

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

TEMA:

Determinación de la Incidencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en Camarones comercializados en puestos de abasto de un mercado del cantón General Villamil Playas.

AUTOR:

Carlos Daniel Chiriguaya Monsalve

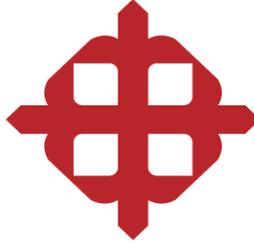
**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de
Ingeniero Agroindustrial**

TUTOR

Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc.

Guayaquil, Ecuador

6 de marzo del 2018



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por **Chiriguaya Monsalve Carlos Daniel**, como requerimiento parcial para la obtención del Título de **Ingeniería Agroindustrial**.

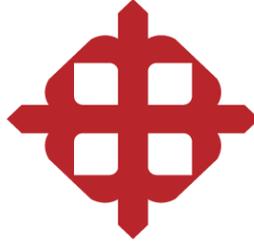
TUTOR

Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc.

DIRECTOR DE LA CARRERA

Ing. Franco Rodríguez John Eloy, Ph.D.

Guayaquil, a los 6 días del mes de marzo del año 2018.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Carlos Daniel Chiriguaya Monsalve

DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación, **Determinación de la Incidencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en Camarones comercializados en puestos de abasto de un mercado del cantón General Villamil Playas**. Previo a la obtención del título de **Ingeniería Agroindustrial**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

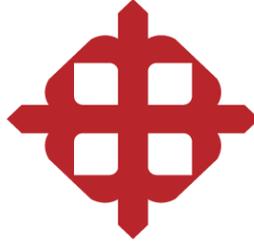
En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 6 días del mes de marzo del año 2018.

EL AUTOR

f. _____

Chiriguaya Monsalve Carlos Daniel



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

AUTORIZACIÓN

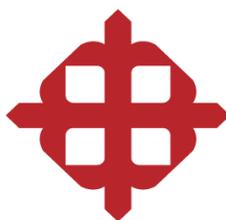
Yo, **Chiriguaya Monsalve Carlos Daniel**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación, **Determinación de la Incidencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en Camarones comercializados en puestos de abasto de un mercado del cantón General Villamil Playas**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 6 días del mes de marzo del año 2018.

EL AUTOR

f. _____
Chiriguaya Monsalve Carlos Daniel



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CERTIFICACIÓN URKUND

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo de Titulación “**Determinación de la Incidencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en Camarones comercializados en puestos de abasto de un mercado del cantón General Villamil Playas.**”, presentado por el estudiante **Carlos Daniel Chiriguaya Monsalve**, de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

| URKUND | |
|----------------|---|
| Documento | TT UTE B 2017 Chiriguaya Monsalve Carlos.pdf (D35239264) |
| Presentado | 2018-02-01 22:57 (+01:00) |
| Presentado por | ute.fetd@gmail.com |
| Recibido | alfonso.kuffo.ucsg@analysis.orkund.com |
| Mensaje | TT UTE B 2017 Chiriguaya Monsalve Mostrar el mensaje completo |
| | 0% de estas 20 páginas, se componen de texto presente en 0 fuentes. |

Fuente: URKUND-Uusuario Kuffó García, 2018

Certifican,

Ing. John Franco Rodríguez, Ph. D

Director Carreras Agropecuarias

UCSG-FETD

Ing. Alfonso Kuffó García, M. Sc.

Revisor – URKUND

AGRADECIMIENTO

A Dios, por brindarme una magnífica mamá, quien ha sido mi pilar fundamental en todos los ámbitos de mi vida, todos sus consejos, sus reflexiones y su sabiduría han sido mis bases de preparación como un profesional y hombre de bien por tanto le estaré agradecido por toda la vida.

Al M.Sc. William Collantes, quien me brindó su ayuda siempre que tenía dudas académicas.

A la M.Sc. María Fernanda Morales y a los genios de la mesa cuadrada como ella los llama, quienes no dudaron en darme su apoyo incondicional, su conocimiento y herramientas académicas para culminar mi proyecto.

Al Ing. Carlos Juárez y a su equipo de APRACOM S.A, quienes me facilitaron todos los materiales y equipos que requería para mis análisis de microbiología.

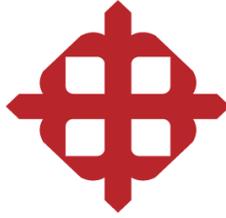
A mi tutor Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc , quien estuvo siempre brindándome su apoyo y su conocimiento durante los años de la carrera y en especial para la culminación de mi Trabajo de Titulación.

Carlos Daniel Chiriguaya Monsalve

DEDICATORIA

Todo mi esfuerzo es dedicado a esa persona quien desde que yo era pequeño solo se ha preocupado por mi bienestar en todos los aspectos, quien ha estado conmigo en los buenos y malos momentos, quien me ha brindado su apoyo siempre sin dudarlo, quien me ha guiado por el camino de ser un hombre de bien bajo las leyes de Dios, y quien es la persona que amo y amaré por el resto de mis días, esa persona es mi mamá: Carola Alexandra Monsalve Avilés.

Carlos Daniel Chiriguaya Monsalve



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

f. _____

Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc.

TUTOR

f. _____

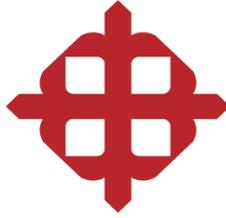
Ing. Franco Rodríguez John Eloy, Ph.D.

DIRECTOR DE CARRERA

f. _____

Ing. Noelia Caicedo, M.Sc.

COORDINADOR DEL ÁREA



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

CALIFICACIÓN

f. _____

Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc

TUTOR

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUCCIÓN..... | 17 |
| 1.1 Objetivos..... | 18 |
| 1.1.1 Objetivo general. | 18 |
| 1.1.2 Objetivos específicos..... | 18 |
| 1.2 Hipótesis..... | 18 |
| 2 MARCO TEÓRICO | 19 |
| 2.1 Características y usos del producto | 19 |
| 2.1.1 Camarón Ecuatoriano y su clase..... | 20 |
| 2.2 Contribución del Sector Camaronero a la Economía | 20 |
| 2.3 Requisitos..... | 21 |
| 2.3.1 Requisito microbiológico..... | 21 |
| 2.3.2 Almacenamiento..... | 22 |
| 2.4 ETAS..... | 22 |
| 2.5 <i>Salmonella spp.</i> | 23 |
| 2.5.1 Características generales de <i>Salmonella spp.</i> | 23 |
| 2.5.2 Clasificación taxonómica de la <i>Salmonella.</i> | 24 |
| 2.5.3 Hábitat <i>Salmonella</i> | 24 |
| 2.5.4 Enfermedades. | 25 |
| 2.6 <i>E. coli</i> | 25 |
| 2.6.1 Características generales de <i>E. coli</i> | 25 |
| 2.6.2 <i>E. coli</i> y contaminación de los alimentos | 25 |
| 2.6.3 Hábitat <i>E. coli</i> | 26 |
| 2.7 Infecciones Debidas A <i>Salmonella spp</i> y <i>E. coli</i> en el Ecuador..... | 27 |
| 2.7.1 Anuario De Vigilancia Epidemiológica 1994 – 2016 Enfermedades Trasmitidas Por Agua Y Alimentos. | 28 |
| 2.8 Método de detección de <i>Salmonella</i> y <i>E. coli</i> | 29 |

| | |
|---|-----------|
| 2.8.1 Kit De Rápida Detección Para <i>Salmonella</i> | 29 |
| 2.8.2 Petrifilm AOAC 998.08. | 29 |
| 2.8.3 Características y Beneficios. | 29 |
| 2.9 Plan de muestreo..... | 29 |
| 2.9.1 Tipos de Plan de Muestreo..... | 30 |
| 2.10 Comparaciones Fisher..... | 30 |
| 2.11 Minitab..... | 30 |
| 3 MARCO METODOLÓGICO..... | 31 |
| 3.1 Localización del ensayo..... | 31 |
| 3.2 Localización del sitio de los análisis de laboratorio | 31 |
| 3.3 Plan de muestreo | 32 |
| 3.4 Variables | 32 |
| 3.4.1 Variables Dependientes: | 32 |
| 3.4.2 Variables Independientes | 32 |
| 3.5 Método Reveal 2.0 Salmonella Test System..... | 32 |
| 3.5.1 Materiales y equipos..... | 33 |
| 3.5.2 Preparación de la muestra | 33 |
| 3.5.3 Análisis..... | 34 |
| 3.5.4 Interpretación de los resultados..... | 34 |
| 3.6 Método Petrifilm Ec..... | 35 |
| 3.6.1 Materiales y equipos..... | 35 |
| 3.6.2 Preparación de la muestra..... | 35 |
| 3.6.3 Interpretación de los resultados..... | 36 |
| 3.7 Análisis estadístico | 37 |
| 3.7.1 Análisis estadístico para <i>Salmonella</i> spp..... | 37 |
| 3.7.2 Análisis estadístico para <i>E. coli</i> | 37 |
| 3.8 Plantilla del plan de Muestreo para toma de muestras | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 39 |
| 4.1 Datos obtenidos en los análisis de <i>Salmonella</i> spp. | 39 |
| 4.2 Datos obtenidos en los análisis de <i>E. coli</i> | 43 |
| 4.3 ANOVA Minitab | 45 |
| 4.4 Interpretación de resultados por jornada | 48 |
| 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 51 |
| 5.1 Conclusiones | 51 |
| 5.2 Recomendaciones..... | 52 |
| BIBLIOGRAFIA | |
| ANEXOS | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Requisitos microbiológicos del camarón comercial..... | 21 |
| Tabla 2. Información base del Muestreo diario | 32 |
| Tabla 3. Modelo base del plan de muestreo | 38 |
| Tabla 4. Resultados <i>Salmonella</i> spp. Jornada 1..... | 39 |
| Tabla 5. Resultados <i>Salmonella</i> spp. Jornada 2..... | 39 |
| Tabla 6. Promedio de resultado obtenidos de <i>Salmonella</i> spp. | 40 |
| Tabla 7. Comparación de los resultados obtenidos de <i>Salmonella</i> spp. con los requisitos microbiológicos..... | 41 |
| Tabla 8. Resultados de los análisis de las muestras para la determinación de <i>E. coli</i> | 43 |
| Tabla 9. Promedio de los resultados | 44 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Infecciones por provincia (Salmonella) | 27 |
| Gráfico 2. Infecciones por provincia (<i>E. coli</i>) | 27 |
| Gráfico 3. Infecciones por provincia (2016) | 28 |
| Gráfico 4. Anuario Epidemiológico (1994-2016)..... | 28 |
| Gráfico 5. Localización del trabajo | 31 |
| Gráfico 6. Ejemplo de resultados..... | 34 |
| Gráfico 7. Ejemplo de resultado..... | 36 |
| Gráfico 8. Suma de resultados obtenidos | 42 |
| Gráfico 9. ANOVA | 45 |
| Gráfico 10. Comparación entre los puestos A, B, C, D, E..... | 46 |
| Gráfico 11. Comparación entre puestos A, B, C, D, E con datos visibles. ... | 47 |
| Gráfico 12. Resultados de la jornada 1 | 48 |
| Gráfico 13. Resultados individuales | 49 |
| Gráfico 14. Resultados de la jornada 2 | 49 |
| Gráfico 15. Resultados individuales | 50 |

RESUMEN

El presente Trabajo de Titulación tuvo como objetivo determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en camarones comercializados en los puestos de abasto de un mercado de General Villamil Playas. El estudio se basó en la NTE INEN 456:2013 primera revisión “Camarones o Langostinos Congelados” en donde se indican los requisitos del camarón fresco congelado. Se diseñó un plan de muestreo para cada microorganismo, se estudiaron cinco puestos los cuales fueron muestreados cada día por cinco días (lunes, martes, miércoles, jueves y viernes) en dos jornadas cada día. Para la determinación de *Salmonella* spp. se empleó el método Reveal 2.0 y para *E. coli* se empleó el método Petrifilm. Cada muestra fue analizada por triplicado y los resultados obtenidos fueron comparados con los requisitos microbiológicos de la Norma INEN. Para *Salmonella* se determinó la ausencia en todas las muestras, mientras que, para *E. coli* existieron conteos, los cuales fueron ingresados al programa Minitab 18 para determinar las diferencias entre los puestos.

