



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS CARNES MOLIDAS
EXPENDIDAS EN EL MERCADO LA CONDAMINE DE LA
CIUDAD DE RIOBAMBA”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: HENRY DAVID JARA YEDRA

TUTOR: DRA. SANDRA ESCOBAR

Riobamba-Ecuador

2016

©2016, Henry David Jara Yedra

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos por cualquier medio o procedimientos, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

El tribunal de tesis certifica que: El trabajo de investigación: “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS CARNES MOLIDAS EXPENDIDAS EN EL MERCADO LA CONDAMINE DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA”, de responsabilidad del señor Henry David Jara Yedra, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Sandra Escobar

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Ana Karina Albuja

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Carlos Espinoza

PRESIDENTE TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA

SISBIB ESPOCH

NOTA TRABAJO ESCRITO

.....

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Henry David Jara Yedra, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación

Riobamba 10 de Febrero del 2016

HENRY DAVID JARA YEDRA

060431751-1

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la vida y haberme enseñado que con dedicación, sacrificio y perseverancia todo es posible.

A mi madre Janeth, la mujer que es mi ejemplo, mi motor y pilar fundamental de mi vida; aquella que se lo debo todo, lo que soy y seré, la persona más abnegada y luchadora de este mundo que me enseñó, que a pesar de las adversidades puedes llegar lejos, a mis hermanos, Dennis y Juan Diego por su apoyo incondicional y constante.

A mi abuelita Mercedes que desde el cielo siempre está cuidándome y velando por mí en cada paso que doy, a mis tíos Víctor, Felipe, Marcelo y José por el cariño amor y apoyo permanente.

A mis amigos, que han sido claves para llegar a culminar esta meta y darme ese aliento para no decaer.

“No fue fácil pero lo logré”

Henry

AGRADECIMIENTO

A mi Dios por darme la oportunidad de conocer lo hermoso que es vivir y compartir.

A mi madre, por su esfuerzo y dedicación, que gracias a ello me ayudo a alcanzar el sueño de culminar mi carrera profesional.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por darme la oportunidad de formarme como profesional y permitirme cumplir una logro más.

A la Dra. Sandra Escobar, Doc., gracias por todas sus enseñanzas, consejos, apoyo y la confianza brindada a lo largo de toda mi carrera universitaria.

Henry

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN.....	xiv
SUMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I	
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes de la Investigación.....	3
1.2. Alimentos.....	6
1.2.1. <i>Historia.....</i>	<i>7</i>
1.2.2. <i>Actividad del agua.....</i>	<i>8</i>
1.2.3. <i>pH.....</i>	<i>10</i>
1.2.4. <i>Enfermedades de origen alimentario.....</i>	<i>10</i>
1.2.4.1. <i>Clasificación de los alimentos respecto al grado de alteración.....</i>	<i>10</i>
1.2.4.2. <i>Clasificación de los alimentos el riesgo.....</i>	<i>11</i>
1.2.4.3. <i>Clasificación de los alimentos peligrosos.....</i>	<i>12</i>
1.2.5. <i>Enfermedades transmitidas por alimentos ETA´s.....</i>	<i>12</i>
1.2.6. <i>Infecciones de origen alimentario.....</i>	<i>13</i>
1.2.6.1. <i>Escherichia coli.....</i>	<i>14</i>
1.2.6.2. <i>Campilobacteriosis.....</i>	<i>14</i>
1.2.6.3. <i>Salmonelosis.....</i>	<i>15</i>
1.2.6.4. <i>Shigelosis.....</i>	<i>15</i>
1.2.6.5. <i>Listeria monocytogenes (listerosis).....</i>	<i>15</i>
1.2.7. <i>Intoxicaciones alimentarias.....</i>	<i>16</i>
1.2.7.1. <i>Intoxicación por bacterias estafilocócicas.....</i>	<i>17</i>
1.2.7.2. <i>Intoxicación por Clostridium botulinum “botulismo”.....</i>	<i>17</i>
1.2.7.3. <i>Micotoxicosis.....</i>	<i>18</i>
1.2.8. <i>Toxico-Infecciones de origen alimentario.....</i>	<i>18</i>
1.2.8.1. <i>Vía de contaminación.....</i>	<i>18</i>
1.2.9. <i>Carne.....</i>	<i>19</i>
1.2.9.1. <i>Derivados cárnicos o cecinas.....</i>	<i>20</i>
1.2.9.2. <i>Composición química de la carne.....</i>	<i>21</i>
1.2.9.3. <i>Valor nutricional.....</i>	<i>23</i>

