



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

MODALIDAD INVESTIGACIÓN

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE ESCHERICHIA COLI EN CARNE MOLIDA
COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS MUNICIPALES:
“JOSÉ MASCOTE”, “OESTE” Y “4 MANZANAS”
DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, 2014”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO
PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO Y FARMACÉUTICO**

AUTOR:

JARA BUÑAY LUIS VICENTE

TUTOR:

DRA. MARÍA AUXILIADORA ALARCÓN PERASSO Mg.

GUAYAQUIL, ECUADOR

2015

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Acta de registro de la Sustentación Final

El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación del Sr. **JARA BUÑAY LUIS VICENTE**, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

Q.F. MARIANITA RENDON MARISCAL M.Sc.
SUBDECANO-PRESIDENTE DEL TRIBUNAL.

DRA. CELESTE CARRILLO TOMALÁ.
DOCENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DR. RAÚL DÍAZ TORRES P.Hd.
DOCENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL

ING. NANCY VVAR CÁSERES.
SECRETARIA ENCARGADA



CERTIFICADO DEL TUTOR

En calidad de tutor /a del trabajo de titulación, Certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de Proyecto de Investigación, cuyo título es: **“DETERMINACIÓN DE ESCHERICHIA COLI EN CARNE MOLIDA COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS MUNICIPALES: “JOSÉ MASCOTE”, “OESTE” Y “4 MANZANAS” DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, 2014”**, presentado por el Sr. **JARA BUÑAY LUIS VICENTE**, con cédula de ciudadanía N° 0926144940, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND. Lo certifico.



Q.F. María Auxiliadora Alarcón Perasso Mg.

TUTOR DE TESIS

Guayaquil, 08 de Diciembre del 2014

CERTIFICADO DEL TUTOR

INFORME DE ANTIPLAGIO DEL PROGRAMA URKUND.

Document: TRABAJO DE TITULACION LUIS JARA 2014.docx (D12335970)

Submitted: 2014-11-25 10:29 (-05:00)

Submitted by: Jorge Campoverde (campoverde@ug.edu.ec)

Receiver: jorge.campoverde.mori.ug@analysis.orkund.com

Message: NUEVO ANALISIS LUIS JARA [Show full message](#)

5% of this approx. 50 pages long document consists of text present in 2 sources.

Rank	Path/Filename
1	proyecto de titulacion luis jara.docx
2	ultima correccion.docx
3	http://www.elika.net/datos/pdf/agrupados/Documento04/3/Ecoll.pdf
Alternative sources	
1	emilar_micr.docx

91% Active

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS UNIDAD DE TITULACION PROYECTO DE INVESTIGACION TEMA: "DETERMINACION DE ESCHERICHIA COLI EN CARNE MOLIDA COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS MUNICIPALES: "JOSE MASCOTE", "OESTE" Y "4 MANZANAS" DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, 2014" TRABAJO DE TITULACION PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL TITULO DE QUIMICO Y FARMACEUTICO AUTOR: JARA BUÑAY LUIS VICENTE TUTOR: DRA. MARIA AUXILIADORA

ALARCON PERASSO Mg. GUAYAQUIL, OCTUBRE 2014

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL Acta de registro de la Sustentación Oral El tribunal de sustentación previo a la obtención del Título de Químico y Farmacéutico otorga al presente trabajo de Titulación las siguientes calificaciones: Memoria Científica () Defensa Oral () Total ()

Decano Subdecana Q.F. Héctor Núñez A. MSc. Q.F. Mariana Rendón MSc. Profesor Delegado Secretaría General Ing. Nancy Vivar C.

CERTIFICADO DEL TUTOR En calidad de tutor/a del trabajo de titulación, Certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de Proyecto de Investigación, cuyo título es: "DETERMINACION DE ESCHERICHIA COLI EN CARNE MOLIDA COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS MUNICIPALES: "JOSE MASCOTE", "OESTE" Y "4 MANZANAS" DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, 2014", presentado por el Sr. Jara Buñay Luis Vicente, con cédula de ciudadanía N° 0926144940, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico. Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Anti-plagio del programa URKUND. Lo certifico: Q.F. María Auxiliadora Alarcón Perasso Mg. TUTOR DE TESIS Guayaquil, 02 de Octubre del 2014 CERTIFICADO DEL TUTOR INFORME DE ANTI-PLAGIO DEL PROGRAMA URKUND. Q.F. María Auxiliadora Alarcón TUTOR DE

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS CARRERA EN QUIMICA Y FARMACIA TEMA: DETERMINACION DE Escherichia coli EN CARNE MOLIDA COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS MUNICIPALES: JOSE MASCOTE, OESTE Y 4 MANZANAS DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, 2014 TRABAJO DE TITULACION PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL TITULO DE QUIMICO Y FARMACEUTICO AUTOR: JARA BUÑAY LUIS VICENTE TUTOR: DRA. MARIA AUXILIADORA

ALARCON GUAYAQUIL,

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL Acta de registro de la Sustentación Oral El tribunal de sustentación previo a la obtención del Título de Químico y Farmacéutico otorga al presente trabajo de Titulación las siguientes calificaciones: Memoria Científica () Defensa Oral () Total ()

Decano Subdecana Q.F. Héctor Núñez A. MSc. Q.F. Mariana Rendón MSc. Profesor Delegado Secretaría General Ing. Nancy Vivar C. CERTIFICADO DEL TUTOR En calidad de tutor/a del trabajo de titulación, Certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de Proyecto de Investigación, cuyo título es: "Determinación de Escherichia coli en carne molida comercializada en los mercados: José Mascote, Oeste y 4 Manzanas de la Ciudad de Guayaquil, 2014", presentado por el Sr. Jara Buñay Luis Vicente, con cédula de ciudadanía N° 0926144940, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico. Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Anti-plagio del programa URKUND. Lo certifico: Q.F. María Auxiliadora Alarcón TUTOR DE TESIS Guayaquil, 02 de Octubre del 2014 CERTIFICADO DEL TUTOR INFORME DE ANTI-PLAGIO DEL PROGRAMA URKUND. Q.F. María Auxiliadora Alarcón TUTOR DE

1 Jornadas Científicas...docx

Mostrar todas las descargas...

Luis Vicente Jara → 5%

Q.F. María Auxiliadora Alarcón Perasso Mg.

TUTOR DE TESIS

Guayaquil, 08 de Diciembre del 2014

CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.

Yo, **JARA BUÑAY LUIS VICENTE**, autor de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también que todo el material escrito me pertenece, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en la universidad nacional, ni en una extranjera.

Guayaquil, 08 de Diciembre del 2014.



Jara Buñay Luis Vicente

C.I. 0926144940

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el maravilloso mundo del saber”.

Albert Einstein

DEDICATORIA

Este gran avance en mi vida se lo dedico:

En mi primer lugar a Dios Todopoderoso por regalarme la vida y por permitirme lograr este propósito.

A mi Padre, Quien aquí en la Tierra me supo enseñar el valor del trabajo y sacrificio, desde el Cielo me ha sabido guiar y proteger.

A mi Madre, persona imprescindible, con su gran apoyo y sacrificio, he alcanzado mis propósitos.

A mi Primo Cristhian; a Quien considero mi hermano y amigo incondicional siempre presente e incentivándome a seguir adelante.

A mi Tía Narciza, que desde muy lejos me ha enseñado la importancia de luchar por mis objetivos.

A mis hermanas y sobrinos, la razón de mi esfuerzo.

A mi Familia y Amigos, por creer en mí.

AGRADECIMIENTO

A Dios Todopoderoso, por Darme la Vida, una Gran Familia y el privilegio de culminar mis estudios. Para El, mi gratitud Infinita.

A mis Padres por su apoyo y sacrificio.

A mi Familia.

A mi Tutora: Dra. María Auxiliadora Alarcón, por ser una excelente guía para el desarrollo de este trabajo, por su respaldo, orientación y dedicación.

A Quienes Conforman La Universidad de Guayaquil por permitirme formar parte de su enseñanza.

A la Facultad de Ciencias Químicas, por su Formación Académica, Moral, y por hacer posible la ejecución de mi proyecto.

ÍNDICE

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL	II
CERTIFICADO DEL TUTOR	III
INFORME DE ANTIPLAGIO DEL PROGRAMA URKUND.	IV
CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.	V
DEDICATORIA	VII
AGRADECIMIENTO	VIII
ÍNDICE	IX
ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS	XI
ÍNDICE DE ANEXOS	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	2
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	2
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
1.3. DELIMITACIÓN DEL TEMA	4
1.4. OBJETIVOS	5
1.4.1. Objetivo General:	5
1.4.2. Objetivos Específicos:	5
1.5. JUSTIFICACIÓN.	6
1.6. VARIABLES	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	8
2.1. ANTECEDENTES	8
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA CIENTÍFICA.	9
2.2.1. Escherichia coli, un microorganismo de importancia.	9
2.2.2. Mecanismos de patogenicidad de las bacterias	11
2.2.3. Modo en que los patógenos bacterianos dañan las células huésped	12
2.2.4. Endotoxinas	14
2.2.5. Enterobacteriaceae.	15
2.2.6. Morfología y características generales.	16
2.2.7. Escherichia coli.	17
2.3. GLOSARIO DE TÉRMINOS	38

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS -----	39
3.1. Lugar de la investigación-----	39
3.2. Período de la investigación-----	39
3.3. Recursos empleados: -----	39
3.3.1. Talento Humano. -----	39
3.3.2. Recursos Físicos. -----	40
3.4. Universo.-----	40
3.5. Muestra-----	40
3.6. Tipo de investigación-----	40
3.7. Diseño de investigación -----	40
3.8. Metodología.-----	41
3.8.1. Toma de Muestras -----	42
3.8.2. Transporte y conservación de las Muestras -----	42
3.8.3. Preparación del material y medios de Cultivo -----	43
3.8.4. Preparación de la Muestra -----	43
3.8.5. Inoculación de la Muestra-----	43
3.8.6. Incubación-----	44
3.8.7. Lectura y Reporte de Resultados -----	44
3.8.8. Aplicación de una cepa ATCC -----	45
CAPITULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS -----	47
4.1. Análisis de las Fichas de Inspección Sanitaria.-----	49
4.2. Análisis de los resultados del Estudio Microbiológico. -----	56
CAPITULO V -----	60
5.1. CONCLUSIONES -----	60
5.2. RECOMENDACIONES -----	61
CAPITULO VI: PROPUESTA -----	62
6.1. INTRODUCCIÓN: -----	62
6.2. JUSTIFICACIÓN: -----	63
6.3. OBJETIVOS: -----	63
6.4. METAS:-----	64
6.5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES: -----	64
6.6. EVALUACIÓN Y AUTOEVALUACIÓN-----	64
6.7. BENEFICIARIOS: -----	65
CAPITULO VII -----	66
7.1. BIBLIOGRAFIA-----	66
7.2. ANEXOS-----	68

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

<i>TABLA 1 Condiciones de Supervivencia de Escherichia coli</i>	19
<i>TABLA 2 Ficha de inspección Sanitaria</i>	46
<i>TABLA 3 Frecuencia de Muestreo</i>	48
<i>TABLA 4 Limpieza del local de expendio</i>	49
<i>TABLA 5 Limpieza del Equipo (Molino de Carne)</i>	50
<i>TABLA 6 Uso de Mandil limpio</i>	51
<i>TABLA 7 Uso de cofia o gorro</i>	52
<i>TABLA 8 Limpieza de manos y uñas del personal</i>	53
<i>TABLA 9 Conservación del producto (Refrigeración)</i>	54
<i>TABLA 10 Ausencia de plagas</i>	55
<i>TABLA 11 Estudio Microbiológico; Mercado José Mascote</i>	56
<i>TABLA 12 Estudio Microbiológico; Mercado “Oeste”</i>	57
<i>TABLA 13 Estudio Microbiológico; Mercado “4 Manzanas”</i>	57
<i>TABLA 14 Frecuencia de las muestras de los diferentes mercados según criterio de aceptación o rechazo conforme los requisitos microbiológicos establecidos en la norma INEN 1346:2010 para E. coli</i>	59

ÍNDICE DE ANEXOS

<i>ANEXO 1 Ficha Técnica de inspección; Mercado “José Mascote”</i>	68
<i>ANEXO 2 Ficha Técnica de inspección; Mercado “4 Manzanas”</i>	69
<i>ANEXO 3 Ficha Técnica de inspección; Mercado “Oeste”</i>	70
<i>ANEXO 4 Norma INEN 1346:2010.</i>	71
<i>ANEXO 5 Método Oficial AOAC 998.08.</i>	75
<i>ANEXO 6 Certificado de Análisis del Petrifilm 3M.</i>	77
<i>ANEXO 7 Carta de Entrega de Cepas Bacterianas Control.</i>	78
<i>ANEXO 8 Registro diario de Temperatura de Incubación.</i>	79
FOTOGRAFÍAS	
<i>FOTOGRAFÍA 1 Medio de dilución usado; Agua de peptona tamponada.</i>	80
<i>FOTOGRAFÍA 2 Balanza Analítica, pesado de la porción de muestra para el análisis.</i>	80
<i>FOTOGRAFÍA 3 Inoculación en la placa petrifilm.</i>	81
<i>FOTOGRAFÍA 4 Dilución de la muestra con agua de peptona en fundas estériles.</i>	81
<i>FOTOGRAFÍA 5 Incubadora Microbiológica.</i>	82
<i>FOTOGRAFÍA 6 Resultados, Placas 1 a la 4.</i>	82
<i>FOTOGRAFÍA 7 Resultados, Placas 5 a la 10.</i>	83
<i>FOTOGRAFÍA 8 Resultados, Placas 11 a la 13.</i>	83
<i>FOTOGRAFÍA 9 Resultados, Placas 14 a la 26.</i>	84
<i>FOTOGRAFÍA 10 Resultados, Placas 27 a la 36.</i>	84
<i>FOTOGRAFÍA 11 Colonias de E. coli, contaje = 28 UFC.</i>	85
<i>FOTOGRAFÍA 12 Cepa E.coli ATCC Inoculada en placa Petrifilm.</i>	85
<i>FOTOGRAFÍA 13 Placa vista bajo la luz del contador de colonias.</i>	86
<i>FOTOGRAFÍA 14 Transporte de muestras.</i>	86
<i>FOTOGRAFÍA 15 Laboratorio de Microbiología Facultad de Ciencias Químicas.</i>	87
<i>FOTOGRAFÍA 16 Mercado Municipal “José Mascote”.</i>	87
<i>FOTOGRAFÍA 17 Instalaciones del Mercado Municipal “José Mascote”.</i>	88
<i>FOTOGRAFÍA 18 Producto Exhibido al aire libre, Mercado “José Mascote”</i>	88
<i>FOTOGRAFÍA 19 Mercado Municipal “Oeste”</i>	89
<i>FOTOGRAFÍA 20 Producto exhibido en refrigeración, local del Mercado “Oeste”</i>	89
<i>FOTOGRAFÍA 21 Proceso de molido de la carne, Mercado “Oeste”</i>	90
<i>FOTOGRAFÍA 22 Mercado Municipal “4 Manzanas”.</i>	90
<i>FOTOGRAFÍA 23 Instalaciones dentro del Mercado Municipal “4 Manzanas”</i>	91
<i>FOTOGRAFÍA 24 Productos cárnicos exhibidos al aire libre, Mercado “4 Manzanas”</i>	91
<i>FOTOGRAFÍA 25 Máquina para el molido de la carne, Mercado “4 Manzanas”</i>	92

RESUMEN

Los numerosos casos de intoxicaciones alimentarias, por la ingesta de productos contaminados por microorganismos patógenos, son muy frecuentes en nuestro país. Los mercados Municipales de Guayaquil presentan una gran demanda por los productos cárnicos, observando condiciones y procedimientos inadecuados durante su elaboración, expendio y conservación, lo que hace que el producto sea susceptible a la contaminación microbiana, ejemplo de ello la proliferación de *Escherichia coli*.

Esta investigación evaluó la higiene de los locales de expendio de carne molida en los diferentes mercados en estudio, y determinó la presencia del microorganismo *Escherichia coli* como indicador contaminación. Para lo cual se realizó el análisis microbiológico de 36 muestras de carne molida tomadas en tres Mercados Municipales, mediante el Método Petrifilm^{3M} 3M, para la determinación de coliformes totales y *E. coli*. Evidenciando la presencia de *E. coli* en la totalidad de las muestras, en el 94.4%, con valores fuera de los límites permitidos establecidos en la Norma INEN 1346:2010, y solo 5.6% dentro del límite aceptable.

Para eliminar esta fuente de ETAS (Enfermedades de Transmisión Alimentaria) se recomienda que el Municipio de Guayaquil, implemente las buenas prácticas de manejo e higiene, en los mercados, mediante la capacitación del personal y el mejoramiento de las instalaciones.

Palabras clave: intoxicaciones alimentarias, *Escherichia coli*, coliformes,

ABSTRACT

The numerous cases of food poisoning by eating contaminated by pathogenic microorganisms products, are very common in our country. Guayaquil municipal markets have a high demand for meat products, observing conditions and inadequate procedures during manufacture, sale and maintenance, which makes the product susceptible to microbial contamination, example is the proliferation of *Escherichia coli*.

This research was evaluated the hygiene of premises sale of ground beef in different markets under study, and determined the presence of *Escherichia coli* as an indicator microorganism contamination. For which the microbiological analysis of 36 samples of ground beef taken at three Municipal Markets, 3M Petrifilm3M by Method for determination of total coliforms and *E. coli* was performed. Demonstrating the presence of *E. coli* in all the samples, 94.4 %, with values outside the permitted limits in the Standard INEN 1346: 2010, and only 5.6 % within the acceptable limit.

To eliminate this source of ETAS (Foodborne Diseases) recommends that the Municipality of Guayaquil, implement good management practices and hygiene markets through training of staff and improvement of facilities.

Keywords: food poisoning, *Escherichia coli*, coliforms.

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es un microorganismo que habita normalmente en el sistema digestivo de animales y seres humanos, aunque por lo general estas son inofensivas, existen algunas especies patógenas que provocan enfermedades, estas pueden propagarse por medio del agua o por medio de alimentos contaminados, como leche cruda o productos cárnicos mal cocidos.

Estas bacterias habitan en animales sanos, para quienes, aún las especies más patógenas para el hombre no representan ningún riesgo. Sin embargo estos organismos pueden transmitirse por medio de las heces de los animales, al momento del faenado, producto de una mala manipulación (heces a la carne), o por contacto con aguas de riego de cultivos, cuyos productos contaminados son consumidos por el hombre.

Este microorganismo puede estar presente en muchos alimentos, sin embargo la forma más común de transmisión al ser humano se da a través de las carnes que pueden contenerlo y no son cocidas adecuadamente. El producto más implicado como vehículo de este microorganismo es la carne picada o molida, debido a que en este caso la presencia de *Escherichia coli* depende de un mayor número de factores que favorecen su existencia.

Con este trabajo se evaluó la calidad microbiológica de la carne molida expandida en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil, usando como indicador al microorganismo *Escherichia coli*. Para el desarrollo de este proyecto se realizó una inspección general de los lugares de expendio con el fin de evaluar varios indicadores los cuales, al finalizar el análisis, se complementaron para formular una conclusión clara de la higiene, manipulación y conservación de la carne molida.

CAPÍTULO I

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La observación del problema se realiza en tres mercados municipales de la Ciudad de Guayaquil con un gran volumen de venta, los cuales comprenden José Mascote, Oeste, y 4 manzanas, todos ellos poseen algo en común al momento de la ejecución de la investigación de campo, se ha determinado que existe una higiene deficiente en la elaboración y expendio respecto a un producto en particular el cual es la carne molida de res.

A simple vista la carne molida de res no posee el manejo adecuado por parte del comerciante de carne, así como la falta de aplicación de métodos que garanticen un producto inocuo, como son: la refrigeración del producto, la limpieza y desinfección de equipos, la higiene del personal y el uso de barreras. Lo que abarca como consecuencia la proliferación de microorganismos como es el caso de *Escherichia coli*.

