



**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTIAGO
DE GUAYAQUIL**

**Facultad de Educación Técnica para el
Desarrollo**

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del Título de:

Ingeniero Agropecuario

Mención en Gestión Empresarial Agropecuaria

TEMA:

"Determinación de *Salmonella spp.*, en huevos de gallina para consumo humano, recolectados en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil".

AUTOR:

Giancarlo Iván Sáenz Huerta

Guayaquil - Ecuador

2010



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA
PARA EL DESARROLLO**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA.

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del Título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

MENCIÓN EN GESTIÓN EMPRESARIAL AGROPECUARIA.

TEMA:

*“Determinación de *Salmonella spp.*, en huevos de gallina para consumo humano, recolectados en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil”.*

AUTOR:

Giancarlo Iván Sáenz Huerta

GUAYAQUIL – ECUADOR

2010



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL
DESARROLLO
TESIS DE GRADO

TEMA:

“Determinación de *Salmonella spp.*, en huevos de gallina para consumo humano, recolectados en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil”.

Presentada al H. Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de

INGENIERO AGROPECUARIO
MENCIÓN EN GESTIÓN EMPRESARIAL AGROPECUARIA.

APROBADA POR EL TRIBUNAL:

Ing. Héctor Cedeño Abad
DECANO

Ing. John Franco Rodríguez
DIRECTOR

Dr. Klebér López Parrales
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Enrique Falcones Yagual
EXAMINADOR PRINCIPAL

AGRADECIMIENTO

A Dios Padre Todopoderoso, creador del cielo y la tierra, por su infinita bondad, por brindarme salud y las fuerzas necesarias para la culminación de mi investigación.

A la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil por las enseñanzas recibidas durante el proceso de formación profesional que me llevó al camino del conocimiento técnico y científico. Mi agradecimiento al Q.F. Jorge Villón por haberme permitido la realización de esta investigación en las instalaciones de su laboratorio.

Gracias al Dr. Klebér López Parrales tutor de tesis, mi gratitud y reconocimiento perenne por su acervo en la dirección y conclusión en la tesis de grado. Al Dr. Dedimé Campos Quinto, Ing. Alfonso Kuffó, Dr. Patricio Haro, por su colaboración en la redacción y corrección de mi tesis de grado, mis bendiciones para ellos. Así, como para todos los demás catedráticos de la Facultad Técnica para el Desarrollo, que con esmero y paciencia vertieron en mi sus conocimientos y experiencias que me servirán para toda la vida.

A mis compañeros que compartieron junto a mi muchas experiencias que dejaron huellas imborrables para mi vida venidera.

DEDICATORIA

A Dios por llenar de bendiciones mi vida, e iluminar mi camino y permitirme estar aquí cumpliendo mis metas.

A mis padres el Ec. Carlos Sáenz Ozaetta y la Dra. Alexandra Huerta Nuquéz con eterna gratitud y cariño por estar presentes durante mi formación profesional, que con sus consejos y enseñanzas me ayudaron inmensamente en la consecución de mis logros. Gracias por ayudarme a alcanzarlos.

A mis hermanos, Johanna Sáenz y Ronald Sáenz, a mis tíos, Antonio y María, mi abuelita Lucia, mis primos, a todas las personas cercanas que de una u otra manera han influido en mi vida profesional.

A mi tía Rebecca Livingston, por todo el apoyo brindado en estos momentos

A mi novia Johanna Tubún, por sus consejos y el amor que me ha brindado.

A mis amigos, que estuvieron conmigo durante el transcurso de mi vida profesional.

CONTENIDO

PORTADA.....	I
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
DEDICATORIA.....	IV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
• Objetivos.....	2
2. REVISIÓN LITERATURA.....	3
2.1. Clasificación científica.....	3
• Estructura antigénica.....	4
▪ Antígenos O.....	4
▪ Antígenos H.....	4
▪ Antígenos K.....	5
2.2 Epidemiología.....	5
• Epidemiología de Salmonelosis no tifoideas.....	5
• Epidemiología de salmonelosis aviarias.....	7
2.3 Formas de contagio.....	11
2.4 Infección, patogénesis y factores de virulencia de <i>Salmonella</i>	12
2.5 Diagnóstico y sintomatología.....	15
• Fiebre tifoidea.....	15
• Salmonelosis ocasionada por alimentos contaminados.....	16
• Salmonelosis causada por <i>Salmonella enteritidis</i>	16
2.6 Tratamiento y prevención.....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1.. Materiales.....	21
• Estudio de la población y recolección de los datos.....	21
• Recolección de las muestras.....	23
• Materiales de trabajo.....	25
• Materia Prima.....	25
• Laboratorio.....	25
▪ Equipos.....	25
▪ Cuidado Personal.....	25
• Análisis estadístico.....	26
3.2. Manejo del experimento.....	27

4. RESULTADOS.....	36
4.1 Muestras con crecimiento bacteriano.....	36
• Muestras con crecimiento bacteriano clasificación por parroquias y semanas.....	36
• Muestras con crecimiento bacteriano clasificación por mercados y semanas.....	39
4.2 Muestras con colonias sospechosas de <i>Salmonella spp</i>	41
• Muestras con colonias sospechosas de <i>Salmonella spp</i> , clasificados por parroquias y semanas.....	41
• Muestras con posible presencia de <i>Salmonella spp</i> , clasificados por mercados y semanas	43
4.3 Muestras identificadas positivas a <i>Salmonella spp</i>	45
• Muestras positivas a <i>Salmonella spp</i> , presentes en las parroquias.....	45
• Muestras positivas a <i>Salmonella spp.</i> , presentes en los mercados.....	47
5 DISCUSIÓN.....	49
6 CONCLUSIONES.....	52
7 RECOMENDACIONES.....	53
RESUMEN.....	54
SUMMARY.....	55
LITERATURA CITADA.....	56

1. INTRODUCCIÓN.

Los Miembros de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS) han expresado su preocupación por el grado de inocuidad de los alimentos en los niveles nacional e internacional. El aumento de la incidencia de las enfermedades transmitidas por los alimentos durante los últimos decenios parece guardar relación, en muchos países, con un aumento de las enfermedades provocadas por los microorganismos presentes en los alimentos.

La *Salmonella*, en el ámbito mundial, está asociada con mucha frecuencia a las enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos. Se ha estimado que en Asia, África y Latinoamérica, dependiendo de factores socioeconómicos y nutricionales, la probabilidad de que un niño muera por enfermedad diarreica antes de los 7 años pueda llegar al 50 % (Mead 1999). Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal están consideradas como una de las enfermedades más frecuentes en Colombia.

Salmonella es el nombre de un grupo de bacterias que viven en el intestino de diversos organismos incluido el hombre y son causantes de enfermedades infecciosas denominadas salmonelosis. La salmonelosis como zoonosis, es una enfermedad entérica con gran importancia en salud pública, tanto humana como veterinaria. Es por eso, que los alimentos de origen animal son con frecuencia el medio de transmisión de la infección de los animales al hombre, estas infecciones son más frecuentes en épocas de calor, ya que las altas temperatura favorecen su multiplicación en los alimentos.

En los últimos años ha existido un incremento mundial en el número de brotes de gastroenteritis a causa del consumo de alimentos contaminados con *Salmonella*, las cuales se complican y derivan en la muerte por falta de un tratamiento médico adecuado.

En algunos países se han incrementado los casos de infecciones alimentarias por el consumo de huevo contaminado con *Salmonella*. En España a partir de 1978 se han incrementado las infecciones debidas a *Salmonella enteritidis* asociada con huevos o con productos elaborados a base de huevo como la mayonesa. En los Estados Unidos huevos de gallinas y quesos de bovinos infectados fueron responsables de varios informes de infecciones en el humano por *Salmonella enteritidis* entre 1976 y 1986, y en Inglaterra también ha sido implicada la *Salmonella enteritidis* PT4 y la *Salmonella typhimurium* en brotes por medio del huevo.

En América, cada año se reportan aproximadamente 150000 casos de salmonelosis, siendo la primera causa de toxiinfecciones.

En el Ecuador no existen cifras precisas sobre la cantidad de infectados de salmonelosis anualmente, pues esta infección casi no requiere hospitalización –puede atenderse en clínicas particulares– y especialmente porque las personas no acuden a un médico. Debido a que muchos casos leves no se diagnostican o no se reportan, el número actual de infecciones debe ser 20 veces mayor. Se estima que alrededor de 1000 personas mueren cada año por causa de la salmonelosis aguda.

Actualmente en Ecuador se desconoce la prevalencia de la *Salmonella* en huevos y quesos, ya que el aislamiento bacteriano tiene un costo elevado, trabajo laborioso, resultados lentos, que lo hace más complicado.

Por todo lo antes expuesto y por ser la salmonelosis la primera causa de infección alimentaria en el mundo, se plantearon los siguientes objetivos:

- Contribuir al dimensionamiento de la salmonelosis como problema en la Salud Pública en la ciudad de Guayaquil.
- Determinar el grado e índice de contaminación por *Salmonella spp.* en el huevo comercial producido para consumo humano en los mercados de la ciudad de Guayaquil.

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Clasificación científica.

De acuerdo a Wikipedia (2009) la clasificación científica de la *Salmonella* es la siguiente:

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gamma Proteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	Salmonella
Especie:	<i>S. enterica</i> y <i>S. bongori</i>

Salmonella pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Los miembros de esta familia, son bacilos Gram negativos de 2 a 3 x 0.4 a 0.6 micras de tamaño. Con excepción de los serotipos *gallinarum* y *pullorum* los demás serotipos son móviles por medio de flagelos peritricos (Popoff, 1992).

Antes de 1983 se aceptaba taxonómicamente la existencia de múltiples especies de *Salmonella*. En la actualidad el género *Salmonella* consta de sólo dos especies, *S. enterica* y *S. bongori* ; esta última (previamente subespecie V) no es patógena para el ser humano.

La primera está dividida a su vez en seis subespecies, (a veces presentadas como subgrupos bajo numeración romana): (Popoff y Le Minor, 1992).

- I *enterica*
- II *salamae*
- IIIa *arizonae*
- IIIb *diarizonae*
- IV *houtenae*
- V *S. bongori*, ya incluida en una especie distinta
- VI *indica*

Salmonella spp. es el grupo más complejo de todas las enterobacterias con más de dos mil cuatrocientos serotipos descritos en el esquema Kauffman White, determinados por la composición de los antígenos somáticos (O), flagelares (H), o de superficie Vi(k). *S. enterica subespecie enterica* comprende el 99 % de los serotipos aislados de muestras clínicas (Popoff y Le Minor, 1992).

Estructura antigénica

Básicamente la estructura antigénica de *Salmonella* es similar a la de otras enterobacterias, con dos clases de antígenos principales presentes; antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares). En algunas cepas se encuentra un tercer tipo como antígeno de superficie, siendo análogo funcionalmente a los antígenos K de otros géneros; ya que anteriormente se pensó, que se relacionaba con la virulencia, éste antígeno se denominó antígeno VI.

- **Antígenos O**

Son los antígenos de la pared bacteriana, de naturaleza polisacárida. Existen numerosos antígenos O, a pesar de ello son los factores O principales, los que sirven para caracterizar los diferentes tipos antigénicos, (Por ejemplo O₄: grupo B, O₉: grupo D).

- **Antígenos H**

Son antígenos constituidos por una proteína, la flagelina, cuya composición en aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado.

Depende de dos genes estructurales, que corresponden a la fase 1 y a la fase 2. La mayoría de las cepas del género *Salmonella* pueden expresar las dos especificidades de su antígeno H (difásicos), sin embargo, existen algunas que pueden expresar solamente una sola, ya sea la uno ó la dos. (Monofásicas).

- **Antígenos k**

El único de este tipo que se conoce en *Salmonella* es el existente en *S. typhi*, *S. paratyphi C.* y *S. dublin*. La presencia de este antígeno hace imposible la aglutinación de sueros anti O. La expresión de este factor depende de al menos dos genes (ViA + ViB); deben existir ambos en la bacteria para que dicha expresión tenga lugar (Linder, 1995).

2.2 Epidemiología.

- **Epidemiología de Salmonelosis no tifoideas**

La *Salmonella* recibe su nombre por Daniel Elmer Salmon, un patólogo veterinario norteamericano, aunque fue su colega y contemporáneo Theobald Smith (conocido por su trabajo con anafilaxis) quien descubrió la bacteria por primera vez en 1885, aislándola de cerdos con cólera. La *salmonella entérica* causada por *Salmonella typhimurium*, con más de 2000 cepas descritas, es de importancia en países en desarrollo, donde su incidencia está en aumento, y en algunos países, la enfermedad es endémica.

La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria, causada por una gran cantidad de especies de *Salmonella*. Se caracteriza por uno o más de tres signos (septicemias, enteritis aguda que puede convertirse en crónica). El período de incubación es por lo general entre 12 a 36 horas, a veces hasta 6 y 48 horas.

El único reservorio de la *Salmonella typhi* es el hombre, de modo que se transmite de una persona a otra. La enfermedad es vista en todos los animales y ocurre a nivel mundial. Los animales son a la vez importantes como reservorios de la infección humana, la cual es adquirida por vía oral al ingerir bebidas y comidas contaminadas, especialmente aves, huevos y pueden aparecer en brotes en escuelas, guarderías, restaurantes y residencias de ancianos.

Cualquier alimento susceptible de contaminación de origen fecal puede transmitir la infección, la dosis infectiva suele ser muy elevada y depende de la virulencia de la cepa.

Por esto, en la mayoría de los casos es necesario un periodo de multiplicación en el alimento antes de su consumo para alcanzar la dosis infectiva, lo que ocurre cuando se mantiene el alimento durante cierto tiempo a temperatura ambiente ó en condiciones de escasa refrigeración (Elley, 1994).

Otro factor importante para la contaminación del alimento es la exposición a cierto tipo de vectores como la mosca doméstica. Lo cual fue comprobado por Olsen en un estudio en el cual analizó especies de moscas domésticas recolectadas en granjas de gallinas de postura que habían sido relacionadas con brotes de *S. enteritidis* en la ciudad de Washington.