1.2.9.4.	<i>Características organolépticas</i>	23
1.2.9.5.	<i>Carne molida</i>	24
1.2.9.6.	<i>Microbiología de la carne</i>	25
1.2.9.6.1.	Vías de contaminación.....	25
1.2.9.7.	<i>Alteraciones de la carne</i>	28
1.2.9.7.1.	Degradación por organismos aerobios.....	28
1.2.9.7.2.	Degradación por organismos anaerobios.....	29
1.2.9.8.	<i>Análisis microbiológico de Carnes</i>	30
1.2.10.	<i>Microorganismo indicadores</i>	31
1.2.10.1.	<i>Recuento de microorganismos viables “Aerobios mesófilos”</i>	31
1.2.10.2.	<i>Recuento de mohos y levaduras</i>	32
1.2.10.3.	<i>Bacterias entéricas indicadoras Escherichia coli, coliformes, Enterobacteriaceae</i>	32
1.2.10.4.	Microorganismos índice e indicador.....	32
1.2.11.	<i>Recuento de microorganismos indicadores</i>	33
1.2.11.1.	<i>Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del Número más probable (NMP)</i>	34
1.2.11.2.	<i>Recuento mediante placas 3M Petrifilm</i>	34
1.2.12.	<i>Medios de Cultivo</i>	36
1.2.12.1.	<i>Tipos de medio de cultivo</i>	36
1.2.12.2.	<i>Agar Eosina azul de metileno EMB</i>	37
1.2.12.3.	<i>Agar Standard Methods</i>	37
1.2.12.4.	<i>Agar Manitol</i>	37
1.2.13.	<i>Diluyentes</i>	38
1.2.13.1.	<i>Agua de peptona</i>	38
1.2.14.	<i>Mercado “La Condamine”</i>	39

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	40
2.1.	Lugar de investigación	40
2.2.	Factores de estudio	40
2.2.1.	<i>Población de estudio y localización del muestreo</i>	40
2.3.	Materiales, equipos y reactivos	40
2.4.	Metodología	42
2.5.	Muestreo	43
2.6.	Análisis microbiológico	43
2.6.1.	<i>Métodos y técnicas</i>	43

2.6.2.	<i>Recuento en placas Petrifilm</i>	44
2.6.2.1.	<i>Recuento de Escherichia coli/coliformes totales, Staphylococcus aureus</i>	46
2.6.2.2.	<i>Recuento de Salmonella</i>	48
2.6.3.	<i>Determinación de microorganismos coliformes por el número más probable (NMP)</i>	49
2.6.4.	<i>Prueba confirmatoria de coliformes</i>	51
2.6.5.	<i>Determinación del contenido microbiano de interés sanitario</i>	51
2.6.6.	<i>Prueba de confirmación de Staphylococcus aureus</i>	52
2.7.	Tinción Gram	52
CAPÍTULO III		
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
3.1.	Escherichia coli	54
3.1.1.	<i>Análisis estadístico</i>	54
3.1.2.	<i>Tabulación de datos</i>	55
3.2.	Coliformes totales	58
3.2.1.	<i>Análisis estadístico</i>	58
3.2.2.	<i>Tabulación de datos</i>	59
3.3.	Staphylococcus aureus	60
3.3.1.	<i>Análisis estadístico</i>	60
3.3.2.	<i>Tabulación de datos</i>	61
3.4.	Salmonella	63
3.4.1.	<i>Análisis estadístico</i>	62
3.4.2.	<i>Tabulación de datos</i>	64
3.5.	Pruebas confirmatorias	65
3.5.1.	<i>Bacterias de interés sanitario (Standard Methods)</i>	65
3.5.2.	<i>Coliformes (NMP)</i>	66
3.5.3.	<i>Staphylococcus aureus (Manitol)</i>	67
3.6.	Resultados obtenidos del análisis microbiológico de carne molida	67
CONCLUSIONES		70
RECOMENDACIONES		72
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1Propiedades funcionales de los alimentos.....	7
Tabla 1-2Clasificación de los alimentos respecto a su grado de alteración.....	11
Tabla 3-1Clasificación de los alimentos peligrosos.....	12
Tabla 4-1Enfermedades producidas por consumir carne en mal estado.....	13
Tabla 5-1Tipos y características de los derivados cárnicos.....	20
Tabla 6-1Composición química de la carne.....	21
Tabla 1-3Crecimiento de colonias en agar Standard Methods.....	65
Tabla 2-3Crecimiento de colonias en agar Manitol.....	67
Tabla 3-3Valores obtenidos del análisis microbiológico de carne.....	67
Tabla 4-3Promedio de UFC/g del análisis microbiológico de carne molida.....	68