Palabras claves: Camarón, *E. coli*, *Salmonella* spp., NTE INEN, Reveal 2.0, Petrifilm EC.

ABSTRACT

The objective of the current investigation was to determine the presence or absence of *Salmonella* spp. and *E. coli* in shrimps commercialized in the supply points of a market in General Villamil Playas. The study was based on the NTE INEN 456: 2013 first revision "Shrimps or Frozen Prawns" where the requirements of fresh frozen shrimp are indicated. A sampling plan was made for each microorganism, five food stalls were studied which were sampled for five days (Monday, Tuesday, Wednesday, Thursday and Friday) in two times each day. For the determination of *Salmonella* spp., the Reveal 2.0 method was used and for *E. Coli*, it was used the Petrifilm method. Each sample was analyzed in triplicate and the results obtained were compared with the microbiological requirements of the INEN Standard. For *Salmonella*, it was determined the absence in the samples, while the data obtained from *E. coli* there were counts, which were entered into the Minitab 18 program to determine the differences between the food stalls.

Keywords: Shrimp, *E. coli*, *Salmonella* spp., NTE INEN, Reveal 2.0, Petrifilm EC.

1 INTRODUCCIÓN

El camarón es uno de los productos de mayor exportación del Ecuador, en donde la producción y consumo de camarón se ha incrementado al paso de los años, por eso se debe garantizar que el producto sea inocuo para la salud, tanto para la población nacional como extranjera. De esta forma se reduce la probabilidad que se origine alguna enfermedad transmitida por los alimentos (ETA's) producida por el consumo del camarón.

Las ETA's son reconocidas mundialmente como un problema de salud que afectan a las poblaciones, por ejemplo, podemos nombrar enfermedades como: Salmonelosis, Shigelosis, entre otras. Estas enfermedades son adquiridas cuando los individuos consumen alimentos que están contaminados con microorganismos patógenos. En los hospitales, la salmonelosis es una enfermedad que se trata con frecuencia, debido a que las personas han consumido alimentos contaminados.

Una de las principales fuentes de ingreso del Mercado Municipal del cantón General Villamil Playas es la comercialización de mariscos, entre ellos podemos destacar el camarón que se expende en varios puestos de abasto del mismo.

En la actualidad la aplicación de BPM (Buenas prácticas de manufactura) determina la seguridad higiénica de un producto alimenticio. La no observancia de los reglamentos y normativas de seguridad alimentaria podría perjudicar la inocuidad del alimento, especialmente en productos como el camarón que son muy sensibles al deterioro y que podrían facilitar la reproducción microbiana.

Con los antecedentes expuestos se propone los siguientes objetivos.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general.

- Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en los camarones comercializados en los puestos de abasto de un mercado de General Villamil Playas.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Determinar plan de muestreo del camarón comercializado en el mercado del Cantón General Villamil Playas, de acuerdo con cada microorganismo.
- Aplicar el método Reveal 2.0 AOAC RI 960801 para la determinación de *Salmonella* spp. en el camarón.
- Aplicar el método Petrifilm AOAC 998.08 para la determinación de *E. coli*.
- Realizar un micro mapeo a los lugares con mayor incidencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* encontrados en el mercado municipal de la ciudad de Playas.

1.2 Hipótesis

- H1: Aplicando métodos de diagnóstico de observación de patógenos en camarones, se podrá determinar la presencia de los mismos en puesto de comercialización de productos del mar del mercado de General Villamil playas.
- H0: Aplicando métodos de diagnóstico de observación de patógenos en camarones, NO podrá determinar la presencia de los mismos en puesto de comercialización de productos del mar del mercado de General Villamil playas.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Características y usos del producto

La Oficina Comercial del Ecuador en Reino Unido (2012, p1) menciona que: Los camarones son crustáceos decápodos (con diez patas) que miden entre 10 a 15 centímetros de longitud, son conocidos también con los nombres de Quisquillas, Esquilas, Gambas o Carideas, su nombre científico es *Palaemon serratus*. Estos pueden vivir en aguas dulces y salobres; es decir, se adaptan perfectamente a climas templados, fríos y tropicales. Por lo que existen tres variedades básicas de camarón en el mercado mundial, en relación con su origen:

- De agua fría: son pequeños y viven en aguas oceánicas frías.
- De aguas tropicales: gran tamaño, pero su tiempo de vida es corto, se desenvuelven en aguas tropicales cálidas. En esta clasificación se encuentran las variedades mayormente comerciadas a nivel mundial.
- De agua dulce: viven en ríos y lagos, y en regiones cálidas llegan a tener gran tamaño.

El camarón ecuatoriano por su exquisito sabor, color y textura es reconocido como un producto gourmet a nivel mundial. El camarón blanco o *litopenaeus* representa más del 95 % de la producción ecuatoriana (Agencia de promoción de Inversiones de Manabí, s.f).

En la provincia del Guayas y a nivel nacional las especies capturadas de camarones son de diferentes categorías cuales todos los camarones son pertenecientes. La sección *Panaeoidea* tiene cuatro diferentes familias: *Aristeidae*, *Sicyoneidae*, *Penaeidae* y *Solenoceridae* (Albán, López, Franco y Narváez, 2016).

2.1.1 Camarón Ecuatoriano y su clase.

Arellano (1984) indica que los tipos de camarón son:

Blanco:

- *Penaeus occidentalis*
- *Penaeus stylirostris*
- *Penaeus vannamei*

Rojo:

- *Penaeus brevirostris*

Café:

- *Penaeus californiensisanco*

Tigre o Cebra:

- *Trachypeneus byrdi*
- *Trachypeneus faoea*
- *Trachypeneus similes*
- *Trachypeneus pacifique*

Pomada:

- *Protrachypene precipua*

Titi:

- *Xiphoneusriveti*

2.2 Contribución del Sector Camaronero a la Economía

La producción acuícola del país, casi en su totalidad, es exportada, no existe un mercado local que sea abastecido por la actividad acuícola. La contribución de la acuicultura en mitigar la pobreza en el país está directamente relacionada con la generación de empleo para los estratos económicos más bajos (Departamento de pesca y acuicultura, 2017).

ANDES (2014) indica que:

“Las exportaciones ecuatorianas de camarón se duplicaron en los dos primeros meses del año (399 millones de dólares 97.2 %), al comparar las cifras con las de enero y febrero de 2013 (202.3 millones de dólares); y a su vez viendo un incremento en el volumen de exportación de un 32.4 %, de 31 000 a 41 000 toneladas. En comparación al precio de hace un año, el camarón se ha incrementado en un 48.9 %, que pasó de 6 456.7 dólares, por cada tonelada, a 9 614.9 dólares”.

2.3 Requisitos

Las Normas INEN de camarones (NTE INEN 456 ,2013) indican:

Los productos deben estar exentos de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas producidas por estos, que puedan ocasionar un peligro para la salud.

2.3.1 Requisito microbiológico.

De acuerdo con la norma INEN 456 camarones frescos congelados nos indica que los requisitos microbiológicos son:

Tabla 1. Requisitos microbiológicos del camarón comercial.

| Requisito | n | M | M | c | Método de ensayo |
|--|---|--------------|------|---|------------------|
| Recuento de microorganismos mesófilos, ufc/g | 5 | 5x10 | 1x10 | 3 | AOAC 99.12 |
| <i>E. coli</i> ufc/g | 5 | <10 | 10 | 2 | AOAC 998.08 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, ufc/g | 5 | 100 | 1000 | 2 | AOAC 2003.11 |
| Salmonella /25g | 5 | No detectado | - | 0 | NTE INEN 1529-15 |
| <i>Vibrio cholerae</i> /25g | 5 | No detectado | - | 0 | ISO/TS21872-1 |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> /25g | 5 | No detectado | | | ISO/TS21872-1 |

Fuente: NTE INEN 456 (2013)

Dónde:

n: Número de muestras a examinar.

m: Criterio microbiológico por debajo del cual el alimento no representa un riesgo para la salud .

M: Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c: Número de muestras permisibles con resultados entre m y M

2.3.2 Almacenamiento.

El producto se mantendrá en congelación (-18 °C) de modo que mantenga su calidad durante el transporte, el almacenamiento y la distribución NTE INEN 456 (2013).

2.4 ETAS

Las enfermedades de transmisión alimentaria abarcan un amplio espectro de dolencias y constituyen un problema de salud pública creciente en todo el mundo. Se deben a la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas. La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquier etapa del proceso que va de la producción al consumo de alimentos ("de la granja al tenedor") y puede deberse a la contaminación ambiental, ya sea del agua, la tierra o el aire (OMS, s.f).

De acuerdo con los informes de la OMS, se calcula que cada año se producen mil quinientos millones de casos de diarreas y mueren tres millones de niños menores de cinco años en el mundo, y de ellas, un elevado porcentaje se produce como consecuencia de la ingestión de alimentos y de agua contaminados (López, Rivero, Martínez y Rodríguez, 2013, p 204).

El hombre puede adquirir toda una serie de enfermedades por el consumo de agua y alimentos, pues estos, por su naturaleza, en determinadas circunstancias se pueden alterar y transformar en vehículos tóxicos de enfermedades microbianas, contener venenos propios del alimento o

contaminarse con sustancias químicas. Los síntomas varían de acuerdo con el tipo de contaminación, así como también según la cantidad del alimento contaminado consumido. Los más comunes son vómitos y diarreas (García, Rodríguez, Casado, Perez y Sosa, 2012, p 214).

El pescado y los camarones generalmente se consideran como principales vehículos para varias transmisiones de enfermedades bacterianas. La mayoría de las cepas de *E. coli* o coliformes fecales son inofensivos, pero algunos pueden causar diarrea (Chandraval Dutta, 2016).

2.5 *Salmonella* spp.

