



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de
Licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los
mercados de Riobamba

Autora: Celia Viviana Allauca Carrillo

Tutora: Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez

Riobamba – Ecuador

2020

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Estudios de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba, presentado por la Srta. Celia Viviana Allauca Carrillo, dirigido por: la Dra. Maria del Carmen Cordovéz Martínez, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final escrito del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

Ms.C.Ximena Robalino Flores

Presidente del Tribunal

.....

Firma

Msg. Yisela Ramos Campi

Miembro del Tribunal

Firma válida solo para:
Autorizado para uso comisión de
carrera

.....

Firma

Ms.C. Celio García Ramírez

Miembro del Tribunal

Firma válida solo para:
Evidencias act.doc

.....

Firma

DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Yo, Maria del Carmen Cordovéz Martínez, docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de investigación titulado: “Estudios de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba”, propuesto por la Srta. Celia Viviana Allauca Carrillo, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a los interesados en hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



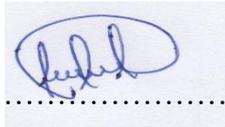
.....

Dra. Maria del Carmen Cordovéz Martínez

Docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, corresponde exclusivamente a: Celia Viviana Allauca Carrillo y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



.....
Celia Viviana Allauca Carrillo

060490507-5

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme su fuerza y apoyo en este camino arduo para cumplir una de las metas de mi vida, el obtener un título universitario.

A mi familia y en especial a mis padres, hermanos y mi sobrinito, por estar conmigo en cada decisión que he tomado. De una manera muy especial a la Dra. María del Carmen Cordovéz por el apoyo brindado en el trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, por haberme dado la oportunidad de obtener los conocimientos, adquiridos, los cuales fueron impartidos por los prestigiosos docentes de la facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico.

Viviana Allauca

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado fuerza y salud para lograr mis objetivos.

A mis padres, hermanos y mi sobrino por su apoyo moral e incondicional en cada paso que daba hacia la culminación de mis estudios y por la motivación constante para ser una persona de bien.

Viviana Allauca

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| OBJETIVOS | 5 |
| Objetivo General | 5 |
| Objetivo Específicos | 5 |
| CAPÍTULO I | 6 |
| MARCO TEÓRICO | 6 |
| Bacterias causantes de gastroenteritis transmitidas por el agua y alimentos | 8 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 8 |
| <i>Estafilococcus aureus</i> | 8 |
| <i>Enterococcus spp</i> | 9 |
| <i>Salmonella spp</i> | 9 |
| <i>Salmonella typhi</i> | 9 |
| <i>Vibrio cholerae</i> | 9 |
| <i>Shigella dysenteriae</i> | 10 |
| <i>Campylobacter</i> | 10 |
| <i>Plesiomonas shigelloide</i> | 10 |
| <i>Aeromonas spp</i> | 10 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | 11 |
| <i>Escherichia coli</i> | 11 |
| Resistencia antimicrobiana | 12 |
| Determinación de sensibilidad y resistencia en los estudios microbiológicos | 15 |
| CAPÍTULO II | 16 |
| METODOLOGÍA | 16 |
| Tipo de investigación: | 16 |
| Población y Muestra | 16 |
| Técnicas y Procedimiento | 16 |
| Procedimiento | 17 |
| Identificación del área de estudio y obtención de las muestras | 17 |
| Aislamiento e identificación de las bacterias presentes en las muestras | 17 |
| Determinación de sensibilidad y resistencia antimicrobiana de bacterias de interés clínico. | 19 |
| Procedimiento estadístico | 20 |
| Consideraciones éticas | 20 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| CAPÍTULO III | 21 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 21 |
| CONCLUSIONES | 31 |
| RECOMENDACIONES | 32 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | |
|---|----|
| Ilustración 1. Características clínicas de la diarrea..... | 7 |
| Ilustración 2. <i>Escherichia coli</i> causantes de gastroenteritis..... | 11 |
| Ilustración 3. Mecanismos básicos de acción antibiótica..... | 12 |
| Ilustración 4. Mecanismos de transferencia genética en bacteriana..... | 13 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Crecimiento bacteriano en productos agrícolas expendidos en mercados de la ciudad de Riobamba..... | 21 |
| Tabla 2. Aislados bacterianos según la coloración de Gram..... | 22 |
| Tabla 3. Aislamiento bacteriano según el producto orgánico muestreado y los mercados de la ciudad de Riobamba..... | 23 |
| Tabla 4. Distribución de las bacterias patógenas aisladas en productos orgánicos según los mercados de Riobamba..... | 23 |
| Tabla 5. Clasificación según la familia de las bacterias patógenas aisladas de productos orgánicos en los mercados de Riobamba..... | 24 |
| Tabla 6. Patrón de susceptibilidad y resistencia del género <i>Enterococcus</i> aislado de productos orgánicos de los mercados de Riobamba..... | 26 |
| Tabla 7. Patrón de susceptibilidad y resistencia de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> aislada de productos orgánicos de los mercados de Riobamba..... | 27 |

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Ficha de observación de la Toma de Muestra.

Anexo 2. Recolección de las muestras

Anexo 3. Obtención de muestras representativas del producto y pre-enriquecimiento en 225ml de Agua Peptonada.

Anexo 4. Enriquecimiento en 9ml de Agua Peptonada.

Anexo 5. Siembra de las muestras en AS, MC y CLED

Anexo 6. Identificación de género y especie

Anexo 7. Método por difusión de Kirby Bauer para medir la actividad antimicrobiana.

Anexo 8. Guía internacional. CLSI 2019 (Documento M100)

RESUMEN

A nivel mundial existe un incremento de la morbimortalidad por la ingestión de alimentos contaminados, por lo que el objetivo de este estudio es identificar bacterias patógenas al hombre, aisladas de productos orgánicos expendidos en mercados de la ciudad de Riobamba, Chimborazo, Ecuador y determinar la susceptibilidad y resistencia antimicrobiana. Trabajo de tipo descriptivo, transversal y de campo. *In situ* se compraron los productos, se registraron los datos de las condiciones físicas de las muestras e higiénicas de los mercados, mediante la ficha de observación. A los productos recolectados se les realizaron las pruebas de identificación de género y especie mediante los métodos convencionales y para la medición de la susceptibilidad y resistencia se realizó la técnica de Kirby Bauer por difusión. La Familia más aislada fue la *Enterobacteriaceae* (79,00%), representada por *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* y *Hafnia alvei*; seguida de la *Streptococcaceae* (21,00%), como único Gram positivo aislado, el género *Enterococcus*. Todos los aislamientos en cuanto a la actividad antimicrobiana presentaron buena sensibilidad y no mostraron mecanismos de resistencia. Se concluye que los productos orgánicos expendidos en estos mercados se encuentran contaminados con poblaciones bacterianas, causado esto por alguna falla desde la cosecha hasta el expendio, constituyendo un riesgo para la salud humana, por el incremento de enteropatógenos que presentan. Recomendándose así promover charlas educativas sobre medidas higiénico-sanitarias para evitar enfermedades que causan gastos económicos tanto personales como a los gobiernos.

Palabras Claves: Productos orgánicos, Enterococos, Enterobacterias, Antibiótico, Enteropatógenos.

ABSTRACT

There is a morbidity and mortality increase worldwide, due to the contaminated food ingestion, so the objective of this study is to identify pathogenic bacteria for man, isolated from organic products sold in markets in the city of Riobamba, Chimborazo, Ecuador, and determine the antimicrobial susceptibility and resistance. It is a descriptive, transversal and field work. The products were purchased On site, the physical conditions of the samples and hygiene data in the markets were recorded using the observation sheet. Gender and species identification tests were applied in the collected products, using conventional methods and the Kirby Bauer diffusion technique to measure susceptibility and resistance. The most isolated family was *Enterobacteriaceae* (79.00%), represented by *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Proteus vulgaris alvei*; followed by *Streptococcaceae* (21.00%), as the only isolated Gram positive, the genus *Enterococcus*. All the isolates regarding to antimicrobial activity showed good sensitivity and did not show resistance mechanisms. It is concluded that the organic products sold in these markets are contaminated with bacterial population, this is caused by some failure from harvest to sale chain and becomes a risk to human health, due to the increase in enteropathogens present. We recommended to promote educative lectures on hygienic-sanitary measures to avoid diseases that cause both personal and government economic expenses.

Key Words: Organic products, Enterococci, Enterobacteriaceae, Antibiotic, Enteropathogens.

Translation reviewed by:



MsC. Edison Damian

INTRODUCCIÓN

La salud es el estado de bienestar físico y mental, cuando se rompe este estado se producen las enfermedades, las que pueden ser o no infecciosas, crónicas o agudas. Entre las infecciosas agudas se encuentran las gastroentéricas, causadas por consumir alimentos o agua contaminados por bacterias, parásitos, virus o sus toxinas en ocasiones.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la prevención de las enfermedades de transmisión alimentaria depende del cultivo y manipulación cuidadosa de los productos sobre todo los que se consumen crudos, ya que pueden causar más de 200 enfermedades, que ocasionan diarrea hasta el cáncer¹.

Se ha estimado que en Asia, África y Latinoamérica la probabilidad de que un niño muera antes de los 5 años puede llegar al 50%, aunque esto depende de factores socioeconómicos y nutricionales².

Las infecciones gastrointestinales se caracterizan por la colonización y multiplicación de microorganismos a nivel del tubo digestivo. Estos pueden actuar mediante mecanismos invasivos, toxigénicos o combinados. Dichas infecciones son una de las primeras causas de morbilidad a nivel mundial, va a afectar a personas de cualquier edad y condición social, sobre todo a los lactantes, niños pequeños y ancianos^{2,3}.

La incidencia anual de diarrea aguda infantil en los países industrializados se estima actualmente entre 1,3 y 2,3 episodios por niño, siendo las cifras más elevadas en niños que asisten a colectividades. En EE.UU. más de 200.000 niños son hospitalizados cada año por diarrea aguda lo que representa unas 900.000 jornadas de hospitalización. Es frecuente esta enfermedad infecciosa del tracto gastrointestinal superada sólo por las infecciones del aparato respiratorio⁴.