Como fundamentación científica de la observación y la problemática de la investigación se establece que al no mantener una refrigeración y manipulación adecuada del producto cárnico, por parte del personal que la elabora y la expende sin el uso de barreras como mandil, guantes, mascarilla y cofia, existe una alta probabilidad que *Escherichia coli* prolifere en la carne molida.

La ingesta de dicho producto alterado por la presencia de *Escherichia coli* puede producir en el consumidor una gastroenteritis cuya gravedad dependerá del tipo de cepa de E. coli y de factores dependientes del consumidor: edad y estado inmunológico, puede producir diarrea frecuente (más de 10 evacuaciones diarias), destrucción de la mucosidad intestinal en casos graves con hemorragia, debido a la adhesión y producción de enterotoxinas.

Las manifestaciones clínicas inician con distensión abdominal, y posteriormente diarrea acuosa, mucosa o no mucosa, en casos severos sanguinolenta, con presencia de vómito y fiebre, en ciertos cuadros clínicos no se presenta esta sintomatología.

El verdadero problema empieza cuando una vez ingerido el organismo se localiza en el tracto digestivo, se adhiere, coloniza y prolifera en la superficie del intestino delgado proximal, para posteriormente producir la enfermedad mediante dos mecanismos patogénicos: adhesión y producción de enterotoxinas. Como consecuencia de una pésima inocuidad alimentaria en el manejo y venta del producto, puesto que debe de mantenerse la carne y su producto elaborado, a una temperatura de refrigeración no mayor a 10°C para evitar el desarrollo de *Escherichia Coli*.

La investigación se centra en determinar por medio de pruebas de laboratorio y la aplicación del método Petrifilm la carga bacteriana de E. coli presente en la carne molida, método validado por la AOAC Internacional, cabe indicar que, por datos del ministerio de salud existe un aumento de pacientes con cuadros clínicos de gastroenteritis de origen infecciosa, producto de las Enfermedades de Transmisión Alimentarias (ETAS).

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo incide el manejo inadecuado de la carne molida en la presencia de *Escherichia coli*, comercializada en los Mercados Municipales “José Mascote”, “Oeste” y “4 manzanas”, de la Ciudad de Guayaquil periodo 2014?

1.3. DELIMITACIÓN DEL TEMA

Tema: “Determinación de *Escherichia coli* en Carne Molida Comercializada en los Mercados Municipales: “José Mascote”, “Oeste” y “4 Manzanas” de la Ciudad de Guayaquil, 2014”.

Campo: Salud Pública.

Área: Inocuidad Alimentaria.

Aspecto: Social.

Problema: Presencia de *Escherichia coli* en Carne Molida.

Delimitación Temporal: Junio-Octubre 2014

Delimitación Espacial: Mercados Municipales “José Mascote”, “Oeste” y “4 Manzanas” de La Ciudad de Guayaquil.

Población: Locales que expenden Carne Molida.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General:

Determinar la presencia de *Escherichia coli* en muestras de carne molida comercializada en los Mercados Municipales “José Mascote”, “Oeste” y “4 manzanas” de la Ciudad de Guayaquil

1.4.2. Objetivos Específicos:

1. Evaluar las condiciones de higiene, manipulación y conservación, de la carne molida, en los diferentes locales de expendio en estudio, y su incidencia en la presencia de *E. coli*.
2. Cuantificar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) de *E. coli* por gramo de muestra analizada de los diferentes mercados en estudio.
3. Comparar los resultados obtenidos del análisis microbiológico con los requisitos establecidos para *E. coli* en la norma INEN 1346: 2010, para determinar la inocuidad del alimento frente a ese parámetro.

1.5. JUSTIFICACIÓN.

Según la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2013, (pág. 126) “En nuestro país los casos de intoxicaciones alimentarias son notificadas diariamente. La tasa de letalidad es muy variada dependiendo del agente que ocasiona la intoxicación. Para la vigilancia epidemiológica es fundamental el monitoreo de la ocurrencia de los casos, de esta manera se podrá detectar el origen de brotes y epidemias, prevenir la propagación de la enfermedad, controlar el brote y dar respuesta rápida a los afectados.”

De acuerdo a la cita del reporte del 2013 de la Dirección Nacional de Epidemiología, en el Ecuador las intoxicaciones alimentarias son comunes y en aumento, lo que da como fuente de validación el propósito de la investigación que implicó determinar la presencia de *Escherichia coli* en carne molida, como consecuencia de un manejo inadecuado del producto comercializado en los Mercados Municipales: “José Mascote”, “Oeste” y “4 manzanas” de la Ciudad de Guayaquil.

La utilidad práctica de la aplicación del método de recuento de E. coli en placas Petrifilm 3M, estuvo encaminado a determinar la presencia de E. coli por medio de un procedimiento de análisis validado por la AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), lo que constituye una fuente útil para el lector de esta investigación, siendo el caso de un procedimiento o problemática similar.

De una gran cantidad de productos cárnicos en el mercado, para esta investigación, se seleccionó un único producto en particular: la carne molida, la elección se fundamentó principalmente en la composición de dicho producto, el cual presenta un alto contenido de agua, proteínas y grasa, estos nutrientes constituyen un medio de cultivo completo para muchos microorganismos, la carne molida es más susceptible de contaminación bacteriana que la carne como tal, esto radica principalmente en que durante el proceso de picado o

molido de la carne se liberan líquidos contenidos en ella, medio que facilita el desplazamiento de bacterias, y la exposición de una mayor superficie en la que estas pueden colonizar. De allí la importancia, la cual se demostró mediante análisis microbiológico de la carne molida, la presencia de *Escherichia coli*, como un indicador ideal de lo antes expuesto.

El desarrollo de la investigación posee como beneficiario directo al consumidor final, que por medio de la ejecución de la propuesta establecida en este trabajo, gozará de un producto inocuo, el cual no represente ningún riesgo para su salud. Además que, con las condiciones de limpieza que el cliente observe a futuro, se sentirá más seguro del producto que adquiere, cambiando significativamente la imagen y concepto de los locales de venta como de sus expendedores. Al realizar este tipo de intervención social con los vendedores de productos cárnicos, se busca frenar el deterioro y el incumplimiento de las normas de calidad que aseguran la inocuidad alimentaria en el sector de los mercados antes mencionados, contribuyendo a un cambio de conciencia y ejecutando un aprendizaje significativo en el manejo adecuado de alimentos, dando así origen a una cultura de responsabilidad social a los vendedores de carne frente al consumidor.

1.6. VARIABLES

Variable independiente: Lugares de expendio de productos cárnicos.

Variable dependiente: Presencia de E. coli en carne molida.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO.

2.1. ANTECEDENTES

La investigación realizada por (GARCIA, 2010, pág. 3) en su tesis con el tema de “Determinación de *Escherichia coli* en presas de pollo seleccionadas (pechugas) que se comercializan en la Ciudad de Guayaquil”, la realizó en la Ciudad de Guayaquil observando la siguiente problemática “En la Ciudad de Guayaquil se realizó un muestreo de pechugas de pollo en los expendios con el fin de determinar la presencia de *Escherichia coli*. Las pruebas fueron realizadas en su totalidad en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Agraria del Ecuador; se utilizó el método de Petrifilm™”. Cuyos resultados fueron “De un total de 150 muestras analizadas se detectó que 21 muestras estaban contaminadas con *Escherichia coli*, es decir, del 100 % de las muestras recolectadas solo el 14% de estas fueron positivas a la presencia de *Escherichia coli*”, del cual desprende una concentración de incidencias en. “...los mercados municipales con el 26%, avícolas con 10%, supermercados 6%. De mayor contaminación la presentación al granel con 22,22%, seguido por la presentación de fundas plásticas con 13,15% y de 4,08% en los empaques termo sellados”, validando la importancia de este estudio para el presente proyecto así como los resultados que dirigen la mayor incidencia de “Coliformes” en las Carnes de pollo en Mercados Municipales al igual que esta investigación logró demostrar.

La investigación realizada por (Ramírez, 2009, pág. 175) a embutidos con el tema de: “Estudio Higiénico Sanitario de los Embutidos tipo “salchichas” que se expenden en los Mercados Populares de Guayaquil” llegó a “...evaluar la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo y potencialmente peligrosos en los establecimientos que preparan y sirven

dichos productos en nuestra ciudad.”, con una técnica de análisis “Petrifilm”, concluyendo: “...un alto porcentaje de carga microbiana en el grado de calidad rechazable para *Staphylococcus aureus* y Coliformes totales. Dichos recuentos elevados seguramente estuvieron relacionados con la falta de higiene y procedimientos que aseguran la inocuidad de los alimentos, lo cual constituyó un argumento que respaldó el desarrollo de este Proyecto.

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA CIENTÍFICA.

2.2.1. *Escherichia coli*, un microorganismo de importancia.

Escherichia coli fue descubierta en el año 1885, aislada por primera vez en heces de niños por el Pediatra de origen Alemán Theodore Von Escherich, quien denominó al microorganismo como: *Bacterium coli commune*. Años después Castellani y Chalmers en honor a su descubridor la nombraron: *Escherichia coli*, nombre con el que se conoce actualmente a esta bacteria. La primera cepa patógena se denominó E. coli enteropatogénica clásica (EPEC Clásica). Hoy en día el grupo de serotipos patógenos causantes de enteritis es más amplio. (Faleiro Naves, 2010).

El primer brote epidémico de E. coli, de gran importancia tuvo lugar en los Estados Unidos, en 1993, provocado por el consumo de hamburguesas contaminadas en la cadena de comidas rápidas “Jack in the Box”. Brote que dejó a 700 personas enfermas y 4 muertos. Este y otros hechos ocurridos dieron origen a cambios en la legislación alimentaria. (Silvia Mechane, 2003).

La fabricación centralizada de comida escolar dio lugar a que en Japón en el año de 1996 se produjera el brote más importante registrado alrededor de 10.000 afectados, en el cual el vehículo fue germen de rábano. Recientemente

E. coli se encontró implicada en un brote epidemiológico en Alemania con alrededor de 1.700 contagios y 17 personas muertas. (Cristina García, 2004)

E. coli es responsable de alrededor de 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775.000 muertes al año, afectando principalmente a la población infantil en países en desarrollo, así también es el patógeno oportunista más implicado en infecciones urinarias y casos de septicemias en seres humanos. En algunos países, como en Estados Unidos, estudios señalan una prevalencia de *Escherichia coli* del 2 al 4 % en carnes picadas o molidas. (Blanco et al., 2002)

En el caso de cepas patógenas como *E. coli* O157:H7, una dosis muy baja de esta bacteria presente en alimentos de consumo humano es suficiente para desencadenar una enfermedad, es por ello que se han creado normas más estrictas que determinan tolerancia cero para este patógeno, como lo indica la Norma Ecuatoriana INEN 1338:2010 Segunda Revisión para Productos Cárnicos.

2.2.2. Mecanismos de patogenicidad de las bacterias

(Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 454) Casi todos los patógenos cuentan con algún medio para fijarse a los tejidos huésped en la puerta de entrada. En la mayoría de los patógenos esta fijación, denominada adherencia (o adhesión), es un paso necesario para la patogenicidad. (Es obvio que los microorganismos no patógenos también poseen estructuras de fijación.) La fijación entre el patógeno y el huésped se logra mediante moléculas de superficie del patógeno denominadas adhesinas o ligandos que se fijan específicamente a receptores de superficie complementarios en las células de ciertos tejidos del huésped. Las adhesinas pueden estar ubicadas en el glucocálix del microorganismo o en otras estructuras de la superficie microbiana, como por ejemplo: los Pili, las fimbrias y los flagelos.

(Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 455) “Las cepas enteropatógenas de E. coli (las responsables de enfermedades gastrointestinales) tienen adhesinas en las fimbrias que solo se adhieren a tipos específicos de células en ciertas regiones del intestino delgado. Después de la adhesión Shigella y E. coli inducen endocitosis como vehículo para ingresar en las células huésped y luego multiplicarse en su interior”.

Aunque algunos patógenos pueden causar daño en la superficie de los tejidos, la mayoría de ellos deben perforarlos para causar enfermedad. Aquí consideraremos varios factores que contribuyen a la capacidad de las bacterias de invadir al huésped (Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 456) Las paredes celulares de ciertas bacterias contienen sustancias químicas que contribuyen a la virulencia

2.2.3. Modo en que los patógenos bacterianos dañan las células huésped

Cuando un microorganismo invade un tejido corporal las primeras células que enfrenta son los fagocitos del huésped. Si los fagocitos logran destruir al invasor no habrá daño ulterior del huésped pero si el patógeno supera las defensas del huésped puede dañar las células de cuatro formas básicas según (Tortora, Funke, & Case, 2007): 1) por usar los nutrientes del huésped, 2) por causar daño directo en la cercanía inmediata de la invasión, 3) por producir toxinas, transportadas por la sangre y la linfa, que dañan sitios muy alejados del sitio original de la invasión y 4) por inducir reacciones de hipersensibilidad.

Una vez que los agentes perniciosos se establecen a las células huésped pueden causar daño directo porque utilizan a la célula huésped para obtener sustentos y generar residuos. (Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 458) Puesto que los patógenos metabolizan y se multiplican en las células, estas por lo general se rompen. Muchos virus y algunas bacterias intracelulares y protozoos que crecen en las células huésped son liberados cuando la célula se rompe. Concluyendo este párrafo para Tortora, después de su liberación los agentes perniciosos o bacterias patógenas que rompen las células se pueden diseminar a otros tejidos en cantidades aún mayores.

(Tortora, Funke, & Case, 2007) “Algunas bacterias, por ejemplo *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* y *Neisseria gonorrhoeae*, pueden inducir a las células epiteliales a que las incorporen mediante un proceso similar a la fagocitosis. Estos patógenos pueden romper las células huésped cuando las atraviesan y luego pueden ser expulsados de estas células por un proceso inverso a la fagocitosis que les permite ingresar en otras células huésped. Algunas bacterias también penetran en las células huésped al excretar enzimas y por su propia movilidad; esa penetración puede dañar por sí misma a la célula huésped. Sin embargo, el mayor daño causado por las bacterias se debe a sus toxinas.”

Las toxinas son sustancias que conllevan a una descompensación de organismo y son parte de los desechos de las bacterias. (PASCUAL, 2009) “La capacidad de producir toxinas de los microorganismos se denomina toxigenicidad. Las toxinas transportadas por la sangre o la linfa pueden causar efectos graves y en ocasiones fatales”. (Tortora, Funke, & Case, 2007) Algunas toxinas producen fiebre, trastornos cardiovasculares, diarrea y shock. Las toxinas también pueden inhibir la síntesis de proteínas, destruir las células y los vasos sanguíneos y alterar el sistema nervioso al causar espasmos.

De alrededor de 220 toxinas bacterianas conocidas, casi el 40% causan enfermedades que dañan las membranas de las células eucariontes. El término toxemia se refiere a la presencia de toxinas en la sangre. Las toxinas son de dos tipos generales sobre la base de su posición en relación con la célula microbiana: exotoxinas y endotoxinas.

(Tortora, Funke, & Case, 2007) Las exotoxinas son producidas en el interior de algunas bacterias como parte de su crecimiento y metabolismo y son secretadas por la bacteria en el medio circundante o liberadas después de la lisis. Las exotoxinas son proteínas y muchas son enzimas que solo catalizan ciertas reacciones bioquímicas.

Debido a al origen catalizador enzimático de la mayoría de las exotoxinas hasta las cantidades pequeñas son muy perjudiciales porque pueden actuar una y otra vez. Las bacterias que producen exotoxinas pueden ser Gram positivas o gramnegativas. (Tortora, Funke, & Case, 2007) Los genes de la mayoría de las exotoxinas (o quizá de todas) son transportados por plásmidos bacterianos o fagos. (Romero Cabello, 2007) Dado que las exotoxinas son solubles en los líquidos corporales, se difunden con facilidad hacia la sangre y son transportadas rápidamente por todo el organismo.

(Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 460) Las exotoxinas actúan por destrucción de partes particulares de las células huésped o por inhibición de ciertas funciones metabólicas. Son muy específicas en sus efectos sobre los tejidos corporales. Las exotoxinas se encuentran entre las sustancias más letales que se conocen.

(Stanier, 2009, pág. 476) Las patologías originadas por bacterias productoras de exotoxinas a menudo son provocadas por cantidades mínimas de exotoxinas, no por las bacterias mismas. Las exotoxinas son las que producen los signos y los síntomas específicos de la enfermedad. Para Stanier, las exotoxinas son específicas de la enfermedad. (Stanier, 2009) Por ejemplo, el botulismo suele deberse a la ingestión de la exotoxina, no a una infección bacteriana. De modo similar, el envenenamiento alimentario por estafilococos es una intoxicación, no una infección.

2.2.4. Endotoxinas

(Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 461) Las endotoxinas difieren de las exotoxinas de varias maneras. Las endotoxinas forman parte de la porción externa de la pared celular de las bacterias gramnegativas. Esta membrana externa consiste en lipoproteínas, fosfolípidos y lipopolisacáridos (LPS). La porción lipídica de los LPS, denominada lípido A, es la endotoxina. En consecuencia, las enterotoxinas son lipopolisacáridos, mientras que las exotoxinas son proteínas.

(Romero Cabello, 2009, pág. 753) Las endotoxinas son liberadas cuando las bacterias gramnegativas mueren y sus paredes celulares sufren lisis, por lo que liberan la endotoxina. (Las endotoxinas también se liberan Durante la multiplicación bacteriana.) (Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 461) Los antibióticos utilizados para tratar enfermedades causadas por bacterias gramnegativas pueden lisar las células bacterianas; esta reacción libera la

endotoxina y puede causar un empeoramiento inmediato de los síntomas, pero por lo general la condición mejora a medida que la endotoxina es degradada. Las endotoxinas ejercen sus efectos mediante la estimulación de los macrófagos para que liberen citosinas en concentraciones muy altas, que son tóxicas. (Pascual, 2009) En referencia todas las endotoxinas producen los mismos signos y síntomas, independientemente de la especie de bacteria o microorganismo, aunque en diferente grado. Entre ellos figuran escalofríos, fiebre, debilidad, dolores generalizados y, en algunos casos, shock y muerte. Las endotoxinas también pueden causar abortos espontáneos.

2.2.5. Enterobacteriaceae.

Conocidas con el nombre de enterobacterias o bacterias entéricas (De la Rosa, Prieto, & Navarro, 2011). Esta familia de bacterias es el grupo más representativo por ser el más amplio y heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia clínica. Las enterobacterias son microorganismos que se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente como agua, suelo y vegetación, además formando parte de la flora intestinal normal de un gran número de animales incluido el ser humano (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2009).

Las enterobacterias habitan de forma saprofita en el intestino de animales y personas, pero así mismo pueden comportarse como bacterias potencialmente patógenas, cuando las condiciones del huésped como un sistema inmune deficiente se lo permita, generando infecciones de tipo oportunista (Granados & Villaverde, 1997). Por ejemplo *Escherichia coli*, en cambio las salmonellas y shigellas por lo general son patógenas para el ser humano (Brooks, Carroll, Butel, Morse, & Mietzner, 2011).

La familia enterobacteriaceae está formada por más de 40 géneros y cientos de especies y subespecies (Murray et al,2009). Incluye los generos

Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Proteus, Salmonella, Shigella y Yersinia, entre otros. Además de los no fermentadores Pseudomonas y Acinetobacter (Prats, 2012).