2.5.1 Características generales de *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae, está integrada por bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos que utilizan citrato como única fuente de carbono y poseen metabolismo de tipo oxidativo y fermentativo. Para su crecimiento no requieren cloruro de sodio, pero pueden crecer en concentraciones que van desde 0.4 % al 4 %. La mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura que va desde los 5 °C a 47 °C, con una temperatura óptima de 35 °C-37 °C, algunas pueden llegar a crecer a 2 °C o 4 °C y hasta 54 °C. El pH de crecimiento oscila entre 4-9 con un óptimo entre 6.5 y 7.5. Se desarrollan bien a una actividad de agua (*aw*) de 0.99 a 0.94, pueden llegar a sobrevivir en alimentos secos con un *aw* de < 0.94 (González Pedraza et al, 2014, p 74).

El Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta (CDCP, 2016) explica que la *Salmonella* es una bacteria que enferma a las personas. Fue descubierto por un científico estadounidense llamado Salmon, y se sabe que causa enfermedades desde hace más de 125 años. La enfermedad que las personas contraen por una infección de *Salmonella* se llama salmonelosis. La mayoría de las personas infectadas con *Salmonella* desarrollan diarrea, fiebre y calambres abdominales entre 12 y 72 horas después de la infección.

La enfermedad generalmente dura de 4 a 7 días, y la mayoría de las personas se recuperan sin tratamiento. En algunos casos, la diarrea puede ser tan grave que el paciente necesita ser hospitalizado. En estos pacientes, la infección por *Salmonella* puede diseminarse desde los intestinos a la corriente sanguínea y luego a otros sitios del cuerpo. En estos casos, *Salmonella* puede causar la muerte a menos que la persona reciba tratamiento inmediato con antibióticos. Los ancianos, los bebés y las personas con sistemas inmunológicos deteriorados tienen más probabilidades de tener una enfermedad grave.

2.5.2 Clasificación taxonómica de la *Salmonella*.

Se deben definir las dos especies de *Salmonella* (*S. entérica* y *S. bongorí*) en un sistema de clasificación taxonómica que subdivide a *S. entérica* en seis subespecies: I entérica, II salamae, IIIa arizonae, IIIb diarizonae, IV houtenae, VI indica, de las cuales más del 60 % de las cepas identificadas y el 99 % de los serovares responsables por las infecciones en el hombre y animales de sangre caliente son miembros de la subespecie entérica (I). Por su parte en la especie *S. bongori* se han incluido más de 20 serotipos que causan casos espontáneos de enteritis en humanos posiblemente al entrar en contacto con reptiles y aves migratorias (Rivera, Motta y Chimonja, 2012).

Si bien con el pasar de los años la caracterización taxonómica de la *Salmonella* ha variado, es preciso mencionar que existen aproximadamente 2 200 tipos serológicos diferentes (Cameán y Repetto, 2012, p.260).

2.5.3 Hábitat *Salmonella*.

En el libro *La SALMONELLA*, de actualidad desde siempre (Adelantado et al, 2008, p. 9) se menciona que los microorganismos del género *Salmonella* se definen como bacterias ubicuas, poseyendo como principal reservorio el intestino de los animales homeotermos y poiquilotermos. A pesar de no disponer de estructuras de resistencia, manifiestan una elevada capacidad de supervivencia en el medio ambiente.

2.5.4 Enfermedades.

La gastroenteritis por *Salmonella* es una zoonosis que se transmite por la ingestión de alimentos, agua o fómites contaminados por las heces de un animal o persona infectados y constituye una pandemia de distribución mundial (Gil, Manzón, Martín, Urtigaga María, 2002).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, s.f) informa que: la salmonelosis, que generalmente se caracteriza por la aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y, a veces, vómitos, es una enfermedad provocada por *Salmonella*. Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse entre 6 y 72 horas (generalmente 12 a 36 horas) después de la ingesta de *Salmonella*, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días.

2.6 *E. coli*

2.6.1 Características generales de *E. coli*.

E. coli se describió por primera vez en 1885 por el pediatra alemán Theodore Escherich. Fue nombrada inicialmente como "*Bacterium coli commune*", pero en 1919 fue renombrada con el nombre actual en honor a su descubridor (Sadowsky, Whitman, 2010).

2.6.2 *E. coli* y contaminación de los alimentos.

La *E. coli* es casi exclusivamente de origen fecal y se transmite a través de la contaminación fecal de los alimentos y del agua, así como también a través de la contaminación cruzada o por contacto humano directo durante la preparación de los alimentos. Mientras tanto, la principal vía de exposición pareciera ser el consumo de alimentos contaminados, como carne molida cruda o mal cocida, leche cruda y productos frescos. A pesar de la gravedad o ausencia de los síntomas de la enfermedad, las personas y animales infectados pueden liberar entre 10⁶ a 10⁹ unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces y la liberación de la *E. coli* también se puede producir a través de portadores asintomáticos (FAO, sf).

2.6.3 Hábitat *E. coli*.

Rol normal *E. coli*., en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de changos sanos. Es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. En individuos sanos, es decir, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes. En humanos, *E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida (Flores, 1995).

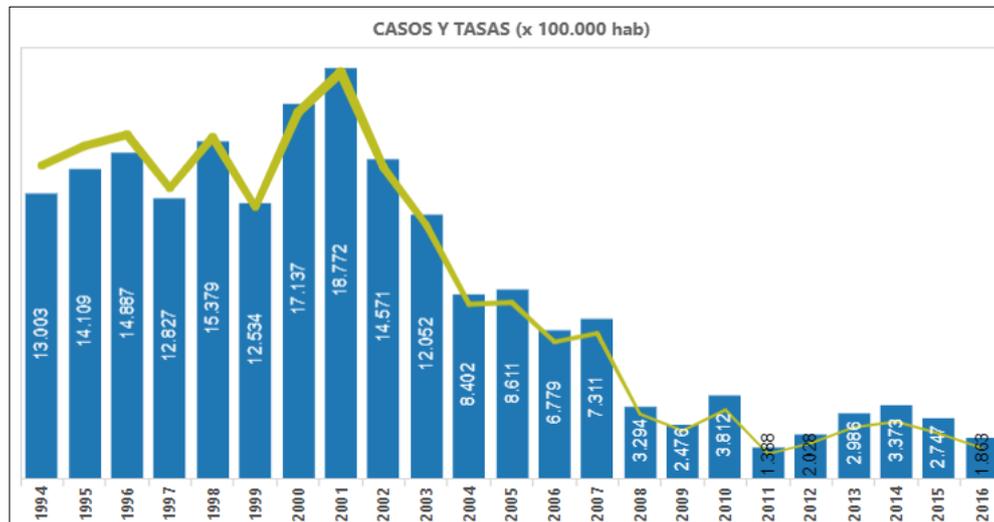
La presencia de coliformes totales en gran cantidad está asociada a unas malas condiciones de manipulación o de preparación de la comida, o a la utilización de agua con una calidad bacteriológica dudosa (Estupiñán, 2014).

Cada año, centenares de miles de personas se enferman a causa de la *Escherichia coli* (*E. coli*) patógena, y cientos de ellas fallecen. En los últimos años ha habido un aumento de los brotes de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y se han registrado millares de casos esporádicos de colitis hemorrágica (diarrea sanguinolenta), algunos de los cuales provocan el síndrome urémico hemolítico (SUH) que puede llegar a ser mortal. Los brotes de STEC han tenido un efecto significativo en los sistemas de atención sanitaria y en la producción y el comercio agropecuarios en muchos países del mundo (FAO.s,f).

2.7 Infecciones Debidas A *Salmonella* spp. y *E. coli* en el Ecuador

En el Gráfico 1. se muestra las infecciones por *Salmonella* spp. registradas por provincias en el Ecuador.

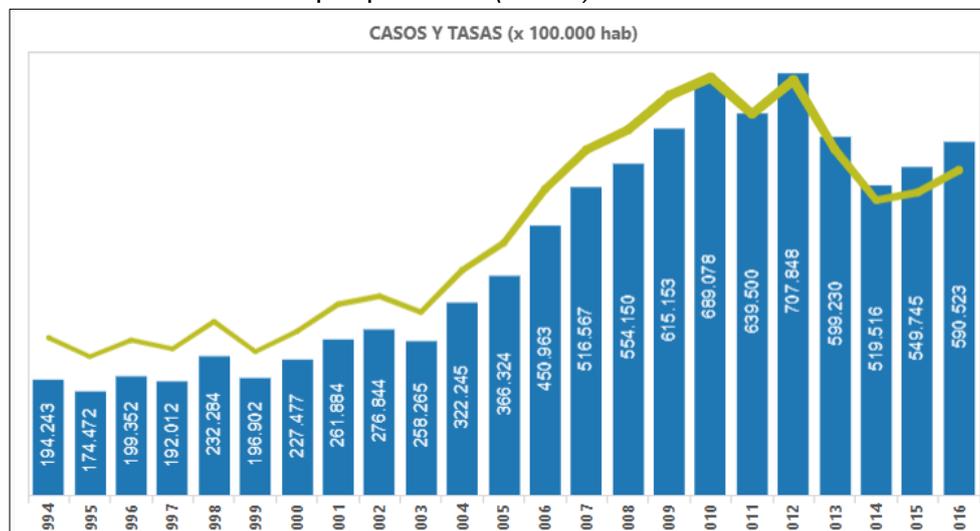
Gráfico 1. Infecciones por provincia (*Salmonella* spp.)



Fuente: Ministerio de Salud Pública (2016).

En el Gráfico 2. se muestra las infecciones por *E. coli* registradas por provincias en el Ecuador.

Gráfico 2. Infecciones por provincia (*E. coli*)



Fuente: Ministerio de Salud Pública (2016).

2.7.1 Anuario De Vigilancia Epidemiológica 1994 – 2016 Enfermedades Trasmítidas Por Agua Y Alimentos.

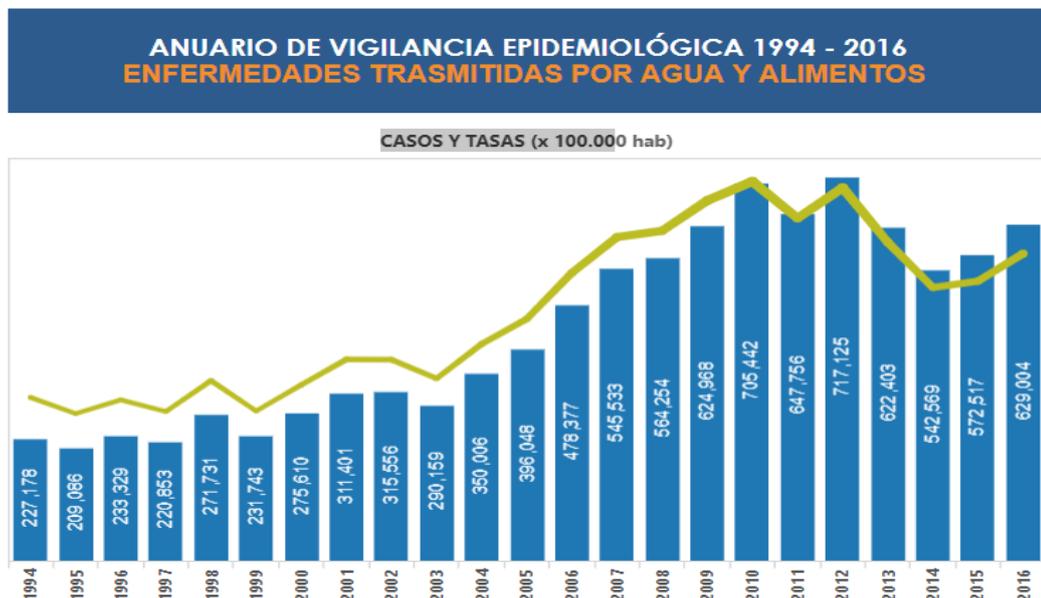
En el Gráfico 3. se muestra las infecciones por provincia del 2016 y en el Gráfico 4. se muestra el anuario Epidemiológico años 1994-2016.