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1-1Causa de morbilidad general-Ecuador 2009.....	6
Figura 2-1Hombre de las cavernas; caza y faenamiento de carne.....	7
Figura 3-1Actividad del agua, límites para el crecimiento de organismos patógenos transmitidos por los alimentos.....	9
Figura 4-1pH mínimo para el crecimiento de organismos patógenos transmitidos por los alimentos.....	10
Figura 5-1Clasificación de los ETA's.....	13
Figura 6-1Contaminación alimentaria de <i>Listeria monocytogenes</i>	16
Figura 7-1Intoxicación alimentaria.....	18
Figura 8-1Vía de contaminación de los ETA's.....	19
Figura 9-1Alteraciones de la carne.....	20
Figura 10-1Porcentajes de la composición nutricional de la carne.....	22
Figura 11-1Composición de la carne.....	22
Figura 12-1Valores microbiológicos en carnes frescas.....	30
Figura 13-1Requisitos microbiológicos para carne molida.....	31
Figura 14-1Recuento de microorganismos en placas Petrifilm.....	35
Figura 15-1Ubicación del mercado La Condamine.....	39
Figura 1-2Metodología para el análisis microbiológico de carne molida.....	42
Figura 2-2Protocolo de análisis microbiológico de carnes molidas expandidas en el mercado La Condamine de la ciudad de Riobamba.....	44
Figura 3-2Metodología para el recuento en placas Petrifilm.....	46
Figura 4-2Metodología para el recuento de <i>Escherichia coli</i> /coliformes totales y <i>Staphylococcus aureus</i> en placa Petrifilm.....	46
Figura 5-2Metodología para el recuento de <i>Salmonella</i> en placa Petrifilm.....	49
Figura 6-2Metodología para la determinación de coliformes mediante el NMP.....	50
Figura 7-2Índice del NMP de bacterias cuando se utiliza tres alícuotas de 1 cm ³ por dilución.....	50
Figura 8-2Proceso para la determinación de coliformes mediante la técnica del NMP.....	51

Figura 1-3.....	Diferencia significativa de <i>Escherichia coli</i> en muestras de las tercenas del mercado.....	55
Figura 2-3.....	Porcentaje de presencia de <i>Escherichia coli</i> en tercenas del mercado.....	56
Figura 3-3.....	Cuantificación de <i>Escherichia coli</i> en muestras de tercenas del mercado.....	56
Figura 4-3.....	Estimación de <i>Escherichia coli</i> en comparación con la norma NTE INEN 1346:2010.....	57
Figura 5-3.....	Porcentaje de presencia de coliformes en tercenas del mercado.....	59
Figura 6-3.....	Cuantificación de Coliformes por muestreos en tercenas del mercado.....	59
Figura 7-3.....	Diferencia significativa entre muestras del mercado para <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Figura 8-3.....	Porcentaje de la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en las tercenas del mercado	61
Figura 9-3.....	Cuantificación de <i>Staphylococcus aureus</i> por muestreos en tercenas del mercado.....	62
Figura 10-3.....	Estimación de <i>Staphylococcus aureus</i> en comparación con la norma NTE INEN 1346:2010.....	62
Figura 11-3.....	Cuantificación de Salmonella por muestreos en tercenas del mercado.....	64
Figura 12-3.....	Porcentaje de Salmonella por muestreo en tercenas del mercado.....	65
Figura 13-3.....	Determinación de Coliformes mediante el Número más probable (NMP).....	66

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A.....**Muestras de carne molida utilizados para el análisis microbiológico
- Anexo B.....**Recuento de Coliformes/*Escherichia coli* en placa Petrifilm
- Anexo C.....**Recuento de *Staphylococcus aureus* en placa Petrifilm
- Anexo D.....**Disco de confirmación *Staphylococcus* en placa Petrifilm (Placas Staph Express)
- Anexo E.....**Medio de enriquecimiento base y suplemento para Salmonella (*Salmonella Express*)
- Anexo F.....**Recuento de Salmonella en placa Petrifilm (*Salmonella Express*)
- Anexo G.....**Recuento de coliformes técnica del NMP (Número más probable)
- Anexo H.....**Prueba de confirmación de *Escherichia coli* en agar Eosina azul de metileno
- Anexo I.....**Prueba de confirmación de *Staphylococcus aureus* en agar Manitol
- Anexo J.....**Prueba de confirmación de colonias de interés sanitario en agar Standard Methods
- Anexo K.....**Morfología microscópica de Enterobacterias; Bacilos Gram (-) [100x]
- Anexo L.....**Material de difusión dirigido a las personas que expenden el producto cárnico en el mercado