2.2.6. Morfología y características generales.

Las enterobacterias presentan un tamaño intermedio entre 0.3 a 1 por 1 a 6 μm (Murray et al, 2009). Es posible apreciarlas con el microscopio convencional, pero las distintas especies no son morfológicamente diferenciables de esta forma (Prats, 2012). Crecen en la mayoría de medios de cultivo, formando una variedad de colonias dependiendo de sus propiedades metabólicas y de los componentes de los medios, todas fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos y son oxidasa negativos (De la Rosa et al, 2011), son aerobios y anaerobios facultativos, pueden ser móviles e inmóviles, pueden producir distintos fermentos como: gelatinasas, descarboxilasas. Ureasas, galactoxidasas, desaminasas, etc. Algunos como Proteus son capaces de producir gas sulfhídrico y otras como E. coli producen indol (Granados & Villaverde, 1997, pág. 101). Producen toxinas y otros factores de virulencia, presentan una estructura antigénica compleja (Brooks et al, 2011, pág. 213). Como el lipopolisacárido de la pared (antígeno O) causante del shock séptico, la cápsula de propiedades antifagocitarias (antígeno K) y los flagelos de estructura proteica (antígeno H) (Prats, 2012, pág. 101).

Debemos considerar dos conceptos del crecimiento bacteriano: por una parte, el aumento de volumen de la célula bacteriana, desde una división celular hasta la siguiente (de hecho este aumento en el tamaño es uno de los factores que propician la nueva división). Este concepto es importante porque es la suma de todas las actividades metabólicas de la vida de las bacterias hasta la nueva generación, pero este concepto es de poca utilidad en medicina, sólo los fisiólogos bacterianos le encuentran su importancia.

El crecimiento bacteriano de mayor trascendencia es el que se refiere al aumento de la población, al número de bacterias y a la masa total de todo el conjunto de la población. Considerado así el crecimiento bacteriano, deberemos definir los dos conceptos con los que podemos medir el crecimiento bacteriano. Concentración bacteriana es el número de células que se encuentran en un volumen determinado del medio de cultivo; y densidad bacteriana es la masa total del conjunto de la población, sin que importe el número de bacterias.

2.2.7. *Escherichia coli*.

Escherichia coli es la bacteria más constantemente encontrada en las materias fecales del hombre y de muchas especies animales. Su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, forma parte de la flora nativa intestinal y se encuentra en calidad de saprófito sin causar daño. Por el contrario, muchas cepas de *E. coli* producen sustancias que son útiles al huésped, como son las colicinas, que tienen efecto inhibitorio sobre otras cepas potencialmente patógenas, por lo que la colonización del intestino es benéfica para el hospedero.

(Romero Cabello, 2009, pág. 753) Poco después del reconocimiento de *E. coli* como un enteropatógeno, se hace aparente que no todas las cepas son igualmente virulentas. En 1959, se descubre la toxina del cólera, y siete años más tarde, Taylor y Bettelheim determinan la producción de enterotoxina por *E. coli* de humanos.

Escherichia coli es la especie predominante de la flora anaeróbica facultativa del colon humano. Las infecciones producidas por cepas de *E. coli* patógenas pueden estar limitadas a mucosas o bien diseminarse. Cuatro síndromes clínicos pueden resultar de la infección por cepas patogénicas: infección de vías urinarias, sepsis, meningitis y enfermedad diarreica.

(Romero Cabello, 2009, pág. 753) *E. coli* es un bacilo gramnegativo. con una sola cadena espiral de ADN. móvil, aerobio y anaerobio facultativo, con flagelos pétricos. La mayoría forma fimbrias y pilis, muchas cepas producen una pequeña microcápsula, y muy pocas elaboran macrocápsula, y no forman esporas. En las pruebas bioquímicas es positiva al indodecarboxilasa de lisina. fermentación de manitol y gas a partir de la glucosa: además es lactosa positiva en el 90% de las cepas con citrato negativo. Tienen información genética en los plásmidos, que son responsables por la producción de toxinas y la resistencia a los antimicrobianos El genoma de *Escherichia coli* contiene un total de 5,000 genes.

Escherichia coli es un bacilo gramnegativo de la familia enterobacteriaceae, crece muy bien en medios simples, presenta movilidad y flagelos pétricos (Walker, 2010, pág. 162), esta es muy frecuente y fácil de cultivar que muchos microbiólogos la denominan “la mascota del laboratorio” (Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 758).

El género *Escherichia* se encuentra formado por 5 especies las cuales son: *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* y *E. vulneris* (MacFaddin, 2003, pág. 678), de las cuales la de importancia clínica es *E. coli*, por lo que los demás géneros son poco estudiados (Walker, 2010, pág. 161). Este género esta formado por bacterias de morfología bacilar, sus formas jóvenes presentan formas cocobacilares, soportan temperaturas relativamente altas y toleran bastante bien los agentes del medio ambiente (Granados & Villaverde, 1997, pág. 112). *Escherichia coli* forma parte de la microbiota normal de de algunos animales, en el hombre es el aerobio mas abundante (De la Rosa et al, 2011, pág. 141), cada gramo de heces humanas pueden contener hasta 10^8 bacterias de *E. coli* (Walker, 2010, pág. 162) por lo que este microorganismo es un ideal indicador de la contaminacion fecal de agua y alimentos (Tortora, 2007, pág. 323).

2.2.7.1. Condiciones de Supervivencia de E. coli.

Las cepas de E.coli enterohemorrágicas, pueden sobrevivir hasta meses en el estiércol contaminando las aguas superficiales (bebida y riego), las verduras y frutas y la superficie de las tierras de cultivo.

Estas bacterias se multiplican a temperaturas entre 6 y 50°C, con una temperatura óptima alrededor de 37°C, también presentan la particularidad de crecer en presencia de un 6% de ClNa, ya que son más resistentes a estos compuestos que otras bacterias como la salmonella. (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2013)

TABLA 1 Condiciones de Supervivencia de *Escherichia coli*.

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	7-8°C	35-40°C	46°C
pH	4.4	6-7	10
Actividad de Agua	0.95	0.995	----

Fuente: www.elika.net

2.2.7.2. Mecanismos de patogenicidad de E. coli.

(Romero Cabello, 2007, pág. 753) Al colonizar tejidos extraintestinales. E. coli produce procesos inflamatorios piógenos similares a otras bacterias y. en ocasiones, de mayor intensidad por los factores propios de estas bacterias. Se ha mencionado que es la bacteria que produce más infecciones en heridas en los hospitales. Puede infectar las vías respiratorias y las meninges, como consecuencia de una invasión a circulación sanguínea. Las septicemias por E. coli son muy preocupantes por la gravedad de su pronóstico. Pueden invadir el hígado, vías respiratorias u otros órganos. Cuando hay una perforación intestinal, son las responsables de la peritonitis consecutiva a dicha lesión. Las

infecciones urinarias son producidas por E. coli en más del 70% de los casos, según algunas estadísticas, y puede ser el agente etiológico de la enteritis y la enterocolitis (diarreas del turista)

(Romero Cabello, 2007, pág. 754) Las enterocolitis producidas por E. coli se deben a los siguientes mecanismos patogénicos: 1) E. coli enteropatógena (EPEC); 2) E. coli enterotoxi-génica (ETEC); 3) E. coli enteroinvasiva (EIEC); 4) E. coli enterohemorrágica (EHEC); 5) E. coli enteroagregativa (EA_ggEC o abreviado EAEC) y: 6) E. coli difusamente adherente (DAEC)

Las cepas de E. coli Saprófitas carecen de factores de virulencia (De la Rosa, 2011, pág. 141) y la mayor parte de las infecciones ocasionadas por E. coli son de tipo oportunista, es uno de los microorganismos patógenos hospitalarios mas importantes, ocasionan enfermedades renales, pulmonares y nerviosas que ponen en peligro la vida (Walker, 2010, pág. 162). Ciertas cepas de E. coli tienen la capacidad de formar antígenos de tipo "O" y "K", otorgándole propiedades antifagocitarias y de resistencia ante sustancias bactericidas, confiriéndole así un alto poder invasivo. Otras cepas de E. coli son capaces de originar toxinas, como por ejemplo endotoxinas que provocan cuadros febriles y diarreicos, otras presentan un mecanismo de acción parecido al de shigella, pero con menor severidad. En otros casos la toxina producida por E. coli es análoga a la de *Vibrium cholerae*, la que origina pérdida de agua y electrólitos (Granados & Villaverde, 1997, pág. 113).

Los productos involucrados en la virulencia de E. coli son adhesinas, endotoxinas, enterotoxinas, verotoxinas y enzimas como la hemolisina y la aerobactina (Walker, 2010, pág. 162).

E. coli al encontrarse ampliamente distribuida en el intestino del hombre se disemina por contaminación fecal, de manera que los individuos debilitados

son mas susceptibles a infecciones por esta causa, por ejemplo en procedimientos realizados a personas hospitalizadas como caterizaciones ejecutadas con las manos contaminadas (Walker, 2010, pág. 162). E. coli es la responsable del mayor número de infecciones nocosomiales, así también de infecciones urinarias (Forbes, Sahm, & Weissfelf, 2009, pág. 323).

2.2.7.3. Inmunógenos de superficie.

(Anna Rovid Spickler, 2010) Como todas las enterobacterias, en E. coli encontramos antígenos somáticos "O", antígenos flagelares "H" y antígenos capsulares "K" que combinados, conforman los diferentes serotipos conocidos de E. coli. Actualmente se conocen 150 antígenos "O", 50 antígenos "H" y 90 antígenos "K", los cuales se han dividido en tres grupos, que son "LM, "A" y "B". Para ilustrar la forma en que se denominan tenemos los siguientes ejemplos: Escherichia coli O98:H8, O111:H2.

(Romero Cabello, 2009) Se conocen más de 50 antígenos flagelares, alrededor de 100 capsulares y 170 somáticos. Los antígenos "O" constituyen la parte más externa de los lipopolisacáridos de la pared celular y consisten en unidades repetidas de polisacáridos. Cada antígeno "O" define a un serogrupo. Los antígenos "K" son externos en relación a los antígenos "O". Recientemente se ha reestructurado la designación de los antígenos "K". para incluir sólo a los polisacaridos acídicos. removiendo a los antígenos fimbriales a la denominación "F". Los antígenos "H" se localizan sobre los flagelos y son desnaturalizados por el alcohol y el calor, se aglutinan con anticuerpos anti-H, principalmente la IgG.

(Romero Cabello, 2007, pág. 765) En la década de los 1940, Kauffinami perfecciona un esquema de sero-tipificación basado en los antígenos bacterianos: somático (O), flagelar (H) y capsular (K). Con fundamento en el

antígeno somático, se ha podido clasificar a *E. coli* en serogrupos (de los cuáles aproximadamente se conocen 150 en la actualidad).

2.2.7.4. Manifestaciones Clínicas.

E. coli es la causante de casi el 90% de las infecciones urinarias en mujeres jóvenes, la sintomatología incluye polaquiuria, disuria, hematuria y piuria (Brooks et al, 2011, pág. 217) Las infecciones del aparato urinario por *E. coli* producen cistitis, pielonefritis o sepsis. La cistitis es la infección de la vejiga urinaria con ausencia de fiebre y de dolor, por otro lado la pielonefritis es la infección del parenquima renal y la pelvis, este suele presentar fiebre y dolor (Walker, 2010, pág. 165).

Tanto *E. coli*, como *Streptococcus* del grupo B son los causantes del mayor número de casos de infecciones del sistema nervioso central en niños menores de un mes (meningitis neonatal). Así mismo *E. coli* puede atravesar el tubo digestivo y ocasionar una septicemia, por lo general esto se da en pacientes con un sistema inmune deficiente o deteriorado como es el caso de ancianos, cuya mortalidad por esta causa es elevada (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2009, pág. 307).

La gastroenteritis es una enfermedad muy frecuente en todo el mundo y *E. coli* esta empleada en estos casos, debido a sus propiedades de adhesión a las células epiteliales tanto del intestino delgado como grueso (Brooks et al, 2011, pág. 217).

Escherichia coli produce diferentes tipos de toxinas, las cuales presentan cuadros clínicos variables. Una cepa de *E. coli* con capacidad de formar una enterotoxina similar a la de shigella desencadenará procesos diarreicos en especial a niños y lactantes, por otro lado una cepa de *E. coli* capaz de formar

una enterotoxina similar a la de *Vibrium cholerae* originará procesos diarreicos en niños y adultos, como es el caso de la “diarrea del viajero” que ocurre de forma esporádica, en cuanto si *E. coli* produce una enterotoxina citotóxica análoga a la de *S. disenteriae* esta provocará procesos diarreicos severos de tipo hemorrágicos (Granados & Villaverde, 1997, pág. 113).

2.2.7.5. *Escherichia coli* enteropatógena – EPEC

(Romero Cabello, 2009, pág. 754) Tiene distribución mundial, se relaciona con brotes de diarrea en guarderías y hospitales infantiles en el verano. En el intestino se adhiere de manera localizada a las células del epitelio, causando señales de transducción asociadas con los cambios producidos por la adherencia íntima de la bacteria, entre los que se incluyen: disolución del glicocálix con aplanamiento y destrucción de las microvellosidades intestinales, daño en el borde del cepillo y disminución de la absorción.

(Romero Cabello, 2007, pág. 158) Hay dos tipos de cepas de *E. coli* enteropatógenas que causan enfermedad diarreica las EPEC típicas y las atípicas. Las cepas típicas de EPEC no producen toxinas (TL y TS), provocan lesiones histopatológicas, que poseen el plásmido EAF (factor de adherencia de *E. coli*).

Es decir según (Romero Cabello, 2007), las cepas EPEC atípicas tienen las características anteriores, con la excepción de que no poseen el plásmido EAF. Las cepas de EPEC se unen a las células epiteliales del intestino delgado y producen la lesión histopatológica citada. Las microvellosidades intestinales desaparecen, y la bacteria se encuentra en adherencia íntima con la membrana de las células epiteliales, induciendo múltiples cambios en el citoesqueleto.

(Romero Cabello, 2007, pág. 754) La distribución de esta bacteria es mundial, y es de particular importancia en los países con climas tropicales y subdesarrollados. Se relaciona con brotes de diarrea en guarderías y hospitales infantiles. En países en vías de desarrollo, es el principal patógeno productor de diarrea en los niños en el verano; de hecho se ha estimado que causa entre el 30 y el 40% de los casos de diarrea infantil. El estado de portador asintomático es común (entre el 17 y el 20%). La transmisión es fecal-oral, por las manos contaminadas, fomites y posiblemente por el aire.

Se desconoce el mecanismo exacto por el cual EPEC coloniza el intestino delgado, pero se consideran las siguientes etapas según (Romero Cabello, 2007):

- a)** Adherencia localizada: se inicia con la interacción a “distancia” relativa entre el organismo y la capa de enterocitos. a través de fimbrias, en grupos denominadas BFP (del inglés, bundle-forming pilus), que se encuentran codificadas en el plásmido EAF junto con otros genes reguladores de virulencia. La interacción de la bacteria con el enterocito resulta en la promoción por parte del epitelio intestinal de la formación de estructuras parecidas a un pedestal en los sitios de adherencia. EPEC forma microcolonias que focalmente se adhieren herméticamente a la superficie de la mucosa del intestino delgado y grueso (Romero Cabello, 2007).

- b)** Señal de transducción: la adherencia de las cepas EPEC a las células epiteliales induce múltiples señales de transducción en las células eucarióticas. Los genes responsables de esta actividad se localizan en el cromosoma bacteriano, en un locus denominado de “desaparición de enterocitos” (LEE). Entre las alteraciones que se presentan están: el incremento en los niveles de calcio intracelular de las células epiteliales, lo que puede inhibir la absorción de sodio y cloro intestinal. Además, interviene en la acumulación de actina polimerizada directamente debajo del sitio de adhesión de la bacteria y se asocia con la presentación de

las lesiones A/E. También producen disolución del glicocálix y aplanamiento de las microvellosidades intestinales. La fosforilación de proteínas sobre los residuos de tirosina forma parte de las lesiones A/E. aunque también se observa miosina de cadena ligera. La activación de la proteína cinasa (PKC) conduce a los cambios en la secreción de agua y electrolitos. Otras señales de transducción incluyen la migración de leucocitos polimorfonucleares a través de la monocapa epitelial (Romero Cabello, 2007).

- c) Adherencia íntima: el gen *cae*. en el cromosoma bacteriano, codifica algunas proteínas de membrana externa (OMP). Entre ellas, la principal es la adhesina bacteriana llamada intimina. Por medio de esta proteína, la bacteria se adhiere íntimamente con la membrana epitelial que conduce a la disrupción del citoesqueleto. y además, se ha sugerido que puede intervenir en la protección innumitaria contra la enfermedad. Se han identificado algunas proteínas extracelulares (Esp) que son liberadas durante la enfermedad, y se consideran esenciales para las lesiones A/E y para las señales de transducción. Asimismo, se han detectado respuestas de anticuerpos ante ellas. Las cepas EPEC poseen un sistema de secreción especializado, necesario para la translocación de determinantes críticos de virulencia al medio externo, donde se localizan los enterocitos. Otros factores de virulencia se encuentran bajo estudio, e incluyen otras fimbrias y el EAST1 (factor enteroadherente termoestable), codificado en el gen *astA*, que se relaciona con la secreción intestinal; entre las cepas de EPEC solo algunas lo producen. Las etapas anteriores se han observado in vitro, pero pudieran efectuarse in vivo, aunque se ha considerado que las tres etapas pudieran presentarse simultáneamente (Romero Cabello, 2007).

“Las cepas enteropatógenas de *E. coli* fueron las primeras en asociarse a la enfermedad diarréica infantil en los países pobres” (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2009, pág. 306).

La EPEC ocasiona epidemias y diarreas en lactantes, en particular en los que habitan en áreas urbanas o los que se encuentran hospitalizados, casi nunca producen enfermedades en niños mayores de un año y la mayoría de los pacientes tienen 6 meses de edad o menos, se encuentra relacionada con brotes de diarreicos en guarderías (Walker, 2010, pág. 163).

Las cepas EPEC se adhieren al borde vellosos de las células del epitelio intestinal, causando una lesión celular específica llamada lesión de borrado o lesión de adhesión-borrado AE (attaching-effacing), esta destrucción celular da lugar a cuadros diarreicos (Willey, Sherwood, & Woolverton, 2009, pág. 986).

Las bacterias EPEC se adhieren con fuerza a las membranas enterocíticas, mediante pili tipo IV y forman microcolonias diferenciadas. Las bacterias hacen que los niveles de calcio dentro de las células blanco se eleven provocando la desaparición de los microvellos. Posteriormente una segunda adhesina llamada intimina favorece su fuerte adhesión, lo cual conduce a la producción de actina filamentosa debajo de cada bacteria adherida, esto produce cierto grado de penetración celular, como consecuencia se origina diarrea copiosa, líquida no sanguinolenta y con presencia de moco (Walker, 2010, pág. 163).

Sintomatología.

Según (Romero Cabello, 2007) Clínicamente se caracteriza por diarrea aguda, acuosa con moco, fiebre de baja intensidad y vómito, principalmente en recién nacidos y lactantes, aunque un porcentaje variable de casos presenta un síndrome prolongado de enteritis o cuadros severos de diarrea. Generalmente la enfermedad es autolimitada. En ocasiones se observan polimorfonucleares en las heces.

Diagnóstico.

(Romero Cabello, 2007) y (Tortora, Funke, & Case, 2007) “El diagnóstico se hace mediante el cultivo a partir de las heces y la serotipificación de las cepas aisladas. En el estudio de moco fecal a veces se encuentran leucocitos polimorfonucleares, aunque con la prueba de lactoferrina son más frecuentemente positivos. Actualmente se reconocen trece serogrupos “O” y 56 serogrupos “H”. Los estudios fenotípicos se han utilizado para detectar 1) las lesiones A/E: mediante cultivos sobre líneas HEP-2 ó HeLa, por métodos de fluorescencia o microscopía electrónica; 2) la falta de expresión de las toxinas TL y/o TS y; 3) la presencia del plásmido EAF a través de adherencia en cultivos HEP-2 y HeLa, o por técnicas de ELISA. Los ensayos genotípicos incluyen las pruebas diagnósticas de ADN. que codifican los factores de virulencia en plásmidos (EAF) o en el cromosoma (gen cae). Se han preparado sondas utilizadas en métodos no radiactivos o en PCK, y han mostrado valor en la identificación de los diferentes grupos diarreagénicos”

El tratamiento.

