre de 2023).
- García, T., Castillo, A., y Salazar, D. (2014). Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gramnegativas. *Revista Cubana de Salud Pública*. 40(1): 129-135. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662014000100013&lng=es&tlng=es. (30 de Julio de 2022).
- Gentili, A., Marzocca, M., Oriani, A., y Baldini, M. (2017). Calidad bacteriológica de ensaladas de zanahoria rallada y eficacia de tratamientos previos a su consumo. *REVSALPUBNUT*, 16(1): 1-7. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2017/spn171b.pdf> (31 de Octubre de 2022).
- Gil, A., Morón de Salim, Alba., y Gaesrte, Y. (2010). Calidad microbiológica en frutas de conchas comestibles expandidas en mercados populares de los municipios Valencia y San Diego, Estado Carabobo, Venezuela. *Revista SVM*. 30(1): 24-28. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562010000100006&lng=es&tlng=es. (21 de Octubre de 2023).
- Google Maps. (2023). Recuperado de: <https://www.google.com/maps/place/Centro+Comercial+Galer%C3%ADa+Plaza/@10.2526769,-67.6088912,17z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x8e803c9d2b337b57:0x8162b4a06b46b450!8m2!3d10.2526922!4d-67.6066997?hl=es> (9 de Noviembre de 2023).
- Grupo Pachuca. (2012). Límites permisibles de microorganismos en alimentos. *Universidad del Fútbol y Ciencias del Deporte*. Recuperado de: <http://www.cufcd.edu.mx/calidad/v20/documentacion/GP/GP-DO-NU-1.pdf> (10 de Septiembre de 2023).
- Guerrero, S. (2013). Calidad microbiológica de los vegetales crudos utilizados en hamburguesas que se expenden en puestos de comida rápida ambulantes del Municipio Campo Elías, del Estado Mérida. *ula.ve*. Recuperado de: <http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/42239.pdf> (2 de Marzo de 2023).

- Hamon, A., Bastides, F., y Lefort, A. (2021). Betalactámicos. *EMC - Tratado de Medicina*. 25(2): 1-7. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(21\)45119-6](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(21)45119-6) (5 de Marzo de 2023).
- Huete, M., y Brenes, P. (2018). Detección de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en alimento listo al consumo: pollo asado expendido en distintos supermercados del distrito I y V de la Ciudad de Managua, Diciembre 2017 - Enero 2018. *Repositorio UNAN*. Recuperado de: <https://repositorio.unan.edu.ni/11984/1/100305.pdf> (5 de Noviembre de 2023).
- Jiménez, H. (2021). Enfermedades transmitidas por los alimentos. *Centro Médico ABC*. Recuperado de: <https://centromedicoabc.com/revista-digital/enfermedades-transmitidas-por-los-alimentos/> (1 de Abril de 2022).
- Mejía, E. (2018). Determinación de coliformes totales, *Escherichia coli* en muestras de lechugas expendidas en mercados de la Ciudad de Loja - Ecuador. *Repositorio UNL*. Recuperado de: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/20836> (10 de Septiembre de 2023).
- Milani, E. (2020). Assessment and monitoring of saffron microbiological criteria. *Saffron*. 307–320. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818638-1.00019-8> (7 de Abril de 2022).
- Moncada, K., y Morales, M. (2017). *Aeromonas* spp. en vegetales frescos (cilantro, espinaca y perejil) que se expenden en el mercado de transferencia de víveres de la Ciudad de Guayaquil, Ecuador. *Repositorio UG*. Recuperado de: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/reduq/20143/1/BCIEQ-T-0204%20Moncada%20Osorio%20Katherine%20Lissette%3B%20Morales%20Reyes%20Marilyn%20Carolina.pdf> (5 de Noviembre de 2023).
- Montes, D., Baez, A., Venegas, B., Reyes, R., y Molina, D. (2023). Resistencia a antibióticos del género *Aeromonas*, como patógeno oportunista emergente en peces y humanos. *Revista Biomédica*. 34(2): 1-24. Recuperado de: <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v34i2.1075> (18 de Octubre de 2023).
- Organización de las Naciones Unidas (ONU). (2022). Los alimentos contaminados cuestan 420.000 vidas y 95.000 millones de dólares en pérdidas al año. *Noticias ONU*. Recuperado de: <https://news.un.org/es/story/2022/06/1509842> (22 de Julio de 2022).

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria. OMS. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths> (20 de Marzo de 2022).

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021). Resistencia a los antimicrobianos. OMS. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=%C2%BFPor%20qu%C3%A9%20es%20motivo%20de,ca pacidad%20para%20tratar%20infecciones%20comunes> (9 de Agosto de 2022).

Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2016). Inocuidad de alimentos. OPS. Recuperado de: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3A2015-peligrosbiologicos&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es (10 de Septiembre de 2023).

Puig, Y., Leyva, V., Aportela, N., Camejo, A., y Tejedor, R. (2019). Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de pescados y mariscos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 18(3): 500-512. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2019000300500&lng=es (2 de Marzo de 2023).