RESUMEN

El análisis microbiológico de las carnes molidas expandidas en el mercado popular “La Condamine” de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo tiene como objetivo estudiar la calidad microbiana de este derivado cárnico, y estimar en qué condiciones higiénico-sanitarias se encuentra este alimento perecedero y determinar si es apto para el consumo humano. El estudio consistió en analizar la carne molida de siete puntos de expendio al interior del mercado; el muestreo se realizó aleatoriamente y por triplicado de cada muestra durante tres sábados consecutivos, tomando como referencia la Norma NTE INEN 1346:2010. Para la cuantificación de la carga microbiana se analizó Coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y Salmonella, mediante la técnicas de detección cualitativas por Petrifilm™ y las Normas Técnicas correspondientes; se manejó mediante el procedimiento de diluciones sucesivas para facilitar la cuantificación (10^{-1} hasta 10^{-4}), posterior a la incubación y presencias de unidades formadoras de colonias UFC/g se hicieron pruebas confirmatorias de los microorganismos en agar Manitol, Eosina azul de metileno y Standard Methods, para el análisis estadístico se aplicó análisis de varianzas ANOVA de un factor ($p > 0.05$). Los resultados obtenidos incumplen con los requerimientos establecidos por la norma para carne molida NTE INEN 1346:2010; hallándose en valores superiores a los límites microbiológicos, para *Escherichia coli* presenta 3.2×10^5 UFC/g; Coliformes totales 2.4×10^6 UFC/g; *Staphylococcus aureus* 4.7×10^5 UFC/g y para Salmonella Presencia/25g respectivamente, estableciendo que puede ser una fuente de infección de ETA's (enfermedades transmitidas por alimentos), por lo que es necesaria la implementación de control periódico por parte del Ministerio de Salud con profesionales capacitados y técnicos, para disminuir los riesgos de la salud pública.

Palabras Clave: <CARNE MOLIDA>, <CONDICIONES HIGIÉNICO-SANITARIAS>, <UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS [UFC/g]>, <TECNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE>, <DILUCIÓN DE SUSTANCIAS QUIMICAS>.

SUMMARY

The microbiological analysis of ground meats sold in the popular market “La Condamine” in Riobamba city, Chimborazo province aims to study the microbial quality of the product, and estimate how sanitary conditions of this perishable food are and determine if it is suitable for human consumption. The study was to analyze the ground beef seven points of sale into the market; sampling of each sample was randomly and in triplicate during three consecutive Saturdays, with reference to the Standard NTE INEN 1346:2010. For quantification of the microbial load Coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and Salmonella were analyzed by the qualitative detection techniques Petrifilm and corresponding Technical Standards; it was handled by the method of successive dilutions to facilitate quantification (10^{-1} to 10^{-4}), confirmatory testing of microorganisms were made in agar Mannitol, eosin methylene blue and Standards Methods after incubation and presence of colony forming units CFU/g; for statistical analysis ANOVA of one factor was applied ($p > 0.05$). The results fail to meet the requirements established by the NTE INEN 1346:2010 standard for ground beef, being in excess of microbiological limit values *Escherichia coli* has 4.7×10^5 CFU/g; total coliform 2.4×10^6 CFU/g; *Staphylococcus aureus* 4.7×10^5 CFU/g and Salmonella Presents/25g respectively, establishing which can be a source of infection for ETA's (foodborne illness), so that the implementation of regular monitoring is required by the Ministry of Health through trained technical professionals to reduce public health risks.

Keywords: <GROUND BEEF>, <SANITARY CONDITIONS>, <COLONY FORMING UNITS CFU/g>, <THE MOST PROBABLE NUMBER TECHNIQUE>, <DILUTION OF CHEMICALS>.

INTRODUCCIÓN

Situación Problemática

En la actualidad, la insalubridad simboliza un problema de salud para el hombre desde los preludios de la historia, desencadenando problemas sanitarios y salud pública en la población, sin embargo las autoridades competentes tienen por obligación velar por la salubridad del abasto de alimentos, la existencia de enfermedades de transmisión alimentaria sigue y seguirá siendo un foco de infección en la salud a nivel mundial.

La Organización Mundial de la Salud OMS, reconoce que los ETA's constituyen uno de las complicaciones más prevalentes en la población, se estima que en el año se desarrollan 1.2 billones enfermedades diarreicas que anualmente fallecen 1.8 millones de individuos a causa de patologías diarreicas, que derivan en muchos de los casos a la ingesta de alimentos no inocuos y agua no potable. (Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos, 2007, pág. 4)

Las enfermedades de transmisión alimentaria enrolan un extenso espectro de padecimientos e instauran un problema de salud que se va magnificando en todo el mundo por contaminación de los alimentos por agentes biológicos, físicos o químicos. Y se puede originar a lo largo de la cadena agro-alimentaria (desde el productor hasta que llega al consumidor). (Organización Mundial Salud: www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/)

Las ETA'S (enfermedades transmitidas por alimentos); la OMS la define como *“el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos o no biológicos en cantidades tales que afecten a la salud del consumidos en forma aguda crónica, a nivel individual o de grupos de personas.”* Primordialmente ocasionan daño a nivel del tracto intestinal por la ingesta de alimentos que poseen una cantidad considerable de microorganismos patógenos o por sustancias tóxicas que se genera por el desarrollo y multiplicación del agente biológico. (González citado en OMS, 2009)

La FDA, manifiesta que 1 de cada 6 personas padecen de enfermedades transmitidas por alimentos, y anualmente produce 128 000 hospitalizaciones y 3000 muertes en los Estados Unidos de Norte América, del 2% al 3% de enfermedades transmitidas por alimentos puede desencadenar una enfermedad a largo plazo.