(Romero Cabello, 2007) Consiste en la corrección de la deshidratación y en formas severas de uso antimicrobianos, como aminoglucósidos, gentamicina, colimicina, neomicina, trimetoprim-sulfametoxazol y subsalicilato de bismuto

2.2.7.6. *Escherichia coli* Enteroagregativa – EAggEC

La adherencia agregativa (AA) de EAggEC se muestra como una fuerte aglutinación entre las bacterias y la característica que sobresale es la observación microscópica de estas bacterias en forma de “ladrillos apilados”. EAggEC se definen como bacterias no productoras de enterotoxinas, estas incluyen cepas patógenas y no patógenas. Las cepas de EAggEC se adhieren a la mucosa intestinal y conducen a la secreción de moco, quedando atrapadas

las bacterias en la película mucosa, es probable que este mecanismo ayude a la colonización de las bacterias y a la mala absorción. Estas bacterias presentan efectos citotóxicos sobre las células de la mucosa intestinal, provocan diarrea acuosa y mucoide, en una tercera parte de los pacientes esta es sanguinolenta, la diarrea es escasa, acompañada de una leve fiebre, rara vez con vómito (Romero Cabello, 2007).

2.2.7.7. *Escherichia coli* de Adherencia Difusa – ADEC

Según (Romero Cabello, 2007) “Estas cepas de *E. coli* fueron consideradas como una categoría independiente de *E. coli* enteropatógena diferente a las EA_gEC, por lo que las denominaron difusamente adherentes (DAEC).”

En la actualidad no está demostrada completamente la asociación estadísticamente hablando de esta cepa con algún tipo de enfermedad, se la ha aislado en niños de entre uno y cinco años, mas no en niños menores a esta edad. Se desconocen la predilección de la proliferación por la edad y los mecanismos de transmisión. En Francia se ha reportado en pacientes hospitalizados, por lo que se considera que puede ser un patógeno importante en países desarrollados. (Romero Cabello, 2007).

2.2.7.8. *Escherichia coli* enterotoxigénica – ETEC

Las enfermedades causadas por este tipo de bacteria ocurren principalmente en países en desarrollo, se estiman unos 650 millones de casos al año y 80.000 casos en viajeros procedentes de EE.UU. La diarrea se produce después de un período de incubación de 1 a 2 días y persiste entre 3 y 5 días, los síntomas son similares a los del cólera estos son: diarrea líquida con dolores cólicos abdominales, las náuseas y vómitos son poco frecuentes (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2009, pág. 305).

Las cepas de *E. coli* enterotoxigénica producen dos tipos de enterotoxinas distintas las cuales son las responsables de la diarrea estas son: la enterotoxina termoestable (ET) y la enterotoxina termolábil (LT) (Willey, Sherwood, & Woolverton, 2009, pág. 986).

(Walker, 2010, pág. 163) “Los microorganismos ETEC colonizan el intestino delgado proximal donde se adhieren a la mucosa mediante pili y liberan ET o LT. La ET o LT ocasiona hipersecreción de líquidos y electrolitos y ello conduce a la diarrea acuosa”.

(Romero Cabello, 2007, pág. 756) ”Causa común de diarrea en países en vías de desarrollo y diarrea de leve a moderada-severa en lactantes. Produce un síndrome similar al cólera en adultos, y origina la diarrea del viajero y brotes de diarrea en cuneros. Además, provoca daño mediante su adhesión y producción de enterotoxinas termolábiles (TL) y/o termoestables (TS). La TL estimula la adenilciclase, que activa la proteína quinasa, dependiente de AMPC. Esto da como resultado la salida de líquidos y electrolitos dentro de la luz intestinal, por incremento de la permeabilidad que invierte el flujo de líquidos hacia este sitio. Mientras, la ET actúa sobre la guanilato ciclase (guanilciclase GC-C), alterando la absorción de cloro y sodio, que se acumula en la luz intestinal”

(Romero Cabello, 2007, pág. 756) En latinoamerica, la mayor incidencia es en los meses de abril a julio. Se transmite normalmente a través de agua y alimentos, y es más común en el verano. Se necesita de un inóculo grande para lograr la infección y el principal reservorio es el humano. Este organismo es el causante de cerca del 20 al 40% de los casos de diarrea del viajero, y recientemente se ha descrito como causa de ileítis.

(Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2013) En áreas endémicas, varía entre el 10 y el 30% como agente etiológico de la diarrea infantil. La incidencia de la enfermedad es más alta en niños menores de dos años de edad, declinando rápidamente alrededor de los cuatro años, para permanecer después en un porcentaje bajo.

(Romero Cabello, 2007, pág. 460) Una vez que el organismo se encuentra en el tracto digestivo, se adhiere, coloniza y prolifera en la superficie del intestino delgado proximal, para posteriormente producir enfermedad mediante dos mecanismos patogénicos: adhesión y producción de enterotoxinas. (Stanier, 2009, pág. 455) Las cepas de ETEC primero deben adherirse a los receptores específicos situados en el enterocito. Esta adherencia está mediada por fimbrias de superficie (pilis), que le permiten a la bacteria vencer los mecanismos de defensa (peristalsis). (Tortora, Funke, & Case, 2007, pág. 752) Las fimbrias de las cepas ETEC le confieren la especificidad de especie. La morfología de las fimbrias es muy variable, aun en una misma bacteria, y de las cepas de humanos se han descrito múltiples antígenos, denominados de colonización de las fimbrias (CFAs), o más recientemente, como antígenos de superficie de *E. coli* (Cs). Con base en la morfología de las fimbrias, se han clasificado en tres tipos: 1) rígidas, 2) flexibles en grupos y 3) fibrilares delgadas flexibles.

(Romero Cabello, 2007, pág. 460) Los CFAs son organelos filamentosos localizados en la superficie y codificados por plásmidos. Los cuales codifican a su vez las toxinas TL y/oTS. Se han descrito tres principales CFAs o Cs asociados con las morfologías descritas de las fimbrias en las cepas de ETEC: CFA/I, CFA/II y CFA/IV. CFA/I posee un solo antígeno fimbrial (mientras que el resto poseen antígenos complejos) y es el prototipo de las fimbrias rígidas. CFA/II y CFA/IV son relacionados con las fimbrias fibrilares. Recientemente se ha reportado un Cs denominado longus, que está asociado con las fimbrias flexibles en grupos. Se considera que el 75% de las cepas ETEC en todo el

mundo expresan CFAs I, II y IV, mientras que otros CFAs diferentes no se relacionan con las fimbrias.

(Stanier, 2009) Cuando *E. coli* ha colonizado el intestino, se une a las membranas celulares intestinales y elabora una o ambas enterotoxinas: TL y/oTS. La toxina TL es una proteína de peso molecular elevado de 86-kDa, oligomérica.

2.2.7.9. *Escherichia coli* enteroinvasiva – EIEC

Esta cepa ocasiona una enfermedad parecida a la de la Shigelosis, al igual que la Shigellas la EIEC no fermenta la lactosa o la fermentan en una etapa tardía y son inmóviles (Brooks, Carroll, Butel, Morse, & Mietzner, 2011, pág. 218).

(Rodriguez, 2012, pág. 469) “Las cepas EIEC se asocian más con brotes que con casos aislados, en los cuales la transmisión puede ser de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada, convirtiéndose en un patógeno importante en niños mayores de seis meses.”

Las cepas patógenas asociadas a este grupo, se limitan a serotipos “O”: O124, O143, O164. Las cepas presentan una gran similitud con las características fenotípicas y patógenas de *Shigella*. La forma disentérica de esta enfermedad es poco frecuente, esta presenta fiebre, espasmos abdominales y presencia de sangre y leucocitos en heces (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2009, pág. 307).

EIEC invaden el epitelio del colon, el primer paso es la adhesión de la bacteria a las vellosidades de la mucosa lo que requiere de mucinasa y

adhesinas, para luego penetrar por endocitosis a la célula, posteriormente multiplicarse y diseminarse células adyacentes sanas. Los síntomas característicos son diarrea líquida, con sangre y moco. (Rodríguez, 2012, pág. 469).

(Romero Cabello, 2007, pág. 759) Tiene la capacidad de colonizar el epitelio de la mucosa, producir necrosis focal con desprendimiento de mucosa y lesiones sangrantes que se manifiestan por materias fecales de color oscuro. Este grupo de cepas de E. coli produce la enfermedad gastrointestinal por su capacidad de invadir las células del epitelio intestinal, donde posteriormente se multiplican y causan daño.

(Rodríguez, 2012, pág. 750) Las cepas EIEC son bioquímicamente muy similares a Shigella, comúnmente no fermentan la lactosa, son lisina descarboxilasa negativas e inmóviles. Su capacidad patogénica depende de la presencia de un gran plásmido codificado para la producción de varias proteínas de la membrana externa, envueltas en la tarea de invasividad. Estos microorganismos también parecen producir un segundo factor de virulencia que comparte con Shigella, una toxina parecida a la de Shiga. Se transmite de persona a persona. Afecta más a escolares, adolescentes y adultos, raramente a lactantes, y su distribución es mundial.

(Romero Cabello, 2007) EIEC tiene predilección por la mucosa colónica. Una vez que penetra las células epiteliales, parece que se multiplica localmente en forma intracelular. Para Romero, lo anterior condiciona la lisis de las vacuolas endocíticas, con movimiento direccional bacteriano a través del citoplasma y extensión a las células epiteliales adyacentes. En las infecciones muy agudas, se presenta una potente respuesta inflamatoria de la lámina propia, con la variación subsecuente de la construcción epitelial, consiguiente lisis celular y formación de úlceras microscópicas.

(Romero Cabello, 2007, pág. 761) La infección natural por EIEC produce una enfermedad diarreica leve a moderadamente severa, con una minoría de casos que cursan con un síndrome disenteriforme, acompañado de fiebre de 38 a 39.5 °C, malestar general y abdominal, tenesmo y dolor tipo cólico, mialgias, y en ocasiones cefalea, que puede persistir por dos o tres días. Suele presentarse con datos de toxemia. (Pascual, 2009) y (Romero Cabello, 2007) concuerdan en que el vómito puede estar presente, y la deshidratación suele ser moderada. Las evacuaciones inicialmente son acuosas, y posteriormente progresan a una diarrea con moco y sangre, e incluso puede haber pus. (Cabello, 2009) En los casos leves, la sintomatología se autolimita en dos o tres días, aun sin tratamiento antimicrobiano. Pero en la mayoría de los casos la diarrea cesa a la semana de haberse iniciado, y en un número menor, puede persistir por más de dos semanas.

(Romero Cabello, 2009, pág. 760) Clínicamente, los datos claves para el diagnóstico son el síndrome febril y disenteriforme. El estudio del moco fecal muestra gran cantidad de leucocitos fecales de tipo polimorfonuclear. La única forma de obtener el diagnóstico específico es mediante el cultivo de heces, pero la diferenciación con *Shigella* u otras especies patogénicas de *E. coli* es difícil. Inicialmente se determina el perfil bioquímico de *E. coli*, y después la prueba clásica se realiza sometiendo a los organismos aislados a pruebas de invasividad o prueba de Sereny (que consiste en la inoculación de bacterias en la conjuntiva de cobayos o conejos, con la resultante queratoconjuntivitis), que correlaciona con la invasividad.

(Romero Cabello, 2007, pág. 761) El período de incubación es de aproximadamente cuatro días (uno a ocho días). La enfermedad se caracteriza por un síndrome con notable diarrea acuosa, inicialmente sin sangre, dolor abdominal y fiebre de corta duración. Se ha reportado vómito en la mitad de los pacientes. En los dos días siguientes, la diarrea es sanguinolenta, copiosa, se incrementa el dolor abdominal tipo cólico y comúnmente es afebril. El promedio de duración de la enfermedad es de diez días, con resolución sin secuelas

aparentes, pero puede progresar al SUH. que comprende un grupo de alteraciones: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y falla renal aguda, que pueden ocurrir simultáneamente. Típicamente cursa con un cuadro prodrómico de diarrea con las características antes mencionadas, seguido de alteraciones hematológicas y renales. Afecta predominantemente a niños después del periodo neonatal, y se ha estimado que está presente en alrededor del 10% de los niños menores de diez años (y tal vez en muchos mayores), sin predominio de clases sociales.

En el estudio del moco fecal, los polimorfonucleares se encuentran presentes en menos del 50% de los pacientes. En la rectosigmoidoscopia se observa una combinación de eritema y edema con una mucosa friable. En el enema baritado se observan “espasmos” del colon ascendente y transversal, lo que traduce el edema de la submucosa. Debido a que estos organismos son rápidamente eliminados del tubo digestivo, la oportunidad de detectarlos disminuye

2.2.7.10. *Escherichia coli* enterohemorrágica – EHEC.

“El ganado es la principal fuente de EHEC, la diarrea por EHEC se debe a la ingestión de carne molida mal cocida que contiene niveles inaceptablemente altos de heces de bovino” (Walker, 2010, pág. 763).

EHEC son las cepas que causan con mayor frecuencia enfermedades en los países desarrollados, se estima que estas son las responsables de aproximadamente 73.000 casos de infecciones y 60 muertes al año en los EE.UU. (Murray, Rosenthal, & Pfaüer, 2009, pág. 306)

(Romero Cabello, 2007, pág. 762) Dentro del grupo de EHEC se encuentran los serotipos O157:H7 ó H-, O26:H11, O111:H-, O145:H-, O45:H2,

O128:H-, O4:H-, O103:H2, los cuales son los responsables de casos de enteritis, siendo O157:H7 el causante de cuadros clínicos más graves

Riley, en 1982, relacionó a EHEC con brotes que presentaban dolor abdominal, diarrea líquida sanguinolenta, con fiebre lenta o ausente, cuadro clínico que se denominó “colitis hemorrágica” (CH), Cuyo contagio se le atribuyó al consumo de carne cruda o mal cocida. En todos los casos la bacteria aislada fue *E. coli* del serotipo O157:H7. Posteriormente, Karmali en 1983 la asoció con casos aislados de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), que originaba daño renal agudo, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática, acompañada de diarrea con sangre, encontrándose en las heces *E. coli* productora de una citotoxina con actividad en las células vero, llamada Verotoxina (VT), por lo que aquellas cepas capaces de producirla se las denominó ***E. coli verotoxigénicas*** (VTEC). Además dicha toxina se neutralizó con la antitoxina obtenida a partir de *Shigella dysenteriae* tipo 1, por lo cual se la denominó también (shiga-like toxin) o toxina semejante a shiga (SLT) o “shigatoxin” (STX), y aquellas cepas capaces de producirla se las reconoce con el nombre de STEC. (Rodríguez, 2012).

La enfermedad provocada por EHEC presenta desde una leve diarrea no complicada a una colitis hemorrágica con dolor abdominal intenso y diarrea con sangre, estos síntomas aparecen en los pacientes después de 3 a 4 días de incubación, el vómito se manifiesta en el 50% de los pacientes, con ausencia de fiebre alta. Los síntomas desaparecen totalmente de 4 a 10 días en la mayoría de casos no tratados. Pero suelen aparecer complicaciones como trastornos renales (SUH) en el 5 y el 10% de niños menores de 10 años, de estos pacientes un 3 a 5% pueden fallecer por esta causa (Murray, Rosenthal, & Pfäuer, 2009).

Las EHEC después de haber atravesado el estómago colonizan las regiones terminales del intestino donde permanecen en la superficie de la

mucosa sin invadir de forma sistémica. Los microorganismos se multiplican localmente, las bacterias adheridas en cualquier lugar del colon provocan una lesión local en la membrana de las células epiteliales superficiales, provocan la denominada lesión de “adherencia y borramiento” del ribete en cepillo, además EHEC producen citotoxinas SLT que originan la inflamación de la mucosa colónica, lo que da como resultado exudados purulentos y hemorragias focales. Se cree que las manifestaciones clínicas como SUH o PPT, son producidas por la absorción sistémica de las SLT, presuntamente en combinación con una endotoxina (Schaechter, Medoff, Eisenstein, & Guerra, 1994).

2.2.7.11. Otras categorías de *Escherichia coli* asociadas con diarrea.

Ya determinado que existen grupos de *Escherichia coli* que presentan la capacidad enteropatógena, cada uno de estos grupos causan enteritis por diferentes mecanismos (Prats, 2012, pág. 184). Se encuentran alrededor de 170 tipos serológicos diferentes de antígenos “O”, las cepas de *E. coli* móviles presentan diferentes tipos de antígenos “H” (proteína flagelar) y algunas cepas tienen una polisacárido capsular (antígeno “K”), estas características son clave para la subclasificación de las cepas de *E. coli* (Schaechter, Medoff, Eisenstein, & Guerra, 1994).

“Actualmente se reconocen seis categorías o cepas de *E. coli* capaces de producir diarreas: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EA_gEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC)” (Willey, Sherwood, & Woolverton, 2009, pág. 986).

Entre las probables nuevas categorías se encuentran las cepas de *E. coli* asociadas con la separación celular (CDEC) sobre células HEp-2. El fenotipo está relacionado estrechamente con la hemolisina de *E. coli* y secreta el factor citotóxico necrosante (CNF), pero su contribución en la producción de diarrea

es aún indeterminada. Se han aislado las cepas productoras de CNF, sobre todo de animales, y las escasas cepas de humanos han provenido de sitios extraintestinales. Otra de las cepas en estudio es la CDT, pues son cepas que producen una toxina citoletal extensora. identificada también en *Campylobacter*, *Shigella* y *Haemophilus ducreyi*. Por ahora, no se ha demostrado significativamente que las cepas CDT se encuentren más entre enfermos que en sanos, pero cuando son positivas en niños con diarrea, tienen las propiedades de virulencia de otras categorías de *E. coli* productoras de diarrea, como la capacidad de inducir lesiones A/E.

2.3. GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **Coliformes.-** bacterias que forman parte de la flora normal del intestino y de otros órganos del ser humano y de otras especies animales.
- **Enterobacterias.-** Familia de bacterias Gram negativas, que contiene más de 30 géneros y 100 especies.
- **Enterotoxinas.-** productos del metabolismo de ciertas cepas de bacterias, que poseen un grado tóxico para el organismo humano.
- ***Escherichia coli.***- bacteria que habita normalmente en el intestino de personas y animales.
- **Intoxicaciones alimentarias.-** Son las manifestaciones clínicas de toxicidad consecuente a la exposición a sustancias tóxicas transmitidas por alimentos tanto sólidos como líquidos, la intoxicación ocurre tras la ingestión de alimentos contaminados con sustancias orgánicas e inorgánicas, tales como: venenos, toxinas, agentes biológicos patógenos, metales pesados, etc.
- **Serotipo.-** tipo de microorganismo infeccioso clasificado según los antígenos que presentan en su superficie celular. Los serotipos permiten diferenciar organismos a nivel de subespecie, algo de gran importancia en epidemiología.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de la investigación

Locales de expendio de carne molida ubicados en los Mercados Municipales de la Ciudad de Guayaquil:

- Mercado José Mascote, ubicado en las calles José Mascote y Alcedo, con un total de 36 locales.
- Mercado Oeste, ubicado en las calles Lizardo García y 10 de agosto, con un total de 6 locales.
- Mercado 4 Manzanas, ubicado en las calles Huancavilca y Juan Pío Montufar, con un total de 24 locales

3.2. Período de la investigación

La investigación tuvo una duración de 4 meses, comprendido entre el mes de junio hasta octubre del año 2014.

3.3. Recursos empleados:

3.3.1. Talento Humano.

- Investigador
- Tutor

3.3.2. Recursos Físicos.

- Mercados Municipales de Guayaquil: “José Mascote”, “Oeste” y “4 Manzanas”.
- Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de La Universidad de Guayaquil.

3.4. Universo.

Locales donde, son expendidas las muestras objeto de estudio.