Olsen recolectó las moscas en caldos nutritivos, y encontró en un muestreo de 15 caldos de moscas domésticas, 2 caldos positivos a *Salmonella enteritidis* y otros tres caldos positivos a los serotipos *Infantis* y *Heidelberg* (Olsen, 2000).

Por otra parte, se produce también contaminación fecal-oral de persona a persona y han ocurrido brotes de salmonelosis en centros de salud por la falta de atención al lavado de las manos. En contraste con el alto riesgo de *Salmonella* no tifoidea por los trabajadores de asistencia de salud y las personas que manipulan alimentos, la transmisión de neonatos y lactantes a través de madres y otros miembros de la familia (Ovalle, 1999).

La contaminación de los alimentos es en general paucimicrobiana y crea un riesgo potencial. Los errores cometidos en la cadena alimentaria y sobre todo en el momento de la preparación de las comidas, transforman el riesgo potencial en una verdadera multiplicación bacteriana (Linder, 1995).

En el caso de la *Salmonella*, es necesaria una inoculación relativamente grande, entre 10 a 100 millones de organismos, para provocar los síntomas en humanos saludables, según estudios hechos con voluntarios, al ser estas bacterias muy poco resistentes a los medios ácidos.

Sin embargo, un pH estomacal artificialmente elevado, poco ácido, reduce enormemente el número de organismos necesario para provocar síntomas (de 10 a 100 órdenes de magnitud).

- **Epidemiología de Salmonelosis aviarias.**

Debido a que muchos animales de granja portan *S. enteritidis* en sus tractos intestinales, los subproductos de matadero son altamente contaminados. En contraste se ha demostrado que *Salmonella* puede sobrevivir por hasta 16 meses a 25 °C en este tipo de alimentos. Se calcula que entre el 1 y 5 % de los suplementos para animales producidos, y el 31 % de los animales para producirlos pueden estar contaminados con *Salmonella ssp.* (Maciorowski, 2000). Los productos avícolas son una fuente común de infección ya que la avicultura actualmente requiere de una gran cantidad de subproductos de granjas y matadero para la formulación de una dieta alta en proteínas para las aves (Maciorowski, 2000).

Por otra parte, Behnke, et al (2000), realizaron un estudio con el propósito de medir diferentes parámetros que afectan la contaminación de los concentrados animales por parte de *Salmonella spp.* Entre los hallazgos encontrados se observó que a temperaturas de peletización de hasta 70 °C aún podía hallarse una baja positividad a *Salmonella*. Además se observó que a una temperatura de 85 °C por 20 segundos con 15 % de humedad se aseguraba la destrucción de un 90,06 % de *Salmonella*, y que su total destrucción se observaba a una temperatura de 90 °C por 40 segundos a una humedad del 15 %. También se determinó la incidencia de *Salmonella* en distintos lugares del procesamiento del concentrado animal, encontrándose el grado de incidencia más alto en la proteína animal y las mezcladoras (64-67 %), y el grado de incidencia más bajo en los granos de gramíneas, los subproductos y el dado de peletización (4 %) (Behnke, 2000).

En otro estudio realizado se analizaron 8 suplementos para aves, confirmando a 5 (63 %) como positivos a *Salmonella spp.* Lo que demuestra el gran riesgo a que se exponen las granjas avícolas (Maciorowski, 2000).

La bacteria contamina los cadáveres después del sacrificio y contamina la superficie de los huevos. Recientemente fue descubierto que los pollos pueden transmitir *S. enteritidis* vía transovárica hacia los huevos (Salyer, 2002).

Mientras que el uso de fagotípos (PT) no sirve como señal de virulencia, sí sirve para las investigaciones epidemiológicas. El PT4 es el tipo de *S. enteritidis* más comúnmente asociado con los brotes en España, Inglaterra, y otros países. Los PT8 y 13 han sido los más comunes en Estados Unidos (McIlroy, 1997).

Estudios han demostrado que se puede infectar el interior del huevo, probablemente como resultado de la contaminación de la membrana vitelina durante la ovulación. *S. enteritidis* se multiplica rápidamente dentro del huevo a temperaturas superiores a los 10 °C (McIlroy, 1997).

En un estudio se determinó la invasión de los tejidos del aparato reproductor por *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, se observó que ambos serotipos pueden tener igual potencial para colonizar los tejidos del aparato reproductivo, y los huevos en formación en el oviducto antes de la postura, pero de los huevos pos-postura solo se aisló *S. Enteritidis*, sugiriendo una inhibición en el crecimiento de *S. Typhimurium* antes de la postura, y tomando a *S. Typhimurium* como infectante de los huevos solo cuando estos presentan contaminación externa con materias fecales (Keller, 1997). De 378000 huevos evaluados en un periodo de dos años, 191 estaban contaminados con *S. Enteritidis*, mientras que *S. Typhimurium* sólo fue aislada de uno, posiblemente por contaminación fecal de éste (Keller, 1997).

En otros estudios realizados en Argentina se examinaron 800 huevos, entre los cuales solo se aisló *Salmonella* en una yema de ellos, la cual correspondió a la serovariedad *S. Gallinarum* (Franseschi, 1996). En el mismo experimento se tomaron 8000 huevos recién puestos con el fin de aislar microorganismos de sus cascaras, siendo negativo el total de las muestras, y concluyéndose que la contaminación muy probablemente ocurre a partir de diversas fuentes como maples sucios, roedores, insectos, etc.; comprobándose esto en cien maples reutilizados

en la recolección de huevos, de los cuales 50 salieron positivos a *S. enteritidis* (Franseschi, 1996).

En otro estudio realizado en Hiroshima Japón, se mantuvieron mediante vigilancia epidemiológica tres granjas de ponedoras, debido a una posible epidemia causada por el consumo de huevos de estas granjas. Se estudiaron factores como la posible transmisión vertical, analizando embriones muertos y yemas de huevos residuales. Se mantuvo el monitoreo durante un período de varios años, dando resultados claramente negativos y atribuyéndose la contaminación a transmisión horizontal (Yamane, 2000).

En un pequeño estudio realizado en Argentina en el año 2000 los investigadores trataron de demostrar la presencia de *Salmonella spp* en 44 muestras de huevos frescos y 24 muestras de mayonesa de fabricación casera (realizada con huevos frescos), no encontrándose en ninguna de las muestras la presencia del patógeno (Amer, 2000).

Como otro aporte, en el seguimiento de una epidemia presentada en Madrid en 1998, Se analizaron 1524 huevos provenientes de una central clasificadora involucrada en la infección. Dando como resultado el hallazgo de 4 muestras positivas (0.26 %). En dos de ellas se identifico el serotipo *S. Typhinurium*, y en las otras dos el serotipo *S. Enteritidis*. Tres de estas se aislaron de la cáscara de los huevos y una de ellas en la yema. Correspondiendo estos serotipos con los aislados de las personas infectadas, y por lo tanto determinándose a los huevos como fuente de infección (Arnedo, 1995).

Por otra parte, Rodríguez, et al (1997) realizaron un trabajo de investigación para la determinación de *Salmonella* en 600 huevos provenientes de tres empresas distribuidoras de la ciudad de Monterrey (México), las cuales representan el 90 % del mercado en esta ciudad. Como resultado del estudio, se aisló *Salmonella spp* de solo el 1.3 % de la muestra (Rodríguez, 1997).

Se dice que probablemente la clara de huevo impide la multiplicación de *Salmonella*, actuando como bacteriostático hasta los 15 días pos-postura y bactericida hasta los siete días (Franseschi, 1996).

Entre otros factores se citan en la clara la presencia de una lisozima que inhibe el crecimiento bacteriano, además de los bajos niveles de hierro libre encontrados en la clara, insuficientes para el metabolismo y crecimiento de organismos como *Salmonella*, demostrándose así que parte de la contaminación de los huevos es debida al manejo dado a estos después de la postura, y no por ser infectados a través del animal (Franseschi, 1996).

El instituto de estudios del huevo concluyó en uno de sus estudios que sólo un pequeño número de gallinas están infectadas en un momento preciso, e incluso una gallina infectada puede poner muchos huevos sanos y sólo ocasionalmente algunos infectados. La resistencia de los pollos a enfermedades intestinales y a la colonización del intestino aumenta con la edad, debido al desarrollo rápido de microflora intestinal que resulta del contacto con animales adultos o camas viejas. Los pollos de engorde criados sobre camas reutilizadas parecen ser menos susceptibles a la colonización por *Salmonella* que los criados sobre camas nuevas (Jones, 1991).

Las temperaturas altas y el “stress” social pueden también reducir la resistencia a la colonización por *Salmonella* (Jones, 1991). Esto se demostró en un estudio hecho en Indiana en el que se midió la inflamación intestinal aguda causada por *S. enteritidis* en aves que se encontraban en muda forzada y aves no mudadas, resultando significativamente mayor la inflamación de ciego y colon de las gallinas infectadas y mudadas que las infectadas no mudadas (Macri, 1996). Se ha comprobado que el uso de ciertos antibióticos también influyen en el aumento de susceptibilidad de los pollitos a *Salmonella* (Jones, 1991). Por otra parte el padecimiento de ciertas enfermedades como micoplasmosis, y bronquitis infecciosa, reducen la resistencia a contaminación por *Salmonella* (Jones, 1991).

Con respecto a la contaminación cárnica de los asaderos, el USDA (United States Department of Agriculture) llevo a cabo una muestra microbiológica de pollos enteros procesados en plantas en todo Estados Unidos. El 80 % de 1297 pollos examinados se hallo libre de *Salmonella*, el 20 % restante fue positivo. De estos positivos más del 87 % resultó al menos con 0.3 bacterias por ml de fluido. Un 96.5 % de los pollos positivos presentaron 3 células bacterianas por ml de fluido. Estos resultados reflejan un declive continuo en la incidencia y niveles de *Salmonella* en canales de pollos sin cocer en los Estados Unidos (Beard, 1997).

Se corrobora la anotación anterior por el estudio de Olsen quien observo que dos de los serotipos más comúnmente aislados en los Estados Unidos en aves (*S. Kentucky*, *S. Heidelberg*), han mostrado una significativa baja en el número de aislamientos humanos. A pesar de haber aumentado el consumo de pollo en el periodo de estudio (Olsen, 2000).

2.3 Formas de contagio.

La principal forma de contagio de la *Salmonella* es a través de alimentos o agua contaminados con heces de humanos, de manera que una persona tiene probabilidades de contraer salmonelosis si:

- Ha consumido alimentos inadecuadamente almacenados o preparados (especialmente pavo, pollo y huevos mal cocidos).
- Tiene miembros de la familia con infección reciente por *Salmonella*.
- Tiene como mascota una iguana, otros lagartos, tortugas o serpientes (los reptiles son portadores de *Salmonella*).
- Tiene un sistema inmunitario debilitado.

La *Salmonella* puede seguirse excretando por las personas aún después de que la enfermedad se haya curado, convirtiéndose en individuos portadores asintomáticos, que sin saberlo, propician el contagio de la enfermedad; alrededor del 5 % de los pacientes curados de tifoidea portan la bacteria en su organismo por meses o incluso años; para estos casos los antibióticos no son efectivos, pues no pueden afectar a la bacteria que se está excretando.

Existen alimentos que comúnmente están contaminados con *Salmonella*, tal es el caso de los animales marinos que viven en aguas contaminadas; al consumirlos parcialmente cocinados o incluso crudos (como en el caso de los ostiones) se corre un gran riesgo de contraer cualquier tipo de salmonelosis. Otros alimentos que pueden contener *Salmonellas* son las frutas y verduras regadas con agua contaminada o en las que se utilizan fertilizantes de origen fecal y también los huevos de gallina, en los que el tipo de *Salmonella* que transmiten es la *enteritidis*, esta especie es capaz de infectar los ovarios de las gallinas por lo cual contaminan los huevos antes de que se les forme la cáscara y también se pueden contaminar por las heces de las aves; en México se pueden encontrar en cualquier súper o tienda cercana huevos con residuos de excrementos; y es importante señalar que aunque el excremento se limpie no se consigue evitar la contaminación pues la *Salmonella* es capaz de penetrar la cáscara e infectar el huevo; y si éstos se consumen crudos, como los huevos que se agregan a los licuados para hacerlos más nutritivos o cocidos parcialmente como los huevos pasados por agua, los estrellados o simplemente mal cocidos; ponemos en riesgo nuestra salud, pues como consumidores no podemos saber si un huevo está contaminado o no.

2.4 Infección, patogénesis y factores de virulencia de *Salmonella*.

Salmonella es un grupo de bacterias que ocasiona enfermedad severa pero casi nunca la muerte, presenta diferencias en cuanto a la especificidad del hospedero; mientras algunos serovars no tienen una estricta adaptación a un huésped, siendo capaces de producir enfermedades con diversas características en distintas especies animales y en el hombre, otros serovars sí son específicos, como *S. Gallinarum* para las aves o *S. Typhi* en el caso del hombre.

La salmonelosis humana puede clasificarse en dos grandes grupos, por un lado, las debidas a serotipos estrictamente humanos, que causan habitualmente síndromes tifoideos con presencia de bacterias en la sangre, y las debidas a serotipos ubicuos, que provocan diarrea, vómitos y fiebre. La duración y entidad de esta enfermedad es variable, dependiendo del estado general del huésped, pudiendo ocasionalmente causar enfermedades generalizadas.

Inicialmente se creía que la infección por *Salmonella* empezaba con la unión de la bacteria al íleon y luego penetraba el intestino a través de la célula M, sin embargo la historia es un poco más compleja. Primero la infección se produce en el intestino delgado y en parte del colon, especialmente la región cercana al recto, según las últimas observaciones hechas en humanos y monos Rhesus. En estudios con monos Rhesus, todo parece indicar que la entrada del microorganismo se asocia más con las microvelocidades de los enterocitos que con las células M, además la bacteria se puede encontrar en los enterocitos varios días después de la infección. Este hecho demora la entrada de la bacteria al torrente sanguíneo, permitiendo la acción de los macrófagos activados para eliminar la bacteria (Salyers, 2002).

Los sistema de secreción tipo III, son un grupo de organelos especializados de los gérmenes Gram negativos, cuya finalidad es la de introducir al citosol de las células eucariotas proteínas efectoras que desequilibran la función celular (Hueck, 1998).