(FDA: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM187529.pdf>)

Según en el informe de la Organización Mundial de la Salud, en América Latina y el Caribe 21 países notificaron 10.400 brotes de ETA's y el agua, produciéndose alrededor de 400.000

enfermedades y 500 muertes entre 1993 y 2002. Comunicado mediante el sistema de Información Regional para la vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA) de la OPS/OMS. (SIRVETA: <http://www.panalimentos.org/sirveta/e/index.htm>).

En el Ecuador mediante el último informe estadístico del Ministerio de Salud Pública “MSP”; demuestra según los resultados obtenidos que en el país las Intoxicaciones alimentarias se han incrementado. Mientras que en el mes de abril del 2013 se registraron 1 209 casos, el análisis en el mes de abril del 2014 se ha registrado 3 418, de esta cifra 1 300 son personas adultas de entre 20 a 49 años. Las provincias con mayor incidencia es Guayas 920 casos, seguido de Pichincha con 713 casos. (Diario PP El Verdadero, 2014)

La carne molida al ser un derivado cárnico de gran demanda en la población, sobre todo en la juventud, se utiliza principalmente en “hamburguesas”, que en la actualidad se encuentra arraigada a nuestra sociedad por lo que su consumo es elevado, por sus atributos que presenta como su valor biológico, digestibilidad, fácil preparación y su costo relativamente asequible a la economía. Pero representa un eminente peligro para desencadenar una enfermedad transmitida por alimentos ETA’s, producidas por falta de cuidados asépticos en la manipulación de la carne, una mala cocción, escasa preservación de la cadena de frío, y precarias condiciones higiénico-sanitarios de lugares de expendio.

La carne molida o picada, puede ser susceptible de contaminación resultado del mal procesamiento y mala manipulación, que tiende a contaminar al producto cárnico, favoreciendo a un medio óptimo para el desarrollo de bacterias y hongos patógenos para el ser humano, poniendo en riesgo la salud del consumidor originando disentería y problemas gastrointestinales. Mediante el análisis microbiológico nos permitió dar un panorama de la microbiota que posee este producto cárnico y verificar si es inocuo para el consumo humano, y descartar de un posible foco de infección de enfermedades transmitidas por alimentos, al mismo tiempo de informar a las autoridades sobre la salubridad de este alimento que se expende a diario.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1. Antecedentes de la Investigación

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos se conocían desde época remotas, por el año 2000 A.C, Moisés habría dictado leyes sobre aquellos alimentos que se podían ingerir y aquellos que no, asimismo se encontraba legislado los procesos de preparación y de la higiene que se debía tener con el lavado de las manos, antes de comer los alimentos. Es así que relacionaron los alimentos contaminados con la putrefacción de los mismos.

Más tarde Louis Pasteur, explicó el papel que desempeñaban las bacterias en el proceso de la fermentación de cervezas y vinos, mediante su hallazgo continuo sus investigaciones y demostrando que las patologías que presentaban hombres y animales se atribuían a bacterias precursoras que desencadenaban la enfermedad, y mediante sus atribuciones menciona, que si los alimentos eran esterilizados mediante una cocción rigurosa producía la muerte de la bacteria. (OPS citado en OMS, 2002).

En el año 2000 en México, el estudio “Calidad Sanitaria de carne molida de res que se expende en cuatro municipios del área metropolitana de Nuevo León”, de María Guadalupe Rojas reporta que la presencia de microorganismos mesófilos, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y fecales superan los límites de la norma mexicana, además de la presencia de *Salmonella* determinante que este alimento presenta un riesgo potencial para el consumidor. Recomienda el almacenamiento a adecuadas temperaturas y un buen tratamiento térmico para la destrucción de patógenos y la inhibición de la producción de ciertas toxinas producidos por determinados microorganismos. (Rojas, 2000, pp-49-58)

En Abril del 2005, el estudio propuesto por la Lic. Lerie Socorro Quintero en su estudio del “Efecto de ácidos orgánicos en la calidad microbiológica de la carne de res subsecuentemente convertida en carne molida”, que tuvo por objeto evaluar el efecto antimicrobiano del ácido láctico y cítrico, en *Aerobios mesófilos*, *Coliformes totales*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*. Determinando que el empleo de esos ácidos en el procesamiento de carne molida resulta efectivo para la eliminación de estos microorganismos incluso *Salmonella*,

proporcionando una herramienta para asegurar la inocuidad de este alimento que posee una amplia microbiota. (Quintero, 2005, p.6)