3.5. Muestra

La muestra la Constituyó la carne molida que se comercializa en los Lugares de Estudio. Teniendo así los Mercados; “José Mascote” con 18 muestras, “4 manzanas” con 12 muestras y “Oeste” con 6 Muestras. Para el análisis se realizó un muestreo de tipo no aleatorio de conveniencia con un total de 36 muestras.

3.6. Tipo de investigación

La investigación fue de Campo, Descriptiva (Prospectiva)

3.7. Diseño de investigación

La investigación fue de tipo no experimental.

Se elaboró una ficha de recolección de datos, para la observación de campo.

3.8. Metodología.

El presente trabajo determinó la presencia de *Escherichia coli* en muestras de carne molida que se expenden en los Mercados Municipales: “José Mascote”, “Oeste” y “4 Manzanas” de la Ciudad de Guayaquil. Además se hizo uso de Fichas técnicas para registrar las condiciones higiénicas del local, de los equipos y del personal, así como las condiciones de conservación de las muestras. La metodología que se empleó fue Petrifilm™.

Las Placas Petrifilm™ 3M para el Recuento de Coliformes y E. coli. (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa BCIG y un indicador de Tetrazolio, que facilita la enumeración de las colonias. El film superior atrapa el gas que es producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes y E. coli.

La mayoría de las E. coli (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por E. coli y coliformes fermentadores de lactosa.

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

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica.

Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia. En la guía de interpretación de las placas Petrifilm™, emitida por el fabricante 3M, se detallan los procedimientos de análisis. Los mismos que han sido aplicados, para garantizar la efectividad de los resultados.

El procedimiento para la toma de muestras, transporte, preparación, siembra, incubación y lectura, fue el siguiente:

3.8.1. Toma de Muestras

Las muestras se recolectaron en horario comprendido entre las 7:00am y 8:00am, las mismas se encontraban en bandejas exhibitorias o en algunos casos la carne era molida bajo pedido, estas muestras fueron obtenidas tal como son expandidas por el comerciante al consumidor en sus empaques plásticos (fundas plásticas) aproximadamente 200g. Conjuntamente se registraron en la ficha de recolección de datos (**ver Anexos 1, 2, 3**), las observaciones referentes a: higiene y uso de barreras del personal, conservación del producto, condiciones y limpieza del local, entre otros.

3.8.2. Transporte y conservación de las Muestras

Las muestras recolectadas respectivamente rotuladas fueron almacenadas en una caja de aislamiento de temperatura, que contenía unidades de enfriamiento para evitar su alteración, luego eran transportadas en el menor tiempo posible al laboratorio para su análisis.

3.8.3. Preparación del material y medios de Cultivo

Se preparó el medio de dilución en este caso Agua de Peptona Buferada para lo cual se pesó 25.5g del medio en un beaker de 1000ml de capacidad, se añadió un litro de agua destilada, se homogenizó, luego se distribuyó esta solución en fiolas de 200ml de capacidad, la cantidad de 90 ml con ayuda de una probeta de 100ml de capacidad, y en tubos de dimensiones 150 x 20 mm, se colocó 9ml de dicha solución mediante el uso de una pipeta serológica de 10ml, todo este material, debidamente rotulado y con sus respectivos tapones fueron llevados al autoclave para su esterilización a 121°C por 15 minutos.

3.8.4. Preparación de la Muestra

Se procedió a la homogenización de la muestra utilizando una espátula estéril, posteriormente en una bolsa plástica estéril se pesó 10g de la misma. A continuación se añadió el medio diluyente agua de peptona buferada (método ISO 6887) previamente esterilizada en volumen de 90ml para obtener la primera dilución de la muestra que corresponde a 1 en 10 (1×10^1), se homogenizó la muestra contenida en la bolsa plástica junto con el medio diluyente aplicando masajes extrusores por 5 minutos, a partir de esta dilución se efectuaron diluciones consecutivas, para lo cual se tomó 1ml de la dilución 1 en 10, usando una pipeta automática de 1000ul (1ml) y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 9ml de agua de peptona estéril, se homogenizó con ayuda del vortex, y así obtuvimos nuestra segunda dilución 1 en 100 (1×10^2), de la misma forma se realizaron dos diluciones más, respectivamente 1 en 1.000 (1×10^3) y 1 en 10.000 (1×10^4).

3.8.5. Inoculación de la Muestra

Se colocaron las Placas Petrifilm 3M, debidamente rotuladas, en una superficie plana previamente desinfectada con alcohol 70% y cerca del mechero encendido, luego con ayuda de una pipeta automática con puntas estériles, se tomó 1ml de cada dilución y de forma perpendicular a la placa, con

la película superior levantada se depositó en el centro de la película inferior, se bajó cuidadosamente la película sin dejarla caer, para evitar la formación de burbujas, posteriormente se colocó el dispersor 3M sobre el inóculo, con la parte lisa hacia abajo, y se aplicó presión sobre él, para distribuir el inóculo en toda la placa, se tomó en cuenta que; no se debe deslizar ni girar el dispersor. Luego se dejó solidificar el gel por lo menos 1 minuto antes, de ser llevadas a la incubadora.

3.8.6. Incubación

Las placas ya inoculadas fueron incubadas cara arriba, en pilos de no más de 20 placas. La temperatura y el tiempo de incubación fueron elegidos según el tipo de producto en este caso se trató de un producto cárnico, para el cual se empleó el Método Oficial AOAC 998.08 para carnes, aves y mariscos (**Ver Anexo 5**). El cual especifica incubar las placas por $24\text{h} \pm 1\text{h}$, a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Para evitar la pérdida de humedad de las placas se colocó un recipiente con agua dentro de la incubadora.

Con el fin de asegurar la validez de los resultados se llevó un control, mediante un registro diario de la temperatura de la incubadora, para mantenerla dentro del criterio de aceptación. (**Ver Anexo 8**).

3.8.7. Lectura y Reporte de Resultados

Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la lectura de las placas que presentaron entre 10 y 150 colonias de coliformes, para facilitar el conteo se usó el contador de colonias, se aplicó como referencia el Método Oficial AOAC 998.08 el cual establece que para la determinación de E. coli se deben considerar como tal aquellas colonias que presenten una coloración azul o rojo azulado con presencia de gas, el cual se evidencia por la aparición de burbujas atrapadas entre las dos películas.

En aquellas placas que presentaban un crecimiento muy numeroso para contar (MNPC), con más de 150 colonias se realizó un recuento estimado, para el cual se contaron las colonias dentro de los uno o más de los cuadros representativos, estos valores fueron promediados y multiplicados por 20, según las especificaciones del método.

Para el reporte de resultados como Unidades Formadoras de Colonia por gramo de muestra (UFC/g) se multiplicó el número de colonias de E. coli encontrado en cada placa por el factor de dilución de la respectiva dilución inoculada en dicha placa. Para esto nos ayudamos de la siguiente fórmula:

$$NEc = \Sigma Ec * FD = UFC/g$$

NEc: Número de Unidades Formadoras de Colonia de E. coli por gramo de muestra.

ΣEc : Suma total de colonias de E. coli contadas en la placa Petrifilm.

FD: Factor de Dilución (tenemos: para diluciones 1/10 inoculadas el factor es 10, para 1/100 el factor es 100, así sucesivamente).

3.8.8. Aplicación de una cepa ATCC

Para agilizar el contaje de las colonias y apreciar la efectividad del método de análisis, se empleó la cepa E. coli ATCC (*American Type Culture Collection*) 25922, la misma que consta en el certificado de análisis de este método (**Ver Anexo 6**), esta cepa fue inoculada en el Petrifilm, siguiendo los mismos procedimientos para el análisis, luego del período de incubación, se pudo apreciar perfectamente las colonias con su respectiva coloración y presencia de gas, sin ningún tipo de interferencia, orientándonos de esta forma a la correcta interpretación de los resultados del análisis microbiológico.

TABLA 2 Ficha de inspección Sanitaria.

MERCADO:	FECHA:														<i>NC: No Cumple</i>	<i>C: Cumple</i>	
LOCAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Limpieza del local																	
Limpieza del equipo																	
Uso de mandil limpio																	
Uso de cofia																	
Manos y uñas limpias																	
Refrigeración																	
Ausencia de plagas																	

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

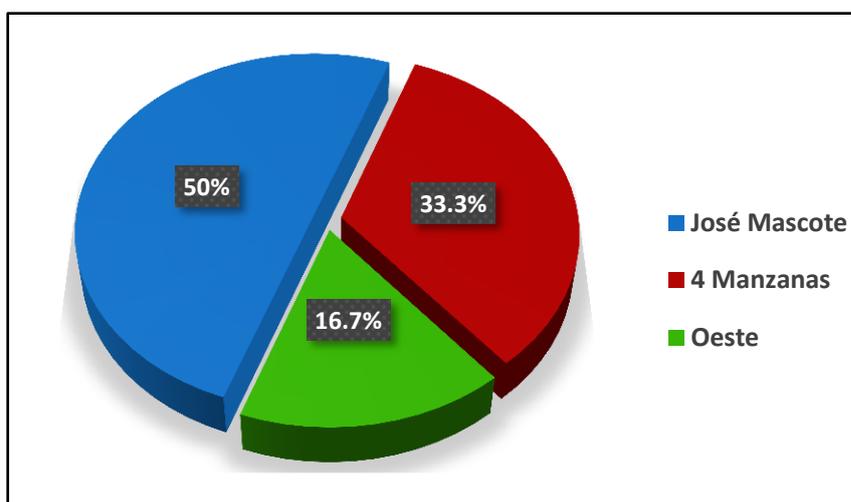
Los resultados que se obtuvieron con la aplicación del instrumento fueron organizados y analizados. Luego se procedió a obtener resultados en términos de medidas descriptivas como porcentajes, para lo cual se siguieron los siguientes pasos:

1. Se determinó cada ítem y porcentaje de opinión de la Ficha de Inspección Sanitaria.
2. Se agruparon las propuestas de acuerdo con las dimensiones del estudio.
3. El procesamiento se analizó estadísticamente
4. Se analizaron en términos descriptivos los datos obtenidos.
5. Se interpretaron los resultados, para dar respuestas a los objetivos de la investigación.

TABLA 3 Frecuencia de Muestreo

Mercado	Locales muestreados
José Mascote	18
4 Manzanas	12
Oeste	6
TOTAL	36

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

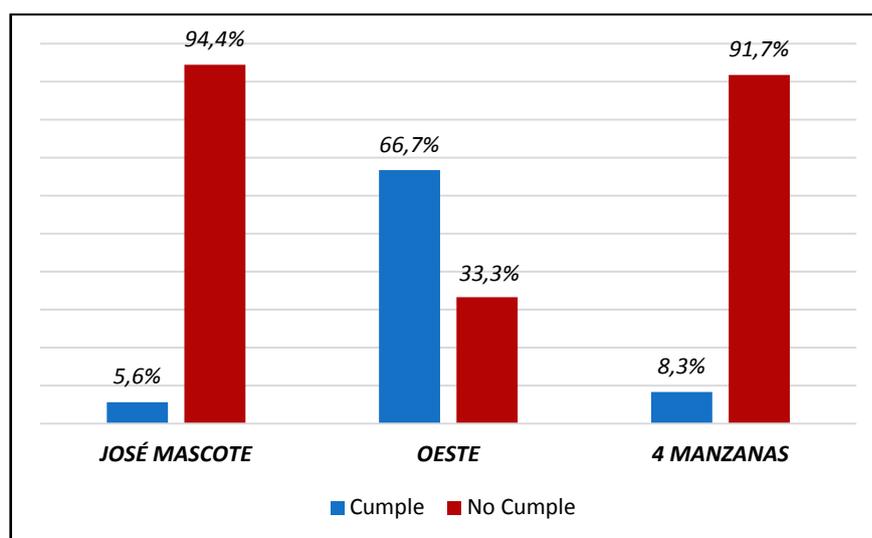
Para la investigación fueron muestreados 36 locales en total, de los cuales: 18 pertenecían al Mercado “José Mascote”, representando el mayor número de las muestras, 12 pertenecían al Mercado “4 Manzanas”, representando el 33%, 6 pertenecían al Mercado “Oeste”, representando el menor número de las muestras analizadas por poseer una menor cantidad de locales de expendio de carne molida.17%.

4.1. Análisis de las Fichas Técnicas.

TABLA 4 Limpieza del local de expendio

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	1	4	1
No cumple	17	2	11
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



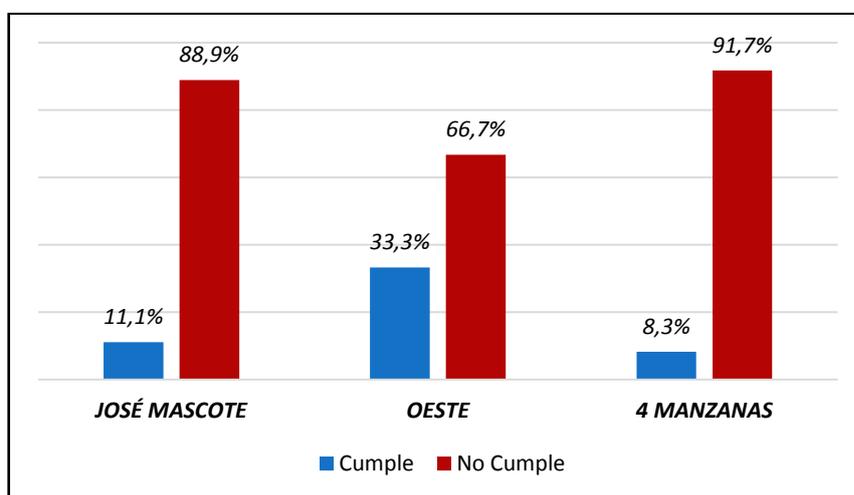
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Se examinó la limpieza de las instalaciones de los locales de venta de carne, para esto se consideró la higiene de superficies como mesones, paredes, pisos y otras estructuras propias del local, en el mercado "Oeste" se aprecia considerablemente el cumplimiento de dicha limpieza en comparación con los otros mercados.

TABLA 5 Limpieza del Equipo (Molino de Carne).

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	2	2	1
No cumple	16	4	11
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



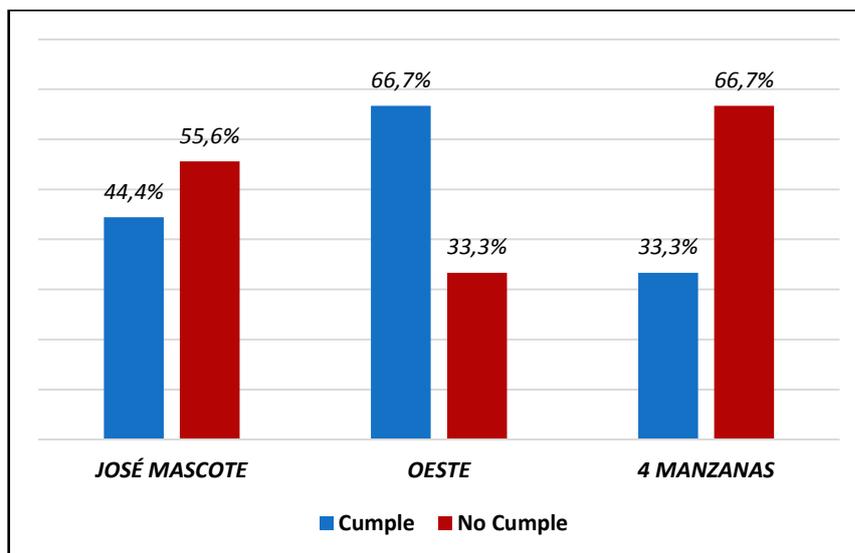
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Se observó el cumplimiento de la limpieza de los equipos usados para picar o moler la carne, no cumplían aquellos locales cuyos equipos que presentaban restos de carne o de algún otro tipo de suciedad, se puede apreciar que tanto en el Mercado “José Mascote” y “4 Manzanas” el incumplimiento es mayor en comparación con el Mercado “Oeste”.

TABLA 6 Uso de Mandil limpio.

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	8	4	4
No cumple	10	2	8
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



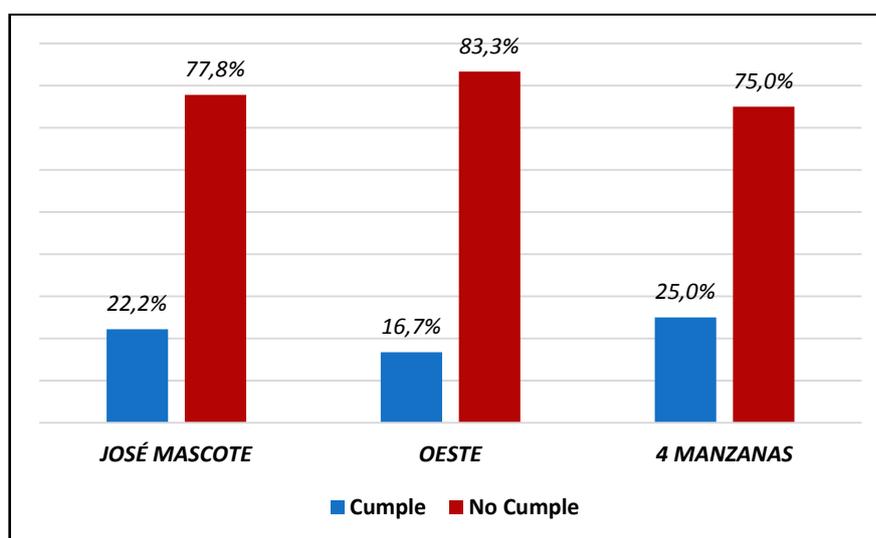
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Se observó que el personal que labora en la venta de carne cumpla con el uso de un mandil pulcro y bien presentado, en aquel personal que no cumplía se podía apreciar el uso de un mandil con manchas de sangre, o en su defecto en mal estado.

TABLA 7 Uso de cofia o gorro.

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	4	1	3
No cumple	14	5	9
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



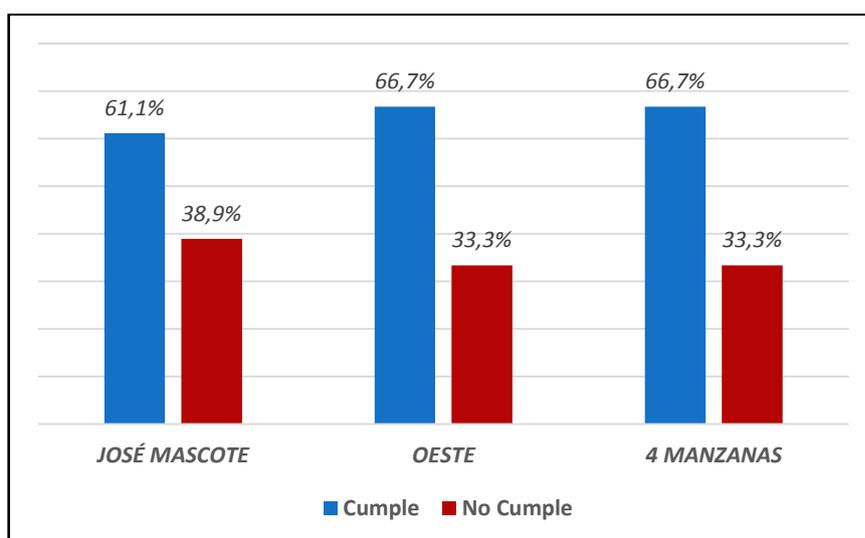
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Según las Fichas de Técnicas, también se observó que el personal cumpla con el uso de una cofia o gorro, indispensable para evitar la caída del cabello en los productos, se puede apreciar que en los tres mercados la frecuencia del incumplimiento es relativamente alta.

TABLA 8 Limpieza de manos y uñas del personal.