Salmonella es la única especie que se conoce tiene dos sistemas de secreción tipo III, codificados por dos islas de patogenicidad distintas SPI¹ y SPI². Cada uno de los sistemas parece jugar papeles diferentes pero importantes en la patogénesis de la Bacteria, SPI¹ está implicado en la penetración inicial de la bacteria, mientras que SPI² es importante para los siguientes estadios de la infección (Hueck, 1998).

Las islas de patogenicidad poseen una variedad de genes encargados de la invasión de *Salmonella*, es así como SPI¹, codifican un sistema de secreción tipo III, además de las proteínas que son inyectadas a través del mismo.

Los genes *inv*, *spa*, *prg* y *org* se encargan de formar las proteínas constituyentes del sistema de secreción, mientras que los genes *sptP*, que codifica para una tirosin-fosfatasa junto con *SipA* y *SipE*, son encargados del re-arreglo de los filamentos de actina. Los genes que contiene *SPI*², están envueltos en la fase sistémica de la enfermedad. *SPI*³ produce un transportador de alta afinidad de Mg, importante en la supervivencia bacteriana dentro del fagosoma. Existen dos islas de patogenicidad más que son *SPI*⁴ y *SPI*⁵, pero poco se conoce acerca de ellas (Salyers, 2002).

La adherencia de la bacteria es un factor muy importante en la patogénesis de la *Salmonella*, y esta se lleva a cabo gracias a que produce varios tipos de adhesinas, entre las que se incluyen, Fimbrias tipo I, codificadas en el gen *fim*, sin embargo su acción es poco conocida hasta hoy; Fimbrias codificadas en plásmidos, estas se encuentran codificadas por el gen de 90 Kpb *pef*, y se encuentran en el plásmido denominado *pSLT*, plásmido muy importante pues se encuentra en todas la cepas patógenas de la bacteria, su delección crea mutantes avirulentas. Otros genes productores de fimbrias son *Ipf*, que codifica para las fimbrias polares largas, y también están los genes *agf*, que codifican para las fimbrias agregativas delgadas (Salyers, 2002).

En el momento de la infección de las células eucariotas, *Salmonella* produce un re-arreglo de actina, que forman unos pseudópodos que engolfan la bacteria, terminando en la internalización de la misma (Salyers, 2002).

Por que se presenta la diarrea en humanos es todavía una incógnita, pues no se ha podido identificar una enterotoxina producida por *Salmonella* capaz de generar una diarrea; sin embargo, se han descubierto sistemas de secreción tipo III en *Salmonella*. Estos se encargan de inyectar las proteínas necesarias para producir una diarrea al interferir en la función celular.

Como consecuencia de esta irrupción en el metabolismo, las células infectadas producen citoquinas que atraen PMNs, estos liberan bastantes prostaglandinas que tiene acción en el metabolismo de la Adenilato Ciclasa, incrementando los niveles de AMPc que tiene como consecuencia final, la interrupción de la absorción de Na⁺ y el aumento de la secreción de Cl, lo que lleva a una pérdida de agua por parte de la célula, signos claros de una diarrea (Salyers, 2002).

El ADN invertible y el fenómeno de variación de fase, comprenden la inversión de un segmento de DNA de una orientación a la otra. Cuando el segmento está orientado en una dirección se expresa un gen particular, en tanto que cuando está orientado en la dirección opuesta, se expresa un gen distinto (Brock, 1991). En *Salmonella* como resultado de la variación de fase, su proteína flagelar puede ser de uno o de dos tipos diferentes (Brock, 1991). Cada célula de *Salmonella* tiene dos genes H1 y H2, que codifican para las dos diferentes proteínas flagelares, pero solo se expresa uno de los dos en un momento dado. Así una célula bacteriana individual fabricará o un flagelo del tipo H1 o un flagelo del tipo H2 (Brock, 1991).

2.5 Diagnóstico y sintomatología.

La enfermedad se diagnostica en base a los síntomas presentados y se confirma con pruebas de laboratorio.

-Fiebre tifoidea

En esta enfermedad existe un periodo de incubación de generalmente dos semanas, después se presenta el síntoma típico de las salmonelosis, la diarrea, además se presenta tos seca, dolor de cabeza intenso y fiebre alta acompañada de escalofríos, convulsiones y delirio. Dura de 2 a 3 semanas.

Salmonelosis ocasionada por alimentos contaminados.

Los síntomas incluyen diarrea de un color verde esmeralda característico, este color se debe a que durante la enfermedad no se metabolizan los ácidos biliares. Además se presentan cólicos, sensibilidad o dolor abdominal, náuseas, vómito, fiebre, escalofríos y dolor muscular. Dura de 2 a 14 días.

-Salmonelosis causada por *Salmonella enteritidis*.

En este caso los síntomas se presentan dentro de las 12-72 horas después de ingerido el alimento y entre ellos se presentan: fiebre, dolor abdominal, calambres abdominales y diarrea. Tiene una duración de 4 a 7 días.

La diarrea, la fiebre y los calambres estomacales severos son síntomas comunes, en el caso de salmonelosis, estos síntomas se presentan entre 6 a 72 horas después de haberse ingerido algún alimento contaminado con la bacteria. La enfermedad dura de 5 a 7 días y la mayoría de las personas afectadas no necesitan tratamiento, sólo con el tiempo se mejoran.

El aislamiento de *Salmonella* se realiza por el método convencional de la *Food and Drug Administration* (Mumma, 2002). Básicamente, se pesan 25 g de cada muestra de alimento y se inoculan en 225 ml de los medios de pre-enriquecimiento, agua peptonada y caldo infusión cerebro corazón, los cuales se incuban a 37 °C durante 24 horas; a partir de estos, se inocula 1ml de cada muestra en 9 ml de caldo Rappaport y Tetrionato, posteriormente se subcultivan en agar XLT4 (Difco Detroit, Mi USA); SMID (Biomeriux, Marcy L'etoile, France); SS; Hektoen, XLD y bismuto sulfito, se incuban a 37 °C por 24 horas, las colonias sospechosas de *Salmonella* se identifican con pruebas bioquímicas convencionales y se confirman con antisueros polivalentes y monovalentes para *Salmonella*, (Difco, Detroit, Michigan, USA). La identificación serológica se realiza utilizando el esquema de Kauffman-White (Who, 2002).



2.6 Tratamiento y prevención.

El control de *Salmonella* en la cadena alimentaria es un asunto complicado, debido a las interrelaciones existentes entre la contaminación medioambiental, los animales de abasto y el hombre (Eley, 1994). La tendencia creciente de infección en humanos y los recientes brotes de origen alimentario originados por *Salmonella enteritidis* en huevos, subrayan la necesidad de una mayor vigilancia en todos los aspectos de la producción de alimentos reflejada en la instauración de controles concertados entre gobierno e industria (Eley, 1994).

Existen numerosos modos de controlar el acceso y diseminación de la *Salmonella* en los animales. Estos incluyen la regulación de la importación de animales vivos o ya sacrificados, el empleo de ganado y piensos exentos de *Salmonella* y unas buenas prácticas de manejo en las exportaciones de ponedoras (Eley, 1994). La educación de los consumidores y manipuladores de alimentos en el manejo y cocinados seguros de carnes, huevos y otros ingredientes crudos potencialmente peligrosos es de gran importancia. El conocimiento de las técnicas básicas de elaboración de alimentos, tales como la adecuada refrigeración y el cocinado completo de los alimentos, debería extenderse a todos los niveles. Las infecciones por *Salmonella* se desencadenan frecuentemente tras el consumo de ciertos alimentos crudos o no cocidos en los que las bacterias están a menudo naturalmente presentes. Una cocción adecuada por lo común elimina el riesgo de infección. Debe recalcar que los métodos apropiados de cocinado han de ser acompañados de una sólida higiene en la cocina, que prevenga la contaminación cruzada desde los alimentos crudos hacia los ya cocinados, que constituye otra fuente importante de infecciones (Eley, 1994).

La radiación ionizante ha sido aprobada como método de conservación de alimentos en varios países, sin embargo ciertos alimentos, sobre todo los ricos en grasas, no se prestan a estos tratamientos, además se teme que la radiación ionizante induzca al formación en los alimentos de radicales libres de efectos posiblemente perjudiciales (Eley, 1994).

Por otra parte en todo brote epidemiológico presentado, es recomendable llevar a cabo una exhaustiva investigación epidemiológica en la cual se tengan en cuenta aspectos como la búsqueda de una fuente común de infección, la realización de encuestas a los afectados y manipuladores de alimentos, el cierre del local de donde se sospecha provino el alimento contaminado y de los proveedores del mismo. Así mismo la realización de análisis de laboratorio a los alimentos implicados en el brote, incluyendo a su vez cultivos de materia fecal y sangre de los afectados y manipuladores del alimento, así como también estudios serológicos en estos mismos (Guido, 2000).

El control efectivo de *Salmonella* exige la declaración oficial rápida y eficaz de brotes, tanto a nivel nacional como internacional. Esta información es más necesaria actualmente por el creciente movimiento de alimentos, de piensos y de materias primas para piensos en el comercio internacional, así como de personas entre unos y otros países (Eley, 1994).

La mayoría de las personas que contraen salmonelosis se recuperan sin un tratamiento farmacológico, es decir, sin la necesidad de consumir medicamentos. Sin embargo es necesario seguir algunas recomendaciones para evitar que la enfermedad se agrave.

Uno de los primeros objetivos es reponer los líquidos y electrolitos (sal y minerales) que se pierden a causa de la diarrea (no se deben emplear medicamentos antidiarreicos porque éstos pueden prolongar la infección). Si la persona que sufre de diarrea no puede tomar nada por vía oral debido a las náuseas, deberá recurrir a un centro de salud para recibir atención médica y líquidos intravenosos, especialmente si se trata de niños pequeños. En el caso de la fiebre y el dolor, se puede tomar paracetamol o ibuprofeno para aminorar los síntomas.

Para prevenir la intoxicación por alimentos contaminados con *Salmonella* se deben mejorar los hábitos de higiene y de preparación de los alimentos. Algunas de las recomendaciones son:

- Tratar la carne cruda como si estuviera contaminada, teniendo cuidado en: envolver las carnes frescas en bolsas de plástico para evitar que la sangre escurra sobre el resto de los alimentos, refrigerar la carne de inmediato, lavar los utensilios con los que se preparó la carne para evitar la contaminación cruzada con otros productos.
- Cocinar bien la carne para garantizar la destrucción de la *Salmonella*.
- Evitar comer carne cruda, huevos crudos o alimentos poco cocidos que contengan huevos crudos como la mayonesa.
- Las verduras y frutas deben lavarse bien antes de consumirlas.
- Lavarse las manos antes y después de preparar los alimentos.
- Vigilar que los niños, especialmente los que jueguen con animales domésticos, se laven las manos cuidadosamente.
- No tener reptiles como mascotas, en especial tortugas, en hogares donde habiten personas con sistema inmunológico débil como niños pequeños o ancianos; ya que los reptiles transmiten la *Salmonella* por contacto con sus heces o incluso con el agua de la pecera.
- Las personas que tienen salmonelosis no deben preparar alimentos o servir agua a otros hasta que se haya demostrado que han dejado de ser portadoras de la bacteria *Salmonella*.

Los huevos, al igual que otros alimentos, se consideran seguros siempre y cuando se manipulen de una manera adecuada y se consuman bien cocidos. La ingestión de huevos con yemas líquidas representa un riesgo mayor que la ingestión de un huevo bien cocido. Los huevos sucios o agrietados se deben arrojar a la basura. Los huevos no se deben conservar en ambientes cálidos durante más de 2 horas. Igualmente se recomienda evitar la ingestión de huevos crudos en helados de preparación casera, en ponches y en alimentos como el aderezo para la ensalada Cesar o la salsa holandesa.

Con respecto al tratamiento, las infecciones por *Salmonella* no tifoidea son auto-limitantes, la terapia antibiótica no es apropiada en los casos no complicados de gastroenteritis.

Cuando la enfermedad se complica y se torna sistémica se recomienda el uso de antibióticos que se concentren en el sistema linfático, como el cloramfenicol y la ampicilina. Para el tratamiento de portadores crónicos se emplean antibióticos que se concentran y eliminan por la bilis como la ampicilina o amoxicilina (Salyers, 2002).

En las infecciones producidas por *Salmonella typhi*, el tratamiento antimicrobiano si es una buena elección. Para iniciar un tratamiento antimicrobiano exitoso es importante tener en cuenta el estado intracelular de la bacteria, por lo tanto la primera línea de tratamiento debe ser ampicilina o cloramfenicol. Pero el uso descontrolado ha presionado selectivamente a *Salmonella* y los brotes producidos por cepas resistentes ya están haciendo estragos. Aislamientos hechos en África, demostraron un alto índice de multi-resistencia a antibióticos de primera línea de tratamiento en Ghana, principalmente debido a plásmidos conjugativos (Mills-Robertson, 2002).

Este hecho ha motivado el estudio de otros antibióticos que reemplacen a los de primera línea y se ha comprobado recientemente que, cefotaxime y la ceftriaxona han tenido buenos resultados (Ekinci, 2002). Sin embargo, el uso indiscriminado de los antibióticos en la medicina humana y veterinaria, han favorecido el desarrollo de la cepas resistentes a los tratamientos antimicrobianos. Un estudio reciente realizado en EE.UU demostró el hallazgo de genes de resistencia codificados dentro de plásmidos conjugativos en cepas multi-resistentes aisladas de cerdos de diferentes granjas que han favorecido la dispersión de la multirresistencia y ha dificultado el tratamiento antimicrobiano (Gebreyes, 2002).

En humanos también se ha comprobado la presencia de genes de resistencia. En Rumania, se encontraron cepas de *Salmonella enterica* serotipo *Tiphymurium* y *Heilderberg* que presentaban genes de espectro extendido a cefalosporinas (Miriago, 2002).

La Salmonelosis es un problema serio de salud pública por lo que requiere mayor atención de parte de las autoridades sanitarias de Ecuador. Por último es importante saber que hay vacunas contra la fiebre tifoidea que se administran por vía oral o por inyección y ofrecen una protección del 65-70 % con una inmunidad de 3 a 7 años.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Materiales.