En el año 2009, en Venezuela el estudio “Detección de *Escherichia coli* productora de Shiga toxina STEC en muestras de carnes de res y porcina comercializadas en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná” presentado por Lourdes Cardozo; que estableció en el recuento de coliformes obtuvo un valor promedio de $1,18 \times 10^6$ UFC/g en carne de res y $7,24 \times 10^5$ UFC/g en carne de cerdo, siendo valores que exceden con lo que establece la International Commission on Microbiological Specifications for Foods, ($5,0 \times 10^3$) para carnes crudas, revelando las precarias condiciones higiénicas-sanitarias en estos lugares de expendios. (Cardozo, 2009, pp-15-27)

En 2011 en México, D.F. el departamento de biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana realizó un estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en las carnes molidas provenientes de una cadena de supermercados y mercados en el Municipio de Ecatepec, elaborado por Galván, Rosales & Díaz en el cual su estudio consistió en muestrear cinco cadenas de supermercados y cinco mercados de Ecatepec para el análisis de *Aerobios mesofilos*, Coliformes totales, *Staphylococcus*, hongos y levaduras. El resultado derivó que la cuantificación de *Aerobios mesofilos* se encuentra dentro de la norma NOM-092-SSA1-1994, la cantidad de *Staphylococcus* es mayor al de la norma en los mercados mientras que en supermercados se encuentran en los límites; hongos, levaduras y coliformes no son considerados en esta norma. Concluyendo que la carne expandida en los mercados contiene gran cantidad de *Staphylococcus* y coliformes siendo precursores de toxiinfecciones. (Galván, Rosales & Díaz, 2011, pp-5-7)

En Ecuador el estudio de la Universidad Nacional de Loja en el año 2011, presentado por Santiago Loayza, realizó el control de calidad de la carne de bovino en el mercado municipal de la ciudad de Piñas provincia del Oro; donde se evidenció la presencia de *Salmonella*, y la falta de condiciones higiénico-sanitarias en el producto cárnico. (Loayza, 2011, pp-66-67)

En el año 2012, el Instituto Politécnico de Bragança de Portugal realizó la investigación de Análisis microbiológico para control cualitativo de carne ovina y caprina, seca y salada; elaborado por Karla Espinales, en cual se encontró la presencia de clostridios sulfito-reductores, coliformes fecales y ausencia de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, evidenciando una posible deficiencia en las buenas prácticas de manufactura. (Espinales, 2012, pp-38-44)

En Venezuela, la Dra. Rosa Raybaudi Massilia presentó la investigación de la Evaluación de la calidad e inocuidad microbiológica de muestras de carne de res, pescado y pollo, expandidas en un mercado popular del área metropolitana de Caracas en el año 2013; donde se evaluó la

inocuidad de 36 muestras pescado, pollo, res; 12 de cada animal se cuantificó la presencia de *Pseudomonas* spp., y Aerobios mesofilos que oscilaban entre 5.7 Log₁₀UFC/g como indicadores de calidad, en cuanto indicador de inocuidad se encontró la presencia de *Escherichia coli* y coliformes totales en un rango de 2,5 y 4,5 Log₁₀UFC/g. Además de la presencia de *Salmonella* spp.; como microorganismo patógeno y observándose la falta de normas de higiene personal e incumplimiento de la cadena de frío. (Raybaudi, 2013, pp-48-69)

El estudio “Evaluación física y microbiológica de la carne de pollo que se expenden en los mercados de la ciudad de Loja en el año 2013, propuesto por Darwin Palma done se evaluó *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Aerobios mesofilos* y *Clostridium*; analizando 208 muestras que el 65.38% no cumple con la norma INEN 2346 para carne, mientras el 34.61% cumplen con lo establecido con la carne de pollo. Por lo que se evidencia que la mitad de expendedores del alimento perecedero tienen problemas de insalubridad y carecen de medidas higiénico-sanitarias en el expendio de productos cárnicos en los mercados populares. (Palma, 2013, pp-57-59)

En el proyecto de la “Calidad sanitaria de carne molida de res que se expende en un supermercado del área Metropolitana de Puebla” presentado por Laura López y Xanat Ferreyro, en el Tecnológico de Monterrey en Mayo del 2014; se tomaron dos muestras de un supermercado en Puebla donde se realizó la cuantificación de *Aerobios mesofilos* por la técnica de Miles & Misra, además de la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* spp; concluyendo que la carne de res empaquetada que es expendida en los supermercados cumplen con las normas establecidas NOM-034-SSA1-1993. (López & Ferreyro, 2014, pp-5-9)

Los contextos sociales en que se desarrolla una urbe estipulan su estado de salud y calidad de vida, la distinta exposición a los factores sociales son responsables de las desigualdades sanitarias que existe entre países y al interior de los mismos, lo cual es viable mejorar a través de políticas sociales y de salud. (Ministerio de Salud Pública Ecuador, 2013, pp-40-49).