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	11	4	8
No cumple	7	2	4
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



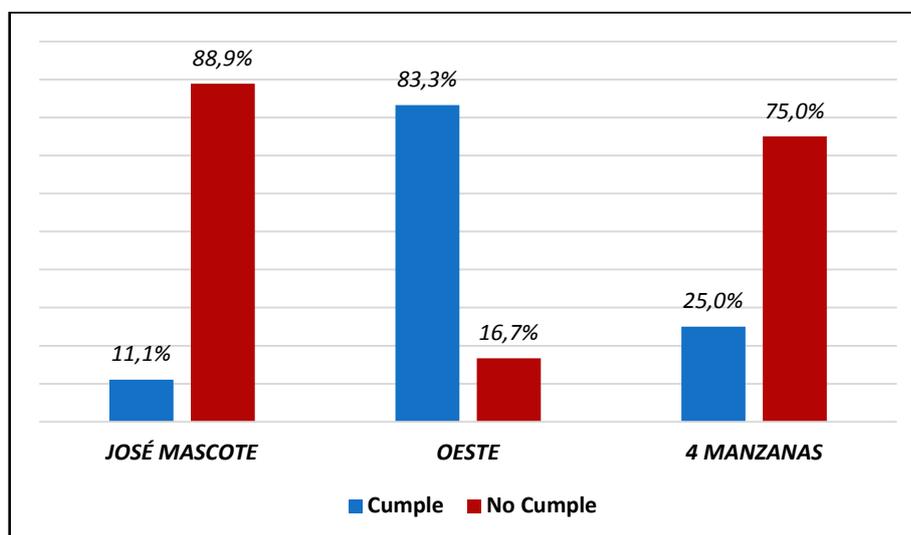
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Se observó las manos y uñas del personal que labora en los locales el expendio de carne, con el fin de evaluar de manera visual la higiene, según los resultados de las fichas, se encontró que la mayoría del personal tanto en los tres Mercados presenta sus manos y uñas limpias.

TABLA 9 Conservación del producto (Refrigeración).

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	2	5	3
No Cumple	16	1	9
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



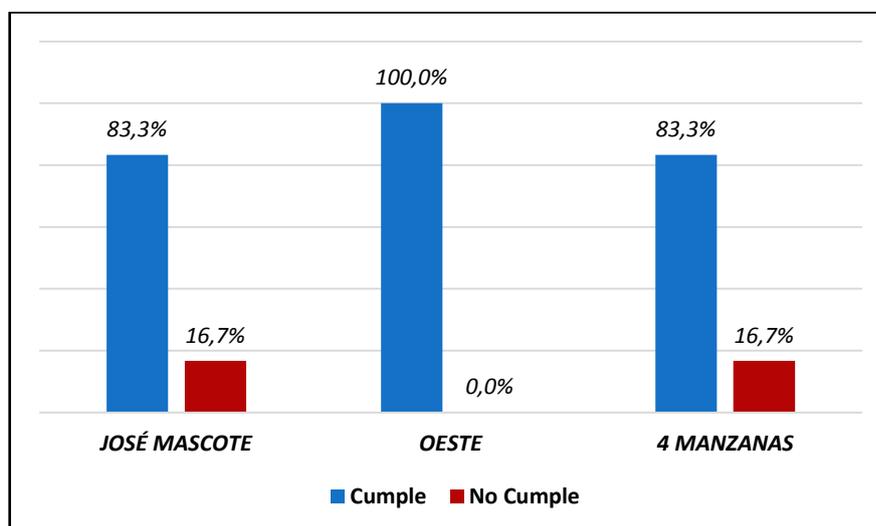
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Se determinó la conservación del producto ya elaborado (carne molida), considerando como método eficaz la refrigeración del mismo, tanto en el Mercado “José Mascote” y “4 Manzanas” se observó durante el muestreo que la carne molida durante su expendio era exhibida en bandejas al aire libre, mientras que en el Mercado “Oeste” en su mayor parte el producto era exhibido en vitrinas refrigeradas.

TABLA 10 Ausencia de plagas.

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Cumple	15	6	10
No Cumple	3	0	2
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Durante el muestreo se observó la presencia de plagas en los locales de expendio de carne, como consecuencia de la falta de control, se determinó la existencia de moscas, cucarachas y otros insectos capaces de contaminar los productos. Tanto en el Mercado “4 Manzanas” y “José Mascote” se evidenció la presencia de moscas en los locales de venta de carne, en porcentajes relativamente bajos, mientras que en el Mercado “Oeste” no se encontró ningún tipo de plaga.

TABLA 12 Estudio Microbiológico; Mercado “Oeste”

MUESTRA	CONTAJE E. coli (UFC/g)	CRITERIO
ECO01	9.0×10^1	A
ECO02	4.5×10^3	R
ECO03	$2,2 \times 10^4$	R
ECO04	$3,7 \times 10^3$	R
ECO05	6.7×10^3	R
ECO06	1.0×10^4	R

Rango Permitido para E. coli, Según Norma INEN 1346: 2010 Primera Revisión:
 $<1 \times 10^2$ UFC/g Aceptación (A) $>1 \times 10^2$ UFC/g Rechazo (R).

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

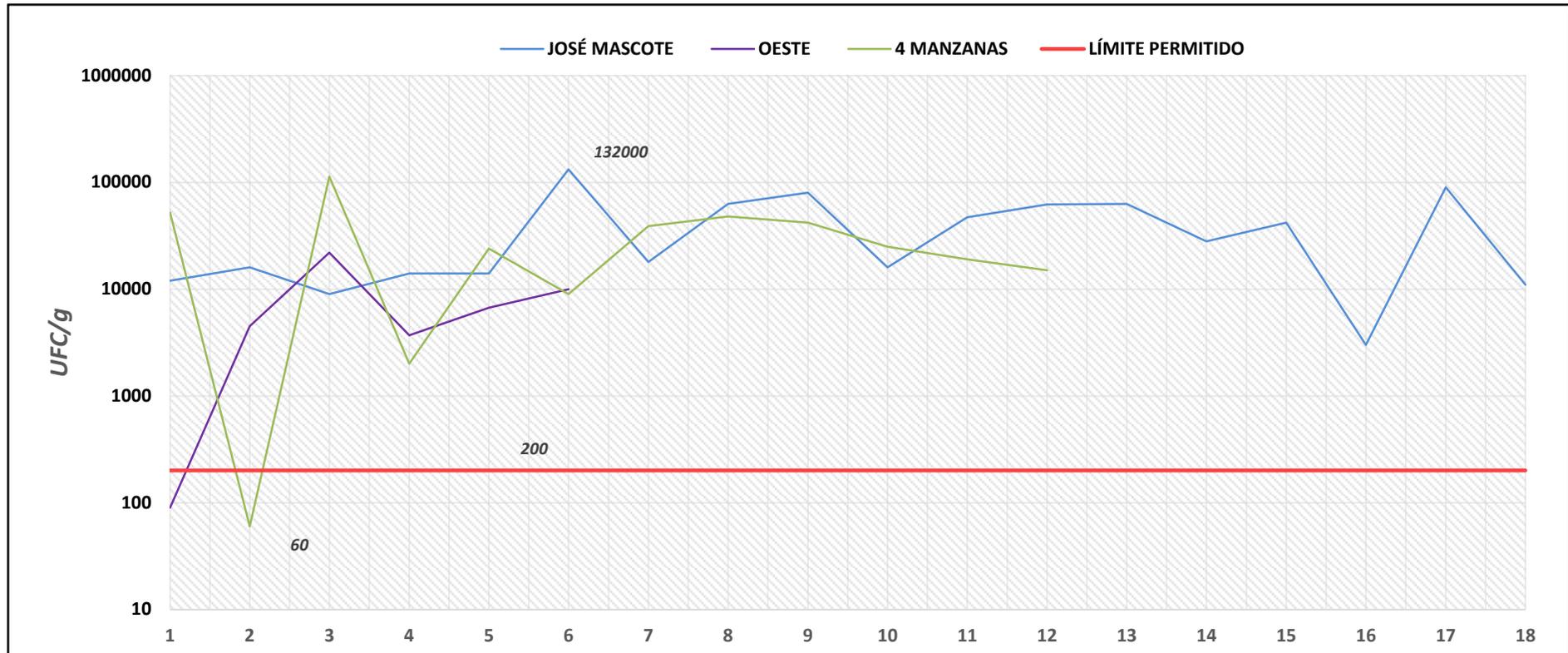
TABLA 13 Estudio Microbiológico; Mercado “4 Manzanas”.

MUESTRA	CONTAJE E. coli (UFC/g)	CRITERIO
EC4M01	$5,2 \times 10^4$	R
EC4M02	6.0×10^1	A
EC4M03	1.13×10^5	R
EC4M04	$2,0 \times 10^3$	R
EC4M05	$2,4 \times 10^4$	R
EC4M06	$9,0 \times 10^3$	R
EC4M07	$3,9 \times 10^4$	R
EC4M08	$4,8 \times 10^4$	R
EC4M09	$4,2 \times 10^4$	R
EC4M10	$2,5 \times 10^4$	R
EC4M11	1.9×10^4	R
EC4M12	$1,5 \times 10^4$	R

Rango Permitido para E. coli, Según Norma INEN 1346: 2010 Primera Revisión:
 $<1 \times 10^2$ UFC/g Aceptación (A) $>1 \times 10^2$ UFC/g Rechazo (R).

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

GRÁFICO 1 Comparativa de los contajes de E. coli entre las muestras de los diferentes mercados.



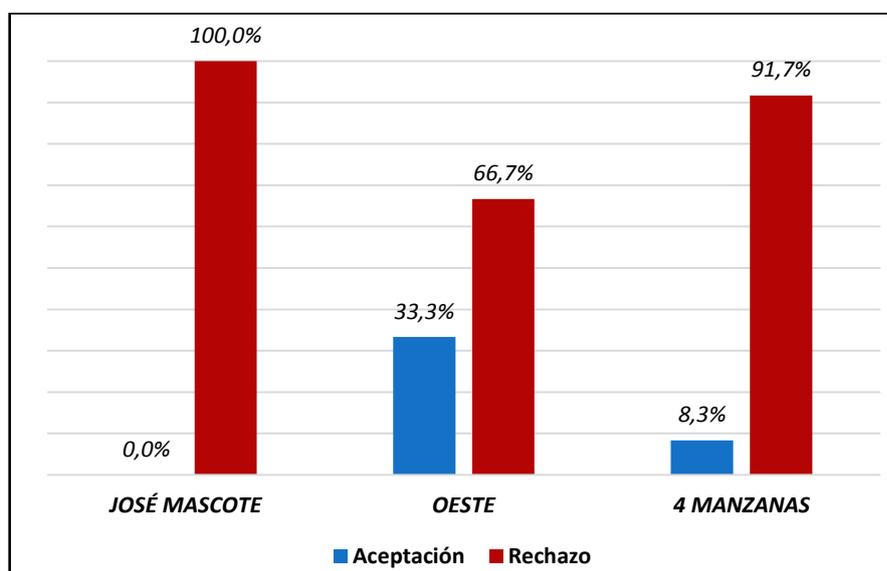
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Los contajes se hallan comprendidos entre: el recuento más bajo en el mercado “4 Manzanas”; con un contaje de 6.0×10^1 UFC/g, y el recuento más alto encontrado en el mercado “José Mascote”, con un contaje de 1.32×10^5 UFC/g.

TABLA 14 Frecuencia de las muestras de los diferentes mercados según criterio de aceptación o rechazo conforme los requisitos microbiológicos establecidos en la norma INEN 1346:2010 para E. coli.

Criterio	Mercados/Frecuencia Locales		
	José Mascote	Oeste	4 Manzanas
Aceptación $< 1 \times 10^2$	0	1	1
Rechazo $> 1 \times 10^2$	18	5	11
TOTAL	18	6	12

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.



Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

Según los resultados obtenidos en el análisis Microbiológico en el que se investigó la presencia de *Escherichia coli* en Carne Molida en las diferentes muestras de los distintos Mercados, y a su vez dichos recuentos comparados con los límites permitidos para E. coli por la Norma INEN 1346: 2010. Se puede apreciar que en los tres Mercados el porcentaje de los recuentos por encima de los niveles aceptables es alto, con una menor incidencia en el Mercado "Oeste".

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Se logró determinar la presencia de E. coli en las muestras de carne molida que se expenden en los Mercados Municipales. Encontramos que el 100% de las muestras del mercado “José Mascote”, el 83.4% de las muestras del mercado “Oeste” y el 91.7% de las muestras del mercado “4 Manzanas”, se encuentran fuera del límite permitido para E. coli.
2. Al observar las condiciones de higiene, manipulación y conservación de las muestras, podemos apreciar que en los tres mercados estas no se cumplen o se cumplen de manera parcial, con muchas deficiencias. Lo que conlleva a tener altos recuentos microbianos, los cuales al compararlos frente a la Norma INEN 1346:2010 para carne molida, nos indica la no inocuidad de estos alimentos.

5.2. RECOMENDACIONES

1. De acuerdo con los datos obtenidos por la observación y el análisis, se recomienda implementar charlas de BPM (Buenas Practicas de Manejo e Higiene) al personal que labora en los Mercados Municipales, como manipuladores de los productos alimenticios, para así preservar la inocuidad de los alimentos y evitar así el desarrollo de una fuente de ETAS (Enfermedades de Transmisión Alimentaria) causantes de perjuicios en los consumidores.
2. Según los resultados microbiológicos, se sugiere continuar con esta investigación, ampliando el estudio mediante la aplicación métodos y técnicas de análisis que permitan identificar el serotipo de aquellas cepas de E. coli patógenas productoras de enterotoxinas, causantes de enfermedades graves.

CAPITULO VI:

LA PROPUESTA

TÍTULO:

Capacitación en Buenas Practicas de Manejo e Higiene de alimentos, dirigida a los expendedores de productos cárnicos de los mercados Municipales “José Mascote”, “Oeste” y “4 Manzanas” de la ciudad de Guayaquil

RESPONSABLES

Alumnos de 4to y 5to Nivel de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, como requisito previo para cumplir con las horas de; “Vinculación con la Comunidad”.

6.1. INTRODUCCIÓN:

La falta de higiene de los alimentos ha representado un gran problema para la salud desde hace mucho tiempo atrás, por lo que no se trata de un tema nuevo, a pesar de que los gobiernos de todos los países del mundo tratan de corregir al máximo esta deficiencia, el problema sigue siendo considerable, en países en vías de desarrollo.

Según la OMS se ha calculado que cada año 1.8 millones de personas mueren como consecuencia de enfermedades diarreicas, cuya causa puede atribuirse al consumo de agua o alimentos contaminados. Además menciona que más de 200 enfermedades conocidas son transmitidas a través de los alimentos.

6.2. JUSTIFICACIÓN:

Las personas que consumen alimentos mal higienizados, son susceptibles a adquirir enfermedades por la presencia de microorganismos en los alimentos, tal es el caso de los consumidores de productos cárnicos que los adquieren en los Mercados estudiados, en los cuales se ha evidenciado mediante resultados obtenidos de la observación de campo y el análisis microbiológico, la falta de control en el proceso de elaboración, conservación y expendio de los productos. Razón por la cual se hace necesario impartir charlas sobre higiene y manejo de los alimentos, dirigida a los expendedores de productos cárnicos de los establecimientos anteriormente mencionados. Con el propósito de capacitar al personal y disminuir en gran parte el problema anteriormente expuesto.

6.3. OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

Capacitar a los expendedores de productos cárnicos de los Mercados estudiados, sobre Buenas Prácticas de Manejo e Higiene de los alimentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Informar al personal acerca de los riesgos que implica el mal manejo de los alimentos.
- Elaborar material de difusión del tema como: trípticos, guías, banners, etc. De distribución gratuita.
- Fomentar los buenos hábitos de manejo e higiene de los alimentos.

6.4. METAS:

- Capacitación de todo el personal que labora en el expendio de productos cárnicos.
- Reducción de mala higiene de los locales de expendio de productos cárnicos.
- Corrección de procedimientos inadecuados en la manipulación de las carnes.

6.5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

Actividades	Semanas						Horas
	1	2	3	4	5	6	
Estudio Diagnóstico							30
Diseño de la Propuesta							30
Desarrollo del proyecto							30
Charla de Capacitación							10
Difusión del Tema							20
Evaluación de desempeño							10
Finalización y entrega del proyecto.							30
TOTAL							160
				6			

6.6. EVALUACIÓN Y AUTOEVALUACIÓN

Se realizarán preguntas con la participación directa del público, de notar alguna duda o vacío se realiza una retroalimentación del tema.

6.7. BENEFICIARIOS:

BENEFICIARIOS DIRECTOS:

Los consumidores o clientes, que adquieren productos cárnicos inocuos, con la presente intervención, se espera promover la venta de un producto seguro y de mejor calidad.

BENEFICIARIOS INDIRECTOS:

- Los expendedores de productos cárnicos, pues adquieren conocimientos acerca una buena manipulación e higiene, de esta forma vender un producto más seguro, además el cambio en la imagen del local de venta.
- Los estudiantes, ya que cumplen con el requisito: “Vinculación con la Comunidad”.

CAPITULO VII

7.1. BIBLIOGRAFIA

- Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica.* (2013). Quito-Ecuador: Ministerio de Salud Pública.
- Anna Rovid Spickler, J. A. (2010). *Enfermedades Emergentes y Exóticas.* USA: CFSPH Iowa State University.
- AOAC Oficial Methods of Analysis. (2000). *Microbiological Methods.*
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2011). *Microbiología Médica Jawetz, Melnick y Adelberg* (25ava ed.). México: McGraw-Hill.
- CARVAJAL, & L.-. (2006). *Metodología de la Investigación .* Cartagena de Indias: Latinoamericana .
- De la Rosa, M., Prieto, J., & Navarro, J. M. (2011). *Micobiología en Ciencias de la Salud Conceptos y Aplicaciones* (3era ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- FAO. (2007). *Manual de Buenas Prácticas para la Industria de Carne.* Roma.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2009). *Bailey y Scott Diagnóstico Microbiológico* (12ava ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. (28 de Febrero de 2013). *Elika.* Recuperado el 05 de Octubre de 2014, de http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf
- GARCIA., M. D. (2010). "*Determinación de Escherichia Coli en Presas de Pollo Seleccionadas (Pechugas) que se comercializan en la Ciudad de Guayaquil*". Guayaquil-Ecuador: Universidad Agraria del Ecuador.
- Granados, R., & Villaverde, M. (1997). *Bacteriología, Características y Clasificación Bacteriana. Virología, Características y Técnicas Bioquímicas* (1era ed.). Madrid, España: Thomson.
- INEN Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2010). *Norma NTE 1346; Carne y Productos Carnicos.* (1era ed.). Quito, Ecuador.

- MacFaddin, J. F. (2003). *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica* (3era ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaüer, M. A. (2009). *Microbiología Médica* (6ta ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- OMS. (2012). *Manual de manipulación de alimentos*.
- Organizacion Mundial de la Salud (OMS). (2007). *Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos*. Francia.
- Pascual, R. P. (2009). *Microbiología Alimentaria*. Madrid-España: Ciudad. S. L.
- Prats, G. (2012). *Microbiología y Parasitología Médicas* (1era ed.). Madrid, España: Médica Panamericana.
- Ramírez, M. F. (2009). "Estudio Higiénico Sanitario de los Embutidos tipo salchichas que se expendan en mercados populares de Guayaquil". Guayaquil-Ecuador: Escuela Superior Politecnica del Litoral.
- Rodriguez, G. (2012). *Principales Características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli*. Recuperado el 30 de Junio de 2014, de scientific Electronic Library Online (SciELO): <http://www.scielo.org/pdf/spm/v44n5/14036.pdf>
- Romero Cabello, R. (2007) (2009). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (3era y 4ta ed.). México: Médica Panamericana.
- Schaechter, M., Medoff, G., Eisenstein, B. I., & Guerra, H. (1994). *Microbiología: Mecanismos de las Enfermedades Infecciosas-Enfoque Mediante Resolución de Problemas* (2da ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Stanier, R. Y. (2009). *Mirobiología* (5 ed.). España : Reverte S.A.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la Microbiología* (9na ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Walker, S. T. (2010). *Microbiología* (1era ed.). McGraw-Hill.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2009). *Microbiología de Prescott, Harley y Klein* (7ma ed.). Madrid, España: McGraw-Hill.