3.1.1. Estudio de la población y recolección de los datos

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la ciudad de Guayaquil; en el laboratorio Dr. Jorge Villón ubicado en la Cdma. Guayacanes, la ciudad está conformada de 74 sectores, los cuales se dividen de 15 parroquias urbanas, Es la ciudad con mayor densidad de población en el Ecuador, con un estimado de 2 366 902 de habitantes. Dentro de la ciudad existe un total de 26 mercados municipales, se seleccionaron 15 establecimientos donde se tomó muestras de huevos que se encuentren en venta libre. El muestreo incluyo diferentes niveles de venta y comercialización. Las marcas comerciales no fueron registradas pero si codificadas para el presente trabajo.

Según el M.I Municipalidad de Guayaquil las parroquias urbanas que la conforman son las siguientes: Febres Cordero, Ximena, Tarqui, Letamendi, Ayacucho , García Moreno, Roca, Rocafuerte, Olmedo, Nueve de Octubre, Urdaneta, Sucre, Pedro Carbo, Pascuales y Bolívar, las cuales formaron parte del estudio excepto las parroquias Roca, Ayacucho y Bolívar.

Se realizaron apuntes para reunir información demográfica de los establecimientos, al igual que preguntas relacionadas con la adopción de prácticas recomendadas por el Código de Alimentos 2001 & Suplemento (2003), correspondientes al manejo de riesgo de alimentos potencialmente peligrosos.

Figura 1: Mapa de las parroquias de muestreo.



Fuente: maps.google.com

3.1.2 Recolección de las muestras.

El estudio se realizó en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil, a los que se los ha clasificado por parroquias. De las 16 parroquias existentes se evaluaron 12 parroquias; en 9 parroquias se tomó 1 mercado por cada uno (*Letamendi, García Moreno, Rocafuerte, Olmedo, Nueve de Octubre, Urdaneta, Pedro Carbo, Pascuales, Sucre*); y en las tres parroquias restantes que son las más grandes de Guayaquil (*Ximena, Tarqui y Febres Cordero*) se tomaron 2 mercados por cada uno. Se evaluaron un total de 300 huevos, los que fueron colectados de forma arbitraria y al alzar en estos mercados para determinar el índice y el grado de contaminación a *Salmonella*.

Se estableció una programación de muestreos y se tomó cuatro muestras por día por establecimiento. Por tal razón, el periodo de muestreo en los establecimientos se coordinó en un periodo de 5 semanas (Noviembre – Diciembre del 2009). El horario de recolección de los alimentos, fue los días domingos entre las 7:00 a.m. y 16:00 p.m. por ser el horario de atención a los consumidores. Se tomó por semana un total de 60 muestras.

La cantidad de alimento recolectado fue de 20 huevos por cada mercado. Se utilizaron los métodos oficiales descritos en el Manual de análisis bacteriológico (BAM por sus siglas en inglés)

Para evitar alguna transformación significativa de los parámetros de prueba que fueron objeto de la investigación, las muestras se colocaron por separado en bolsas plásticas selladas, debidamente identificadas y se transportaron al laboratorio de microbiología en neveras portátiles con “cold packs” para mantener la temperatura.

Cuadro 1: Mercados que se evaluaron según respectivas parroquias.

PARROQUIAS	MERCADOS	ESTABLECIMIENTO
Pedro Carbo	Norte	Baquerizo Moreno y Thomas Martínez.
Pascuales	Pascuales	Avenida Andrés Cruz y calle Cuarta.
Sucre	Mascote	Alcedo y Avenida del Ejército
García Moreno	Jockey	José de Antepara y Bolivia
Urdaneta	Asisco Garay	Cuenca y Nicolás Segovia.
9 de Octubre	Oeste	Lizardo García y Diez de Agosto.
Rocafuerte	Central	Lorenzo de Garaicoa y Diez de Agosto.
Olmedo	Este	Gómez Rendón y Chimborazo
Letamendi	Gran Colombia	Destruge y Guerrero Valenzuela.
Tarqui	Florida Mapasingue Oeste	km 8.5 de la vía a Daule. Calles 7ma y 5ta (ingreso km 5.5 de la vía a Daule).
Febres Cordero	Batallón del Suburbio Santa Teresita	28 y la calle I. 30ava, Maracaibo, 31ava y El Oro.
Ximena	Caraguay Las Esclusas	General Robles y la F. Avenida 25 de julio y Las Esclusas.

Fuente: Autor.

3.1.3. Materiales de trabajo.

3.1.3.1. Materia Prima/Material recolección.

- Huevos.
- Cajas Térmicas.
- Fundas Térmicas.
- Guantes.
- Etiquetas.
- Lápiz o marcador.
- Cuaderno de apuntes.
- Cámara fotográfica.

3.1.3.2. Laboratorio.

3.1.3.2.1. Equipos/Utensilios.

- Gradillas.
- Esterilizadora.
- Incubadora.
- Alcohol industrial.
- Asa.
- Tubos de 10ml y de 5ml.
- Cajas Bi-Petri.
- Refrigeradora.
- Jeringuillas de 1ml, 3ml y 10ml.
- Yodo.
- Caldo de tetrathionato.
- Juegos de identificación bioquímica.
- Algodón y gasa estéril.
- Mecheros.
- Lavacara.
- Cinta de papel.
- Lápiz graso.
- Pinzas.

3.1.3.2.2. Cuidado Personal

- Guantes.
- Mandil.
- Mascarilla.
- Jabón.
- Toallas.

3.1.4. Análisis Estadístico.

El análisis estadístico utilizado fue el denominado completamente al azar cuyo modelo matemático es:

$$\hat{y}_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

μ = La media observada en el ensayo.

t_i = La incidencia y grado de contaminación por cada parroquia.

ϵ_{ij} = Error experimental.

Los datos se analizaron mediante análisis de variante (ANAVA) y para observar sus diferencias se utilizó las pruebas de comparación de promedios llamada Diferencia Significativa Mínima (DSM).

Las tablas de ANAVA y la fórmula de DSM se describen:

Fuente de Variación	GL
Total	299
Parroquias	11
Error Experimental	

La fórmula de la Diferencia Significativa Mínima es:

$$DSM = t_{var} \sqrt{CMe \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

3.2. Manejo del Experimento.

El primer paso fue la recolección de las muestras de huevos de gallina para consumo humano, que fueron tomadas en forma arbitraria y al azar de los 15 mercados municipales pre-establecidos, se colectaron 300 muestras en total, durante un periodo de 5 semanas.

Las muestras se tomaron los días domingos de cada semana, 4 huevos por cada mercado de 15 establecidos, para completar las 60 muestras semanales, para la recolección se tomo apuntes sobre las condición sanitaria en que se encontraba el establecimiento de expendio, se utilizo una nevera portátil “cold packs” para poder mantener la temperatura y las muestras se colocaron en bolsas plásticas selladas con indicación del lugar, y se apunto la hora de la visita.

Para colocar las muestras en las bolsas plásticas, con la indicación del mercado que se visitaba, y así facilitar el trabajo, se utilizó la siguiente codificación:

Cuadro 2: Mercados con su respectiva codificación.

MERCADOS	CODIGO
Mapasingue Oeste	A
Pascuales	B
Florida	C
Oeste	D
Mascote	E
Central	F
Norte	G
Este	H
Asisco Garay	I
Gran Colombia	J
Jockey	K
Sta. Teresita	L
Batallón del Suburbio	M
Caraguay	N
Las Esclusas	Ñ

Fuente: Autor.

Después de la recolección durante el periodo de 5 semanas todos los días lunes, se procedió a llevar las muestras al laboratorio, donde se desinfectaron sumergiéndolas en agua destilada por unos minutos.

Antes de realizar el experimento se desinfecto la superficie de trabajo con jabón líquido, y se colocaron todos los materiales a utilizarse en la mesa, previa desinfección, ya que el orden y la limpieza son esenciales en todas las experiencias de trabajo en el laboratorio.

Se tomaron 60 tubos de 10ml, que fueron colocados en gradillas con tapones hechos con algodón y gasa estéril, de aquí fueron esterilizados por una hora aproximadamente en la máquina esterilizadora. Después de unos 15 minutos de enfriarse los tubos se procedió a colocarlos nuevamente en gradillas, se distribuyo 5ml de caldo de enriquecimiento o caldo de tetrathionato por cada tubo, con una jeringuilla de 10ml previamente esterilizada, trabajando cerca del mechero. En una posición lo más horizontal posible (inclinada), la boquilla del tubo se flameaba antes y después, de colocar el caldo de tetrathionato, de aquí se ponía el tapón sin dejar que este topara la superficie.

Seguido las huevos sumergidos en el agua destilada dentro de la lavacara fueron secados con una toalla estéril, se tomo el huevo y se lo flameo cerca de mechero, para posteriormente romperlo con una pinza, aquí con una jeringa de 1ml se procedió a tomar la muestra y se coloco en los tubos de 5ml con el caldo de tetrathionato, flameando la boquilla del tubo antes y después de colocar la muestra, todo esto cerca del mechero con todo el cuidado posible de no infectarlo con algún organismo externo; se tapono el tubo, con lápiz graso se puso la codificación respectiva y ubico en la gradilla. Este procedimiento se repitió para las 60 muestras de cada semana teniendo el mayor cuidado posible y ubicando todos los desperdicios en una bolsa plástica de basura adjunta.

Una vez ubicados todas las muestras en el medio de enriquecimiento, los tubos se llevaron a la incubadora donde permanecieron por 30-48 horas a 35-37 ° C, para que la *Salmonella* se reprodujera más rápidamente.

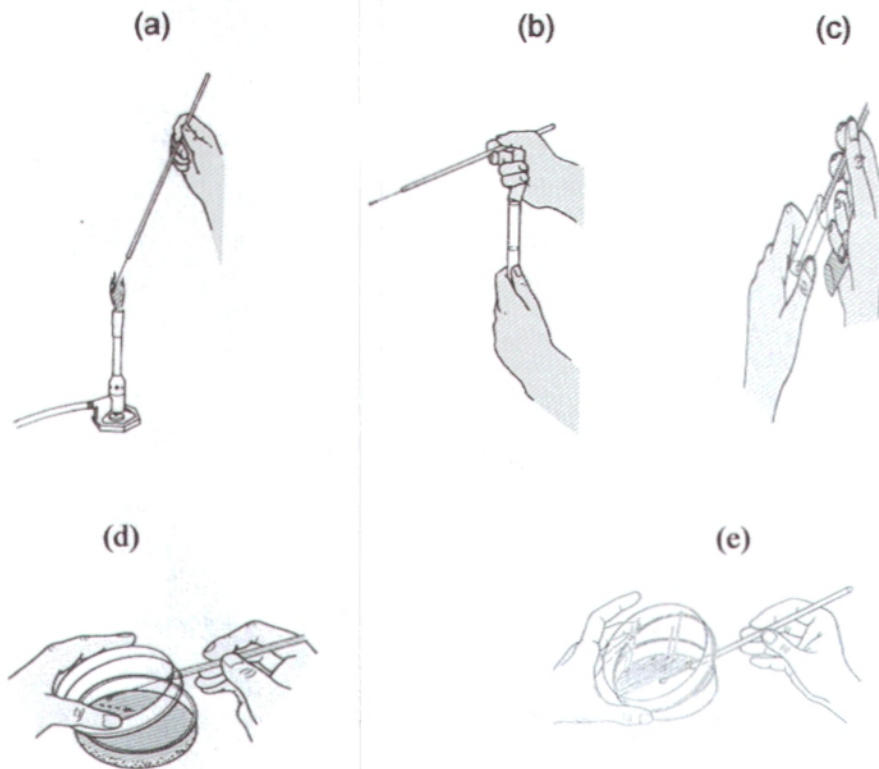
Todos los materiales de desecho que estuvieron en contacto con los microorganismos (como jeringas, tubos, pinzas) fueron ubicados en bolsas plásticas preparadas para el efecto, y se procedió posteriormente a su esterilización o eliminación.

Posterior a la incubación, pasadas 48 horas aproximadamente, los miércoles de cada semana, se realizó el aislamiento de colonias por medio de la técnica de agotamiento. (Ver figura 2)

Para este trabajo se utilizaron las asas con hilos de platino que sirven para la siembra, éstas se flamearon al rojo en posición vertical bajo la acción de la llama (a); también se flameo el mango. Para efectuar la siembra se espero algunos segundos a que se enfríen, pudiendo enfriarse también en el borde de la placa de Bi-Petri (d) que contiene el medio de cultivo.

Inmediatamente los tubos de ensayo que contenían medios de cultivos o cultivos de microorganismos, se agitaron para poder homogenizar la muestra (b), seguido se abrieron en la posición más horizontal posible (inclinada), y para quitarle el tapón se mantuvo inclinado con una mano y se abrió con la otra, que sostenía a su vez el asa (c). Una vez abierto, se flameo por algunos segundos el orificio, repitiendo dicha operación una vez realizada la siembra (el tapón nunca debe dejarse sobre la mesa). Seguido se tomó la muestra con el asa con suavidad y se colocó en la superficie del medio agar nutritivo SS (*Salmonella-Shigella*) en las placas Bi-Petri, se estrió la muestra por agotamiento (e), para poder obtener colonias aisladas y de forma que al final de la siembra la cantidad de inóculo que se espera sea lo suficientemente bajo para que se depositen células aisladas y distanciadas en la superficie del agar SS (*Salmonella-Shigella*). Para ello la placa se destapa ligeramente en las proximidades del mechero bunsen. Una vez finalizado se flamea el asa nuevamente para poder repetir el procedimiento con la siguiente muestra, se vuelve a tapar la placa, se coloca la codificación y la fecha de siembra y está se dispone en posición invertida para llevar a incubar después de haber utilizado. Este es el proceso general para la siembra de placas.

Figura 2. Manipulación de organismos. Aislamiento de agotamiento por estría.



Toda esta operación se la realizó con la mayor asepsia posible, los días miércoles de cada semana, trabajando cerca de los mecheros, para así evitar cualquier tipo de contaminación exógena. Las placas se colocaron en la incubadora de 30-48 horas a 35-37 °C. Esta labor se realizó durante 5 semanas.