Según datos estadísticos del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos reportó en el 2013, que, entre los microorganismos más frecuentes de las infecciones alimentarias, las hospitalizaciones y las muertes se encontraban, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Vibrio*, *Yersinia* y *Listeria*. En México

se detectó que el 92.85% indicó la presencia de bacterias coliformes que se encontraba en el agua de la llave de viviendas, lo cual señaló una contaminación fecal ^{5,6}.

Entre las causas principales de muertes por año, en América Latina y el Caribe se encuentran las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA), debido a la calidad del agua, principalmente por el uso inadecuado de aguas residuales. Los principales agentes patógenos identificados en Colombia fueron *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Salmonella spp*, se observó la presencia de otras bacterias, como *Listeria monocytogenes* y *Shigella spp* ^{7,8}.

En el país de Bolivia en diferentes sitios de venta de comida se estudiaron muestras de lechugas donde aislaron enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter spp*, *Salmonella spp* y *Enterobacter cloacae*. Otro estudio, realizado en Argentina buscaron muestras de contaminación patógena en hortalizas procesadas y expandidas de diferentes puntos de venta, encontrando que el 71,7% eran Coliformes totales, el 48.8% Coliformes fecales y el 9.5% *Escherichia coli* ^{9,10}.

En Latinoamérica, se registra la segunda carga más baja de enfermedades de transmisión alimentaria, sin embargo, 77 millones de personas todavía enferman anualmente al consumir alimentos contaminados y de éstas mueren alrededor de 9.000 al año. Ecuador atravesó por dos brotes de infección por *Salmonella* en los últimos años, 28 y 101 casos respectivamente, reportados por las provincias de Guayas y Manabí ¹¹.

Estadísticas del Ministerio de Salud Pública (MSP) ecuatoriano, reflejan anualmente que un promedio de 10.000 personas sufre intoxicaciones alimentarias o toxiinfecciones, considerando como punto principal de origen (90%) el consumo de comidas en comedores, escuelas, ventas ambulantes e inclusive el propio hogar¹². Mientras que en el Instituto Nacional de Censos y Estadística (INCE) se constata un descenso en los porcentos de enfermedades diarreicas por contaminación de agua y alimentos en niños menores de cinco años, de un 48,12% en 1995 a un 16.95% en el 2014 ¹³.

La salud se ve afectada en ocasiones por la ingestión de alimentos contaminados, sobre todo los productos agrícolas que se consumen crudos, mal cocidos o sin tratamiento alguno, es causa de morbilidad de la población total¹⁴.

Las aguas de los ríos en ocasiones son contaminadas por el hombre al verter los desechos en ellas y estas al ser utilizadas por los agricultores en las siembras y cosechas, traen consigo la contaminación de los productos agrícolas por diferentes bacterias ¹⁴.

En los países de América, como en el Ecuador, la contaminación del agua de los ríos se da por diferentes tipos de vertidos, como son las aguas de fábricas, aguas fecales y aguas blancas; donde la primera tiene una alta carga de contaminación debido a la actividad industrial, la segunda es ocasionada por las aguas residuales domésticas y, por último, las aguas crudas que no cuentan con un proceso previo a la potabilización. Las cuales son fuente de suministro para el riego y cosecha de diferentes cultivos agrícolas a nivel nacional ¹³.

Otro factor importante es la manipulación de los productos agrícolas desde el campo hasta la comercialización en los mercados, pues sino se tienen en cuenta las normas necesarias en la manipulación, provocaría su contaminación y afectaría la salud de los humanos. Estos productos que son vendidos en mercados de acceso rápido y fácil al público, se convierten en portadores de enfermedades y si no se tiene un conocimiento de la procedencia de los mismos, el hombre está vulnerable a muchas enfermedades.

Estudios realizados en Ecuador por Ortega y Vélez, en la ciudad de Cuenca, revelaron que en las lechugas existen niveles no aceptables de Coliformes totales y *E. coli*, mientras que, en productos orgánicos con el berro que son vendidos en los diferentes mercados en ciudad de Quito, Cabascando demostró que las muestras analizadas evidencian la presencia de parásitos y alto grado de contaminación bacteriana sobrepasó el 1000.000 UFC/g ^{15, 16}.

Según la investigación realizada por Puyol y Razo al determinar la calidad del agua del sistema de riego Chi-Pungales en el cantón Guano se identificó presencia de Coliformes tanto fecales como totales, determinando que la principal fuente de contaminación son las descargas de aguas residuales de tipo domiciliarias. Mur y Marcillo también en Chimborazo estudiaron las aguas de regadío del río Chibunga y del río Chambo, Orozco y Molina, logrando aislar bacterias de interés clínico causantes de infecciones importantes y de difícil tratamiento médico en muchas ocasiones por la resistencia a antibióticos de uso común ¹⁷,

^{18,19}.

Mediante los estudios realizados en la provincia de Chimborazo, que los productos agrícolas cosechados con agua de riego de los ríos, presentan contaminación con bacterias causantes de infecciones gastrointestinales, nos damos a la tarea de investigar en los productos orgánicos expendidos en los mercados de Riobamba, si existe o no, ésta problemática.

Todas las personas estamos propensas alguna vez a contraer una infección, sino se llevan a cabo todas las medidas higiénico-sanitarias necesarias desde la cosecha hasta el consumidor que debe cocinar o lavar bien los productos agrícolas antes de ser ingeridos, por lo que la principal utilidad de realizar esta investigación es dar a conocer a la sociedad y educar sobre cuáles son las bacterias patógenas en los alimentos orgánicos que pueden causar infecciones intestinales.

Según la revista del “Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir rural” nos indica que la contaminación bacteriana presentes en vegetales, frutas y verduras, obliga a alertar a las autoridades y a la población involucrada para evitar infecciones gastrointestinales que pueden llegar hacer de gran ayuda para evitar una morbimortalidad, sobre todo en niños, y así se cumplir con el objetivo 6 del Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021²⁰.

En base a las investigaciones de bibliografías revisadas se encasillo en puntos relevantes como la contaminación de los productos orgánicos expendidos en los mercados de la ciudad de Riobamba y las bacterias causantes de gastroenteritis transmitidas por el agua y alimentos ya que es importante alertar a la autoridad y a las personas que las consumen. En la metodología se realizó una investigación descriptiva porque realizamos resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas, el aislamiento e identificación presentes en la muestra, en el capítulo de resultados y discusión se escogieron dichos productos para observar si existe la contaminación de los vegetales y frutas analizados.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Aislar las bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos expendidos en los mercados de Riobamba.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Analizar productos orgánicos recolectados de los mercados de Riobamba mediante pruebas bacteriológicas.
- Determinar la resistencia y susceptibilidad de los microorganismos aislados a través del método por difusión de Kirby Bauer.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

Desde los albores de la historia la insalubridad de los alimentos ha representado un problema de salud para el ser humano. La existencia de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) sigue siendo un problema de salud significativo tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo a pesar de que los gobiernos de los diferentes países se esfuerzan por aumentar la calidad de los alimentos.

Cada año mueren 1,8 millones de personas como consecuencia de enfermedades diarreicas y como causa puede atribuirse en la mayoría de los casos a la ingesta de agua o alimentos contaminados, por lo que una preparación adecuada de los alimentos puede prevenir la mayoría de las ETA²¹.

La OMS lleva a cabo desde hace tiempo la necesidad de concienciar a los manipuladores de alimentos sobre sus responsabilidades respecto a la inocuidad de éstos y a pesar de haber propuesto desde inicio de la década del 2000 las reglas de oro para la inocuidad de los alimentos, éstas se mantienen vigentes como son: mantener la limpieza, separar los alimentos crudos de los cocinados y cocinarlos completamente, mantenerlos a temperaturas seguras y utilizar agua y materias primas que sean completamente aptas²¹.

Las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años, alrededor de unos 525 000 niños cada año según reporta la OMS. Los niños malnutridos o inmunodeprimidos son los que presentan mayor riesgo de enfermedades diarreicas potencialmente mortales²².

La diarrea se define como la deposición, tres o más veces al día (o con una frecuencia mayor que la normal para la persona) de heces sueltas o líquidas. Las deposiciones frecuentes de heces firmes de consistencia sólida y de heces de consistencia suelta y “pastosa” por bebés amamantados no son considerados como diarrea. Éste es el síntoma más frecuente y puede estar ocasionada por microorganismos bacterianos, víricos y parásitos, que generalmente se transmite por alimentos o agua de consumo contaminado, o bien de una persona a otra como resultado de una higiene deficiente²².

La OMS define 3 tipos clínicos de enfermedades diarreicas como²²:

- ✓ la diarrea acuosa aguda, que dura varias horas o días y comprende el cólera
- ✓ la diarrea con sangre aguda, también llamada diarrea disentérica o disentería
- ✓ la diarrea persistente, que dura 14 días o más

La contaminación de los alimentos puede ser: físicos, químicos, biológicos, toxinas naturales y parásitos que se encuentran alojados en ellos. Los microorganismos peligrosos pueden llegar a los alimentos, desde que son producidos en el campo hasta que son servidos. Cuando estos agentes patógenos sobreviven y se multiplican pueden causar enfermedades. La contaminación es difícil de detectar, ya que generalmente no se altera el sabor, el color o el aspecto de la comida²³.

Las Enfermedades Gastroentéricas se transmiten por vía fecal-oral al ingerir agua o alimentos contaminados asociadas al manejo inadecuado de producción de los productos, también a la utilización de fertilizantes utilizadas en el desarrollo de las plantas, la ocupación de agua de riego contaminada, de las malas prácticas higiénicas en el hogar como no lavarse las manos adecuadamente, higiene inadecuada de la manipulación de los alimentos, contacto de los utensilios o recipientes con artrópodos o roedores como por ejemplo moscas, cucarachas, ratas, que posan sobre el alimento o tienen contacto con el mismo^{24, 25}.