7.2. ANEXOS

ANEXO 1 Ficha Técnica de inspección; Mercado “José Mascote”

MERCADO: José Mascote				FECHA: 08 de julio del 2014									NC: No Cumple		C: Cumple			
Local	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Limpieza del local	NC	NC	NC	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Limpieza del equipo	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Uso de mandil limpio	C	NC	NC	NC	C	C	C	C	NC	C	C	C	NC	NC	C	C	NC	NC
Uso de cofia	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	SI	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Manos y uñas limpias	C	C	C	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	C	C	C	C	C	C	C	C
Refrigeración	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Ausencia de plagas	C	C	C	C	C	C	C	C	C	NC	NC	NC	C	C	C	C	C	C

Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

ANEXO 2 Ficha Técnica de inspección; Mercado “4 Manzanas”

MERCADO: 4 Manzanas			FECHA: 14 de julio del 2014						NC: No Cumple		C: Cumple	
Local	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Limpieza del local	NC	NC	NC	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC	NC
Limpieza del equipo	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	C	C
Uso de mandil limpio	C	NC	NC	NC	C	C	NC	NC	NC	NC	NC	C
Uso de cofia	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Manos y uñas limpias	C	C	C	NC	NC	C	C	C	NC	NC	C	C
Refrigeración	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	C
Ausencia de plagas	C	C	C	C	NC	NC	C	C	C	C	C	C

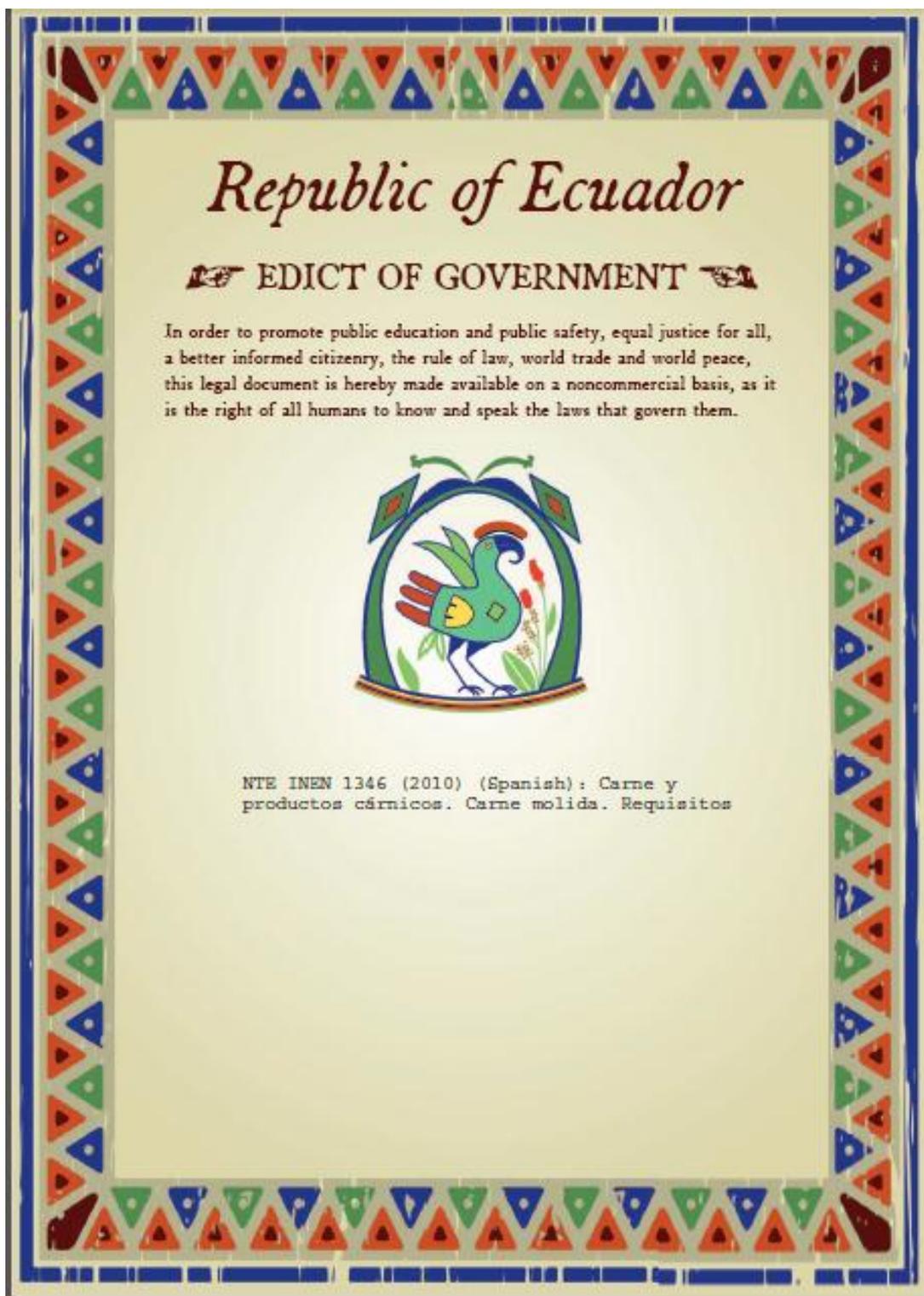
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

ANEXO 3 Ficha Técnica de inspección; Mercado “Oeste”

MERCADO: Oeste	FECHA: 28 de julio del 2014			NC: No Cumple		C: Cumple
Local	1	2	3	4	5	6
Limpieza del local	NC	NC	C	C	C	C
Limpieza del equipo	C	NC	NC	C	C	C
Uso de mandil limpio	C	C	C	NC	NC	C
Uso de cofia	C	NC	NC	NC	NC	NC
Manos y uñas limpias	C	C	NC	NC	C	C
Refrigeración	C	C	C	C	C	NC
Ausencia de plagas	C	C	C	C	C	C

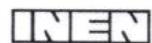
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

ANEXO 4 Norma INEN 1346:2010.



Fuente: Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN

CONTINÚA...



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1 346:2010
Primera revisión

CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. CARNE MOLIDA. REQUISITOS.

Primera Edición

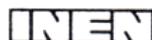
MEAT AND MEAT PRODUCTS. GROUND MEAT. REQUIREMENTS.

First Edition

DESCRIPTORES: Carne y productos cárnicos, carne molida, requisitos.
AL 03.02-411
CDU: 637.5
CIU: 3111
ICS: 67.120.10

CONTINÚA...

CDU: 637.5
ICS: 67.120.10



CIU:3111
AL 03.02-411

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. CARNE MOLIDA. REQUISITOS.	NTE INEN 1 346:2010 Primera revisión 2010-02
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la carne molida.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a la carne molida de animales de abasto destinados a consumo humano en puntos de comercialización.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Para efectos de esta norma se aplican las definiciones contempladas en la NTE INEN 2 346 y la que a continuación se detalla:</p> <p>3.1.1 <i>Carne molida</i>. Es la carne apta para el consumo humano, dividida finamente por procedimientos mecánicos y sin aditivo alguno.</p> <p style="text-align: center;">4. CLASIFICACIÓN</p> <p>4.1 De acuerdo con el contenido de grasa la carne molida se clasifica en tres tipo.</p> <p>4.1.1 <i>Tipo I.</i></p> <p>4.1.2 <i>Tipo II.</i></p> <p>4.1.3 <i>Tipo III</i></p> <p style="text-align: center;">5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS</p> <p>5.1 La carne molida debe presentar el color, olor y sabor característicos del producto, y debe estar exenta de cualquier color, olor, sabor y consistencia anormal.</p> <p>5.2 El producto no debe presentar alteraciones causadas por microorganismos o cualquier agente biológico, físico o químico y debe estar exento de materias extrañas.</p> <p>5.3 Todo el equipo que se ponga en contacto con las materias primas y el producto, debe estar limpio y sanitizado.</p> <p style="text-align: center;">6. REQUISITOS</p> <p>6.1 Requisitos específicos</p> <p>6.1.1 La carne que se utilice para carne molida debe cumplir con la NTE INEN 2 346.</p> <p>6.1.2 El proceso de elaboración debe efectuarse aplicando Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y cumplir con lo dispuesto en el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados.</p> <p>6.1.3 La carne molida debe estar exenta de sustancias conservantes, colorantes, y cualquier otro aditivo.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <hr/> <p>DESCRIPTORES: Carne y productos cárnicos, carne molida, requisitos.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno EB-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

CONTINÚA...

6.1.4 El producto no debe contener residuos de plaguicidas o sus metabolitos y Residuos de medicamentos veterinarios en cantidades superiores a los límites máximos establecidos por el Codex Alimentarius (CAC/MRL 1-2001 y CAC/MRL 02-2005).

6.1.5 La carne molida, debe conservarse a nivel de expendio en refrigeración (0°C a 4°C) o en congelación a -18°C.

6.1.6 La carne molida debe cumplir con los requisitos indicados en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos de la carne molida

REQUISITOS	UNIDAD	MIN	MAX	METODO DE ENSAYO
Grasa total				NTE INEN 778
TIPO I	%	-	15	
TIPO II	%	> 15	30	
TIPO III	%	>30	40	

6.1.7 La carne molida debe cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos para la carne molida

	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios mesófilos ufc/g	5	3	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	NTE INEN 1 529-5
<i>Escherichia coli</i> ufc/g	5	2	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	NTE INEN 1 529-8
<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g	5	1	$1,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	NTE INEN 1 529-14
Clostridium sulfito reductores ufc/g	5	1	$3,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^2$	NTE INEN 1 529-18
Salmonella/ 25 g	5		AUSENCIA	---	NTE INEN 1 529-15

7. INSPECCIÓN

7.1 Muestreo

7.1.1 El muestreo a nivel de expendio se realiza de acuerdo con la NTE INEN 776 e NTE INEN-ISO 2859-1.

7.1.2 La toma de muestras para el análisis microbiológico debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 1 529-2.

7.2 **Aceptación o rechazo.** Se acepta el producto si cumple con los parámetros establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

8. ROTULADO

8.1 Cuando la carne molida se expenda empacada, debe cumplir con los requisitos establecidos en el RTE INEN 022.

8.1.1 No debe tener leyendas de significado ambiguo, ni descripción de características del producto que no puedan ser comprobadas.

8.2 Se debe indicar claramente la manera de conservar el producto

8.3 En la etiqueta junto al nombre del producto se debe indicar el tipo al que corresponde.

(Continúa)

ANEXO 5 Método Oficial AOAC 998.08

AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (2000)

MICROBIOLOGICAL METHODS
Chapter 17, p. 39

without performing serological testing. If all 5 isolates are pigmented, report as less than (reciprocal of dilution factor) *E. coli* O157:H7/g or mL.

(a) *Slide agglutination test*.—Perform test on nonpigmented isolates as follows:

(1) Mark off 2 areas on clean glass microscope slide using wax pencil.

(2) Deposit drop of sterile saline into each area on slide.

(3) Emulsify material from TSA culture in both drops of saline, using enough material to make uniform turbid emulsion.

(4) Add one drop O157 antiserum to one of culture drops.

(5) Rock slide back and forth for ca 1 min, watching for agglutination to occur. Agglutination should only be recorded as positive if control drop remains smoothly emulsified.

Record agglutination result and discard any isolates that do not react in slide agglutination test with O157 antiserum. If all nonpigmented isolates are also not reactive to O157 antiserum, report as less than (reciprocal of dilution factor) *E. coli* O157:H7/g or mL.

(b) *H7 tube agglutination test*.—Perform on nonpigmented O157 positive isolates as follows (always include known positive culture with each series of tube agglutination tests to confirm correct functioning of reagents):

(1) Inactivate 1.0 mL TSTB culture by adding 20 μ L 37% formaldehyde (commercial full-strength solution). If 20 μ L pipet is not available, prepare 1:5 dilution of 37% formaldehyde in saline and transfer 0.1 mL diluted formaldehyde into TSTB culture.

(2) Dilute H7 antiserum in saline according to manufacturer's directions. Transfer 0.5 mL diluted H7 antiserum into sterile 13 \times 100 mm glass culture tube.

(3) Add 0.5 mL inactivated TSTB culture from (1) to the diluted antiserum (2). Shake tube gently to mix.

(4) Add 0.5 mL saline to remaining 0.5 mL inactivated TSTB culture (1) as a negative control. Shake tube gently to mix.

(5) Incubate both tubes 60–90 min in water bath at 50 \pm 1°C.

(6) Carefully remove the tubes from water bath and, without shaking tubes or disturbing contents, examine for evidence of agglutination in tube containing H7 antiserum, but not in negative control tube. If agglutination is present, record as positive result. If result is negative, proceed to (c).

(c) *Motility test*.—Perform only if H7 agglutination test, (b), is negative. Proceed as follows:

(1) Inoculate tube of motility agar by stabbing in center of tube. Incubate 18–24 h at 35°C.

(2) Examine for evidence of motility. Motile cultures will grow in diffuse pattern away from area of the stab, both within agar and on agar surface. Nonmotile cultures will grow only in immediate vicinity of the stab.

(3) Subculture motile cultures into fresh TSTB medium. Incubate 18–24 h at 35°C, and repeat H7 agglutination procedure, (b).

(4) Reinoculate nonmotile cultures into fresh motility agar. Incubate and examine as in (1) and (2).

If culture is still nonmotile after 3 attempts to induce motility, record as "nonmotile" for H7 result. If culture is motile but H7 agglutination test is still negative after 3 attempts, record as negative result.

Interpretation of Results

If isolates that are unpigmented on TSA and give positive reactions with O157 and H7 antisera are confirmed as *E. coli* O157:H7.

Determine proportion of the original 5 isolates that meet these criteria (e.g., 3/5), and multiply this fraction by presumptive score, E, to obtain confirmed score. Convert confirmed score to most probable number (MPN) index as follows:

$$\text{MPN} = 1600 \times \log_e [1600/(1600 - x)]$$

where x = number of *E. coli* O157:H7 positive squares.

Multiply MPN by reciprocal of dilution factor, round to 2 significant figures, and report as *E. coli* O157:H7/g or mL.

(2) Isolates that are unpigmented on TSA, give positive reaction to O157 antiserum, and are nonmotile are confirmed as *E. coli* O157:NM. Determine proportion of the original 5 isolates that meet these criteria and multiply this fraction by presumptive score, E, to obtain the confirmed score. Convert confirmed score to MPN index as follows:

$$\text{MPN} = 1600 \times \log_e [1600/(1600 - x)]$$

where x = number of *E. coli* O157:NM positive squares.

Multiply MPN by reciprocal of dilution factor, round to 2 significant figures, and report as *E. coli* O157:NM/g or mL.

Reference: *J. AOAC Int.* 81, 403 (1998).

17.4.01D

AOAC Official Method 998.08
Confirmed *Escherichia coli* Counts
in Poultry, Meats, and Seafood
Dry Rehydratable Film Method
Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate
First Action 1998

(Applicable to determination of confirmed *Escherichia coli* in poultry, meats, and seafood in 24 h.)

See Table 998.08 for the results of the interlaboratory study supporting the acceptance of the method.

A. Principle

Undiluted or diluted 1.0 mL test portions are added to plates of dry medium and cold-water-soluble gel. Pressure, when applied to plastic spreader placed on overlay film, spreads suspension evenly over ca 20 cm² growth area. Gelling agent is allowed to solidify and plates are incubated and counted. The Petrifilm *E. coli*/Coliform (EC) Count Plate is a ready-made culture medium system that contains modified violet red bile (VRB), nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, a tetrazolium indicator that facilitates colony enumeration, and the glucuronidase indicator, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide. Glucuronidase, which is produced by most *E. coli*, reacts with the indicator dye to form a blue precipitate around the colony. Thus, glucuronidase-positive *E. coli* appear as blue colonies with gas. Non-*E. coli* coliforms that are glucuronidase-negative appear as red colonies with gas.

B. Apparatus and Reagents

(a) *Petrifilm EC Plates*.—Plates contain VRB nutrients conforming to American Public Health Association standards as given in *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd Ed., 1992, American Public Health Association, Washington, DC 20001-3710, USA, cold-water-soluble gelling agent, 2,3,5-triphenyltetrazolium chlorine indicator (for coliforms), and

© 2000 AOAC INTERNATIONAL

Fuente: AOAC Official Methods of Analysis

CONTINÚA...

Table 998.08 Interlaboratory study results of Petrifilm™ EC Plate and MPN for detection of *E. coli* in foods

Level	Petrifilm <i>E. coli</i> /Coliform Count Plate								Most probable number							
	<i>n</i> ^a	Mean ^b	<i>s_f</i>	RSD _{<i>n</i>} , %	<i>r</i>	<i>s_R</i>	RSD _{<i>R</i>} , %	<i>R</i>	<i>n</i> ^a	Mean	<i>s_f</i>	RSD _{<i>n</i>} , %	<i>r</i>	<i>s_R</i>	RSD _{<i>R</i>} , %	<i>R</i>
Fish																
Low	11	2.32	0.23	9.91	0.65	0.42	18.10	1.18	11	2.42	0.27	11.16	0.76	0.58	23.97	1.64
Medium	11	2.95	0.14 ^c	4.75	0.39	0.32	10.88	0.90	11	3.11	0.37	11.90	1.04	0.51	16.45	1.44
High	11	3.77	0.12 ^c	3.18	0.31	0.27	7.16	0.76	8	3.71	0.27	7.28	0.82	0.32	8.44	0.90
Turkey																
Low	11	2.06	0.24	11.65	0.67	0.38	18.45	1.06	11	2.32	0.37	15.95	1.04	0.38	16.38	1.07
Medium	10	2.55	0.10 ^c	3.92	0.28	0.22	8.63	0.62	11	2.73	0.39	14.29	1.10	0.45	16.48	1.27
High	10	3.15	0.09 ^c	2.86	0.25	0.19	6.03	0.54	11	3.36	0.34	10.12	0.96	0.35	10.42	0.99
Beef																
Low	11	2.08	0.14 ^c	6.73	0.39	0.26	12.50	0.73	11	2.17	0.46	21.20	1.30	0.49	22.58	1.38
Medium	11	2.74	0.15 ^c	5.47	0.42	0.25	9.12	0.71	11	2.76	0.61	22.10	1.72	0.61	22.10	1.72
High	11	3.45	0.32	9.28	0.90	0.40	11.59	1.13	10	3.61	0.32	8.86	0.90	0.41	11.36	1.16

^a No. of laboratories with complete data.

^b Log *E. coli* count/g.

^c Significantly greater repeatability ($p < 0.01$).

5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (for *E. coli*) as an indicator of glucuronidase activity. This allows presence of coliforms and *E. coli* to be read on the same plate. (Available from 3M Microbiology Products, 3M Center Bldg., 275-5W-05, St Paul, MN 55144-1000, USA.)

(b) *Plastic spreader*.—Provided with Petrifilm plates; has a recessed side and a smooth flat side, designed to spread test portion evenly over plate growth area.

(c) *Pipets*.—Calibrated for bacteriological use, or plate loop continuous pipetting syringe to deliver 1.0 mL (with 0.1 mL graduation). Automatic pipets may be used. Pipets must accurately deliver required volume. Do not use <10% of their total volume. For example, to deliver 1 mL, do not use pipet >10 mL; to deliver 0.1 mL, do not use pipet >1 mL.

(d) *Colony counter*.—Standard apparatus, Quebec model preferred, (Fisher Laboratory Products, 200 Park Ln, Pittsburgh, PA 15275, USA, No. 07-908-7), or one providing equivalent magnification and visibility.

(e) *Dilution water*.—See 940.36A(a) (see 17.1.02).