El agar utilizado es el Agar SS especialmente formulado para el aislamiento de patógenos potenciales como *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras clínicas y de alimentos, es un medio de cultivo selectivo y diferencial, lo que proporciona una figura más detallada de la contaminación potencial.

La selectividad, está dada por la sales biliares y el verde brillante, que actúan como inhibidores de bacilos Gram positivos, de la mayoría de bacilos coliformes y del swarming en *Proteus spp.*, mientras que permiten el crecimiento de *Salmonella spp.* Es diferencial debido a la fermentación de la lactosa, el tiosulfato de sodio y el citrato férrico permiten la detección de la producción de SH₂. La lactosa proporciona la fuente de carbohidratos, el rojo neutro y el verde brillante actúan como indicadores de pH y el Agar es agregado como agente solidificante

Los pocos microorganismos fermentadores de lactosa capaces de desarrollarse, acidifican el medio haciendo virar al rojo el indicador de pH, obteniéndose colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo. *Salmonella*, *Shigella* y otros microorganismos no fermentadores de lactosa, crecen bien en el medio de cultivo, y producen colonias transparentes. La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro.

Transcurrido el tiempo establecido, los días viernes de cada semana, se verifico que tipo de colonias habían crecido en el agar SS. Si las colonias eran rojas o rosas, entonces no eran consideradas para la identificación bioquímica, pero si las colonias eran transparentes, blancas o translúcidas con puntos negros o sin ellos, entonces estas muestras eran separadas y se procedía a realizarles la identificación bioquímica.

Las pruebas bioquímicas consisten en distintos test químicos aplicados a medios biológicos, los cuales, conocida su reacción, nos permiten identificar distintos microorganismos presentes.

Su sistema de funcionamiento generalmente consiste en determinar la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no.

Para realizar las pruebas bioquímicas se dispone de múltiples medios, los cuales se deben aplicar de acuerdo a las exigencias del microorganismo en estudio.

De la amplia variedad de pruebas bioquímicas, nosotros en laboratorio utilizamos 5, que son la prueba de citrato, motilidad, urea, agar hierro triple azúcar y lisina.

A continuación detallo el uso de cada uno de las pruebas, así como su interpretación.

- **Agar Citrato**

La utilización de citrato como única fuente de carbono es una prueba útil en la identificación de enterobacterias. La utilización de citrato como única fuente de carbono se detecta en un medio de cultivo con citrato como única fuente de carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. Este aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a pH 7,6.

Procedimiento:

Se inocula el agar inclinado en una sola estría en el pico. Utilizar un cultivo de 24 horas en un medio sólido y cuidando no arrastrar medio de cultivo, ya que se pueden producir falsos positivos por crecimiento a partir del medio de cultivo del inóculo. Incubar a 35°C durante 1 días. El ensayo es positivo cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría, acompañado o no de un viraje del indicador al azul.

Resultados:

(+) *Klebsiella* spp.

(-) *Escherichia Coli*.



- **Prueba MIO (Motility-Indole-Ornitine ó Motilidad-Indol-Ornitina).**

Esta prueba bioquímica permite identificar bacterias de acuerdo a su motilidad a la reacción de Indol a la descarboxilación de la ornitina.

Procedimiento:

Inocular en picada las cepas de micro organismos en el medio de cultivo e incubar por 24 horas a 37°.

Interpretación y Resultados:

Reacción	Interpretación
Enturbiamiento del Agar.	Hay movilidad
Agar transparente desarrollo solo en picada	No hay movilidad

- **Prueba Ureasa**

Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoniaco por acción del enzima ureasa. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan negativo o positivo retardado.

Éste agar será degradado por aquellos microorganismos capaces de producir el enzima ureasa. Esta degradación produce amoniaco que hará variar el color del indicador de amarillo a rojo, poniéndose así de manifiesto la actividad ureasa.

Para revelar el resultado de esta prueba es importante tener en cuenta el tiempo de incubación ya que especies de *Proteus* vuelven alcalino el medio poco después de la inoculación y sus resultados deben ser leídos en las primeras 2-6 horas, mientras que *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* tienen actividad ureasa dentro de las 24-48 horas de incubación.

- **Prueba TSI (Triple Sugar Iron ó Triple Azúcar Hierro)**

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio. También permite la identificación de la producción de SH₂.

Esta es una prueba específica para la identificación a nivel de género en la familia Enterobacteriaceae, con objetivo de diferenciar entre:

- bacterias fermentadoras de la glucosa
- bacterias fermentadoras de la lactosa
- bacterias fermentadoras de sacarosa
- bacterias aerogénicas
- bacterias productoras de SH₂ a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre.

Procedimiento:

Inocular los tubos de TSI con punta (alambre recto). Para eso introducir la punta hasta 3 a 5 mm. del fondo del tubo. Tras retirar el alambre del fondo, estriar el pico con un movimiento hacia uno y otro lado. Incubar a 35° durante 24 horas. Posteriormente se debe medir el pH de los cultivos.

Resultados:

- Pico alcalino/fondo alcalino: no hay fermentación de azúcares. Característica de bacterias no fermentadoras como *Pseudomonas sp.*
- Pico alcalino/fondo ácido: Glucosa fermentada, lactosa ni sacarosa fermentadas. *Shigella spp.*
- Pico alcalino/fondo negro: Glucosa fermentada, ni lactosa ni sacarosa fermentada, producción de ácido sulfhídrico. *Salmonella spp.*
- Pico ácido/fondo ácido: Glucosa y lactosa y/o sacarosa fermentadas. Puede producirse SH₂ o no. *Escherichia coli.*

A estos resultados se les agrega el resultado de la producción de gas.

• **Prueba LIA (Lysine Iron Agar ó Agar Lisina Hierro)**

Esta prueba permite diferenciar los microorganismos que producen descarboxilación o desaminación de la lisina. Se puede detectar además la producción de SH₂ y es más sensible que el TSI para la detección de SH₂. Es muy utilizado para descartar *Salmonella* de aislamientos primarios.

Procedimiento:

Inocular en forma de estría las cepas de micro organismos en el medio de cultivo e incubar por 24 horas a 37°

Interpretación y Resultados:

Reacción	Interpretación
Morada	Positivo
Fondo rojo/amarillo	Negativo
Engrecimiento	Descarboxila ornitina
Ruptura del Agar	No descarboxila
Fondo Amarillo y Tendido púrpura	Descarboxilación de lisina

Las muestras que presentaron colonias presuntuosas de ser *Salmonellas*, fueron sometidas a pruebas bioquímicas, donde se incubaron por un periodo de 24 horas. Para posteriormente, proceder a su verificación y toma de resultados, esta labor se realizó los días sábados y domingos durante las 5 semanas.

Finalmente se realizó su interpretación y análisis. Determinando el grado e índice de contaminación por *Salmonella* en los productos de consumo humano.

4. RESULTADOS

Los datos registrados en la presente investigación fueron los siguientes: proporción de muestras con crecimiento bacteriano, muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp*, y muestras positivas a *Salmonella spp*.

El análisis estadístico se realizó a través del Análisis de la Varianza (ANAVA), y sus diferencias se compararon mediante las Pruebas de Diferencia Significancia Mínima (DSM).

4.1 Muestras con crecimiento bacteriano.

4.1.1 Muestras con crecimiento bacteriano clasificación por parroquias y semanas.

Las muestras que tuvieron un crecimiento generalizado de bacterias se presentan en la Tabla 1, donde se puede observar en que parroquias y semanas hubo un mayor crecimiento bacteriano.

Según la Tabla 1 (ver pág. 38), de las 300 muestras que se recolectaron durante las 5 semanas de muestreo, 62 presentaron un crecimiento bacteriano lo que representa un porcentaje general de 21%, siendo la parroquia Sucre la que presentó el mayor porcentaje con un 40% de muestras con crecimiento positivo y la parroquia Olmedo la de menor porcentaje con un 5% de casos.

En lo que se refiere a las muestras semanales la 5ta semana fue la de mayor porcentaje con un 32% y la 2da y 3ra las más bajas con un 15%.

La primera semana se recolectaron 60 muestras con 14 casos de crecimiento que representa un 23% semanal, en donde la parroquia Sucre con 3 muestras positivas fue la de mayor número de casos de crecimiento.

La segunda semana se recolectaron 60 muestras con 9 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 15% semanal, en donde la parroquia de Pascuales fue el de mayor incidencia con 3 casos.

La tercera semana se recolectaron 60 muestras con 9 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 15% semanal, en donde la parroquia Ximena con 3 muestras positivas fue la de mayor número de casos.

La cuarta semana se recolectaron 60 muestras con 11 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 18% semanal, donde la parroquia Letamendi con 3 casos de crecimiento fue el de mayor incidencia, y por último, en la quinta semana se recolectaron 60 muestras con 19 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 32% semanal, en donde las parroquias 9 de Octubre y Sucre con 3 casos cada uno respectivamente fueron los de mayor incidencia bacteriana.

Tabla 1: Proporción de muestras por parroquias y semanas con crecimiento bacteriano.

PARROQUIAS	1ra SEMANA		2da SEMANA		3ra SEMANA		4ta SEMANA		5ta SEMANA		Total	P(+)	%
	N° Muestra	P(+)	N° Muestra	P(+)	N° Muestra	P(+)	N° Muestra	P(+)	N° Muestra	P(+)			
Febres Cordero (L-M)	8	3	8		8		8	2	8	2	40	7	18%
Tarqui (A-C)	8		8		8		8		8				
Ximena (N-N)	8		8	2	8	2	8	2	8	3	40	9	23%
García Moreno (K)	4	1	4	1	4	3	4	1	4	1	40	7	18%
Letamendi (J)	4		4		4	2	4		4		20	2	10%
Olmedo (H)	4	2	4		4		4	3	4		20	5	25%
Pascuales (B)	4		4		4		4		4	1	20	1	5%
Pedro Carbo (G)	4		4	3	4	1	4		4	2	20	6	30%
Roca fuerte (F)	4	2	4	2	4		4		4		20	4	20%
Sucre (E)	4	1	4	1	4		4		4	2	20	4	20%
Urdaneta (I)	4	3	4		4		4	2	4	3	20	8	40%
9 de Octubre (D)	4	1	4		4		4		4	2	20	3	15%
	60	14	60	9	60	9	60	11	60	19	300	62	
		23%		15%		15%		18%		32%		21%	

4.1.2. Muestras con crecimiento bacteriano clasificación por mercados y semanas

Las muestras que tuvieron un crecimiento generalizado de bacterias se presentan en la Tabla 2, donde se puede observar en que mercados y semanas hubo un mayor crecimiento bacteriano. El código de los mercados esta descrito en el capítulo 3 en el Cuadro 2.

Se observa según Tabla 2 (ver pág. 40) que de las 300 muestras que se recolectaron durante las 5 semanas de muestreo, 62 presentaron un crecimiento bacteriano lo que representa un porcentaje general de 21%, siendo el mercado de Mascote el que presentó mayor número de muestras con crecimiento bacteriano 8 en total que representa el 40%, y el mercado Este el de menor número con 2 en total.

En lo que se refiere a las semanas la 5ta semana fue las más alta con 19 muestras con crecimiento; la 2da y 3ra semana con 9 cada una tuvieron un menor crecimiento.

La primera semana se recolectaron 60 muestras con 14 casos de crecimiento que representa un 23% semanal, en donde los mercados de Sta. Teresita y Mascote fueron los que tuvieron mayor número de casos de crecimiento, con 3 cada uno.

La segunda semana se recolectaron 60 muestras con 9 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 15% semanal, en donde el mercado de Pascuales fue el de mayor incidencia con 3 casos.

La tercera semana se recolectaron 60 muestras con 9 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 15% semanal, en donde los mercados de Caraguay y Jockey presentaron el mayor número de casos con 2 cada uno respectivamente.

La cuarta semana se recolectaron 60 muestras con 11 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 18% semanal, en donde el mercado de Gran Colombia con 3 casos de crecimiento fue el de mayor incidencia, y por último, en la quinta semana se recolectaron 60 muestras con 19 casos de crecimiento lo que representa un porcentaje de 32% semanal, en donde los mercados de Oeste y Mascote con 3 casos cada uno respectivamente fueron los de mayor incidencia bacteriana.

Tabla 2: Proporción de muestras por mercados y semanas con crecimiento bacteriano.

MERCADOS	1ra SEMANA		2da SEMANA		3ra SEMANA		4ta SEMANA		5ta SEMANA		Total	P(+)	%
	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)			
MAPASINGUE OESTE	4		4		4	1	4	1	4	2	20	4	20%
PASCUALES	4		4	3	4	1	4		4	2	20	6	30%
FLORIDA	4		4	2	4	1	4	1	4	1	20	5	25%
OESTE	4	1	4		4	1	4	1	4	3	20	6	30%
MASCOTE	4	3	4		4		4	2	4	3	20	8	40%
CENTRAL	4	1	4	1	4		4		4	2	20	4	20%
NORTE	4	2	4	2	4		4		4		20	4	20%
ESTE	4		4		4		4		4	1	20	1	5%
ASISCO GARAY	4	1	4		4		4		4	2	20	3	15%
GRAN COLOMBIA	4	2	4		4		4	3	4		20	5	25%
JOCKEY	4		4		4	2	4		4		20	2	10%
STA. TERESITA	4	3	4		4		4		4	1	20	4	20%
BATALLON DEL SUBURBIO	4		4		4		4	2	4	1	20	3	15%
CARAGUAY	4		4		4	2	4	1	4	1	20	4	20%
LAS ESCLUSAS	4	1	4	1	4	1	4		4		20	3	15%
	60	14	60	9	60	9	60	11	60	19	300	62	
		23%		15%		15%		18%		32%		21%	

4.2 Muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp.*

4.2.1 Muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp.*, clasificados por parroquias y semanas.

Las muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp.* se presentan en la Tabla 3, donde se puede observar en que parroquias y semanas hubo un porcentaje mayor de colonias sospechosas de *Salmonella*.

Según la Tabla 3 (ver pág. 42), de las 300 muestras recolectadas, 25 casos que representa un 8% del total fueron analizadas, siendo la parroquia Sucre la que presentó un porcentaje mayor de muestras con colonias sospechosas de *Salmonella* 25% con 5 muestras en total, y las parroquias García Moreno y Rocafuerte el más bajo porcentaje ya que no presentaron ninguna muestra.