Gráfico 3. Infecciones por provincia



Fuente: Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2016).

Gráfico 4. Anuario Epidemiológico



Fuente: Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2016).

2.8 Método de detección de *Salmonella* y *E. coli*

2.8.1 Kit De Rápida Detección Para *Salmonella*.

El examen Reveal[®] 2.0 para *Salmonella* proporciona la rápida recuperación de *Salmonella* en el enjuague de canales de pollo, pavo molida cruda, carne molida cruda, perros calientes, camarones crudos, productos de comida listos para comer, alimento seco para mascotas, helado, espinacas frescas, cantalupo, mantequilla de maní, hisopos de superficies de acero inoxidable y muestras de agua de riego germinado que permiten la detección e identificación presuntiva de *Salmonella* en 24 horas (Neogen,s.f).

2.8.2 Petrifilm AOAC 998.08.

La placa Petrifilm para Recuento de *E. coli*, constituye un sistema listo para usar que contiene elementos nutritivos de Violeta Rojo Bilis (V.R.B) un agente gelificante soluble en agua, un indicador de la actividad y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias.

2.8.3 Características y Beneficios.

Neogen (s. f) explica que los beneficios y características son:

- Protocolos de enriquecimiento optimizados para varios tipos de muestras (25 g y 325 g)
- Medios irradiados para una fácil preparación
- Costo mínimo de inicio

2.9 Plan de muestreo

El (Reglamento Técnico Centroamericano) RTCA 67.04.50:08 expone que:

Un Plan de muestreo es un procedimiento en que se estipula el tamaño de la muestra y el criterio de aceptación o rechazo, basándose en los resultados de análisis.

2.9.1 Tipos de Plan de Muestreo.

- Plan de muestreo de 2 clases
- Plan de muestreo de 3 clases

2.10 Comparaciones Fisher

El Test de Fisher es un test de comparaciones múltiples. Permite comparar las medias de los “n” niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Todos los test de comparaciones múltiples son test que tratan de perfilar, tratan de especificar, tratan de concretar, una Hipótesis alternativa genérica como la de cualquiera de los Test ANOVA. Utilizando el método LSD de Fisher, usted especifica que cada comparación debe tener una tasa de error individual de 0.05 (equivalente a un nivel de confianza de 95 %). Minitab crea estos diez intervalos de confianza de 95 % (Llopiz, 2013).

2.11 Minitab

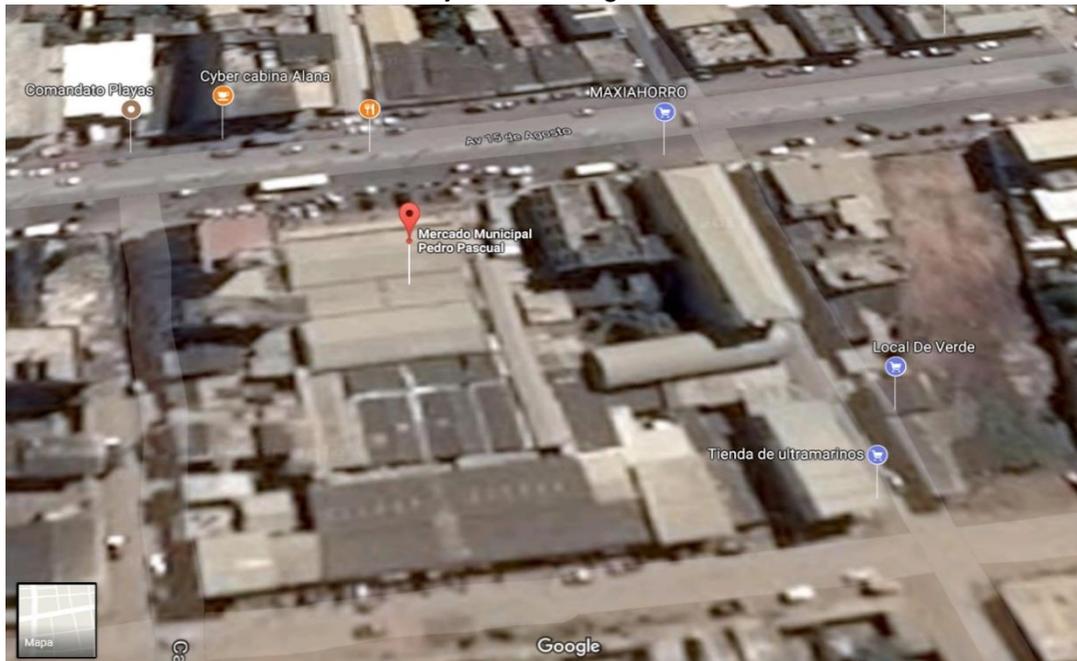
Minitab es un potente programa de software estadístico que ofrece una amplia gama de capacidades básicas y avanzadas para el análisis estadístico. Sustancialmente actualizada y refinada en la liberación de Minitab 16, amplias capacidades de gran alcance y una incomparable facilidad de uso lo convierten en la herramienta ideal para la enseñanza. Minitab es el paquete principal utilizado en la industria para mejorar la calidad y el proceso, los estudiantes que aprendan Minitab tendrán la ventaja de saber cómo utilizar una herramienta de trabajo en el mundo real (Joiner, 2012).

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización del ensayo

Las muestras serán tomadas de los puestos de abasto del mercado municipal de Cantón General Villamil Playas.

Gráfico 5. Localización del Trabajo de Investigación.



Fuente: Google maps (2017).

3.2 Localización del sitio de los análisis de laboratorio

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Departamento De Microbiología De La Empresa Pesquera ubicada en Posorja- cantón Guayaquil, en la Av. Carlos Luis Carvajal y la calle Carlos Baidal Tircio S/N Malecón, Barrio 12 de abril.

3.3 Plan de muestreo

Se estudiaron cinco puestos los cuales fueron muestreados cada día por cinco días (lunes, martes, miércoles, jueves y viernes) en dos jornadas cada día. Se utilizaron guantes estériles para la manipulación de la muestra y posterior a esto las muestras fueron colocadas en bolsas estériles y almacenadas en una hielera. Las mismas fueron transportadas directamente al laboratorio de microbiología. Las muestras fueron analizadas por triplicado.

Tabla 2. Información base del Muestreo diario

| 1. Información de Entrada | |
|----------------------------------|----|
| Tipos de Bacteria | 2 |
| Hora Muestreo | 2 |
| Punto de Venta | 5 |
| Total Tratamientos | 20 |
| Muestras x Tratamiento | 3 |
| Total Muestras | 60 |

Elaborado por: El Autor

3.4 Variables

3.4.1 Variables Dependientes.

- Microorganismo *Salmonella* spp.
- Microorganismo *E. coli*

3.4.2 Variables Independientes.

- Horas de toma de la muestra (Jornada 1 y Jornada 2).

3.5 Método Reveal 2.0 Salmonella Test System

Este sistema utiliza el medio REVIVE, que le proporciona a las Salmonellas, nutrientes fácilmente disponibles y otros factores necesarios para su supervivencia y recuperación/reparación en condiciones de tensión o lesión. Después del tratamiento con REVIVE, el enriquecimiento selectivo favorece el crecimiento de Salmonellas a niveles detectables por el dispositivo de prueba.

Una parte del cultivo de enriquecimiento se coloca en el dispositivo de prueba, la muestra se lleva por capilaridad a través de una zona de reactivo que contiene anticuerpos específicos (anti-Salmonella) conjugados con partículas doradas coloidales. Si en la muestra existen antígenos, estos se unirán a los anticuerpos dorados conjugados. Este complejo de antígeno-anticuerpo luego abandona la zona del reactivo y viaja a través de la membrana nitrocelulosa que contiene la zona de anti-Salmonellas. El complejo inmune con conjugado dorado es capturado y agregado a esta zona y por ello puede visualizarse una línea. El resto de la muestra continúa la emigración hasta el extremo de la membrana donde eventualmente se colocará en un depósito de desperdicios

3.5.1 Materiales y equipos.

- Balanza
- Cronómetro
- Pocillos de reacción
- Dispositivos de prueba Reveal 2.0 para *Salmonellas*
- Pipetas *Pasteur*
- Caldo de cultivo REVIVE
- Caldo de enriquecimiento Rappaport
- Agua estilada estéril
- Recipientes estériles

3.5.2 Preparación de la muestra.

- Se transfirió el contenido de una botella de REVIVE a un recipiente, se colocó 200 ml de agua destilada precalentada a 42 °C. Se agitó hasta disolver.
- Se colocó 25 g de muestra del alimento (la muestra debe estar a temperatura ambiente) en el recipiente que contiene el medio REVIVE.
- Se procesó la muestra hasta asegurar la mezcla completa.

- La muestra fue incubada a 36 ± 1 ° C durante 4 horas.
- Se adicionó el caldo de Rappaport en una bolsa añadiendo 200 ml de agua estéril purificada.
- Se mezcló vigorosamente hasta que se disuelva.
- Se procedió a añadir los 200 ml de enriquecimiento selectivo
- Se mezcló suavemente con un movimiento de lado a lado.
- Para finalizar se incubó a 42 ± 0.2 °C durante 16-24 horas.

3.5.3 Análisis.

- Para el análisis se retiró el recipiente de la incubadora y se transfirió 200µl u 8 gotas en un pocillo.
- Se colocó la tirilla de tal manera que las flechas de la misma queden en dirección hacia abajo y se dejó incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.

3.5.4 Interpretación de los resultados

En el Gráfico 6, se observa un ejemplo de tipos de resultados como:

- Resultado positivo: Aparición de línea roja debajo de la línea de control.
- Resultado negativo: Solo aparece la línea de control.

Gráfico 6. Ejemplo de resultados



Fuente: Neogen (s,f)

3.6 Método Petrifilm Ec

Las Placas Petrifilm para el Recuento de *E. coli* (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97 %) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa.