La Gastroenteritis Infecciosa es la inflamación de la mucosa intestinal que son provocados por microorganismos o sus toxinas (enterotoxinas, citotoxinas), las cuales pueden existir presencia de diarreas. Según Murray se clasifican según su duración en agudas (menos de 14 días), persistentes (entre 14-30 días) y en crónicas (más de 30 días) y según el mecanismo de producción en inflamatorias y no inflamatorias (Ilustración 1)²⁶.

| | Inflamatoria | No inflamatoria |
|------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Diarrea | Frecuente y poco voluminosa | Voluminosa |
| Aspecto de las heces | Mucosanguinolentas | Acuosas |
| Dolor abdominal | Hipogastrio/difuso/FII* | Mesogastrio/difuso |
| Fiebre | Frecuente | Poco frecuente |
| Sensación de urgencia | Sí | No |
| Tenesmo o dolor rectal | Frecuente (si existe proctitis) | No |
| Localización | Preferentemente colon | Preferentemente I. delgado |

ILUSTRACIÓN 2: SINGULARIDAD CLÍNICAS DE LA DIARREA

Fuente: Murray et al.: Microbiología médica. 8va edición 2017.

El cuerpo humano es habitado por especies bacterianas diferentes; unas mantienen una relación parasitaria temporal y otras de manera permanente. Existen microorganismos que se encuentran en el aire, agua y en los alimentos, aunque muchas de las bacterias son por lo general avirulentas y otras son capaces de causar enfermedades potencialmente mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de sus toxinas o bien a la invasión de sitios estériles del cuerpo humano²⁷.

BACTERIAS CAUSANTES DE GASTROENTERITIS TRANSMITIDAS POR EL AGUA Y ALIMENTOS

Las bacterias son microorganismos procariotas, unicelulares, no tienen una membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni contienen un retículo endoplásmico. La pared celular que rodea a las bacterias es compleja y tienen dos formas básicas: una pared celular Gram (+) con una gruesa capa de peptidoglucano y una pared celular Gram (-) con una delgada capa de peptidoglucano, así como una membrana externa. Tanto las grampositivas como las gramnegativas son productoras de Gastroenteritis²⁷.

Entre las bacterias Gram positivas tenemos:

LISTERIA MONOCYTOGENES. Es un bacilo Gram positivo, patógeno facultativo, intracelular no formador de esporas. Psicotrópica y crece a temperaturas entre 1 y 45 °C. Un ambiente ideal para este patógeno son los alimentos refrigerados. Es el agente causal de la Listeriosis la cual se manifiesta de forma invasiva y puede provocar mortinatos, abortos, partos prematuros y en los recién nacidos e inmunodeprimidos puede conducir a septicemia, meningitis y encefalitis. En la forma no invasiva se producen síntomas como fiebre, dolor de cabeza y diarrea²⁶.

ESTAFILOCOCCUS AUREUS. Es un coco Gram positivo agrupado en racimo, anaerobio facultativo. Presenta cápsula y capa de polisacárido extracelular que aumenta su virulencia y patogenicidad. Posee la enzima coagulasa que tiene factor de agregación y la catalasa. Produce infecciones supurativas y no supurativas como la infección urinaria, septicemia y otras. La toxina termoestable que elabora es capaz de producir cuadros clínicos de intoxicación alimentaria estafilocócica caracterizada por la aparición de vómitos importantes, diarrea, dolor abdominal y náuseas. Se ha descrito la presencia de sudoración

y cefalea, pero no de fiebre. La diarrea es acuosa y no sanguinolenta, y puede producirse deshidratación como consecuencia de la importante pérdida de líquidos²⁷.

ENTEROCOCCUS SPP. Son cocos Gram positivos se encuentran en parejas y cadenas cortas. Son anaerobio facultativo, que coloniza el aparato digestivo de los humanos y los animales. En el medio ambiente son capaces de sobrevivir durante largos períodos de tiempo. La mayoría de las infecciones son desarrolladas por la microflora bacteriana del paciente; algunas son de transmisión horizontal de paciente a paciente en ambiente hospitalarios. Pueden adquirir infecciones del aparato urinario, infecciones de heridas (especialmente intraabdominales y generalmente polimicrobianas), bacteriemia y endocarditis. Los pacientes que tienen mayor riesgo de contraer una infección son los inmunodeprimidos y los que permanecen hospitalizados durante períodos de tiempo prolongados y reciben antibióticos de amplio espectro (fundamentalmente cefalosporinas, a las que los enterococos son resistentes de forma natural)²⁶.

Entre las bacterias Gram negativas causantes de Gastroenteritis encontramos:

SALMONELLA SPP. Son bacilo Gram negativo, no esporulado y móvil, agente de la Salmonelosis, la enfermedad más frecuente que produce por esta bacteria es la fiebre tifoidea, pero generalmente es menos severa, sus síntomas principales es fiebre y diarrea acuosa con sangre. Su un periodo de incubación es entre 8-48 horas²⁷.

SALMONELLA TYPHI. Es el bacilo que causa la fiebre tifoidea, ya que es una enfermedad sistémica grave que dar lugar a hemorragias o perforaciones intestinales. Sus manifiesta clínicas con fiebre, tos, náuseas, dolor de cabeza, vómitos y diarrea. Este agente se transmite por agua y alimentos contaminados y también por contacto directo con personas infectadas. Su periodo de incubación es de 7-28 días²⁵.

VIBRIO CHOLERAЕ. Es un bacilo Gram negativo, corto, a veces microscópicamente son curvados o en forma de coma, Puede producir síntomas clínicos como diarrea acuosa, vómitos y puede llegar a una deshidratación. Su periodo de incubación es de 9-72 horas, es un agente etiológico del cólera, ya que se pueden transmite habitualmente a través del agua

y alimentos contaminados, los cosas más frecuentemente se dan por el consumo de los derivados del mar como ejemplo los mariscos²⁷.

SHIGELLA DYSENTERIAE. Su periodo de incubación es de 1-7 días, puede causar una disentería bacilar (diarrea sangrienta), los síntomas principales se dan con fiebres altas, retortijones, pujos intensos e incluso convulsiones. Esta enfermedad es causa principal de morbimortalidad sobre todo en niños²⁷.

CAMPYLOBACTER. Están presentes y distribuidas en la naturaleza, su reservorio natural son los animales tanto domésticos como de vida silvestre, tales como ganado vacuno, cerdos, ovejas, aves de corral, cabras, perros, gatos y roedores, entre otros. Se ha clasificado en géneros *C. jejuni* y *C. coli*. que son identificados como patógenos más frecuentes en el humano, es un Gram negativos microscópicamente se puede observar en forma de coma, S, o de ala de gaviota, son móviles contienen un solo flagelo polar. Las aves de consumo son los principales reservorios y fuente de infecciones en las personas. Pueden producir síntomas como heces diarreicas algunas veces con sangre, dolores abdominales, fiebre, dolor de cabeza. Su periodo de incubación es de 2-5 días²⁷. e

PLESIOMONAS SHIGELLOIDE. Son bacilos gramnegativos con flagelos polares, anaerobio facultativo con la particularidad de ser productor de citocromooxidasa. Se encuentran en aguas dulces de regiones tropicales y subtropicales debido a que su crecimiento es a temperaturas inferiores a 8°C. Los síntomas que se pueden presentar en las personas son fiebre, escalofríos, dolor abdominal, náuseas y vómitos, relacionadas con la ingesta de agua y mariscos contaminados, ya que su periodo de incubación se puede dar entre 20 y 24 horas²⁷.

AEROMONAS SPP. Son bacilos Gram negativos anaerobios facultativos y no esporulados. Las principales fuentes de contaminación son el agua, los vegetales, alimentos de origen animal y de procedencia del mar, puede desarrollar una gastroenteritis en seres humanos. Sus síntomas clínicos se presentan con heces acuosas no sanguinolentas, náuseas, vómitos, dolor de cabeza y colitis. Además, se pueden presentar otras manifestaciones clínicas como infección de heridas, septicemia, abscesos en el hígado e infección respiratoria²⁷.

YERSINIA ENTEROCOLITICA. El periodo de incubación esta entre 1-11 días, este microorganismo puede ser de transmisión alimentaria, sus principales síntomas clínicos incluyen dolor abdominal, fiebre, vómitos, diarrea con moco y sangre; dicha enfermedad infecciosa denominada Yersiniosis que puede darse desde una gastroenteritis hasta una septicemia grave²⁷.

ESCHERICHIA COLI. Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, usualmente son móviles por sus flagelos peritricos, Su hábitat es el intestino de los animales y del hombre, es un indicador de contaminación fecal debido a que se encuentra abundantemente en heces. Generalmente las cepas de *E. coli* son factores de virulencia específicos y rasgos fenotípicos dentro de esta especie se encuentran bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales. Dentro de las *E. coli* patógenos se incluyen: *E. coli* enteropatogénico, *E. coli* enterotoxigénico, *E. coli* enteroinvasivo, *E. coli* enterohemorrágico, *E. coli* enteroadherente y *E. coli* enteroagregativo (Ilustración 2)^{26,27}.

CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTES DE DIARREA

| Grupo | Sintomas clínicos | Epidemiología | Serogrupos y serotipos más comunes | Factores de patogenicidad |
|-------|--|---|--|--|
| ETEC | Diarrea aguda acuosa | Niños menores de dos años y diarrea del viajero | O8:H9, O15:H11, O20:H-, O25:H-O27:H7,O78:H12, O148:H28, O159:H20 | ST y LT CFA |
| EHEC | SUH, CH, diarrea sin sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito | Niños y adultos que la adquieren por comer carne cruda o mal cocida | O157:H7 O26:H11, O103:H2, O113:H21 O119,O128, O145 | STX A/E Intimina pO157 |
| EIEC | Diarrea con moco y sangre o diarrea acuosa, también se presenta cuadro disentérico | Niños menores de seis meses | O28:H, O112ac:H-, O144:H-, O152:H-, 164:H-O167:H- | Invasividad Plásmido de 140MDa |
| EPEC | Diarrea aguda, dolor abdominal, vómito, fiebre baja | Niños menores de seis meses hasta dos años | O55, O86, O142, O111:H- O127, | A/E, BFP Plásmido EAF de 50-70MDa |
| EAEC | Diarrea líquida, verde con moco, sin sangre, diarrea persistente hasta 20 días | Recién nacidos y niños menores de dos años | O44:H18 | Fimbria AAFI y II EASTI Proteínas Pet y Pic OMP Plásmido de 60 MDa Citotoxina |
| DAEC | Diarrea acuosa sin sangre | Niños de 1 a 5 años | O126:H27 | Fimbria F1845 OMP |

LT= toxina termolábil

ST= toxina termo estable

CFA= factor de colonización antigénico

BFP= pili con forma rizada

EAF = factor de adherencia de EPEC

OMP= proteina de membrana externa

STX= toxina shiga

EAST = toxina ST de cepas enteroagregativas

Ilustración 3: Características de los grupos de *Escherichia coli* causantes de gastroenteritis.

Fuente: Murray et al.: Microbiología médica. 8va edición 2017.

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.

La resistencia antimicrobiana constituye un arma muy importante contra las enfermedades infecciosas, ya que son métodos de curación rápido, en algunas circunstancias el médico ha de poner en práctica su experiencia clínica para la selección inicial del tratamiento empírico y así poder tratar al paciente; ya que las bacterias han demostrado una gran capacidad para desarrollar resistencia ante los antibióticos²⁶.

Mecanismos de acción de los antimicrobianos.

Los antibióticos actúan sobre todas las bacterias a través de diferentes mecanismos como son: la inhibición de la síntesis de la pared celular, función de la membrana celular, síntesis de proteínas e inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos²⁶.

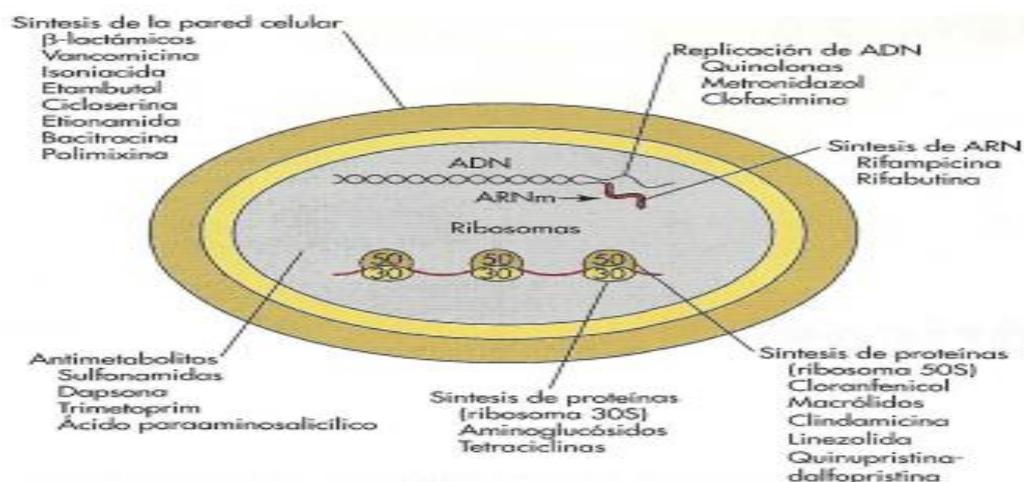


Ilustración 3: Mecanismos de acción antibiótica

Fuente: Murray et al.: Microbiología médica. 8va edición 2017. Página 204.

Mecanismos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos.

Las bacterias son como los seres vivos ya que tienen la capacidad de desarrollar diferentes mecanismos de defensa ante los antimicrobianos, lo que ha provocado un problema con el cursar de los años por que las bacterias han creado un mecanismo de resistencia de las mismas a los antibióticos²⁶.

Las causas de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético de otras bacterias o fagos pueden presentar resistencia a los antibióticos y esto se realiza a través de mecanismos como de la transducción, transformación, conjugación y la recombinación.

Transducción: Se da cuando existe una transferencia de ADN cromosómico o plasmídico, mientras que la cubierta del fago estará rodeada por ADN bacteriano, lo que se utiliza para transferir genes de una bacteria a otras²⁶.

Transformación: Tiene la captación directa de fragmentos de ADN desnudo del donador por la célula receptora que los incorpora a su genoma, este proceso demanda proteínas específicas producidas por la célula receptora para la captación de ADN, tales secuencias de captación son específicas y restringen el intercambio genético a una sola especie, el ADN que no se incorpora se elimina para ser utilizado como fuente de nutrientes para el crecimiento bacteriano²⁶.

Conjugación: Es el proceso que se da entre dos bacterias, se da la transferencia unidireccional de ADN desde una célula donante o macho a una célula receptora o hembra, este proceso debe estar en contacto para la transferencia a través del llamado *pilus sexual*²⁶.

Recombinación: En este proceso se realiza la incorporación del ADN extracromosómico en el cromosoma se produce mediante un proceso de recombinación. Existen dos tipos: la primera es la recombinación homóloga que tiene lugar entre secuencias de ADN relacionados, en la cual se sustituye una secuencia por otra, mientras que la segunda recombinación no homóloga se lleva a cabo entre secuencias distintas de ADN (Ilustración 4)²⁶.

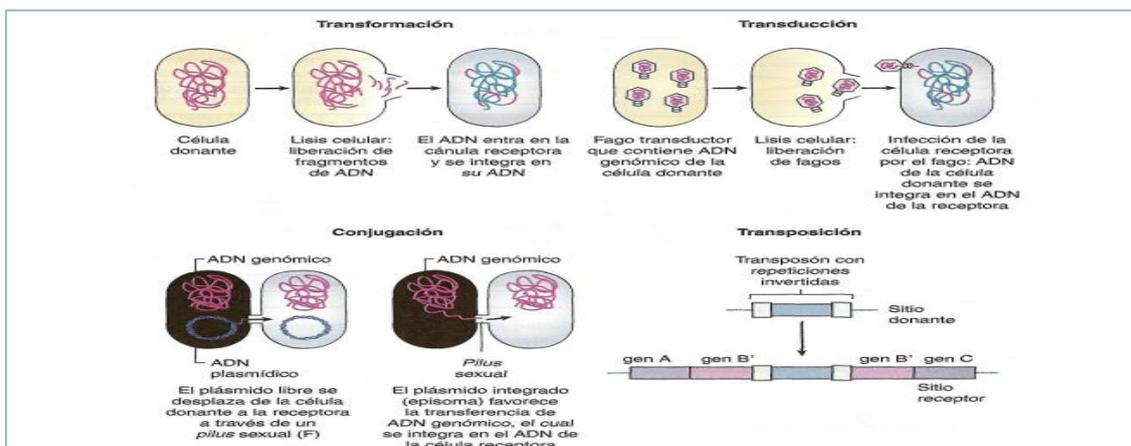


ILUSTRACIÓN 4: MECANISMOS DE TRANSFERENCIA GENÉTICA DE LAS BACTERIAS

Fuente: Murray et al.: Microbiología médica. 8va edición 2017. Página 42.

El incremento de la propagación de bacterias multirresistentes se da por la aparición de cepas que evaden el efecto bacteriostático y bactericida de los antibióticos, que constituye un problema para la salud pública. Afectando al tratamiento de los pacientes tanto ambulatorio como hospitalario con enfermedades producidas por bacterias oportunistas o comensales, generalmente son sensibles a los antibióticos actuales, por lo tanto, limita las posibilidades de utilizar antibióticos y aumentando así la tasa de morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas^{28,29}.

La resistencia bacteriana en cuanto a su origen puede ser natural o adquirida:

➤ **Resistencia natural:**

La resistencia natural de algunas cepas son el mecanismo permanente determinado por su genética y sin ninguna relación a la administración y dosificación de antibióticos. Ésta puede producirse por singularidad de la pared bacteriana que impiden entrar el antibiótico a su blanco, por ejemplo, las micoplasmas no contienen una pared celular típica y son resistentes a las penicilinas. También el organismo puede alterar el antibiótico pasándolo a una forma inactiva por la producción de enzimas que hidrolizan o modifican la molécula. Ejemplo el *Proteus mirabilis* presenta una resistencia innata a las tetraciclinas debido a que cuenta con un proceso natural de expulsión del antibiótico, ya que existe la presencia de un lipopolisacárido que tiene la función de reducir la afinidad de los antibióticos a su sitio blanco. Mientras que la *Klebsiella pneumoniae* posee una resistencia a las penicilinas debido a su fabricación natural de beta lactamasas²⁷.

➤ **Resistencia adquirida:**

La resistencia adquirida tiene una característica oportuna, que identifica la especie de microorganismo, siendo sensible a un antibiótico, esta condición cambia a bacteria resistente debido a una modificación genética por una mutación o la adquisición de genes de resistencia, a través de plásmidos, transposones e integrones²⁷.

Entre los mecanismos básicos de resistencia se puede identificar la inactivación del antibiótico por destrucción o modificación de la estructura química, se puede dar la alteración del sitio blanco del antibiótico y la alteración en las barreras de permeabilidad²⁷.

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA EN LOS ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

En la actualidad existen diferentes métodos para la determinación de sensibilidad y resistencia en los estudios microbiológicos. La medición de la actividad antimicrobiana nos permite conocer la actividad de los microorganismos frente a los diferentes antibióticos. Esta actividad se mide *in vitro* para poder determinar: la potencia de una droga antimicrobiana frente a un microorganismo dado, con su concentración en los líquidos del cuerpo o en los tejidos, y la sensibilidad de los microorganismos dado a concentraciones conocidas del medicamento²⁶.