De los indicadores Básicos de Salud del Ecuador, las diez principales causas de morbilidad General, la diarrea y gastroenteritis de presunto origen infeccioso es la segunda causa en el país con un porcentaje del 3,2%, que pueden atribuirse al consumo de agua y alimentos contaminados. (INEC, 2010, P. 12)

**DIEZ PRINCIPALES CAUSAS DE MORBILIDAD GENERAL - ECUADOR 2009
(EGRESOS HOSPITALARIOS - LISTA DETALLADA CIE 10)**

N° Orden	Código CIE-10	CAUSAS	NÚMERO DE EGRESOS	%	TASA *
1°	J18	Neumonía, organismo no especificado	34,027	3.3	24.3
2°	A09	Diarrea y gastroenteritis de presunto origen infeccioso	32,675	3.2	23.3
3°	K80	Colelitiasis	27,677	2.7	19.8
4°	K35	Apendicitis aguda	24,027	2.3	17.2
5°	O06	Aborto no especificado	21,894	2.1	15.6
6°	K40	Hernia inguinal	12,848	1.2	9.2
7°	O47	Falso trabajo de parto	11,849	1.1	8.5
8°	N39	Otros trastornos del sistema urinario	10,926	1.1	7.8
9°	S06	Traumatismo intracraneal	10,555	1.0	7.5
10°	O23	Infección de las vías genitourinarias en el embarazo	9,530	0.9	6.8
	O80	Parto único espontáneo	120,484	11.7	
	O82	Parto único por cesárea	64,917	6.3	
	O81, O83, O84	Otros partos	585	0.1	
	Cap.XVIII	Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio, no clasificados en otra parte	30,201	2.9	
		Las demás causas de morbilidad	619,762	60.1	
		Total de egresos hospitalarios	1,031,957	100.0	
		Población Estimada Año 2009**	14,005,449		

* Tasa por 10.000 habitantes

** Proyecciones de Población 2001-2010. INEC - CEPAL

Fuente: INEC, Anuario de Estadísticas Hospitalarias, Camas y Egresos. 2009

Figura 1-1. Causas de morbilidad general Ecuador 2009

Fuente: (INEC, 2010)

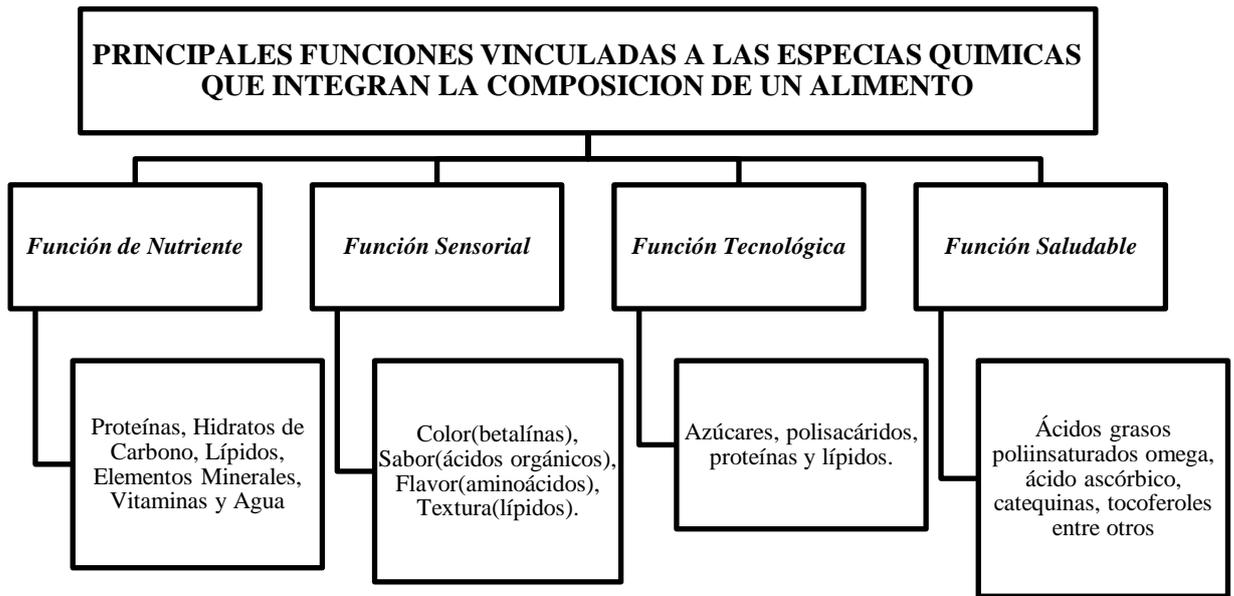
Del reporte del laboratorio bromatológico municipal del cantón Riobamba, reporta que en el año 2014 se decomisaron alrededor de 460 kilos de carne y vísceras de especies mayores, 138 piezas de pollo que fueron incinerados y retirados de los mercados por no cumplir con la normativa. (López, 2014) (La Prensa, 2014)

1.2. Alimentos

Desde el punto de vista nutricional: un alimento se puede definir como todo producto que sus propiedades químicas y organolépticas, que consigue formar parte de la dieta con la meta de aplacar el hambre, satisfacer el apetito y contribuir los nutrientes ineludibles para el funcionamiento del organismo.