Cerca del 95 % de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

3.6.1 Materiales y equipos.

- Balanza
- Agua estilada estéril
- Recipientes estériles
- Incubadora
- Placas 3M Petrifilm Ec.
- Botella de dilución
- Dispensor
- Pipetas estériles
- Cuenta colonias
- Diluyentes estériles: Agua peptona o Butterfield

3.6.2 Preparación de la muestra.

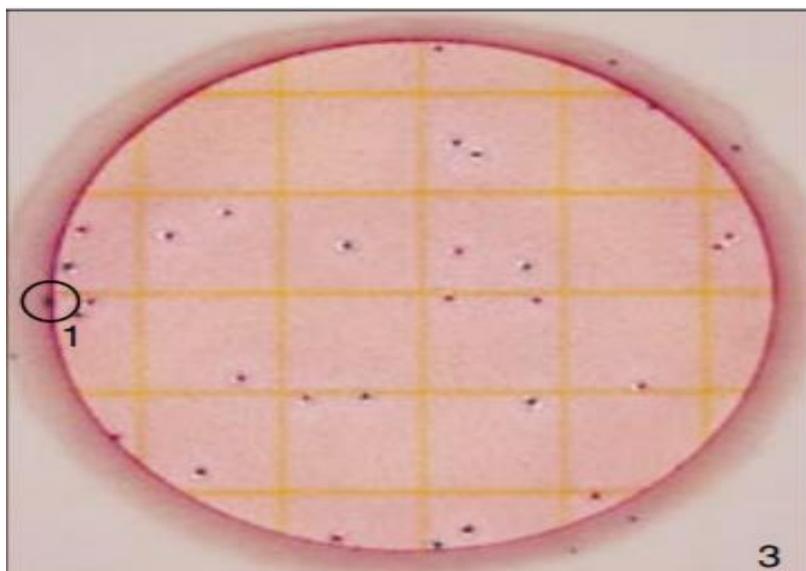
- Se pesó 50 g de la muestra.
- En un frasco que contiene 400 ml de agua destilada se transfirió los 50 g de la muestra.
- Se procedió a homogenizar la muestra.
- Se colocó la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada.

- Se Levantó la película superior y con una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, se transfirió 1 ml de la muestra en el centro de la película inferior.
- Se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire.
- Con el lado liso hacia abajo, se colocó el dispersor en la película superior sobre el inóculo.
- Se procedió a presionar suavemente con el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular.
- Se Incubó las placas caras arriba en grupos de no más de 20 piezas por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.6.3 Interpretación de los resultados

Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar. Las colonias de *E. coli* se tornarán de color azul mientras en los coliformes totales presentarán una coloración roja.

Gráfico 7.Ejemplo de resultado



Fuente: 3m Petrifilm

3.7 Análisis estadístico

A los microorganismos en estudio se le aplicaron análisis estadísticos diferentes debido a que por su naturaleza se les emplearon diferentes planes de aceptación o rechazo, dependiendo de su grado de patogenicidad.

3.7.1 Análisis estadístico para *Salmonella* spp.

Se planteó un análisis estadístico descriptivo de sumatoria de muestras que cumplen y no cumplen y compararlos con el requisito microbiológico ya que al ser un patógeno de alto riesgo para el ser humano el CODEX, INEN, FAO y otras entidades exigen reportar la ausencia o presencia del microorganismo.

3.7.2 Análisis estadístico para *E. coli*.

Con los datos obtenidos se usó el programa Minitab 18 para realizar un análisis de varianza para comparar las medias de concentración bacteriana por puesto empleando comparación Fisher al 5 % y de esta forma determinar por puesto si cumplen o no con los requisitos microbiológicos de la norma INEN.

3.8 Plantilla del plan de Muestreo para toma de muestras

La Tabla 3. muestra la plantilla base que se elaboró para la toma de muestras correspondiente al plan de muestreo.

Tabla 3. Modelo base del plan de muestreo

| | | <i>Salmonella spp.</i> | | | | | <i>E. coli</i> | | | | |
|------------------|----------|------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------|-------|
| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
| Jornada 1 | Puesto A | | | | | | | | | | |
| | Puesto B | | | | | | | | | | |
| | Puesto C | | | | | | | | | | |
| | Puesto D | | | | | | | | | | |
| | Puesto E | | | | | | | | | | |
| Jornada 2 | Puesto A | | | | | | | | | | |
| | Puesto B | | | | | | | | | | |
| | Puesto C | | | | | | | | | | |
| | Puesto D | | | | | | | | | | |
| | Puesto E | | | | | | | | | | |

Elaborado por: El Autor

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Datos obtenidos en los análisis de *Salmonella* spp.

Los resultados que vemos en la Tabla 4. y Tabla 5. son de los análisis de *Salmonella* spp. con 3 repeticiones hechas en cada puesto durante los 5 días.

Tabla 4. Resultados *Salmonella* spp Jornada 1

| <i>Salmonella</i> spp. | | | | | | |
|-------------------------------|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
| Jornada 1 | Puesto A | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto B | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto C | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto D | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto E | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |

Elaborado por: El Autor

Tabla 5. Resultado *Salmonella* spp. Jornada 2

| <i>Salmonella</i> spp. | | | | | | |
|-------------------------------|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
| Jornada 2 | Puesto A | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto B | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto C | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto D | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |
| | Puesto E | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG | NEG-NEG-NEG |

Elaborado por: El Autor

4.1.1 Promedio de resultados de los análisis de las dos jornadas.

La Tabla 6. muestra los promedios obtenidos en base a las Tablas 4 y 5 y posteriormente será comparada con la tabla de requisitos microbiológicos para así, de esta forma validar el cumplimiento o no de la norma INEN.

Tabla 6. Promedio de resultado obtenidos de *Salmonella* spp

| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
|-----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Jornada 1 | Puesto A | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto B | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto C | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto D | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto E | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Jornada 2 | Puesto A | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto B | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto C | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto D | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |
| | Puesto E | NEG | NEG | NEG | NEG | NEG |

Elaborado por: El Autor

Además, en La Tabla 6. Se debe interpretar los resultados de la siguiente manera:

- NEG significa negativo (ausencia del microorganismo).
- POS significa positivo (presencia del microorganismo).

Tabla 7. Comparación de los resultados obtenidos de *Salmonella* spp. con los requisitos microbiológicos.

| | TOTAL DE ANÁLISIS | RESULTADOS |
|------------------|-------------------|------------|
| JORNADA 1 | 50 | AUSENCIA |
| JORNADA 2 | 50 | AUSENCIA |

VS

| Requisito | N | M | M | c | Método de ensayo |
|--|---|--------------|------|---|------------------|
| Recuento de microorganismos mesófilos, ufc/g | 5 | 5x10 | 1x10 | 3 | AOAC 99.12 |
| <i>E. coli</i> ufc/g | 5 | <10 | 10 | 2 | AOAC 998.08 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, ufc/g | 5 | 100 | 1000 | 2 | AOAC 2003.11 |
| <i>Salmonella</i> /25g | 5 | No detectado | - | 0 | NTE INEN 1529-15 |
| <i>Vibrio cholerae</i> /25g | 5 | No detectado | - | 0 | ISO/TS21872-1 |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> /25g | 5 | No detectado | | | ISO/TS21872-1 |

De acuerdo con la norma INEN 456 camarones frescos congelados sobre los requisitos microbiológicos acerca de *Salmonella*, las muestras analizadas cumplen con los parámetros establecidos de acuerdo con la norma, al determinarse con la ausencia del microorganismo.

Gráfico 8. Suma de resultados obtenidos



Elaborado por: El Autor

En el Gráfico 8. muestra la sumatoria de resultados negativos y positivos, donde el color verde contiene los 150 análisis y se confirma la ausencia del microorganismo, además que las muestras cumplen con el requisito microbiológico *Salmonella* spp, norma INEN 456 Camarones frescos congelados y por tal motivo los puestos A, B, C, D, E no poseen ninguna observación y se concluye que los camarones no están contaminados con *Salmonella* spp.

4.2 Datos obtenidos en los análisis de *E. coli*

La Tabla 8. representa los resultados reportados de los análisis de *E. coli* de las 2 Jornadas de manera triplicada como se mencionó en el plan de muestreo.

Tabla 8. Resultados de los análisis de las muestras para la determinación de *E. coli*.

| | | <i>E. coli</i> | | | | |
|------------------|----------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 |
| Jornada 1 | Puesto A | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 |
| | Puesto B | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 |
| | Puesto C | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 |
| | Puesto D | 98-90-110 | 100-80-60 | 180-200-190 | 90-35-54 | 120-119-121 |
| | Puesto E | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 |
| Jornada 2 | Puesto A | 0-0-0 | 8-12-10 | 0-0-0 | 0-0-0 | 0-0-0 |
| | Puesto B | 10-10-10 | 28-32-30 | 0-0-0 | 11-9-10 | 29-31-31 |
| | Puesto C | 20-0-10 | 0-0-0 | 0-0-0 | 20-21-18 | 0-0-0 |
| | Puesto D | 150-160-140 | 250-150-110 | 180-170-280 | 310-200-210 | 170-200-200 |
| | Puesto E | 10-10-10 | 9-11.10 | 10-10-10 | 0-0-0 | 10-11-10 |

Elaborado por: El Autor

La Tabla 9. representa los promedios obtenidos de la Tabla 8, y estos datos fueron ingresados al programa Minitab 18 para realizar el análisis de varianza y comparación Fisher al 5 %.

Tabla 9. Promedio de los resultados.

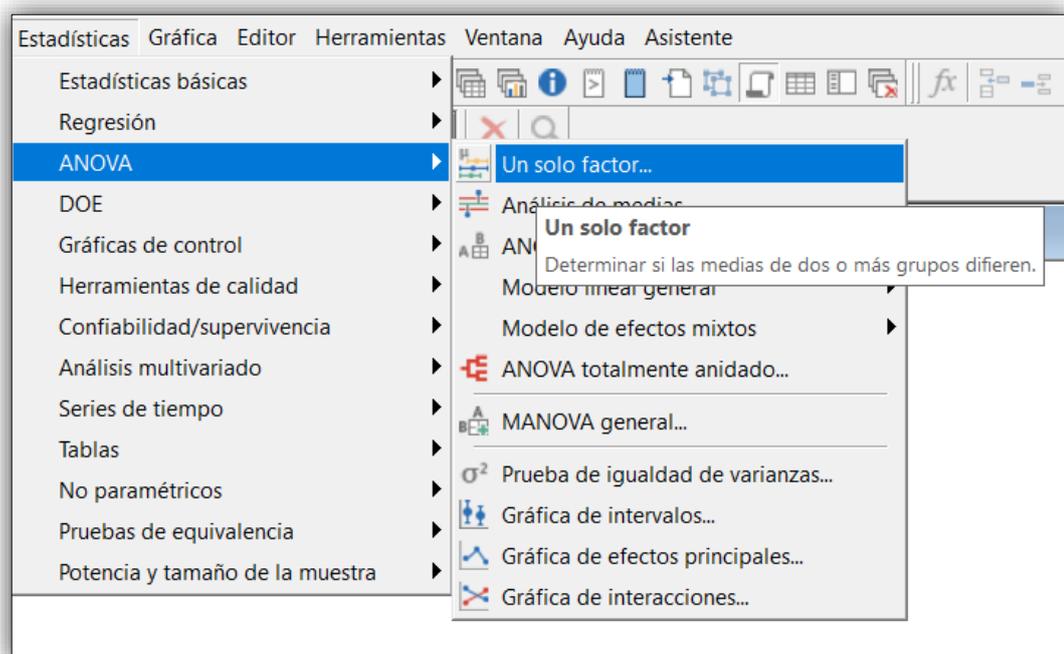
| | Puesto A | Puesto B | Puesto C | Puesto D | Puesto E |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Jornada 1 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 | 80 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 | 190 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 | 180 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 | 120 | 0 |
| Jornada 2 | 0 | 10 | 10 | 150 | 10 |
| | 10 | 30 | 0 | 170 | 10 |
| | 0 | 0 | 0 | 210 | 10 |
| | 0 | 10 | 20 | 240 | 0 |
| | 0 | 30 | 0 | 190 | 0 |

Elaborado por: El Autor

4.3 ANOVA Minitab

Como se mencionó en la metodología se utilizó el programa Minitab para realizar la validación estadística de los datos obtenidos de los análisis microbiológicos, en el Gráfico 9 observamos que se empleó el análisis de la varianza con la opción de un solo factor.