Los métodos más utilizados son: dilución y difusión. Ambos métodos tratan de combatir con un microorganismo de una muestra de concentración conocida del medicamento para valorar el comportamiento del crecimiento del microorganismo en un tiempo y a una temperatura dada y así realizar una comparación con un patrón estándar conocido, que actuará como referencia^{26, 30}.

Existen otros tipos de métodos los cuales son: cuantitativos y cualitativos. Existen varios procedimientos para la determinación cuantitativa de la sensibilidad a los antimicrobianos, entre estos se encuentran: macrodilución en caldo, dilución en agar y los métodos automatizados. El método cualitativo más utilizado en la mayoría de los laboratorios de microbiología es el método por difusión Bauer-Kirby³⁰.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Descriptiva: Se recolectó la información de manera conjunta sobre las variables de estudio, y se investigó la resistencia antimicrobiana de las bacterias patógenas presentes en los productos orgánicos.

De campo: Se recogió las muestras de productos orgánicos de los diferentes mercados de la ciudad de Riobamba.

No experimental: No se manipularon las variables, es decir que no se alteran las condiciones existentes.

Corte Transversal: La presente investigación se realizó con los productos orgánicos expendidos en los mercados de Riobamba, durante el período de diciembre 2019 a enero 2020, con un bloque de resultados.

Enfoque Cualitativo: Se elaboró la descripción de las variables de estudio con categorías de análisis, buscando así diagnosticar la resistencia antimicrobiana en las bacterias patógenas aisladas en los productos orgánicos de los mercados de la ciudad de Riobamba.

POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: Estuvo conformada por los productos agrícolas expendidos en los mercados de Riobamba: La Condamine, San Alfonso, Santa Rosa y La esperanza.

Muestra: Constituida por los 54 productos orgánicos estudiados, de los cuales se obtuvieron las bacterias patógenas descritas en la investigación.

TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTO

Técnica: Observación

Instrumentos: Se aplicó una ficha de observación (Anexo 1), donde registramos los datos de las condiciones físicas de las muestras e higiénicas de los mercados.

PROCEDIMIENTO

IDENTIFICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO Y OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el presente trabajo de investigación se realizó un recorrido por los diferentes mercados de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, escogiendo La Esperanza, San Alfonso, Santa Rosa y La Condamine por ser los lugares donde se comercializa en gran cantidad, productos orgánicos al público y se realizó la compra respectiva de los mismos para ser estudiados.

En cada mercado se recolectaron 6 muestras seleccionados de los productos y de cada uno de estos se tomaron ejemplares utilizando bolsas estériles herméticas asignadas con sus respectivos códigos (Anexo 2), siendo transportadas con el sistema triple embalaje que consta de bolsas estériles, separadores de muestras y una caja transportadora, hasta el Laboratorio de investigación de la carrera Laboratorio Clínico e Histopatológico, Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo, siguiendo el protocolo respectivo de trabajo para el análisis microbiológico.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS PRESENTES EN LAS MUESTRAS

Previa desinfección de las mesas de trabajo con agua, detergente y alcohol al 70% y el uso de barreras de protección (mandil, gorro, mascarilla y guantes) se procedió al análisis microbiológico de las muestras para evitar posible contaminación bajo el mechero de Bunsen.

Se utilizó pinzas y bisturí estériles para tomar 25g del centro del producto orgánico para luego poner en un frasco estéril la muestra y luego colocar 225 ml de Agua Peptonada como un método pre-enriquecimiento (Anexo 3). Luego de 24 horas de incubación a 37°C con una jeringa estéril se tomó 1 ml del cultivo y traspasos a los 9 ml de Agua Peptonada que se encontraban en un tubo estéril nuevamente, incubando de igual forma (Anexo 4), transcurrido el tiempo a partir de esta dilución se realizaron cultivos, homogenizando bien la muestra se cogió 0.1ml con el asa de siembra calibrada, sembrando en placas de Agar Sangre (AS), CLED y Agar MacConkey (MC) previamente preparadas según la casa comercial Himedia® y rotuladas (Anexo 5), luego se estrío la muestra mediante técnica por agotamiento y en posición invertida se incubó a 37°C durante 24 horas, aplicando de esta forma las normas microbiológicas establecidas³¹.

Transcurrido el tiempo de incubación se realizó lectura de las placas, identificando así las características principales de cada una de las colonias existentes y se realizó la tinción de Gram siguiendo el protocolo de Hans Christian Gram, para visualizar la morfología y que nos permitió diferenciar las bacterias Gram positivas de las Gram negativas. Para la realización de la tinción de Gram se siguieron las pautas de Koneman³¹:

- Se agregó 0,05 ml de solución fisiológica estéril sobre una placa porta objetos tomando colonias bacterianas puras para la realización del frotis.
- Luego se dejó secar a temperatura ambiente.
- Para luego fijó la muestra al portaobjetos lo pasamos tres o cuatro veces a través de la llama del mechero Bunsen para que el material no se lave durante la tinción.
- Después se cubrió la placa con cristal violeta por 1 minuto.
- Muy cuidadosamente con agua destilada se lavó sin que cayera directamente sobre el frotis hasta que rebosó todo el colorante.
- Se escurrió y se agregó la solución yodada de Gram (Lugol) como mordiente durante 1 minuto.
- Nuevamente se realizó el lavado de igual forma que la anterior para luego colocar la decoloración con alcohol cetona durante 30 segundos.
- Lo lavamos nuevamente para eliminar el producto y finalmente se agregó el colorante de contraste la safranina y se dejamos actuar durante 1 minuto.
- Enjuagamos de nuevo la placa, lo escurrió y se lo dejamos secar a temperatura ambiente
- Para posteriormente identificar los microorganismos con la ayuda del microscopio colocamos en lente de aumento 100x y aceite de inmersión para visualizar las bacterias: las grampositivas se tiñen de azul oscuro y las gramnegativas aparecen de color rosa o rojo³¹.

Luego de realizar la observación e identificación si las bacterias grampositiva y gramnegativa se realizaron pruebas fisiológicas como bioquímicas para poder reconocer a la clasificación del género y especie según los medios y reactivos presentes en el laboratorio³¹.

Se apreció crecimiento de colonias grampositivas aisladas en agar Sangre, para luego observar si existía la presencia o no de hemólisis (α , β , o γ), además realizamos la prueba de

catalasa, bilis esculina. Mientras que para las gramnegativas que crecieron de igual forma en agar AS, CLED y MC se realizó la inoculación en agar Kligler para observar si existía fermentación o no de la lactosa, glucosa y si existe la producción de gas SH₂ (Anexo 6)³¹.

En la identificación también se utilizó el agar Urea para observar si el microorganismo era productor de ureasa, el agar Citrato como fuente de energía, caldo Malonato como fuente de carbono y nitrógeno, agar MIO (motilidad indol ornitina) para observar la motilidad bacteriana, la producción de indol y la actividad enzimática ornitina descarboxilasa, el agar Lisina Hierro (LIA) para la desaminación o descarboxilación de la lisina³¹.

En el caso de las bacterias no fermentadoras de la lactosa ni la glucosa (BNF) se les realizó la prueba de la oxidasa para ver si producían esta enzima. En las que eran oxidasas positivas se observó la presencia de hemólisis en agar sangre, crecimiento a temperaturas de 37°C y a 42°C, más la producción de pigmento³¹.

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS DE INTERÉS CLÍNICO.

Luego de identificar el género de las bacterias aisladas y llegar a la especie según los reactivos existentes se procedió a realizar el antibiograma (ATB) mediante el método por difusión de Kirby Bauer para medir la actividad antimicrobiana³⁰.

Utilizamos el medio de cultivo del Agar Müller Hinton Difco™ (MH) deshidratado, primero comenzamos pesando, diluyó y autoclavó según la casa comercial, se dejó enfriar entre 45-50°C para luego colocar en placas Petri a una altura de 4 mm y dejar solidificar. Posteriormente de la cepa en estudio (cultivo puro) se repico de la superficie del Agar Nutriente de 3-5 colonias para transferir a un tubo de cultivo con NaCl al 0.9% logrando una turbidez similar al tubo 0,5 del patrón de McFarland que corresponde aproximadamente a $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Anexo 7)³⁰.

Para sembrar en las placas Petri se procedió a introducir un hisopo estéril en el tubo de cultivo, se rotó para embeberlo bien del inóculo, luego para eliminar el sobrante se apretó el hisopo contra las paredes del tubo con movimientos rotatorios; para luego sembrar en la placa de Ag MH estriando en 3 direcciones de manera que quede uniformemente distribuido en un

ángulo de 60°. Se dejó reposar por 15 minutos para luego colocar los discos de ATB con pinza estéril a 15mm del borde y 20 mm de equidistancia. Presionar discos con muy cuidado e incubar a 35°C por 18-24h. Pasado este tiempo se realizó la lectura midiendo con regla milimétrica los halos de inhibición (Anexo 7)³⁰.

Los resultados se interpretaron de acuerdo a las tablas publicadas por la guía internacional Clinical & Laboratory Standards Institute CLSI (Documento M100) y se clasifico como sensible, intermedio o resistente y conservamos las bacterias en agar nutriente para posteriores investigaciones (Anexo 8)³⁰.

PROCEDIMIENTO ESTADÍSTICO

Con los resultados obtenidos y mediante la aplicación de hojas de cálculo pertenecientes al sistema operativo Microsoft Office 2013, se empleó la estadística descriptiva.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

No existió conflictos bioéticos porque las muestras no son de origen biológico, por lo que respetamos las normas éticas de la investigación científica

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante décadas las bacterias han sido estudiadas en diferentes tipos de muestras, tanto clínicas como no clínicas. Pero en los últimos años se ha incrementado su estudio a partir de alimentos, pues éstos pueden estar contaminados con dichos organismos o sus toxinas y a la vez son capaces de producir enfermedades gastrointestinales en el ser humano.