En lo que se refiere a las semanas la 5ta semana fue la más alta con 9 muestras que representa un 15% de colonias sospechosas de *Salmonella*; y la 3ra semana con 2 muestras fue la de menor número.

En la primera semana de las 60 muestras recolectadas solo a 5 muestras se le realizó la identificación bioquímica, ya que presentaron características presuntuosas de colonias típicas de *Salmonella*. Las parroquias de Letamendi, Olmedo con 2 casos, y la parroquia Sucre con 1, son el origen de las muestras analizadas.

La segunda semana el número de muestras analizadas fue de 3, el origen de las muestras fueron las parroquias de Pascuales con 2 y Pedro Carbo con 1 caso.

La tercera semana fueron 2 los casos observados, las dos muestras pertenecen a la parroquia Tarqui; la cuarta semana el número de casos que se observó fue de 6 muestras, en las siguientes parroquias Letamendi con 2, Febres Cordero, Ximena, Sucre y 9 de Octubre con 1 caso cada uno, y finalmente en la quinta semana se presentó el mayor número de casos fueron 9 las muestras que se analizaron y fueron aisladas, pertenecientes a las parroquias, Tarqui con 3 casos, Sucre, 9 de Octubre con 2, y Urdaneta, Febres Cordero con 1 caso cada uno.

Tabla 3: Número de muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp.* clasificadas por parroquias y semanas.

PARROQUIAS	1ra SEMANA		2da SEMANA		3ra SEMANA		4ta SEMANA		5ta SEMANA		Total	P (+)	%
	Nº Muestra	P (+)	Nº Muestra	P (+)	Nº Muestra	P (+)	Nº Muestra	P (+)	Nº Muestra	P (+)			
Febres Cordero (L-M)	8		8		8		8	1	8	1	40	2	5%
Tarqui (A-C)	8		8		8	2	8		8		40	5	13%
Ximena (N-N)	8		8		8		8	1	8		40	1	3%
García Moreno (K)	4		4		4		4		4		20	0	0%
Letamendi (J)	4		4		4		4		4		20	4	20%
Olmedo (H)	4	2	4		4		4	2	4		20	1	5%
Pascuales (B)	4		4		4		4		4		20	2	10%
Pedro Carbo (G)	4		4		4		4		4		20	1	5%
Roca fuerte (F)	4		4		4		4		4		20	0	0%
Sucre (E)	4	2	4		4		4	1	4	2	20	5	25%
Urdaneta (I)	4		4		4		4		4		20	1	5%
9 de Octubre (D)	4		4		4		4	1	4	2	20	3	15%
	60	5	60	3	60	2	60	6	60	9	300	25	
		8%		5%		3%		10%		15%		8%	

4.2.2 Muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp.*, clasificados por mercados y semanas.

Las muestras con posible presencia de *Salmonella spp.* se presentan en la Tabla 4, donde se puede observar en que mercados y semanas hubo un porcentaje mayor de colonias sospechosas de *Salmonella*.

Se observa según Tabla 4 (ver pág.44) que de las 300 muestras recolectadas, 25 casos que representan un 8% del total fueron analizadas, donde el mercado de Mascote fue el que presentó el mayor número de muestras con colonias sospechosas de *Salmonella* con 5 casos positivos, y que los mercados Central, Jockey, Sta. Teresita y de las Esclusas no presentaron ningún caso.

En lo que se refiere a las semanas la 5ta semana fue la más alta con 9 muestras con posible presencia de *Salmonella*; y la 3ra semana con 2 muestras fue la de menor número.

En la primera semana de las 60 muestras recolectadas solo a 5 muestras se le realizó la identificación bioquímica, ya que presentaron características presuntuosas de colonias típicas de *Salmonella*. Los mercados de Gran Colombia, Mascote con 2 casos, y el mercado Este con 1 caso, son las fuentes de las muestras analizadas.

La segunda semana el número de muestras analizadas fue de 3, el origen de las muestras fueron los mercados de Pascuales con 2 y Norte con 1 caso.

La tercera semana fueron 2 los casos observados, las muestras pertenecen a los mercados de la Florida y Mapasingue Oeste.

La cuarta semana el número de casos que se observó fue de 6 muestras, en las siguientes mercados Gran Colombia con 2, Batallón del Suburbio, Caraguay, Mascote y Oeste con 1 caso cada uno, y por último, en la quinta semana se presentó el mayor número de casos fueron 9 las muestras que se analizaron y fueron aisladas, pertenecientes a los mercados Mascote, Mapasingue Oeste, Oeste con 2 casos, y los mercados Batallón del Suburbio, Florida, Asisco Garay con 1 mercado cada uno.

Tabla 4: Número de muestras con colonias sospechosas de *Salmonella spp.* clasificadas por mercados y semanas.

MERCADOS	1ra SEMANA		2da SEMANA		3ra SEMANA		4ta SEMANA		5ta SEMANA		Total	P(+)	%
	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)			
MAPASINGUE OESTE	4		4		4	1	4		4		20	3	20%
PASCUALES	4		4	2	4		4		4		20	2	30%
FLORIDA	4		4		4	1	4		4	1	20	2	25%
OESTE	4		4		4		4		4		20	3	30%
MASCOTE	4	2	4		4		4	1	4		20	5	40%
CENTRAL	4		4		4		4		4		20	0	20%
NORTE	4		4	1	4		4		4		20	1	20%
ESTE	4	1	4		4		4		4		20	1	5%
ASISCO GARAY	4		4		4		4		4	1	20	1	15%
GRAN COLOMBIA	4	2	4		4		4	2	4		20	4	25%
JOCKEY	4		4		4		4		4		20	0	10%
STA. TERESITA	4		4		4		4		4		20	0	20%
BATALION DEL SUBURBIO	4		4		4		4	1	4	1	20	2	15%
CARAGUAY	4		4		4		4	1	4		20	1	20%
LAS ESCLUSAS	4		4		4		4		4		20	0	15%
	60	5	60	3	60	2	60	6	60	9	300	25	
		8%		5%		3%		10%		15%		8%	

4.3 Muestras identificadas positivas a *Salmonella*.

4.3.1 Muestras positivas a *Salmonella spp.*, clasificado por parroquias y semanas.

En la Tabla 5 (ver pág. 46) podemos observar el resumen de las parroquias que presentaron casos positivos de *Salmonella spp.*, clasificados por 5 semanas, que fue de tiempo de recolección de las muestras, durante este tiempo se realizaron los estudios pertinentes para determinar la presencia de *Salmonella* en los huevos de gallina para consumo humano, los que fueron recolectados en 15 mercados municipales pertenecientes a 12 parroquias de la ciudad de Guayaquil.

De las 300 muestras recolectadas, 6 fueron los casos positivos de *Salmonella* (ver Tabla 5), que representan un 2% del total de muestras analizadas, pertenecientes a las parroquias Febres Cordero, Tarqui con 2 casos, y las parroquias Letamendi y Urdaneta con 1 caso cada uno. Según el análisis estadístico Cuadro 4 (ver ANEXOS), se reveló que existió una diferencia entre ellas ($p \geq 0.05$), aunque se obtuvo una tendencia en la 5ta semana en la que se determinó un porcentaje más alto.

En lo que se refiere a las semanas (ver Tabla 5), la 5ta semana fue la más alta con 3 muestras positivas a *Salmonella*; y la 2da semana no presentó ninguna muestra positiva.

Pero según el análisis de la varianza Cuadro 3 (ver ANEXOS), se determinó que el porcentaje de contaminación fue similar ($p \leq 0.05$) en todas las semanas, con respecto a la presencia de *Salmonella*.



Tabla 5: Número de muestras positivas a la presencia de *Salmonella spp*, clasificado por parroquias y semanas.

PARROQUIAS	1ra SEMANA		2da SEMANA		3ra SEMANA		4ta SEMANA		5ta SEMANA		Total	Positiva	%
	Nº Muestra	Positiva	Nº Muestra	Positiva	Nº Muestra	Positiva	Nº Muestra	Positiva	Nº Muestra	Positiva			
Febres Cordero (L-M)	8	0	8	0	8	0	8	1	8	1	40	2	5%
con Tarqui (A-C)	8	0	8	0	8	1	8	0	8	1	40	2	5%
Ximena (N-N)	8	0	8	0	8	0	8	0	8	0	40	0	0%
García Moreno (K)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
Letamendi (J)	4	1	4	0	4	0	4	0	4	0	20	1	5%
Olmedo (H)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
Pascuales (B)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
Pedro Carbo (G)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
Rocafuerte (F)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
Sucre €	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
Urdaneta (I)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	1	20	1	5%
9 de Octubre (D)	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
	60	1	60	0	60	1	60	1	60	3	300	6	
		2%		0%		2%		2%		5%		2%	

4.3.2 Muestras positivas a *Salmonella spp.*, clasificado por mercados y semanas.

En la Tabla 6 (ver pág. 48) se presenta un resumen de los mercados en los que se pudo identificar casos de *Salmonella spp.*, durante el periodo de 5 semanas, que fue de tiempo de recolección de las muestras.

De las 300 muestras recolectadas, 6 fueron los casos positivos de *Salmonella* (ver Tabla 6), que representan un 2% del total de muestras analizadas, pertenecientes a los mercados de la Florida, Batallón del Suburbio con 2 casos, y los mercados Gran Colombia y Asisco Garay con 1 caso cada uno. Según el análisis estadístico Cuadro 6 (ver ANEXOS), se reveló que existió una diferencia entre los mercados ($p \geq 0.05$),

En el Cuadro 7 (ver ANEXOS), se muestra la comparación entre los 15 mercados municipales que formaron parte de la investigación, y observamos que existieron algunas diferencias significativas entre los siguientes mercados:

El mercado de la Florida con los mercados Mascote, Central, Este, Oeste, Norte, Jockey, Sta. Teresita, Caraguay y Las Esclusas.

El mercado del Batallón del Suburbio con los mercados de la Caraguay y Las Esclusas.

Tabla 6: Número de muestras positivas a la presencia de *Salmonella spp.* clasificado por mercados y semanas.

MERCADOS	1ra SEMANA		2da SEMANA		3ra SEMANA		4ta SEMANA		5ta SEMANA		Total	P(+)	%
	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)	Nº Muestra	P(+)			
MAPASINGUE OESTE	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
PASCUALES	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
FLORIDA	4	0	4	0	4	1	4	0	4	1	20	2	10%
OESTE	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
MASCOTE	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
CENTRAL	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
NORTE	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
ESTE	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
ASISCO GARAY	4	0	4	0	4	0	4	0	4	1	20	1	5%
GRAN COLOMBIA	4	1	4	0	4	0	4	0	4	0	20	1	5%
JOCKEY	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
STA. TERESITA	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
BATALLON DEL SUBURBIO	4	0	4	0	4	0	4	1	4	1	20	2	10%
CARAGUAY	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
LAS ESCLUSAS	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	20	0	0%
	60	1	60	0	60	1	60	1	60	3	300	6	
		2%		0%		2%		2%		5%		2%	

5. DISCUSIÓN

Tradicionalmente, el cultivo de muestras de alimentos ha sido el método utilizado para detectar portadores de *Salmonella*. Sin embargo, los métodos bacteriológicos desarrollados para tal fin tienen carencias de sensibilidad y especificidad, son laboriosos y consumen mucho tiempo. En estos métodos se recomienda un pre-enriquecimiento seguido de un enriquecimiento selectivo para pasar finalmente a un cultivo en un medio sólido selectivo. El uso de un pre-enriquecimiento supone un aumento de la sensibilidad, dado que favorece la viabilidad de aquellas *Salmonellas*, que por diversos motivos, estuviesen dañados o sujetas a condiciones de estrés. (Michael *et al.*, 1999). En nuestro estudio se obvió el pre-enriquecimiento y optó por la siembra de las muestras de alimentos directamente en un medio de enriquecimiento selectivo. Las razones de esta modificación se fundamentan en razones de economía tiempo y medios. Al organizar el muestreo semanalmente, el uso del pre-enriquecimiento alargaba el procesado de cada muestra hasta su identificación final durante al menos 7 días, con lo que, las muestras de los diferentes mercados se hubieran solapado haciendo imposible su análisis rutinario.

Para el cultivo en medio sólido, utilizamos el agar SS (*Salmonella-Shigella*). Este medio ha demostrado su utilidad para recobrar *Salmonella* a partir de muestras de alimentos, así como para reducir la competición de otras enterobacterias (Michael *et al.*, 1999; Mallinson *et al.*, 2000). Sin embargo, la eficacia para recobrar *Salmonella*, sobre el medio de agar va depender de la eficacia de la fase de enriquecimiento selectivo. En nuestro estudio se obtuvo una elevada proporción de colonias morfológicamente sospechosas de ser *Salmonellas*, que posteriormente no pudieron confirmarse (solo 6 aislamientos confirmados de 25 colonias examinadas). Las posibles razones para este alto porcentaje de falsos positivos puede derivar del hecho de que el medio Caldo de Tetrathionato permite el crecimiento de otras enterobacterias con características similares a la *Salmonella*.

El agar SS tiene un sistema indicador basado en la lisina-decarboxilasa y la producción de ácido sulfhídrico, que demuestra ser de una baja especificidad. El principal porcentaje de falsos positivos se debió a cepas de SH₂- de *Echerichia coli*, con lactosa positivas, seguido con menor frecuencia *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter diversus*, *Klesiella* y *Yersinia*. Estos resultados nos indican que en las muestras de alimentos se pueden encontrar una gran variedad de microorganismos capaces de confundirse con *Salmonella* en agar SS.

En cualquier caso, los datos bibliográficos sugieren que el Caldo de Tetrathionato y el Agar SS, están entre los más selectivos, (Nollet *et al.*, 2001; Ziemer *et al.*, 2001) por lo que, en nuestra opinión es necesario realizar nuevas investigaciones que conduzcan a una mejora en los protocolos de aislamiento para muestras de huevos.