Gráfico 9. ANOVA



Fuente: Programa Minitab 18

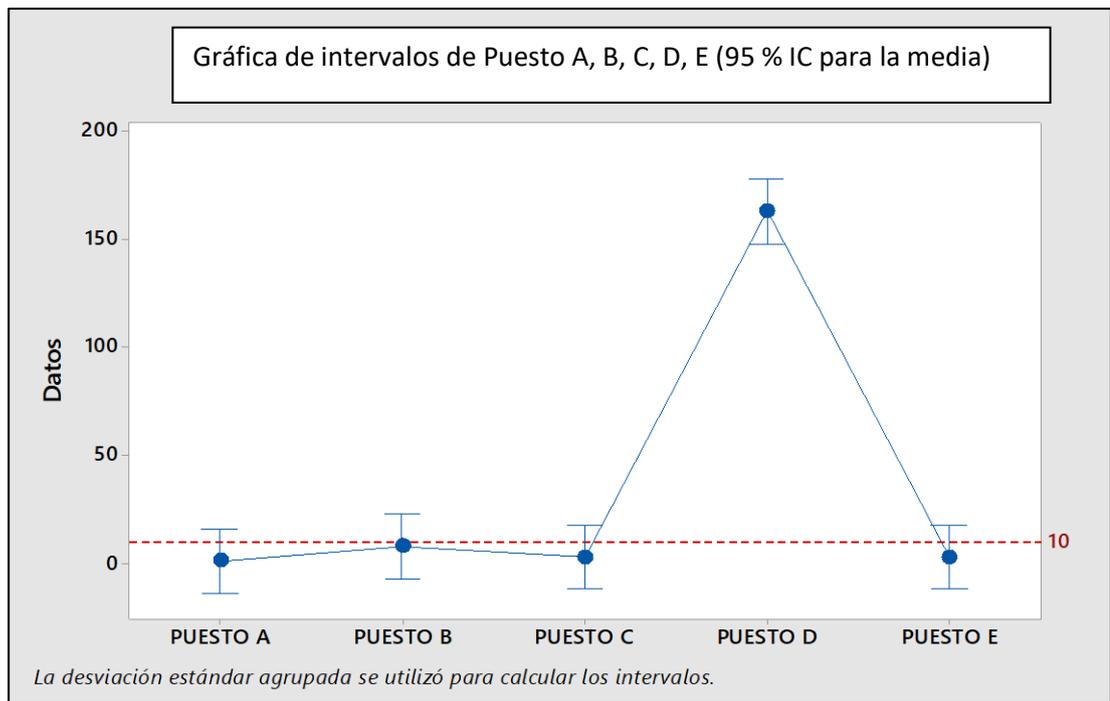
Agrupar información utilizando el método LSD de Fisher y una confianza de 95 %

| Factor | N | Media | Agrupación |
|----------|----|-------|------------|
| PUESTO D | 10 | 163.0 | A |
| PUESTO B | 10 | 8.00 | B |
| PUESTO E | 10 | 3.00 | B |
| PUESTO C | 10 | 3.00 | B |
| PUESTO A | 10 | 1.00 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

El puesto D es significativamente diferente a los demás puestos, para entender mejor esto veremos los siguientes Gráficos.

Gráfico 10. Comparación entre los puestos A, B, C, D, E.



Elaborado por El Autor

Los requisitos microbiológicos de la norma INEN de camarones frescos congelados indica que para *E. coli*:

N=5

C=2

m=<10

M= 10

Dónde:

n = número de unidades de muestras a ser analizadas.

m = Criterio microbiológico por debajo del cual el alimento no representa un riesgo para la salud.

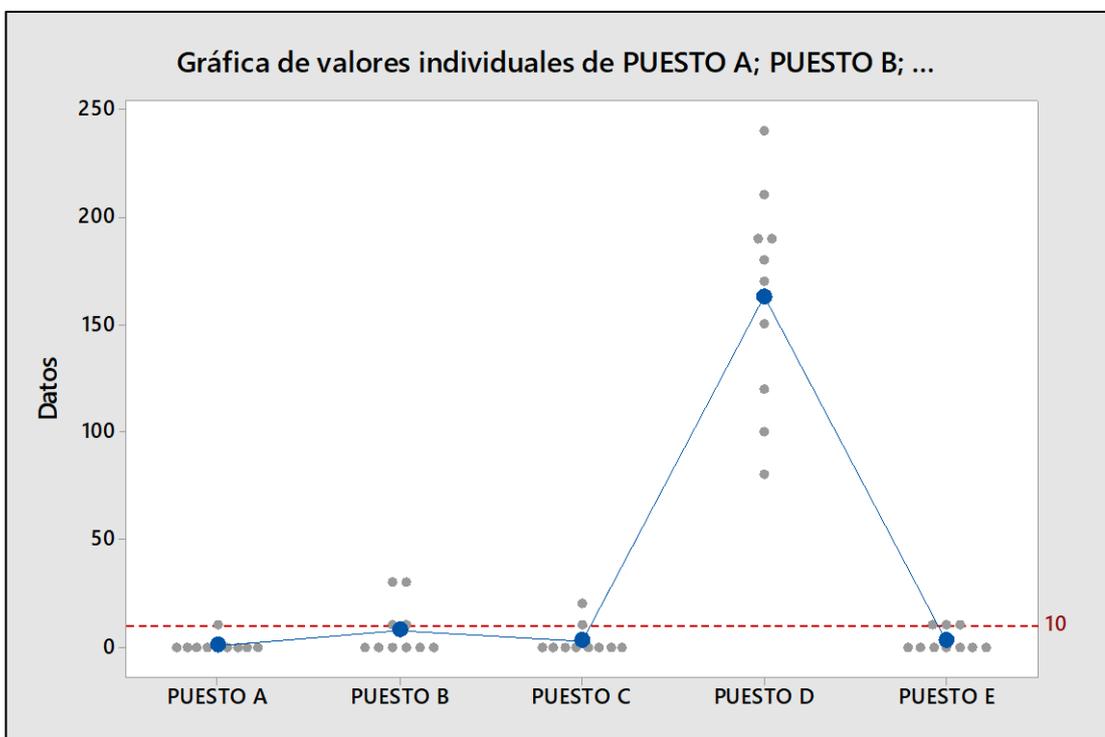
c = número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre m y M para que el alimento sea aceptable.

M = Criterio microbiológico por encima del cual el alimento representa un riesgo para la salud.

Conociendo entonces los rangos, se ingresó la restricción 10 (línea roja) para poder identificar si los puestos de abasto cumplen o no con la norma en base a los resultados obtenidos de los análisis.

En el Gráfico 10 se puede observar que existe un puesto que excede los límites de cumplimiento de la norma por tanto este puesto posee una elevada carga microbiana, sin embargo, los otros puestos que aparentemente están dentro del rango permitido se encuentran al cercano al límite por ende en la siguiente grafica se procederá a colocar los datos de cada puesto dentro del grafico para saber qué lugar ocupan en el espacio dentro del plano

Gráfico 11. Comparación entre puestos A, B, C, D, E con datos visibles.



Elaborado por: El Autor

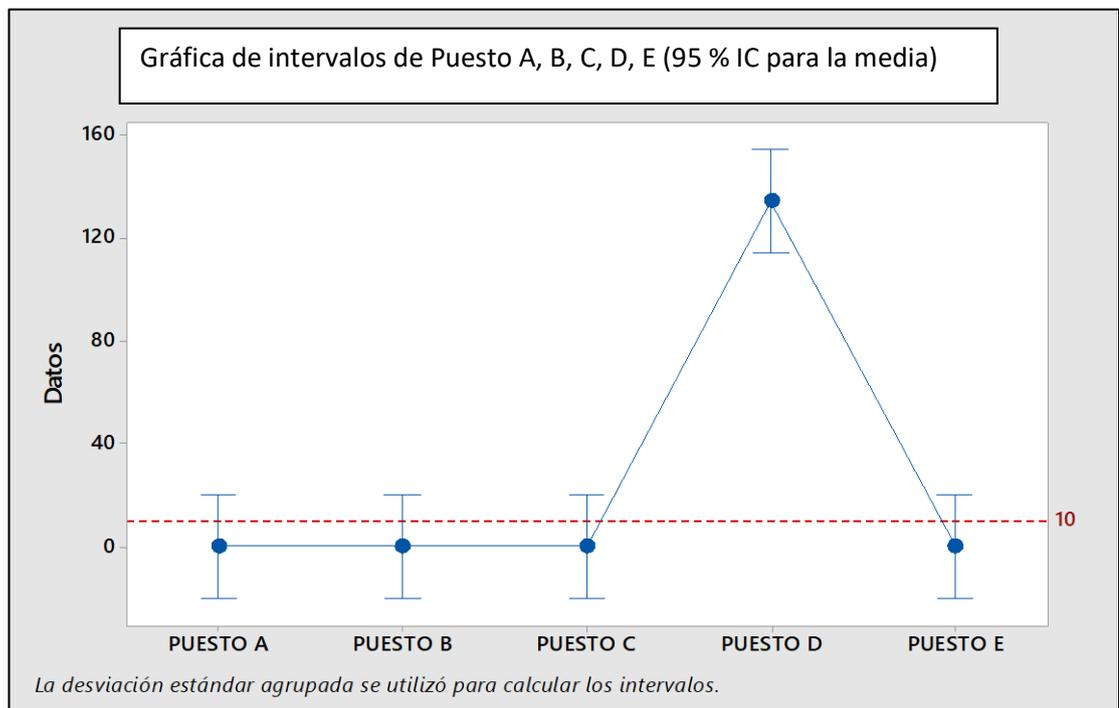
En el Gráfico 11 cada puesto posee 10 puntos grises que representan los 10 resultados obtenidos tanto de la Jornada 1 como la Jornada 2 de cada puesto. Se puede visualizar cada dato en el espacio y así poder determinar de una mejor manera si los puestos cumplen o no con la norma.

Siguiendo con la interpretación vemos que el puesto B, C, D, E incumplen con la norma por superar el límite permitido por tanto solo el puesto A cumple con los requisitos microbiológicos.