Puig, Y., Leyva, V., Robert, B., y Pérez, Y. (2013). Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en La Habana, 2006–2010. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 51(1): 74–83. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032013000100008#:~:text=Entre%20las%20m%C3%A1s%20frecuentes%20reconocidas, enfermedades%20pueden%20causar%20complicaciones%20 graves (15 de Junio de 2022).

Ramos, P. (2017). Contaminación Microbiológica de alimentos de alto riesgo en servicios gastronómicos de la Ciudad de Cnel. Oviedo, Caaguazu (2015 – 2016). *BVS Paraguay*. Recuperado de: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/04/1363416/informe-final-mb-als_pasionaria-ramos.pdf (20 de Octubre de 2023).

- Rincón, G., Fuenmayor, A., Castellano, M., BarrioS, R., Colina, M., y Nuñez, G. (2016). Factores de Virulencia en Cepas de *Aeromonas* spp. *KASMERIA*. 44(2): 121-133. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222016000200006&lng=es&tlng=es. (27 de Octubre de 2023).
- Rios, E. (2018). Incidencia y control de tipos patógenos de *Escherichia coli* (STEC Y EPEC) en leche de vaca y quesos derivados en Castilla y León. *unileon.es*. Recuperado de: <https://buleria.unileon.es/bitstream/10612/7957/1/Tesis%20Edson%20Rios.pdf> (24 de Noviembre de 2022).
- Rodríguez, A. (2005). Determinación de *Escherichia coli* en ensaladas a base de lechuga preparadas en restaurantes de comida rápida. *usac.edu.gt*. Recuperado de: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2278.pdf (2 de Marzo de 2023).
- Rodríguez, D., y Hernández, M. (2014). Identification methods Real-Time PCR. *Encyclopedia of FoodMicrobiology*. 344–350. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00437-7> (7 de Abril de 2022).
- Rodríguez, E., Rodríguez, C., Gamboa, M., y Arias, M. (2010). Evaluación microbiológica de alimentos listos para consumo procesados por pequeñas industrias costarricenses. *ALAN*, 60(2): 1-5. Recuperado de: <https://www.alanrevista.org/ediciones/2010/2/art-11/#:~:text=La%20calidad%20microbiol%C3%B3gica%20y%20la,de%20contaminaci%C3%B3n%20fecal%20e%20higiene%20> (6 de Abril de 2022).
- Rojas, T., Márquez, E., Lugo, R., Machado, M., Vásquez, Y., Fernández, Y., y Gil, M. (2014). Bacilos gramnegativos no fermentadores en agua embotellada: susceptibilidad antimicrobiana y formación de biopelículas. *RSVM*. 34(2): 64-69. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562014000200004&lng=es&tlng=es. (5 de Octubre de 2023).
- Ruiz, L., Martínez, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D., Ochoa, T., Ruiz, J y Pons, M. (2018). Presencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 35(3): 425-423. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000300008 (24 de Octubre de 2023).

- Saborío, I., Durán, M., y Villalobos, D. (2019). Síndrome urémico hemolítico en pediatría. *Revista Médica Sinergia*. 4(4): 55-66. Recuperado de: <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/208/479> (2 de Octubre de 2023).
- Soberon, J. (2017). Calidad microbiana y listeria monocytogenes en ensaladas expandidas en pollerías del distrito de los Olivos – Lima, Perú. *CORE*. Recuperado de: <https://core.ac.uk/download/pdf/323350812.pdf> (15 de Junio de 2022).
- Zúñiga, I., y Caro, J. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Medigraphic*. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei173e.pdf> (1 de Abril de 2022).

ANEXOS

ANEXOS A: Ensaladas ralladas de los 4 puestos de perros calientes



ANEXOS B: Mesófilos Aerobios



ANEXOS C: Coliformes Termotolerantes



ANEXOS D: Coliformes Termotolerantes



ANEXOS E: Colonias aisladas



ANEXOS F: Batería Bioquímica sin inocular (Citrato, Kligler, LIA, MIO, Urea)



ANEXOS G: Batería Bioquímica de *Klebsiella pneumoniae*



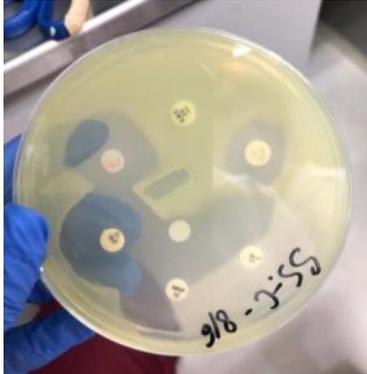
ANEXOS H: AmpC *Aeromonas* spp. (Puesto D, 9no muestreo)



ANEXOS I: AmpC *Aeromonas* spp. (Puesto A, 6to muestreo)



ANEXOS J: AmpC *Pseudomonas aeruginosa* (Puesto C, 9no muestreo)



ANEXOS K: Procesamiento (Clínica Lugo)



ANEXOS K-1: Procesamiento (Clínica Lugo)