Una de las decisiones claves a la hora de diseñar un diseño epidemiológico sobre la prevalencia de *Salmonella* en huevos de gallina para consumo humano, es la elección del momento del muestreo. En el presente trabajo se ha seleccionado la recolección en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil por la comodidad y facilidad de encontrar diferentes tipos de muestras. Sin embargo, se ha demostrado que durante el transporte, manipulación, y el manejo en su almacenamiento, la infección inicial puede variar, por esta razón no se puede asegurar un estimativo de prevalencia a nivel de granja, ya que tendría que hacerse directamente en el campo, pero si a nivel comercial que es el fundamento de nuestro trabajo.

Los datos disponibles de otros países muestran índices de prevalencia muy variables pero que raramente bajan del 15%. En nuestro estudio, encontramos un 2% de resultados positivos a *Salmonella*. Esto sugiere que, aunque es una proporción baja, no es inferior a la de otros países con niveles económicos y sociales parecidos.

Según el Manual de técnicas de análisis Bacteriológico, el porcentaje o número mínimo aceptado de muestras positivas a *Salmonella*, deber ser la ausencia de las mismas, esto sugiere que el nivel encontrado en nuestra investigación, ya es una razón para emprender un programa de control para erradicar este problema

La prevalencia de *Salmonella* existente en las distintas parroquias muestreadas, fue de un 5% en las parroquias Tarqui, Febres Cordero, Letamendi y Urdaneta.

Sin embargo, debe considerarse que solo un muestreo puede no ser suficiente para tener una imagen fidedigna del estatus de la infección por *Salmonella* en una parroquia o mercado concreto. Esto debido a que la dinámica de la infección está sujeta a variaciones durante el tiempo.



6. CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede llegar a las siguientes conclusiones:

1. Se determinó que del total de muestras analizadas se obtuvo un 2% de contaminación por *Salmonella*.
2. Se demuestra que la parroquia Sucre, fue la que presentó el más alto porcentaje de crecimiento bacteriano con un 40% de las muestras positivas.
3. Los resultados de los análisis indican que la parroquia Sucre, fue la que presentó el más alto índice de colonias sospechosas de *Salmonella*, con un 25% de las muestras positivas.
4. Se demuestra que en las parroquias: Febres Cordero, Tarqui, Letamendi y Urdaneta se encontraron muestras positivas a *Salmonella*, con un 5% de prevalencia.

7. RECOMENDACIONES.

Basado en las conclusiones anotadas se recomienda lo siguiente:

1. Es un hecho, la existencia de *Salmonella* en los huevos de gallinas procedentes de los mercados municipales de Guayaquil, por lo que las autoridades pertinentes, encargadas de la Seguridad Alimentaria en el país, deben reforzar las medidas que están implementando en la producción hasta la comercialización avícola, y determinar las deficiencias que existen en la metodología actual, si existiera alguna. Lo que ayudará a que los problemas de Salud Pública asociados con la salmonelosis disminuyan enormemente
2. Los factores externos e internos, que intervienen en el proceso de comercialización del huevo, deben controlarse exhaustivamente, y llevarse a cabo responsablemente, así; como las labores de laboratorio deberán realizarse con la mayor precaución posible, para de esta manera evitar mayores contaminaciones exógenas que pueden afectar los resultados finales.
3. Se debe de trabajar bajo parámetros de control establecidos, que dependerá mucho del cumplimiento de estas pautas en los establecimientos, de esta manera se podrá ofrecer un producto de mayor calidad y reducir los índices de contaminación.

RESUMEN.

Un total de 15 mercados municipales pertenecientes a 12 parroquias de la ciudad de Guayaquil fueron analizados con el fin de averiguar el índice y grado de contaminación a *Salmonella spp.*, y tener un dimensionamiento real de este problema de Salud Pública como es la salmonelosis. Para ello se realizó un estudio investigativo con 300 huevos de gallina para consumo humano, provenientes de los mercados municipales y se recolectaron muestras individuales 20 de cada mercado en un lapso de 5 semanas (Noviembre-Diciembre 2009). Las muestras se sembraron en caldo de Tetrathionato y se realizaron subcultivos a las 24 y 48 horas en agar SS (*Salmonella-Shigella*). De las colonias sospechosas a *Salmonella*, se realizó una identificación bioquímica para determinar con exactitud la existencia o no de la bacteria,

Los resultados bacteriológicos permitieron clasificar las 12 parroquias (21%) con una o más muestras positivas a crecimiento bacteriano, de las cuales un 25% resultaron con falsos positivos a colonias presuntuosas a *Salmonella*, y de este grupo analizado el 2% resulto positivo a *Salmonella*. Identificándose 2 serotipos en total. De ellas, la más frecuente fue la *Salmonella enteritidis* y la otra fue *Salmonella cholerasuis*.

En los mercados municipales el incorrecto almacenamiento y la falta de control sanitario de los huevos de gallina que se expendían, fueron factores de riesgo significativos a tomarse en cuenta, ya que esto influye directamente en la contaminación exógena de los alimentos.

El estudio que se realizó, muestra que, en los huevos de gallina para consumo humano, la infección por *Salmonella* está íntimamente ligada a factores de seguridad elementales.

SUMMARY.

A total of 15 municipal markets belong to 12 the parishes of the Guayaquil city were analyzed in order to verify the index and degree of contamination of *salmonella ssp.*, and have a real scale of this problem on the Public health like the salmonellosis.

For it a study research was realized by 300 hen eggs for human consumption, from the municipal markets and individual samples gathered 20 of each market in a period of 5 weeks (November - December, 2009). Faeces were inoculated in Tetrathionato's broth and subcultures were performed onto SS (Salmonella-Shigella) agar, at 24 and 48 hours of incubation. The suspicious colonies of *Salmonella*, a biochemical identification was done, to determine with accuracy the existence or not of the bacterium.

The bacteriological results allowed to clasify 12 markets (21%) with one or more positive samples of growth bacterial, from which 25 % ensued with false positives to presumptuous colonies to *Salmonella*, and of this analyzed group 2 % I work out to be positive to *Salmonella*. The isolated strains belongeg to 2 serotypes. Of them, the most frequent was the *Salmonella enteritidis* and other one was *Salmonella cholerasuis*.

In the municipal markets the incorrect storage and the lack of sanitary control of the hen eggs is that were expended, were significant risk factors to tale in mind, because this influences directly the exogenous food contamination.

The study that was realized, shows that, the hen eggs is for human consumption, the infection by *Salmonella* is intimately tied to elementary factors of safety.

LITERATURA CITADA.

- Eley A. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Editorial Acribia, Zaragoza (España). 1994; 17:1-17.
- Benhe K, Procesamiento de productos balanceados de origen animal. Departamento de ciencias e industrias de los granos. Universidad Estatal de Kansas, Kansas; USA. 2000.
- Fransechi M, Barrios H. *Salmonella*: separando el mito de la realidad. Industria Avícola. 1996.
- Guido, G. Brote de origen alimentario causado por *Salmonella enteritidis* en la ciudad de Buenos Aires. 2000. [www.medvet.com.ar/trabajos/brote/ htm](http://www.medvet.com.ar/trabajos/brote/htm).
- Linder, E. Toxicología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza España. 1995; p53-65.
- Maciorouski K, Pillai S, Ricke S. Efficacy of a commercial poymerase chain reaction-based assay for detection of *Salmonella* spp in animal feeds. *J Apply Microbiol.*2000; 710-718.
- Popoff M, Le Minor L. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. Institute Pasteur. Dr. Roux. Paris, Francia, 1992.
- Salyers A, Whitt D. *Bacterial Patogénesis: a molecular approach*. ASM press, Washington. Second edition 2002; p 681-695.

- Olsen A, Hammark T. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica*; and the dumpfly, *Hidrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera muscidae) at caged layer houses. *J Food Prot* 2000; 70:958-960. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Ovalle, Y; Reyes, Y. Aislamiento y serotipificación de *Salmonella* spp. a partir de alimentos obtenidos en diferentes zonas de Santafé de Bogotá, D.C. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana, 1999.
- McIlroy G, Thompson J. Control de la *Salmonella* en Europa. *Ind. Avícola*. 1997; 22-25.
- Keller L, Benson Ch, et al. Invasion of chicken reproductive tissues and forming eggs is not unique to *Salmonella* Enteritidis *Avian Dis* 1997; 40:535-539.
- Hueck C. Type III secretion system in bacterial pathogens of animal and plants. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 62:379-433.
- Yamane Y, Leonard J, et al. A case study of *Salmonella enteritidis* origin at three egg-laying farms and its control with an *S. Enteritidis* Bacterin *Avian Dis*. 2000; 45:519-516.
- Amer L, Von Spetch M. Incidencia de *Salmonella* en huevos de gallina y mayonesa artesanal. *Rev Ciencia Tecnol*. 1999; 2:43-49
- Arnedo A, Bellido J. Brotes epidémicos de salmonelosis por consumo de huevos. *Enfermedades infecciosas, Microbiología clínica*. 1998; 16:408-12.
- Rodríguez A, Hernández L. *Salmonella* spp: en huevo comercial de dos empresas que surten el área metropolitana de Monterrey. *NL* 1997.

- Miriago V, Filip R, Comon G, Tzovelek L. Expanded-Spectrum cephalosporin-Resistant *Salmonella* strains in Romania . J Clin Microbiol.2002; 40:4334-36.
- Ekinci B, Coban Y, Birinci A, Durupinar A, Erturc M. In vitro effects of cephotaxime and ceftriazone on *Salmonella typhi* within human monocytederived macrophages. Clin Microbiol Infect. 2002; 8:810-13.
- Gebreyes W, Altier C. Mollecular characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* isolates from swine. J Clin Microbiol. 2002; 40:2813-22.
- Jones F. Controlando la *Salmonella* durante el crecimiento. Ind. Avícola. 1991.
- Beard Ch. Panorama de la *Salmonella* en los Estados Unidos. Ind. Avícola. 1997; 26:50-53
- Macri P, Porter R, Et al. The effects of induced molting on the severity of acute intestinal inflammation caused by *Salmonella enteritidis*. Avian Dis. 1997; 117-24.
- WHO Global Salm-Surv South America Working Group, WHO Global Salm-Surv. A WHO Global Salm-Surv Retrospective Study Examining *Salmonella* Serotypes in South America, 2000: Dominance of *Salmonella* Serotype *enteritidis*. International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, 2002.
- Mumma GA, Griffin PM, Meltzer MI, Braden CR, Tauxe RV. Evidence of Effectiveness of Egg Quality Assurance Programs, Mandatory Refrigeration, and Traceback Investigations To Mitigate Egg- Associated *Salmonella enteritidis* Infections in the United States. International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, 2002

Brock T, Madigan M. Microbiología. Sexta edición. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. Naucalpan De Juarez. Mexico; 1991; p 287-290,

Mills-Robertson, Addy M, Mensah P, Grupper S. Molecular characterization of antibiotic resistance in clinical *Salmonella typhi* isolated in Ghana. FEMS Microbiol Lett. 2002; 215:249-53.

Mallinson. E.T., Miller, R.G., Rezende, C.E., Ferris, K.E., de Graft-Hanson, J., Joseph, S.W., 2000. Improved plating media for the detection of *Salmonella* species with typical and atypical hydrogen sulphide production. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 12:414-417.

Michael, G.B., Cardoso, M., Costa, M., 1999. Comparison of selenite cystine broth, tetrathionate and rappaport-vassiliadis broth for the recovery of *Salmonella* from swine feces. *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella*, Washington D.C., 78-80.

Disponible en: es.wikipedia.org/wiki/Salmonella Consultado: 05 de Junio 2009.

Anexos

CUADRO 3. ANALISIS DE LA VARIANZA (ANAVA) POR PARROQUIAS.

PARROQUIAS												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Número total	40	40	40	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Muestras Incidentes	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0

ANAVA POR PARROQUIAS

Fuente De variación	SC	gl	CM	Fc	Ft
Parroquias	0.18	11	0.09	□□4.69	1.83
Error experimental	5.70	288	0.02		
Total	5.88	299			

Observamos que en la tabla de ANAVA, a nivel general entre parroquias ha existido una variación marcada desde el punto de vista estadístico.

CUADRO 4. PRUEBA DE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA MINIMA (DSM) POR PARROQUIAS.

Comparación	Diferencia	Comparación
p1 - p2	-	0.06
p1 - p3	0.05	0.06
p1 - p4	0.05	0.06
p1 - p5	-	0.06
p1 - p6	0.05	0.06
p1 - p7	0.05	0.06
p1 - p8	0.05	0.06
p1 - p9	0.05	0.06
p1 - p10	0.05	0.06
p1 - p11	-	0.06
p1 - p12	0.05	0.06
p2 - p3	0.05	0.06
p2 - p4	0.05	0.06
p2 - p5	-	0.06
p2 - p6	0.05	0.06
p2 - p7	0.05	0.06
p2 - p8	0.05	0.06
p2 - p9	0.05	0.06
p2 - p10	0.05	0.06
p2 - p11	-	0.06
p2 - p12	0.05	0.06
p3 - p4	-	0.06
p3 - p5	- 0.05	0.06
p3 - p6	-	0.06
p3 - p7	-	0.06
p3 - p8	-	0.06
p3 - p9	-	0.06
p3 - p10	-	0.06
p3 - p11	- 0.05	0.06
p3 - p12	-	0.06
p4 - p5	- 0.05	0.06
p4 - p6	-	0.06
p4 - p7	-	0.06
p4 - p8	-	0.06
p4 - p9	-	0.06
p4 - p10	-	0.06
p4 - p11	- 0.05	0.06

p4 - p12	-	0.06
p5 - p6	0.05	0.06
p5 - p7	0.05	0.06
p5 - p8	0.05	0.06
p5 - p9	0.05	0.06
p5 - p10	0.05	0.06
p5 - p11	-	0.06
p5 - p12	0.05	0.06
p6 - p7	-	0.06
p6 - p8	-	0.06
p6 - p9	-	0.06
p6 - p10	-	0.06
p6 - p11	- 0.05	0.06
p6 - p12	-	0.06
p7 - p8	-	0.06
p7 - p9	-	0.06
p7 - p10	-	0.06
p7 - p11	- 0.05	0.06
p7 - p12	-	0.06
p8 - p9	-	0.06
p8 - p10	-	0.06
p8 - p11	-	0.06
p8 - p12	-	0.06
p9 - p10	-	0.06
p9 - p11	- 0.05	0.06
p9 - p12	-	0.06
p10 - p11	- 0.05	0.06
p10 - p12	-	0.06
p11 - p12	0.05	0.06

CUADRO 5. ANALISIS DE LA VARIANZA (ANAVA) POR SEMANAS.