Tabla 1: Crecimiento bacteriano en productos agrícolas expendidos en mercados de la ciudad de Riobamba.

| Mercados | Muestras Estudiadas | Crecimiento bacteriano |
|-----------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| San Alfonso | 18 | 18 |
| La Esperanza | 12 | 11 |
| Santa Rosa | 12 | 9 |
| La Condamine | 12 | 9 |
| TOTAL | 54 | 47 |

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

Con el antecedente de investigaciones realizadas en productos agrícolas cultivados con aguas de ríos, en Chimborazo, entonces se escogieron para este estudio productos orgánicos expendidos en mercados de Riobamba para observar si existía contaminación o no, obteniendo crecimiento bacteriano en todos los mercados (Tabla 1).

Según el Manual de Bergey³² para clasificar las bacterias en Gram positivas o Gram negativas hay que realizar la coloración de Gram, (Tabla 2).

Tabla 2: Bacterianos según la coloración de Gram.

| Coloración Gram | Frecuencia (n) | Porcentaje (%) |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Gram negativas | 37 | |

| | | |
|-----------------------|----|-------|
| | | 79,00 |
| Gram positivas | 10 | 21,00 |
| Total | 47 | 100% |

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

La Tabla 2 confirma que las bacterias gramnegativas son aisladas con frecuencia en aguas y alimentos contaminados y que generalmente provienen del intestino del hombre como de animales²⁶, mientras que las bacterias grampositivas se observan en menor medida, específicamente el microorganismo del *Enterococcus* es un indicador de contaminación fecal cuando se encuentra presente, según lo planteado por Bergey³².

Lo planteado por Landeta en su estudio, puede explicar esta problemática (79% de aislamientos gramnegativos), donde refiere que los mercados se encuentran afectados por distintos problemas de salubridad debido a la poca importancia que se le da al diseño y construcción de los espacios destinados a la venta de los productos, falta de campañas de capacitación dirigidas a las personas que se dedican a la comercialización de productos alimenticios, transportación y conservación de los mismos, sin contar con las debidas precauciones de higiene tanto del personal que labora como del área de expendio³³.

Los mercados de la ciudad de Riobamba que son más visitados y donde existe gran cantidad de expendio de productos orgánicos se visualizan en la Tabla 3 y 4.

Tabla 3: Aislamiento bacteriano según el producto orgánico muestreado y los mercados de la ciudad de Riobamba

| PRODUCTO | BACTERIA | MERCADO |
|------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Zanahoria | <i>Enterococcus sp</i> | San Alfonso, La Esperanza |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | San Alfonso, Santa Rosa |

| | | |
|------------------------|---|---|
| | <i>Citrobacter diversus</i> | San Alfonso, Santa Rosa, Condamine, San Alfonso |
| | <i>Citrobacter amalonaticus</i> | San Alfonso, La Esperanza |
| | <i>Escherichia coli</i> | La Esperanza |
| Manzana | <i>Enterococcus sp</i> | San Alfonso, La Esperanza, La Condamine |
| | <i>Citrobacter diversus</i> | San Alfonso, Santa Rosa |
| | <i>Morganella morganii</i> | San Alfonso |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | La Condamine |
| Tomate de árbol | <i>Enterococcus sp</i> | La Esperanza, La Condamine, |
| | <i>Proteus vulgaris</i> | Santa Rosa |
| | <i>Citrobacter diversus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Citrobacter freundii</i> | San Alfonso |
| Rábano | <i>Enterococcus sp</i> | Santa Rosa, La Condamine, |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | San Alfonso, La Esperanza |
| | <i>Citrobacter diversus</i> | San Alfonso, La Condamine |
| | <i>Citrobacter amalonaticus</i> | Santa Rosa |
| | <i>Escherichia coli</i> | La Esperanza |
| Ocas | <i>Enterococcus sp</i> | La Condamine |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | San Alfonso, La Esperanza, Santa Rosa |
| | <i>Citrobacter diversus</i> | La Condamine |
| | <i>Morganella morganii</i> , <i>Hafnia alvei</i> | San Alfonso |
| | <i>Escherichia coli</i> | La Esperanza |
| Acelga | <i>Enterobacter cloacae</i> | Santa Rosa |
| | <i>Citrobacter diversus</i> | La Esperanza, La Condamine |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Escherichia coli</i> | San Alfonso |
| | <i>Proteus vulgaris</i> | San Alfonso, La Esperanza |
| | <i>Salmonella sp</i> | Santa Rosa |

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

Las Enfermedades Gastroentéricas o las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) son infecciones causadas por alimentos y aguas contaminados por bacterias patógenas o sus toxinas, localizadas a nivel del intestino, tanto del hombre como de los animales, predominando las enterobacterias. Éstas pueden causar desde una sintomatología leve hasta la muerte y son clasificadas en diferentes familias ³²(Tabla 4).

Tabla 4: Distribución de las bacterias patógenas aisladas en productos orgánicos según los mercados de Riobamba.

| Mercados muestreados | Bacterias aisladas | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|----------------------|-------------------|--------------------|------------------------|--------------------|---------------------|-------------------|----------------|----------------------|--------------------|--------------------|---------------------|------------------------|----------------|----------------|
| | <i>K. pneumoniae</i> | <i>K. oxytoca</i> | <i>C. diversus</i> | <i>C. amalonaticus</i> | <i>C. freundii</i> | <i>E. aerogenes</i> | <i>E. cloacae</i> | <i>E. coli</i> | <i>Salmonella sp</i> | <i>P. vulgaris</i> | <i>M. morganii</i> | <i>Hafnia alvei</i> | <i>Enterococcus sp</i> | Frecuencia (n) | Porcentaje (%) |
| San Alfonso | | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | | 1 | 2 | 1 | 2 | 18 | 38,29 |
| La Esperanza | | | 1 | 1 | | | 2 | 3 | | 1 | | | 3 | 11 | 23,43 |
| La Condamine | 1 | | 4 | | | | | | | | | | 4 | 9 | 19,14 |
| Santa Rosa | | | 2 | 1 | | | 3 | | 1 | 1 | | | 1 | 9 | 19,14 |
| Total | 1 | 1 | 11 | 3 | 1 | 1 | 8 | 4 | 1 | 3 | 2 | 1 | 10 | 47 | 100 |

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

En el mercado San Alfonso, existió en el total de muestras estudiadas crecimiento bacteriano, para un 38,29%, seguido de La Esperanza (23,43%), Condamine y Santa Rosa con 19,14% (Tabla 5). En los datos recogidos en la ficha de observación, en este mercado San Alfonso era donde más productos orgánicos se encontraban en el piso.

Tabla 5: Clasificación según la familia de las bacterias patógenas aisladas de productos orgánicos en los mercados de Riobamba.

| Familia | Género y especie | Frecuencia | Porcentaje (%) |
|----------------------------------|---------------------------------|------------|----------------|
| <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 | 79,00 |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | |
| | <i>Citrobacter diversus</i> | 11 | |
| | <i>Citrobacter amalonaticus</i> | 3 | |
| | <i>Enterobacter aerogenes</i> | 1 | |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | 8 | |
| | <i>Citrobacter freundii</i> | 1 | |
| | <i>Escherichia coli</i> | 4 | |
| | <i>Salmonella sp</i> | 1 | |
| | <i>Proteus vulgaris</i> | 3 | |
| | <i>Morganella morganii</i> | 2 | |
| | <i>Hafnia alvei</i> | 1 | |
| <i>Streptococcaceae</i> | <i>Enterococcus sp</i> | 10 | 21,00 |
| TOTAL | | 47 | 100 |

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

La familia del *Enterobacteriaceae* fue la más aislada con el (79,00%), seguida de la *Streptococcaceae* con el (21,00%), siendo similar a lo descrito en la bibliografía consultada. El presente estudio coincidió con el de Rodríguez y colaboradores, en Bolivia, los cuales aislaron especies de enterobacterias en muestras de lechugas, como el *Citrobacter ssp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* ³⁴.

En Chimborazo, en el río Chibunga, Mur y Marcillo aislaron enterobacterias; también obtuvieron similares patógenos perjudiciales al hombre Molina y Orozco en el río Chambo¹⁸,¹⁹.

Aunque existió aislamiento de una sola cepa de *Salmonella sp* en acelga (producto que generalmente se consume crudo), hay que darle importancia por ser un patógeno bastante virulento, capaz de producir cuadros diarreicos agudos que en ocasiones pueden llegar a la

deshidratación sobre todo en niños pequeños y ancianos. Por lo que se impone educar a las personas para que los vegetales sean bien lavados, desinfectados o cocidos. Similar hallazgo en Bogotá lo tuvo Bayona, pero en frutas ³⁵.

En la microbiología sanitaria el hallazgo de microorganismos del género *Enterococcus* es indicador de contaminación fecal y un dato interesante en este estudio fue que se aisló esta bacteria en 5 productos de los 6 estudiados: zanahoria, manzana, tomate de árbol, rábano y ocas, pero además se encontraron en todos los mercados estudiados (10 cepas para un 21%), lo cual significa que puede ser que los productos provengan de un mismo proveedor.

A diferencia de esta investigación, Pérez y colaboradores, en el Perú encontraron *Listeria monocytogenes* en zanahorias estudiadas³⁶. Sin embargo, López en Chimborazo encontró *Enterococcus sp* en zanahoria, papa, rábano, culantro, mashua, ocas y habas, coincidiendo con algunos productos de este estudio¹⁴.

Este microorganismo grampositivo no provoca enfermedad gastroentérica como tal, sino es capaz por vía endógena de producir infecciones del aparato urinario, de heridas, endocarditis, bacteriemia, entre otras enfermedades, ya que coloniza el intestino del hombre como consecuencia de ingestión de alimentos contaminados; se debe indicar que existen pocos antibióticos para ser tratadas estas infecciones por la resistencia intrínseca que tiene el enterococo^{26, 27}.

Existen factores de riesgo relacionados con este patógeno, como es la inmunodepresión, el uso de catéter, el uso inadecuado de antibióticos de amplio espectro, las enfermedades debilitantes, las infecciones por producidas por el *Clostridium difficile*, las hospitalizaciones prolongadas, las hemodiálisis, las diálisis peritoneal y trasplantes renales, que desde el intestino es capaz de invadir y producir infecciones o diseminarse como patógeno nosocomial^{26, 27}.