4.4 Interpretación de resultados por jornada

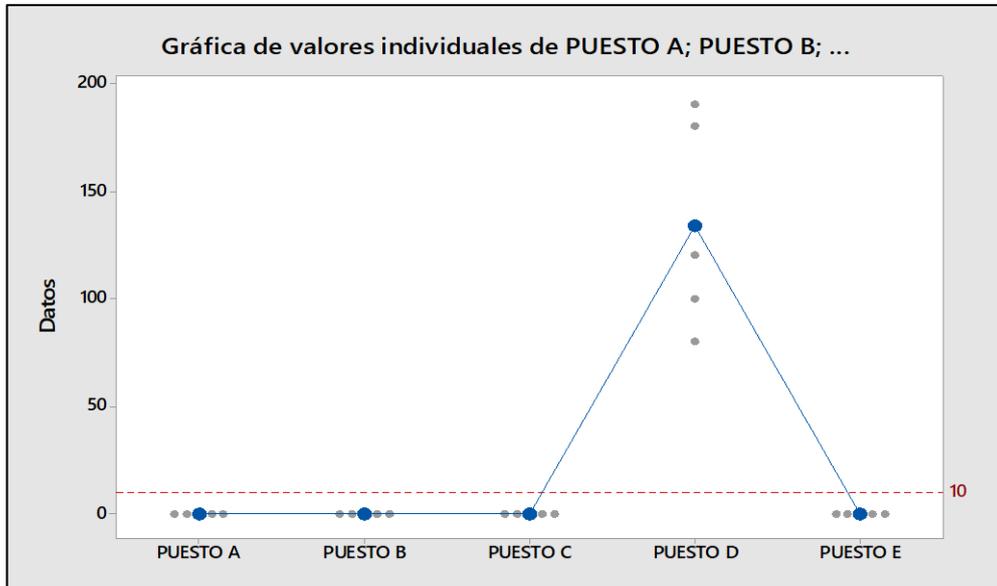
En el Gráfico 12 y 13 podemos apreciar los resultados de los puestos durante la jornada 1 por los cinco días de muestreo. El puesto D lleva una carga microbiana de *E. coli* que pasa los límites de cumplimiento de la norma mientras los puestos A, B, C, E cumplen con la norma ya que en la jornada uno no se presenta crecimiento del microorganismo.

Gráfico 12. Resultados de la jornada 1



Elaborado por: El Autor

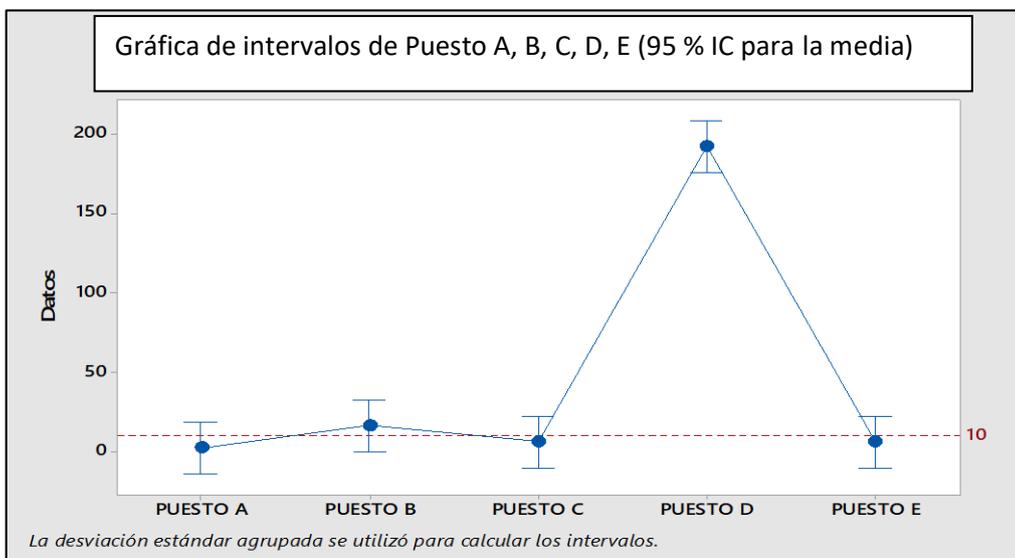
Gráfico 13.Resultados individuales



Elaborado por: El Autor

A continuación, se mostrarán los Gráficos 14 y 15 en los cuales se aprecia que existe un cambio notorio para la Jornada 2 en comparación a la Jornada 1 en donde el crecimiento microbiano se incrementó notablemente y los puestos que cumplían en la jornada 1 ahora en la jornada 2 no cumplen.

Gráfico 14. Resultados de la jornada 2



Elaborado por: El Autor

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluyó lo siguiente:

- Se determinó los planes de muestreo para cada microorganismo. Para *Salmonella* spp. se desarrolló un plan de muestreo de clase 2 de categoría 10 siendo $n = 5$ y $c = 0$ lo cual significa que no se acepta que en los cinco análisis realizados se encuentre la presencia del microorganismo para que cumpla con la norma INEN del camarón. Para *E. coli* se desarrolló un plan de muestreo de clase 3 de categoría 5 siendo $n = 5$ y $c = 2$ lo cual significa que de los cinco análisis realizados se acepta que cumple el puesto si existe ausencia del microorganismo o tiene un límite de tolerancia de hasta dos muestras que presente 1 unidad formadora de colonia, si llegase a existir un tercer análisis con unidades formadoras de colonias, se considera que no cumple el puesto.
- Se aplicó el método Reveal 2.0 AOAC RI 960801 para la determinación de *Salmonella* spp. y se determinó la ausencia del microorganismo.
- Se aplicó el método Petrifilm AOAC 998.08 para la determinación de *E. coli* y se evidenció la presencia del microorganismo en varios de los análisis.
- Se concluye que, al realizar el micro mapeo, los puestos A, B, C, D, E cumplen con los requisitos microbiológicos de *Salmonella*. Pero se determinó que para *E. coli* solo el puesto "A" cumple con la norma.

5.2 Recomendaciones

Se estableció una base estadística para la ejecución de futuras investigaciones, en base a esto se recomienda que:

- Ampliar el muestreo a las superficies, personal y ambiente ya que pueden ser fuente de propagación de microorganismos
- Realizar planes de muestreos incluyendo los otros puestos de abasto de General Villamil Playas.
- Determinar si las condiciones en que se almacena el camarón son las correctas.
- Determinar si el puesto en el que se vende cumple las condiciones para distribuir los camarones.
- Realizar capacitaciones a los comerciantes acerca de las buenas prácticas y el buen manejo del producto alimenticio, debido a que si desconocen las normas esto facilitaría a que puedan contaminar el producto durante el transporte y el almacenamiento del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

Adelantado, C., Arosemena, L., Calvo, M., Manteca, L., Martín, M., y Ordóñez, G. *La Salmonela de actualidad desde siempre* (1st ed., p. 29). Madrid.

Agencia de promoción de Inversiones de Manabí. (s.f). Pesca y Agricultura.

Andes. (2014). *Exportaciones ecuatorianas de camarón se duplicaron entre enero y febrero*. Recuperado 24 octubre 2017, Disponible en: <http://www.andes.info.ec/es/noticias/exportaciones-ecuatorianas-camaron-duplicaron-entre-enero-febrero.html>

Arellano. (1984). La crianza de camarones en el Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/10295/1/TESIS%20CORREGIDA%20MIFA%20fina%201.pdf>

Cameán, A. M., Mellado, E., y Repetto, M. (2012). En A. M. Cameán, y M. Repetto, *Contaminantes biológicos* (pág. 260). Madrid: Díaz de Santos.

Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. (2016). *Que es Salmonella*. Recuperado 25 octubre 2017, Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>

CFSAN. 2006. Manual Bacteriológico analítico (online). USFDA. Disponible a través de Internet en: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-2.html>

Chandraval Dutta, Chandan Sengupta. Prevalencia de *E. coli* en pescados y camarones obtenido de mercados de pescados en Kolkata, Frontera India en departamento microbiológico. Vol. 2, No. 1, 2016, pp. 1-5. doi: 10.11648/j.fem.20160201.11

- Departamento de pesca y acuicultura - FAO. (2017). *Visión general del sector acuícola del Ecuador*. Recuperado 25 octubre 2017, disponible en: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_ecuador/es#tcN700C5
- Estupiñan, R. (2014). Técnica de conservación para masa precocida de yuca (Manihot esculenta). Quevedo. Disponible en: <http://mail.uteq.edu.ec/bitstream/43000/257/1/T-UTEQ-0014.pdf>
- Flores, R. (1995). Fecha de consulta: 12 de mayo de 2010. Laboratorios VM, 2007. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c05.pdf>
- FAO. (s.f) Prevención de la *E.coli* en los alimentos. Disponible en : http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
- García, R., Rodríguez, O., Casado, C., Perez, A., y Sosa, I. (2012). *Intervención educativa sobre enfermedades transmitidas por alimentos en estudiantes de Tecnología de la Salud*. Revista Cubana De Higiene y Epidemiología, 50, 213-221. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223225046009>.
- Gil, A., Mazón, A., Martín, C., Urtiaga, M., y María, I. (2002). *Salmonelosis no tifoidea en un área de salud de navarra*, España. Revista Española De Salud Pública, 76, 50-54. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17076106>.
- González, J., Pereira, N., Soto, Z., Hernández, H., y Villarreal, J. (2014). *Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección*. Salud UNINORTE, 30, 73-94. Disponible en: <http://sociales.redalyc.org/articulo.oa?id=81730850009>.

Granda, J. (2016). *Anuario de vigilancia epidemiológica 1994-2016*. Tabla Publica. Recuperado el: 24 octubre 2017, Disponible en: <https://public.tableau.com/profile/vvicentee80#!/vizhome/ETAS-2014/ANUARIO>.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Societies). *Salmonella. Microorganisms in Foods 5. Microbiological specifications of food pathogens*. Blackie academic y Professional. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland- U.S.A, 1996

Jay, J., Loessner, M., y Golden, D. (2006). *Microbiología de la comida moderna* (7th ed., p. 623). Springer Science y Business Media.

Joiner, R. (2012). *Minitab Handbook: 16 (Sixth Edition ed.)*. Boston, USA: Brooks/Cole.

Mite Albán, M.T., López Franco, M., Quimi Franco, M. y Narváez Cumbicos, N. (2016). "Aplicación de las Normas Internacionales de Contabilidad NIC 41 en camaroneras en el Ecuador", *Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana*, Ecuador, (octubre 2016). En línea: <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/ec/2016/nic41.html>

Ministerio de Salud Pública. (2017). *Gaceta epidemiológica semanal* (p. 13). Quito.

Neogen. (s,f). *Reveal 2.0 para Salmonella*. Recuperado 24 octubre 2017, Disponible en: <http://foodsafety.neogen.com/en/reveal-2-salmonella>.

NTE INEN 456. (2013). *Norma Camarón Congelado* (p. 2). Quito.

López Aday, D., Rivero Álvarez, E., Martínez Torres, A., y Alegret Rodríguez, M. (2013). Enfermedades transmitidas por alimentos en Villa Clara. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 51(2), 203-213.

Llopiz, (2013) *La estadística: una orquesta hecha instrumento. En línea:* <https://estadisticaorquestainstrumento.wordpress.com/2013/01/28/test-lsd-least-significant-difference/>

Organización Mundial de la Salud. (s,f). *Enfermedades de transmisión alimentaria*. Recuperado 24 octubre 2017, Disponible en: http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/.

Oficina Comercial del Ecuador en Reino Unido. (2012). *Perfil del camarón* (p. 1). Disponible en: http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2015/02/PROECU_PPM2012_CAMAR%C3%93N_REINO-UNIDO.pdf.

Rivera, L., Motta, P., Cerón, M., y Chimonja, F. (2012). *Resistencia de la Salmonela a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento* (p. 3). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v7n1/v7n1a10.pdf>.