	SEMANAS				
	1	2	3	4	5
Número total	60	60	60	60	60
Muestras Incidentes	1	0	1	1	3

ANAVA POR SEMANAS

Fuente De variación	SC	gl	CM	Fc	Ft
Semanas	0.08	4	0.04	2.05	2.26
Error experimental	5.80	295	0.02		
Total	5.88	299			

Observamos que en la tabla de ANAVA, a nivel general entre semanas no ha existido una variación marcada desde el punto de vista estadístico.

CUADRO 6. ANALISIS DE LA VARIANZA (ANAVA) POR MERCADOS.

		MERCADOS														
		A	B	C	D	E	G	G	H	I	J	K	L	M	N	N̄
Número total	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Muestras Incidentes	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	0

ANAVA POR MERCADOS

Fuente De variación	SC	GI	CM	Fc	Ft
Mercados	0.38	14	0.19	10.26	1.74
Error experimental	5.50	285	0.02		
Total	5.88	299			

Observamos que en la tabla de ANAVA, a nivel general entre los mercados ha existido una variación desde el punto de vista estadístico.

CUADRO 7. PRUEBA DE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA MINIMA (DSM) POR MERCADOS.

Comparación	Diferencia	Comparación
m1 - m2	-	0.09
m1 - m3	- 0.10	0.09
m1 - m4	-	0.09
m1 - m5	-	0.09
m1 - m6	-	0.09
m1 - m7	-	0.09
m1 - m8	-	0.09
m1 - m9	- 0.05	0.09
m1 - m10	- 0.05	0.09
m1 - m11	-	0.09
m1 - m12	-	0.09
m1 - m13	- 0.10	0.09
m1 - m14	-	0.09
m1 - m15	-	0.09
m2 - m3	- 0.10	0.09
m2 - m4	-	0.09
m2 - m5	-	0.09
m2 - m6	-	0.09
m2 - m7	-	0.09
m2 - m8	-	0.09
m2 - m9	- 0.05	0.09
m2 - m10	- 0.05	0.09
m2 - m11	-	0.09
m2 - m12	-	0.09
m2 - m13	- 0.10	0.09
m2 - m14	-	0.09
m2 - m15	-	0.09
m3 - m4	0.10	0.09
m3 - m5	0.10	0.09
m3 - m6	0.10	0.09
m3 - m7	0.10	0.09
m3 - m8	0.10	0.09
m3 - m9	0.05	0.09
m3 - m10	0.05	0.09
m3 - m11	0.10	0.09
m3 - m12	0.10	0.09



m3 - m13	-	0.09
m3 - m14	0.10	0.09
m3 - m15	0.10	0.09
m4 - m5	-	0.09
m4 - m6	-	0.09
m4 - m7	-	0.09
m4 - m8	-	0.09
m4 - m9	- 0.05	0.09
m4 - m10	- 0.05	0.09
m4 - m11	-	0.09
m4 - m12	-	0.09
m4 - m13	- 0.10	0.09
m4 - m14	-	0.09
m4 - m15	-	0.09
m5 - m6	-	0.09
m5 - m7	-	0.09
m5 - m8	-	0.09
m5 - m9	- 0.05	0.09
m5 - m10	- 0.05	0.09
m5 - m11	-	0.09
m5 - m12	-	0.09
m5 - m13	- 0.10	0.09
m5 - m14	-	0.09
m5 - m15	-	0.09
m6 - m7	-	0.09
m6 - m8	-	0.09
m6 - m9	- 0.05	0.09
m6 - m10	- 0.05	0.09
m6 - m11	-	0.09
m6 - m12	-	0.09
m6 - m13	- 0.10	0.09
m6 - m14	-	0.09
m6 - m15	-	0.09
m7 - m8	-	0.09
m7 - m9	- 0.05	0.09
m7 - m10	- 0.05	0.09
m7 - m11	-	0.09
m7 - m12	-	0.09
m7 - m13	- 0.10	0.09

m7 - m14	-	0.09
m7 - m15	-	0.09
m8 - m9	- 0.05	0.09
m8 - m10	- 0.05	0.09
m8 - m11	-	0.09
m8 - m12	-	0.09
m8 - m13	- 0.10	0.09
m8 - m14	-	0.09
m8 - m15	-	0.09
m9 - m10	-	0.09
m9 - m11	0.05	0.09
m9 - m12	0.05	0.09
m9 - m13	- 0.05	0.09
m9 - m14	0.05	0.09
m9 - m15	0.05	0.09
m10 - m11	0.05	0.09
m10 - m12	0.05	0.09
m10 - m13	- 0.05	0.09
m10 - m14	0.05	0.09
m10 - m15	0.05	0.09
m11 - m12	-	0.09
m11 - m13	- 0.10	0.09
m11 - m14	-	0.09
m11 - m15	-	0.09
m12 - m13	- 0.10	0.09
m12 - m14	-	0.09
m12 - m15	-	0.09
m13 - m14	0.10	0.09
m13 - m15	0.10	0.09
m14 - m15	-	0.09

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES (NOVIEMBRE Y DICIEMBRE 2009)

	1Era SEMANA							2Da SEMANA							3Era SEMANA							4Ta SEMANA							5Ta SEMANA										
	D	L	M	J	V	S		D	L	M	J	V	S		D	L	M	J	V	S		D	L	M	J	V	S		D	L	M	J	V	S					
Recoleccion de muestras																																							
Enriquecimiento																																							
Puesta en Agar																																							
Bioquimica																																							
Analisis de Tubos																																							

TABLA DE CORNING

	CITRATO	MOTILIDAD	UREA	TSI	LISINA	SH2	GAS GLUCOSA	GAS LACTOSA
1	PROTEUS vulgaris	+	+	+	-	+	+	-
2	PROTEUS mirabilis	+	+	+	-	+	+	-
3	PROVIDENCIA alcalifaciens	-	-	+	-	-	+	-
4	PROVIDENCIA stuartii	+	-	-	-	-	-	-
5	PROVIDENCIA rettgeri	+	+	-	-	-	-	-
6	MORGANELLA morganii	-	+	+	-	-	+	-
7	EDWARSIELLA tarda	-	+	+	+	+	+	-
8	SALMONELLA enteritidis	+	-	+	+	+	+	-
9	SALMONELLA enteritidis subespecie	-	-	+	-	-	+	-
10	SALMONELLA typhi	-	+	+	+	+	-	-
11	SALMONELLA choleraesuis	-	-	+	+	+	+	-
12	ARIZONA hinshawii	+	-	+	+	+	+	+
13	CITROBACTER freundii	+	+	+	-	+	+	-
14	CITROBACTER diversus	+	+	+	-	-	+	-
15	CITROBACTER amalonalicus	+	+	+	-	-	+	-
16	SHIGELLA dysenteriae	-	-	-	-	-	-	-
17	SHIGELLA flexneri	-	-	-	-	-	-	-
18	SHIGELLA boydii	-	-	-	-	-	-	-
19	SHIGELLA sonnei	-	-	-	-	-	-	-
20	ESCHERICHIA coli	-	+	+	+	-	+	+
21	YERSINIA enterocolitica	-	+	-	-	-	-	-
22	YERSINIA pseudotuberculosis	-	+	-	-	-	-	-
23	KLESIELLA pneumoniae	+	+	+	+	-	+	+
24	KLESIELLA oxytoca	+	+	+	+	-	+	+
25	KLESIELLA ozoenae	-	-	+	-	-	+	-
26	KLESIELLA rhinosclerosmatis	-	-	-	-	-	-	-
27	ENTEROBACTER cloacae	+	+	+	-	-	+	+
28	ENTEROBACTER sakazaki	+	+	+	-	-	+	+
29	ENTEROBACTER aerogenes	+	+	+	+	-	+	+
30	ENTEROBACTER gergoviae	+	+	+	+	-	+	-
31	ENTEROBACTER agglomerans	+	+	-	-	-	-	-
32	HAFNIA alvei	-	+	+	+	-	+	-
33	SERRATIA liquefaciens	+	+	+	+	-	+	-
34	SERRATIA marcescens	+	+	+	+	-	+	-
35	SERRATIA rubidae	+	+	-	+	-	-	-

BIOQUIMICA BASICA UTILIZADA PARA LA INTERPRETACION E IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS

LA BIOQUIMICA CLASICA UTILIZA 5 AGARES

AGARES	PRESENTACION	COLOR SIN INOCULACION	SIEMBRA	COLOR REACCION +	COLOR REACCION -
CITRATO	INCLINADO	VERDE	ESTRIAR	AZUL	VERDE
MOTILIDAD	PROFUNDO	AMARILLO PAJIZO	POR PICADURA	CRECIMIENTO SUPERFICIE Y DESPLAZADO EN LA PROFUNDIDAD	CRECIMIENTO SOLO EN LA PICADURA
UREA	INCLINADO	AMARILLO PAJIZO	ESTRIAR	FUCSIA	AMARILLO
TSI	INCLINADO	ANARANJADO	PICAR Y ESTRIAR	AMARILLO	ANARANJADO
LISINA	INCLINADO	LILA O MORADO	PICAR Y ESTRIAR	MORADO	SLANT ROJO FONDO AMARILLO

IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE COLONIAS SOSPECHOSAS DE SALMONELLA.

1ra semana

Muestra	CITRATO	MOTILIDAD	UREA	TSI	LISINA	SH2	GLUCOSA	LACTOSA
E1-2	-	+	-	+	+	-	+	+
E1-4	-	+	-	+	+	-	+	+
H1-1	+	+	+	+	-	-	+	-
J1-1	+	+	-	+	+	+	+	-
J1-3	+	-	+	+	-	+	+	-

ESCHERICHIA COLI
 ESCHERICHIA COLI
 CITROBACTER diversus o amalonalicus
SALMONELLA enteritidis
 PROTEUS mirabilis o CITROBACTER freundii

2da semana

Muestra	CITRATO	MOTILIDAD	UREA	TSI	LISINA	SH2	GLUCOSA	LACTOSA
G2-1	+	-	+	+	+	-	+	+
B2-1	+	+	+	+	-	-	+	+
B2-3	-	+	-	+	+	-	+	-

KLESIELLA pneumoniae o KLESIELLA oxytoca
 ENTEROBACTER cloacae
 HAFNIA alvei

3ra semana

Muestra	CITRATO	MOTILIDAD	UREA	TSI	LISINA	SH2	GLUCOSA	LACTOSA
A3-2	+	+	-	-	+	-	-	-
C3-1	-	+	-	+	+	+	+	-

SERRATIA rubidae
 SALMONELLA choleraesuis o EDWARDSIELLA tarda

4ta semana

Muestra	CITRATO	MOTILIDAD	UREA	TSI	LISINA	SH2	GLUCOSA	LACTOSA
D4-2	+	+	+	+	+	-	+	-
E4-1	-	+	-	+	+	-	+	+
J4-1	+	-	+	+	+	-	+	+
J4-3	-	-	-	-	-	-	-	-
M4-4	+	+	-	+	+	+	+	-
N4-2	-	-	+	-	-	-	-	-

ENTEROBACTER gergoviae
 ESCHERICHIA COLI
 KLESIELLA pneumoniae o KLESIELLA oxytoca
 KLESIELLA o SHIGELLA
 SALMONELLA enteritidis
 YERSINIA

5ta semana

Muestra	CITRATO	MOTILIDAD	UREA	TSI	LISINA	SH2	GLUCOSA	LACTOSA
A5-1	+	+	+	+	-	-	+	+
A5-3	+	+	+	+	+	-	+	-
C5-4	+	+	-	+	+	+	+	-
D5-2	+	-	+	+	+	-	+	+
D5-3	-	-	+	-	-	-	-	-
E5-1	+	+	+	+	-	-	+	-
E5-3	+	+	-	+	-	-	+	+
I5-4	+	+	-	+	+	+	+	-
M5-4	+	+	-	+	+	+	+	-

ENTEROBACTER cloacae
 ENTEROBACTER gergoviae
 SALMONELLA enteritidis
 KLESIELLA pneumoniae o KLESIELLA oxytoca
 YERSINIA
 CITROBACTER diversus o amalonalicus
 ENTEROBACTER sakazaki
 SALMONELLA enteritidis
 SALMONELLA enteritidis

IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE LOS SEROTIPOS DE *SALMONELLA* SPP.

SALMONELLA enteritidis



CITRATO (+)



MOTILIDAD (+)



UREA (-)



TSI (+)



LISINA (+)

SALMONELLA choleraesuis



CITRATO (-)



MOTILIDAD (+)



UREA (-)

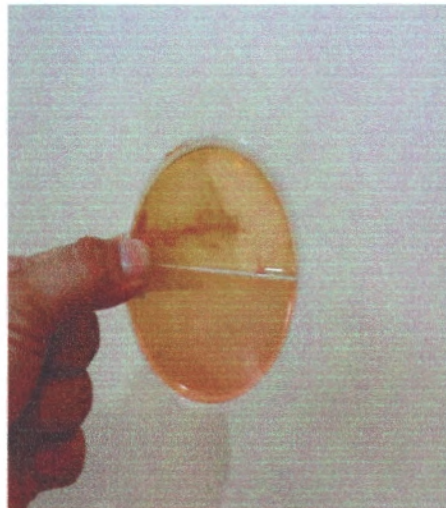


TSI (+)



LISINA (+)

MUESTRAS EN CAJAS BI-PETRI



MATERIALES DE LABORATORIO



INCUBADORA EXTERIOR



INCUBADORA INTERIOR



ESTERILIZADORA EXTERIOR



ESTERILIZADORA INTERIOR

MATERIALES DE LABORATORIO



CAJAS BI-PETRI



CAJAS BI-PETRI



GRADILLAS CON TUBOS DE ENSAYO



GRADILLAS CON MUESTRAS BIOQUIMICAS