C. Test Suspension

Prepare food suspensions as described in Method 966.23B (see 17.2.01). Weigh 50 g test portion in sterile blender jar. Add 450 mL diluent and blend 2 min in a high-speed blender jar at 10 000 to 12 000 rpm. If entire test sample contains <50 g, weigh a portion of the test sample and add sterile diluent to make a 1 + 10 dilution. Prepare all decimal dilutions with 90 mL sterile diluent plus 10 mL previous dilution unless otherwise specified. Shake all dilutions vigorously 25 × in 30 cm arc for 7 s.

D. Analysis

Place dry Petrifilm EC Plate on flat surface. Lift top film and inoculate 1 mL test suspension onto center of film base. Carefully place top film down onto inoculum. Distribute suspension over 20 cm² growth area with downward pressure on center of plastic spreader device (flat side down). Leave plate undisturbed for a minimum of

1 min to permit gel to solidify. Incubate plates 24 ± 1 h at 35°C. In incubator, place plates in horizontal position, clear side up, in stacks not exceeding 20 units. Count plates promptly after incubation period. If impossible to count at once after required incubation, store plates at below -15°C no longer than 1 week. This should be avoided as routine practice.

Petrifilm EC Plates can be counted on a standard colony counter or other magnified light source. Do not count colonies on the foam dunn because they are removed from the selective influence of the medium. Do not count artifact bubbles that may be present. Most *E. coli* colonies appear as blue colonies associated with gas bubbles within one colony diameter. All other coliforms appear as red colonies that have one or more gas bubbles associated (within one colony diameter) with them. Plates with 10–150 colonies are to be selected. If no plate has at least 10 blue colonies with gas, the exact count on the least dilute suspension is recorded. If all plates have counts >150, the estimated count is determined by counting the number of colonies in one or more representative squares, determining the average number per square, and then multiplying the average number by 20 (circular growth area is ca 20 cm²). If the plates are too crowded to estimate counts, the count is reported as too numerous to count.

Reference: *J. AOAC Int.* 82, 73(1999).

17.4.02

AOAC Official Method 982.36 Invasiveness of Mammalian Cells by *Escherichia coli* Microbiological Method First Action 1982 Final Action 1987

A. Principle

Invasiveness is detected by intracellular growth on monolayer of HeLa cells on slides. To minimize extracellular bacterial multiplication

ANEXO 6 Certificado de Análisis del Petrifilm 3M.

Product Manufacturing Certificate

Certificate of Analysis

Product: 6404 or 6414 or 6444 3M™ Petrifilm™ E. coli/Coliform Count Plates

Batch: 2015-07 KD

Stock Number: 70-2005-7213-2 or 70-2005-9014-2 or 70-2007-7073-6

Organism Tested	Minimum growth	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	≥ -3.0*, blue with gas	Passes
<i>Enterobacter amnigenus</i> ATCC 51816	≥ -3.0*, red with gas	Passes
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 14506	None allowed	No growth

*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar media

ISO 11133-2 Performance Testing

Organism Tested	Criteria	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	PR** ≥ 0.5	Passes
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Total Inhibition	Passes
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Atypical of Coliform Colonies	Passes

**Productivity Ratio

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency and is an FDA registered drug and device site.

Created by Authorized Quality Personnel:

Holly Hawkinson

01/29/14

MANUFACTURE DATE: JAN 2014 EXPIRATION DATE: JUL 2015

3M Health Care
PO Box 5227
Brookings, SD 57006-5227
1-800-328-1671

Version 6
08/16/2011

ANEXO 7 Carta de Entrega de Cepas Bacterianas Control.

**Ministerio
de Salud Pública**
Instituto Nacional de Investigación en
Salud Pública - INSP
LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA

MEMORANDUM No 211

Para: Q.F. César Muñoz Iturralde/Decano de Facultad de Ciencias
Químicas-Universidad de Guayaquil

De: Dra. Yolanda Narváez San Martín/Líder del Subproceso de Bacteriología

Fecha: 16/Julio/2014

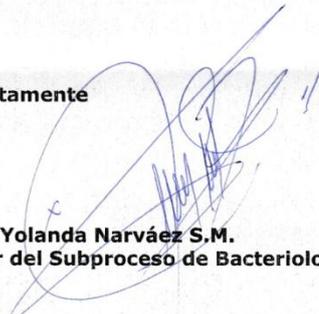
Asunto: Entrega de cepas

Por medio de la presente se hace la entrega de cepas solicitadas por Usted,
lo cual se detalla a continuación:

- *Escherichia coli* ATCC 25922

Sin otro particular, me suscribo de usted

Atentamente


Dra. Yolanda Narváez S.M.
Líder del Subproceso de Bacteriología

Av. Julian Coronel 905 entre Esmeraldas y José Mascote
Fax: 593 - 4 - 2239189
Telf. CONM.: 288096 - 2288097 - 2281200 - 2282281 - 2281542
2287428 - 2280405 - 2281539 - 2288207
www.inspi.gob.ec

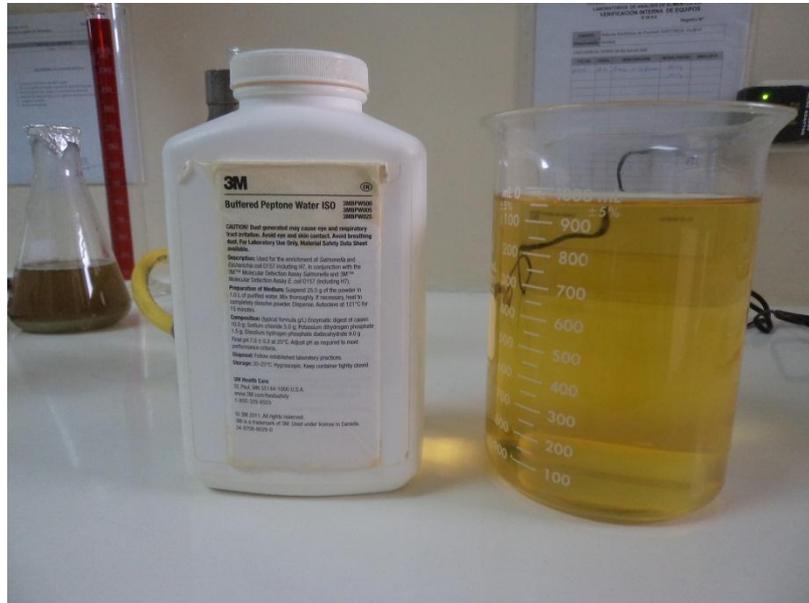
ANEXO 8 Registro diario de Temperatura de Incubación.

CONTROL DIARIO DE TEMPERATURA		
Criterio de aceptación de temperatura 35°C ± 1°C (según el método AOAC 991.08)		
MES DE JULIO - 2014		
FECHA	HORA	TEMPERATURA (°C)
07-07-14	14:30	35
08-07-14	14:20	34
09-07-14	14:25	36
10-07-14	14:50	35
11-07-14	14:30	35
14-07-14	15:00	35
15-07-14	14:30	35
16-07-14	14:30	35
17-07-14	15:00	35
21-07-14	16:00	37
22-07-14	14:30	36
28-07-14	14:30	34
29-07-14	14:30	34
30-07-14	14:30	35
31-07-14	15:00	35
MES DE AGOSTO -2014		
04-08-14	15:30	35
05-08-14	15:00	36
06-08-14	14:30	36
07-08-14	15:30	35
08-08-14	14:00	35
07-08-14	14:00	36
08-08-14	14:30	34
10-08-14	15:00	34
11-08-14	15:00	33
12-08-14	15:00	34
13-08-14	14:30	35
14-08-14	15:00	35
15-08-14	14:30	35
16-08-14	14:30	35
20-08-14	14:30	36
21-08-14	15:00	37
23-08-14	15:00	36
25-08-14	15:00	36
26-08-14	16:00	35
27-08-14	14:30	35
29-08-14	14:30	34
Equipo: Incubadora Térmica		
Ubicación: Laboratorio Microbiología II, Facultad de Ciencias Químicas. UG.		

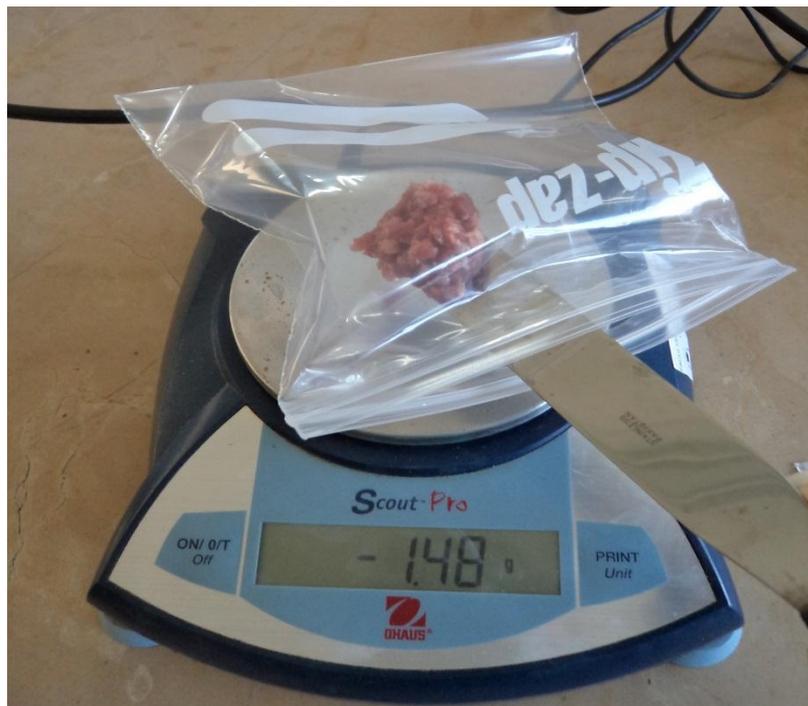
Elaborado por: Egresado Luis Vicente Jara.

FOTOGRAFIAS

FOTOGRAFÍA 1 Medio de dilución usado; Agua de peptona tamponada.



FOTOGRAFÍA 2 Balanza Analítica, pesado de la porción de muestra para el análisis.



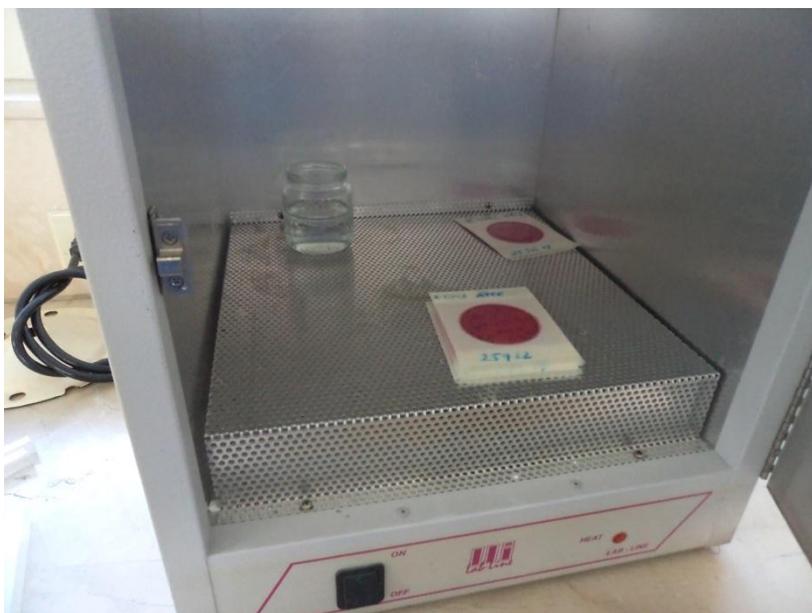
FOTOGRAFÍA 3 Inoculación en la placa Petrifilm.



FOTOGRAFÍA 4 Dilución de la muestra con agua de peptona en fundas estériles.

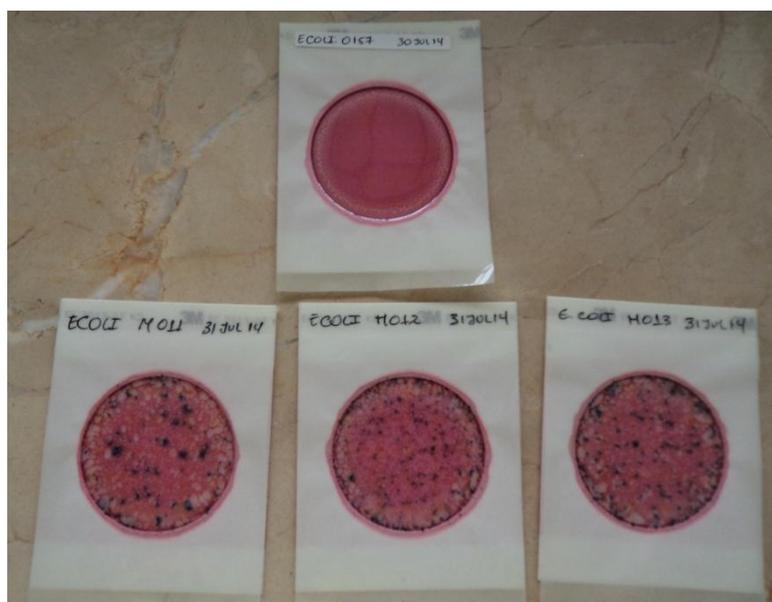


FOTOGRAFÍA 5 Incubadora Microbiológica.



FOTOGRAFÍA 6 Resultados, Placas 1 a la 4.

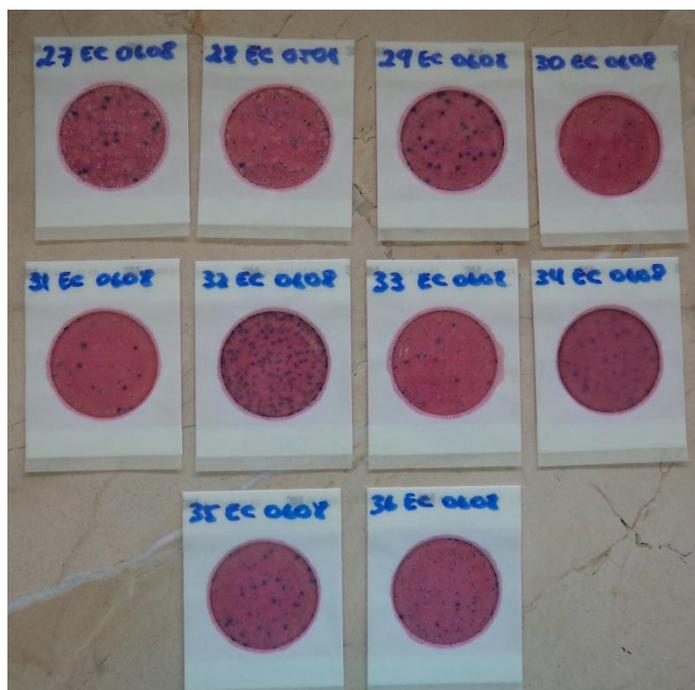


FOTOGRAFÍA 7 Resultados, Placas 5 a la 10.**FOTOGRAFÍA 8 Resultados, Placas 11 a la 13.**

FOTOGRAFÍA 9 Resultados, Placas 14 a la 26.



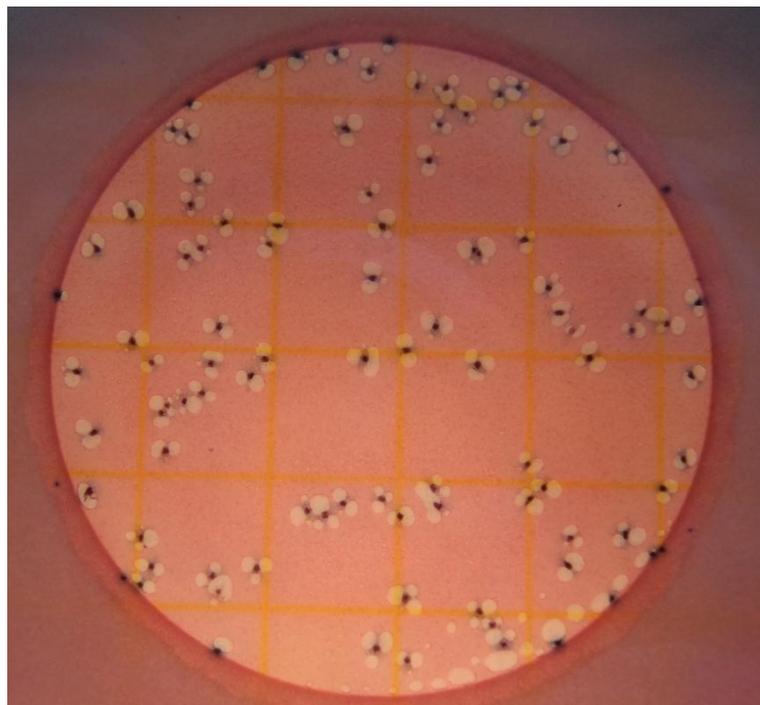
FOTOGRAFÍA 10 Resultados, Placas 27 a la 36



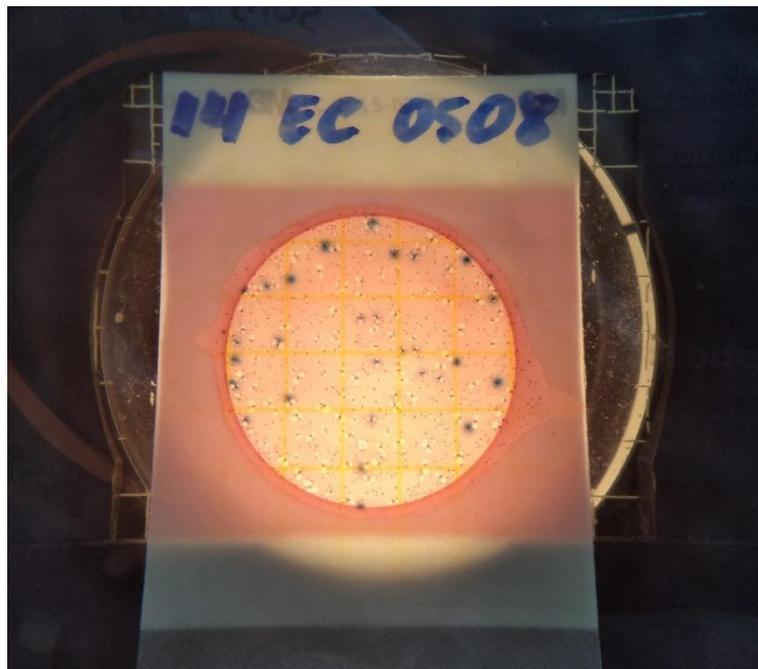
FOTOGRAFÍA 11 Colonias de E. coli, conteo = 28 UFC.



FOTOGRAFÍA 12 Cepa E.coli ATCC Inoculada en placa Petrifilm.



FOTOGRAFÍA 13 Placa vista bajo la luz del contador de colonias.



FOTOGRAFÍA 14 Transporte de muestras, caja aislante de temperatura con sus unidades de enfriamiento.



FOTOGRAFÍA 15 Laboratorio de Microbiología Facultad de Ciencias Químicas.



FOTOGRAFÍA 16 Mercado Municipal “José Mascote”.



FOTOGRAFÍA 17 Instalaciones del Mercado Municipal “José Mascote”.



FOTOGRAFÍA 18 Producto Exhibido al aire libre, Mercado “José Mascote”



FOTOGRAFÍA 19 Mercado Municipal “Oeste”.



FOTOGRAFÍA 20 Producto exhibido en refrigeración, local del Mercado “Oeste”



FOTOGRAFÍA 21 Proceso de molido de la carne, Mercado “Oeste”.



FOTOGRAFÍA 22 Mercado Municipal “4 Manzanas”.



FOTOGRAFÍA 23 Instalaciones del Mercado Municipal “4 Manzanas”.



FOTOGRAFÍA 24 Productos cárnicos exhibidos al aire libre, Mercado “4 Manzanas”.



FOTOGRAFÍA 25 Máquina para el molido de la carne, Mercado “4 Manzanas”.