El Documento M100 de las CLSI 2020³⁰, sirvió para categorizar como sensible, intermedia y resistente a cada cepa bacteriana aislada en esta investigación, frente a los antibióticos (ATB) usados para medir la susceptibilidad y resistencia antimicrobiana, mediante el método de Kirby Bauer por difusión Tabla 6, 7 y 8.

Tabla 6: Patrón de susceptibilidad y resistencia del género *Enterococcus* aislado de productos orgánicos de los mercados de Riobamba.

| BACTERIA | PRODUCTO | CEPA | TE | CIP | VA | P | E |
|--------------------------|-----------------|------|----|-----|----|---|---|
| <i>Enterococcus spp.</i> | Zanahoria | 1 | R | S | R | R | R |
| | | 2 | S | S | S | S | R |
| | Manzana | 3 | R | S | S | S | S |
| | | 4 | S | S | S | S | S |
| | | 5 | S | S | S | S | S |
| | Ocas | 6 | S | I | S | R | S |
| | Rábano | 7 | S | I | S | S | I |
| | | 8 | S | S | S | S | S |
| | Tomate de Árbol | 9 | S | I | R | S | S |
| | | 10 | S | S | S | S | S |

TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacino; V: vancomicina; AX: amoxicilina; P: penicilina

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

A pesar que este patógeno es aislado de productos orgánicos, tiene gran relevancia, pues desde el punto de vista microbiológico y epidemiológico es esencial su identificación exacta y eficaz, debido fundamentalmente a que estos organismos emergieron como una de las causas principales de infecciones intrahospitalarias, por su fácil diseminación en este ambiente, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos, neonatos, cardiópatas o con daño renal.

De forma general las cepas aisladas del género *Enterococcus* presentaron buena sensibilidad a excepción de una obtenida a partir de la zanahoria que presentó multiresistencia y ésta es a la vez uno de los dos aislados (20%) que son Enterococos Vancomicina Resistente (EVR).

Aunque este porcentaje se considera bajo, es importante destacar este comportamiento por ser un antibiótico para uso en infecciones graves por este patógeno, ya que presenta

resistencia a la mayoría de los antimicrobianos, lo que traduce que una persona que presente una infección por este microorganismo no va a tener muchas opciones de tratamiento.

López en su estudio en productos agrícolas en Ecuador, también aisló *Enterococcus* con buena sensibilidad y el 100% para la vancomicina; a diferencia nuestra, Dardaque y colaboradores en Brasil encontraron en vegetales un alto por ciento de resistencia a la vancomicina (48,31%)^{14, 37}.

La familia de los *Enterococcus* es susceptible a la penicilina, también a la ampicilina, amoxicilina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulanato y piperacilina-tazobactam para los *Enterococcus* que no producen β -lactamasa. Sin embargo, a la inversa no se puede suponer que los susceptibles a la ampicilina sean susceptibles a la penicilina, según las CLSI³⁰.

Tabla 7: Patrón de susceptibilidad y resistencia de la familia *Enterobacteriaceae* aislada de productos orgánicos de los mercados de Riobamba.

| BACTERIA | CEPAS | GN | K | TE | CIP | AN | SXT | CRO | CAZ | IPM | ATM | AZM | AMC |
|---------------------------------|-------|----|---|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Citrobacter diversus</i> | 1 | S | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | R |
| <i>Citrobacter diversus</i> | 10 | S | I | S | I | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Citrobacter amalonaticus</i> | 3 | S | S | R | S | S | R | S | S | S | S | S | S |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 1 | S | I | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 6 | S | S | R | S | S | R | S | S | S | S | S | S |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 2 | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | S |
| <i>Escherichia coli</i> | 2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Escherichia coli</i> | 2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |

| <i>coli</i> | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| <i>Salmonella</i> | 4 | S | S | S | S | R | R | S | S | S | S | S | S |
| <i>sp</i> | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Proteus</i> | 3 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>vulgaris</i> | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Morganella</i> | 2 | S | S | R | R | S | R | S | S | S | S | S | S |
| <i>morganii</i> | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Hafnia alvei</i> | 1 | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S |
| <i>Klebsiella</i> | 1 | S | R | S | I | S | S | S | S | S | S | R | I |
| <i>oxytoca</i> | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Klebsiella</i> | 1 | S | S | S | I | S | S | S | S | S | S | R | R |
| <i>pneumoniae</i> | | | | | | | | | | | | | |

GE: gentamicina; K: kanamicina; TE: tetraciclina; CIP: ciprofloxacino; AN: ácido nalidíxico; SXT: Sulphamethoxazole/ Trimethoprim CRO: ceftriaxone; CAZ: ceftazidime; IPM: imipenem; ATM: aztreonam; AZM: azitromicina; AMC: amoxicilina/ clavulánico

Fuente: Allauca C. Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba,2020. UNACH

La familia *Enterobacteriace* frente a los antimicrobianos (12) probados, se comportó con buena sensibilidad, solamente la *Morganella morganii* presentó resistencia a 3 antibióticos: tetraciclina, ciprofloxacina y sulfaprim.

La *Salmonella sp* es resistente al ácido nalidíxico y al sulfaprim, dos medicamentos de uso clínico frecuente en la comunidad y con buena respuesta frente a una salmonelosis, lo que significa que si no se lavan bien los alimentos y en específico la acelga que es el producto en estudio puede acarrear un cuadro diarreico que no respondería eficazmente a la primera línea de tratamiento.

El *Citrobacter amalonaticus* y el *Enterobacter cloacae* fueron resistentes a la tetraciclina y al sulfaprim también, pero con buena sensibilidad para el resto de los antimicrobianos, a diferencia de López que encontró resistencia de estos gérmenes, pero a la ampicilina y amoxicilina¹⁴.

El género *Klebsiella* representado por *K. oxytoca* y *K. pneumoniae*, presenta buena sensibilidad a la mayoría de los ATB, excepto para la azitromicina y amoxicilina con clavulánico y además la *K. oxytoca* a la kanamicina, correspondiendo estos resultados con la misma resistencia encontrada en la investigación realizada por López¹⁴. Al contrario, Marcillo-Mur y Orozco-Molina en Chimborazo, reportaron un 100% de sensibilidad frente a los antimicrobianos para este género^{18, 19}.

Otras enterobacterias como *C. freundii*, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *E. coli* y *C. diversus* presentaron buena sensibilidad frente a los antibióticos probados y ninguna cepa presentó mecanismos de resistencia mediante el método Kirby Bauer.

CONCLUSIONES

1. De las 54 muestras de productos orgánicos recolectadas de diferentes mercados de la ciudad de Riobamba, se aislaron 47 cepas bacterianas, a través de métodos microbiológicos, de ellas 10 grampositivas y 37 gramnegativas, perteneciendo a las familias *Streptococcaceae* (21,00%) y *Enterobacteriaceae* (79,00%).
2. La familia de *Enterobacteriaceae* estuvo representada por los géneros *Klebsiella* (*K. pneumoniae* y *K. oxytoca*), *Citrobacter* (*C. diversus*, *C. amalonaticus* y *C. freundii*), *Enterobacter* (*E. aerogenes* y *E. cloacae*), *Proteus* (*P. vulgaris*), *Salmonella* (*Salmonella* sp), *Escherichia coli*, *Morganella morganii* y *Hafnia alvei*. Mientras que la familia *Streptococcaceae* sólo por el género *Enterococcus*, patógeno responsable de las infecciones extraintestinales que van desde una inflamación hasta una septicemia y muerte, sobre todo en personas inmunodeprimidos.
3. Los resultados obtenidos presentaron buena sensibilidad de forma general y no mostraron un mecanismo de resistencia mediante el método Kirby Bauer, lo que no evitara, que en un momento dado estas bacterias adquieran multirresistencia por el uso y abuso de antibióticos, tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad.
4. El mercado que marcó mayor aislamiento de bacterias de importancia clínica fue el San Alfonso seguido de La Esperanza, con 38,29% y 23,43% respectivamente; La Condamine y el Santa Rosa con un 19,14%; es decir hubo crecimiento bacteriano en casi todos los productos analizados.
5. Se concluye que los productos orgánicos expendidos en mercados de la ciudad de Riobamba se encuentran contaminados con poblaciones bacterianas que puede ser causada por alguna falla desde la cosecha, recogida, transportación, conservación y expendio.

RECOMENDACIONES

1. Dar a conocer la información de la investigación realizada a las autoridades competentes como al Municipio, Salud Pública, Medio Ambiente y otros de la provincia de Chimborazo para que tomen medidas adecuadas y así poder disminuir la contaminación de los productos orgánicos.
2. Promover charlas educativas sobre medidas higiénico-sanitarias como el correcto lavado de las manos, de los productos agrícolas y su cocción, para poder evitar así enfermedades, brotes o epidemias que puedan causar gastos económicos personales y a los gobiernos.
3. Indicar a la población para que no se automedique con antibióticos, evitando así que aparezcan cepas multirresistentes,
4. Se recomienda realizar estudios posteriores de medición antimicrobiana, para buscar mecanismos de resistencia en las bacterias patógenas aisladas en productos orgánicos expendidos en mercados de la ciudad de Riobamba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos. [Internet]. 2017 [consulta el 10 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety#>
2. Hernandez C, Aguilera M, Castro G, Situación de enfermedades gastrointestinales en México Rev. Enfermedades Infecciosas y Microbiología [Internet]. 2011 [consulta el 14 de enero del 2020 31(4): Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2011/ei114f.pdf>
3. Ventimilla L, Infecciones gastrointestinales en niños menores de 3 años hospitalizados en el servicio de pediatría, Deofilo Dávila .[Tesis tercer nivel] Machala: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Machala. 2013
4. Alvarez M, Buesa J, Castillo J, Vila J, Diagnostico microbiológico de las infecciones gastrointestinales, Rev. Elsevier [Internet]. 2009 [consulta el 16 de enero del 2020 27(7): Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-diagnostico-microbiologico-infecciones-gastrointestinales-S0213005X09001621>
5. Crim S, Iwamoto M, Huang J, Griffin P, Gilliss D. Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006-2013. Rev. Centers for Disease Control and Prevention [Internet] 2014 [consulta el 20 de mayo de 2019] 63(15): 328-332. Disponible en: https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6315a3.htm?s_cid=mm6315a3_w
6. Enríquez E, Flores J, Di Giovanni, George F, Corral B, Osuna P. Contaminación fecal en agua potable del valle de Juárez [Internet] México: Terra Latinoamericana; 2013 [consulta el 20 de mayo de 2019] 31(2): 135-143. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/573/57328308006.pdf>
7. Corral B, Flores J, Olivas E, Osuna P, Giovanni G. Contaminación fecal en agua potable del Valle de Juárez. Rev Terra Latinoamericana [Internet]. 2013 [consulta el 20 de mayo de 2019] 31(2): Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792013000300135&lang=es
8. Ministerio de Salud y Protección Social, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Documento de Estado Actual de Inocuidad de los