RTCA 67.04.50. (2008). *Alimentos. Criterios Microbiológicos Para La Inocuidad De Alimentos* (p.4).

Sadowsky, M. J., y Whitman, R. L. (Eds.). (2010). *The fecal bacteria*. American Society for Microbiology Press.

ANEXOS

Anexo 1. Incubadoras del laboratorio



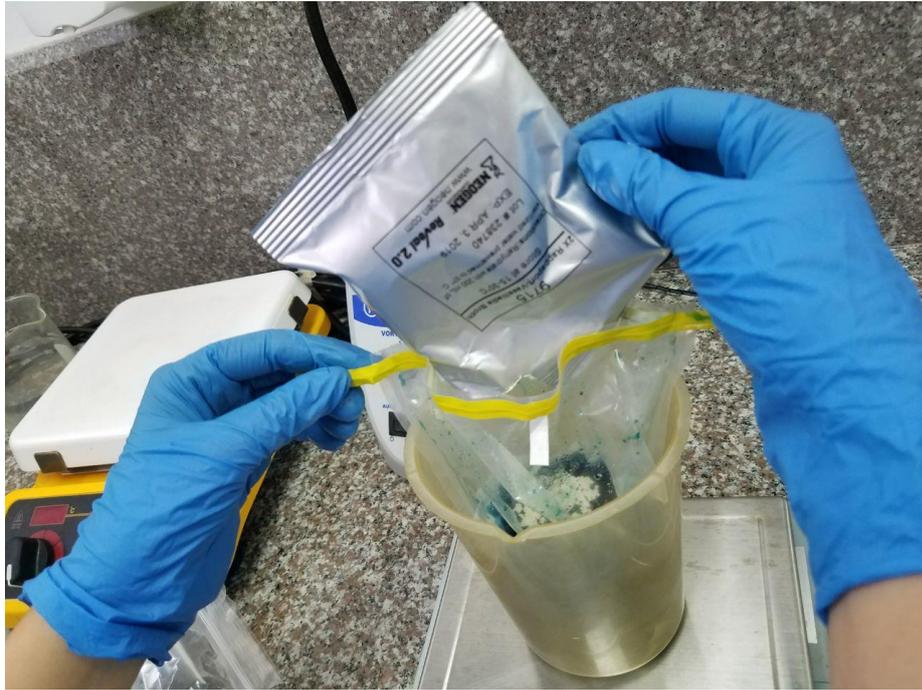
Fuente: El Autor

Anexo 2. Incubadora de seis pisos



Fuente: El Autor

Anexo 3. Material Reveal



Fuente: El Autor

Anexo 4. Contador de colonias tipo Quebec.



Fuente: El Autor

Anexo 5. Incubadora 44 °C



Fuente: El Autor

Anexo 6. Muestras de camarón homogeneizadas



Fuente: El Autor

Anexo 7. Placas 3M Petrifilm



Fuente: El Autor

Anexo 8. Nalgene Mason Jars de 500 ml de capacidad



Fuente: El Autor

Anexo 9. Muestras en los Whirl Pak



Fuente: El Autor

Anexo10. Muestras agrupadas por puesto



Fuente: El Autor

Anexo 11. Gramera



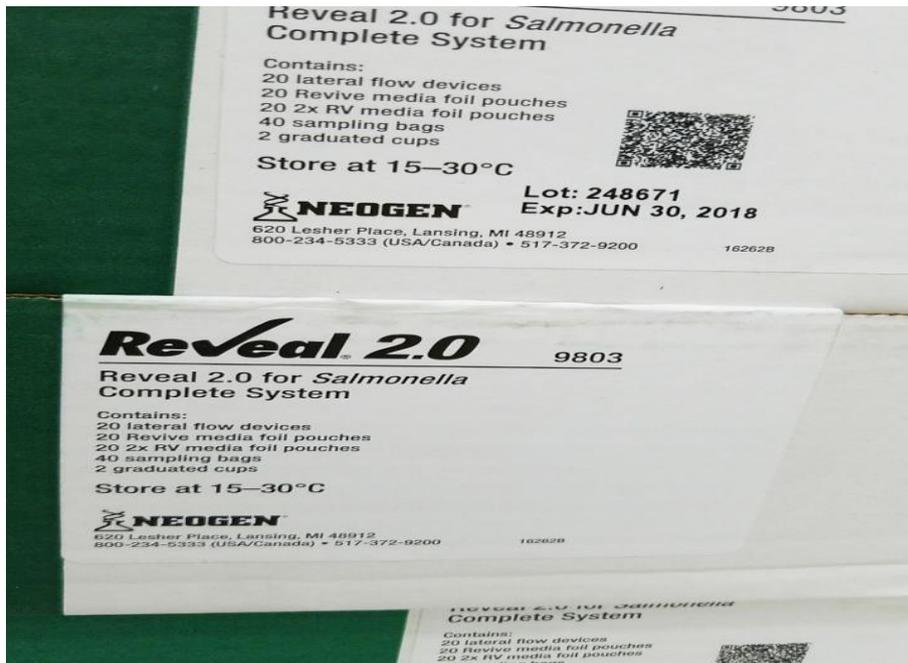
Fuente: El Autor

Anexo 12. Empaque Petrifilm



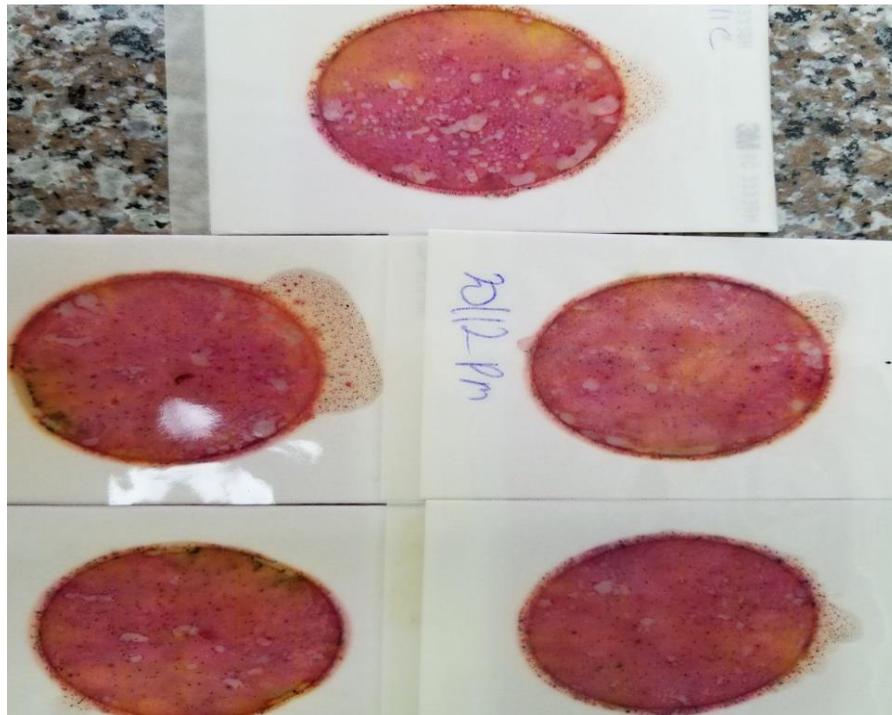
Fuente: El Autor

Anexo 13. Kits Reveal 2.0



Fuente: El Autor

Anexo 14. Placas Petrifilm Puesto D



Fuente: El Autor

Anexo 15. Análisis Reveal 2.0 Salmonella spp Puesto A



Fuente: El Autor

Anexo 16. Análisis Reveal 2.0 Salmonella spp Puesto B



Fuente: El Autor

Anexo 17. Análisis Reveal 2.0 Salmonella spp Puesto C



Fuente: El Autor

Anexo 18. Análisis Reveal 2.0 Salmonella spp Puesto D



Fuente: El Autor

Anexo 19. Análisis Reveal 2.0 Salmonella spp Puesto E



Fuente: El Autor



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Chiriguaya Monsalve Carlos Daniel**, con C.C: # 0941389975 autor del trabajo de titulación: **Determinación de la Incidencia de *Salmonella* spp y *E. coli* en Camarones comercializados en puestos de abasto de un mercado del cantón General Villamil Playas** previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial con concentración en Agronegocios en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 6 de marzo de 2018.

f. _____

Nombre: **Chiriguaya Monsalve Carlos Daniel**

C.C: **0941389975**



| REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA | | | |
|--|---|--|----------------------|
| FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN | | | |
| TEMA Y SUBTEMA: | Determinación de la Incidencia de <i>Salmonella</i> spp. y <i>E. coli</i> en Camarones comercializados en puestos de abasto de un mercado del cantón General Villamil Playas. | | |
| AUTOR(ES) | Carlos Daniel Chiriguaya Monsalve | | |
| REVISOR(ES)/TUTOR(ES) | Ing. Alfonso Kuffó García, M.Sc | | |
| INSTITUCIÓN: | Universidad Católica de Santiago de Guayaquil | | |
| FACULTAD: | Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo | | |
| CARRERA: | Ingeniería Agroindustrial | | |
| TÍTULO OBTENIDO: | Ingeniero Agroindustrial con concentración en Agronegocios | | |
| FECHA DE PUBLICACIÓN: | 6 de marzo del 2018 | No. DE PÁGINAS: | 66 páginas |
| ÁREAS TEMÁTICAS: | Producción de alimentos, Aseguramiento de la Calidad, Inocuidad alimenticia. | | |
| PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS: | Camarón, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., NTE INEN, Reveal 2.0, Petrifilm EC. | | |
| <p>El presente Trabajo de Titulación tuvo como objetivo determinar la presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> spp. y <i>E. coli</i> en camarones comercializados en los puestos de abasto de un mercado de General Villamil Playas. El estudio se basó en la NTE INEN 456:2013 primera revisión "Camarones o Langostinos Congelados" en donde se indican los requisitos del camarón fresco congelado. Se diseñó un plan de muestreo para cada microorganismo, se estudiaron cinco puestos los cuales fueron muestreados cada día por cinco días (lunes, martes, miércoles, jueves y viernes) en dos jornadas cada día. Para la determinación de <i>Salmonella</i> spp. se empleó el método Reveal 2.0 y para <i>E. coli</i> se empleó el método Petrifilm. Cada muestra fue analizada por triplicado y los resultados obtenidos fueron comparados con los requisitos microbiológicos de la Norma INEN. Para <i>Salmonella</i> se determinó la ausencia en todas las muestras, mientras que, para <i>E. coli</i> existieron conteos, los cuales fueron ingresados al programa Minitab 18 para determinar las diferencias entre los puestos.</p> | | | |
| ADJUNTO PDF: | <input checked="" type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO | |
| CONTACTO CON AUTOR/ES: | Teléfono: +593-999741317 | E-mail: carlosdcmon@hotmail.com | |
| CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE): | Nombre: Ing. Caicedo Coello Noelia Carolina, M. Sc | | |
| | Teléfono: +593-987361675 | | |
| | E-mail: noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec | | |
| SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA | | | |
| Nº. DE REGISTRO (en base a datos): | | | |
| Nº. DE CLASIFICACIÓN: | | | |
| DIRECCIÓN URL (tesis en la web): | | | |