- Alimentos. Bogotá, D. C.: Departamento de Salud Nutricional, Alimentos y Bebidas; 2013.
9. Rodríguez M, Zapata M, Solano M, Lozano D, Torrico F, Torrico M. Evaluación de la contaminación microbiológica de la lechuga (*lactuca sativa*) en la cadena alimentaria, provincia de Quillacollo, Cochabamba, Bolivia 2015. Rev. Scielo [Internet]. 2015 [consulta el 25 de junio de 2019] 38(2): Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662015000200006
 10. Castro M, Basualdo M, Gómez C, Diaz E, Ugnia L. Inocuidad en ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas listas para su consumo. Rev. Científica FAV-UNRC [Internet]. 2018 [consulta el 25 de junio de 2019] 1(1): Disponible en: www.ayv.unrc.edu.ar/ojs/index.php/Ab_Intus/article/download/51/12/
 11. Cano T, Sánchez Análisis de la tendencia de infecciones debidas a la alimentación.[Tesis tercer nivel] Milagro : Universidad Estatal de Milagro . 2017
 12. MsC Armendariz C, MsC Monge E, MsC Zhunio B, Análisis de las tres enfermedades más comunes producidas por la mala manipulación de los alimentos en el sector de Cotacollao Rev. RICIT [Internet]. 2012 [consulta el 16 de enero del 2020 2(4): Disponible en: [Dialnet-AnalisisDeLasTresEnfermedadesMasComunesProducidasP-4181024.pdf](http://dialnet-analisisdelas-tres-enfermedades-mas-comunes-producidas-p-4181024.pdf)
 13. Barrero J, Parásitos intestinales y su relación con el estado. [Tesis tercer nivel] Riobamba; Facultad de Salud Pública: Escuela Superior de Chimborazo. 2016
 14. López A. Diagnóstico bacteriológico en productos agrícolas de la cuenca del rio Chanchán. [Tesis tercer nivel] Riobamba: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo. 2019
 15. Ortega J, Vélez A. Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca. [Tesis tercer nivel] Cuenca: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca. 2013.
 16. Cabascango, S. Determinación microbiológica y de metales pesados en berro expandido en los diferentes mercados del Distrito Metropolitano de Quito. [Tesis tercer nivel] Quito: Universidad Politécnica Salesiana. 2016.
 17. Puyol F, Razo A. Determinación de la calidad de agua del sistema de riego “Chimpungales” y su incidencia en la producción de maíz de la comunidad Pungal Santa Marianita del cantón Guano. [Tesis tercer nivel] Riobamba: Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Chimborazo. 2016

18. Marcillo K, Mur Ll. Resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas aisladas del regadío del río Chibunga. [Tesis tercer nivel] Riobamba: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo. 2018.
19. Molina J, Orozco J. Detección de resistencia antimicrobiana en bacterias de interés clínico aisladas en el Río Chambo [Tesis tercer nivel] Riobamba: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo. 2019.
20. Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021 [Internet] Ecuador. Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo; 2015 [consulta el 12 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://planparatodoscloud.senplades.gob.ec/objetivo6>
21. OMS. Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria. 2017.
22. OMS. Enfermedades diarreicas. 2 de mayo 2017
23. Poapponetti M, Diarrea Bacteriana Rev. IntraMed [Internet]. 2014 [consulta el 20 de enero del 2020 21(4): Disponible en: <https://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoid=62710>
24. Campos V, Mondaca M. Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Argentina: CYTED; 2016, p. 159-162. Cap. 13. Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales; Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/riesgo.pdf>
25. Bibek R, Bhunia A. Fundamentos de Microbiología de los alimentos. 4a ed. México: Graw Hill; 2010. p. 202-222.
26. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. En: Microbiología médica. 8va edición. Barcelona; 2017. p. 162–169
27. Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología Médica. 25 edición, Mc Graw Hill. 2011. p 219, 339-341
28. Oromí J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. Rev. Elsevier [Internet] 2000 [consulta el 22 de junio de 2019]; 30(10): 367-405. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticos-10022180>
29. Calderon G, Aguilar L, Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. Revista médica de Costa Rica y Centroamérica LXXIII [Internet]. 2016; [citado 22 de junio de 2019]; 621(1): 758-759. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>

30. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Documento M100. CLSI 2019. 29th Edition.
31. Koneman E, Winn W, Allen S, Jadan W, y otros, En: Diagnóstico Microbiológico. 12 edición. Buenos Aires; 2012 p. 123-124.
32. Bergey DH. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - Vol 4: Bacteroidetes [Internet]. 4ta edición. Springer-Verlag New York Inc. Estados Unidos: Athens; 2010. 949 p. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-68572-4>
33. Landeta C, Plan de mejoras, manipulación y conservación de alimentos en el mercado municipal de Duran. [Tesis tercer nivel] Guayaquil: Facultad de Ingeniería en mecánica y ciencias de la producción, Universidad Superior de litoral Guayaquil. 2011
34. Rodríguez M, Zapata M, Solano M, Lozano D, Torrico F, Torrico M. Evaluación de la contaminación microbiológica de la lechuga (*lactuca sativa*) en la cadena alimentaria, provincia de Quillacollo, Cochabamba, Bolivia 2015. Rev. Scielo [Internet]. 2015 [consulta el 25 de junio de 2019] 38(2): Disponible en: http://www.scielo.org/bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662015000200006
35. Bayona MR. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública en un sector del norte de Bogotá. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 12 (2): 9-17, 2009
36. Perez G. Chávez M. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en tomate, zanahoria, espinaca, lechuga y rabanito, expendidos en mercados de Trujillo, Perú. Rev. Ciencia y Tecnología [Internet] 2012 [consulta el 23 de agosto de 2019] 8(22): 1 - 11. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/183/189>
37. Dardaqué RM, Tormen SH, Terra MR, Furlaneto MC, Furlaneto LM. *Enterococcus* spp. Isolados de Alimentos Vegetais: Análise da Resistência a Antimicrobianos. V SIMPOSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA. 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina-PR. Universidad de Estadual de Londrina. Paraná, Brasil

ANEXOS

ANEXO 1.

FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: Estudio de bacterias causantes de infecciones intestinales en productos orgánicos en los mercados de Riobamba

Nº de muestra: _____

Nombre del estudiante: _____

Fecha: _____

Muestra de producto orgánico (Nombre): _____

Muestra tomada en (lugar): _____

Observación:

Presencia de animales en los mercados: _____

Otra fuente que se considere contaminación: _____ Cuál: _____

Realizado por: _____

Celia Viviana Allauca Carrillo

Estudiante

Supervisado por: _____

Dra. María del Carmen Cordovéz

Tutora

ANEXO 2. Recolección de las muestras



ANEXO 3: Obtención de muestras representativas del producto y pre-enriquecimiento en 225ml de Agua Peptonada.



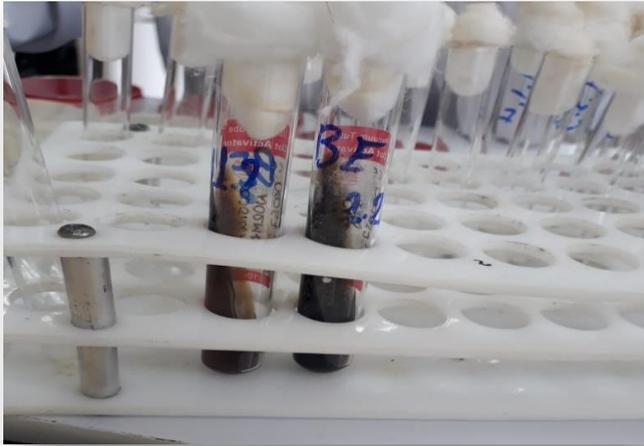
ANEXO 4: Enriquecimiento en 9ml de Agua Peptonada.



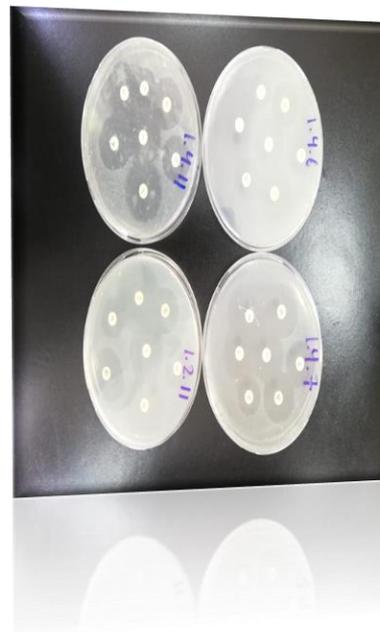
ANEXO 5: Siembra de las muestras en AS, MC y CLED



ANEXO 6: Identificación de género y especie



ANEXO 7: Método por difusión de Kirby Bauer para medir la actividad antimicrobiana.



ANEXO 8: Guía internacional. CLSI 2019 (Documento M100)