Es así, que un alimento es un producto ya sea de origen animal, vegetal o procesado, apto para la alimentación que al ingerir proporcione energía y compuestos químicos necesarios para que los procesos biológicos se desarrollen sin problema alguno. (Bello, 2000, pp-22-23)

Tabla 1-1 Propiedades funcionales de los alimentos



Fuente: (Bello, 2000)

Elaborado por: (Jara, 2016)

1.2.1. Historia

El hombre primitivo que existía en las cavernas, conocían el aporte nutritivo de la carne que cazaban, así de lo importante que este producto servía para la alimentación, y tenían nociones de conserva de alimentos perecederos donde incluían el método de conservación mediante el ahumado donde lograban almacenar la carne para suministrar en épocas de escases de alimento o a su vez cortaban la carne en tiras y dejaban secarlas al sol.



Figura 2-1 Hombre de las cavernas caza y faenamiento de carne

Fuente: Sabor Artesano, 2000. Disponible en: <http://www.sabor-artesano.com/imagen/embutidos-historia/imagen-prehistoria.jpg>

La verdadera conservación de alimentos inicia cuando se emplea la sal como conservante de alimentos perecederos, en la mayoría de casos para conservar carne y pescados que eran alimentos indispensables para el comercio y la alimentación de las poblaciones, que por su escaso tiempo de vida recurrían a este procedimiento.

En el tiempo del imperio romano ya se preparaban embutidos y se consumían en compromisos especiales, así se puede enunciar que fueron los pioneros en la fabricación de embutidos, elaboraban un análogo de la salchicha denominado “botulus”, que era una variedad de morcilla que expendían en los mercados.

En Europa en la época de la edad media, la matanza de animales especialmente de cerdo, se realizaba en el invierno pues se creía que el animal además de los condimentos que se le añadía para la fabricación de los embutidos ya venía integrado ciertas especias de los frutos del verano que el animal se alimentaba, y estuvo en auge la producción de embutidos producidos artesanalmente. (SABOR ARTESANO: <http://www.sabor-artesano.com/embutidos-historia.htm>)

1.2.2. Actividad del agua (a_w)

Se designa actividad de agua a la correlación entre la presión de vapor de agua del substrato P y la presión de vapor de agua (agua pura) P_0 , a la misma temperatura.

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

El valor de esta relación nos da a conocer la cantidad de agua disponible metabólicamente, es decir si un organismo microscópico se halla en un substrato con a_w menor del que necesita, su crecimiento se paraliza, por los que los microorganismos requieren valores de actividad de agua elevados para poder desarrollarse. (UNIVERSIDAD DE NAVARRA: <http://www.unavarra.es/genmic/micind-2-7.htm>)

Bacterias $a_w > 0.90$

Levaduras $a_w > 0.85$

Hongos filamentosos $a_w > 0.80$

En el control de alimentos la actividad de agua es de suma importancia puesto que es una propiedad que ayuda a prever la vida útil, estabilidad y el crecimiento de microorganismos, el nivel de a_w , permite implantar cualidades como textura, nutricional, aromáticas entre otras. La actividad de agua, está dada en un rango de 0 seco y 1 agua pura. En general los alimentos contienen un 0.2 para alimentos secos y 0.98 para alimentos frescos. (BIOQUIMICA DE ALIMENTOS: http://arenasmelibea.mex.tl/662249_3-2--Actividad-de-agua.html)

Microorganism	Minimal a_w for growth	Reference
Salmonella	0.945	Christian & Scott, 1953
Clostridium botulinum	0.95	Scott, 1957
Clostridium perfringens	0.93	Kang, et al., 1969
Staphylococcus aureus	0.86**	Scott, 1962
Vibrio parahaemolyticus	0.94	Beuchat, 1974

Figura 3-1. Actividad del agua, límites para el crecimiento de organismos patógenos transmitidos por los alimentos

Fuente: (Texas A&M University, 2015)

Cada alimento posee en su composición una cantidad total de agua, la porción de agua que se halla libre, es útil para interactuar, y es el a_w del alimento; dicha cantidad libre es la aprovechable para el crecimiento de los microorganismos y que se produzcan reacciones químicas e incida en la estabilidad del alimento. (Bustabad: <http://encalidadde.blogspot.com/2013/02/actividad-de-agua-de-los-alimentos.html>)

Alimentos según su actividad de agua:

1. $a_w \geq 0.98$.- pescado y carnes frescas, frutas, hortalizas, leche y verduras. En este nivel de a_w crecen sin inconveniente todos aquellos microorganismos promotores de toxiinfecciones alimentarias y los que regularmente dan lugar a alteraciones exceptuando a los xerófilos (organismos adaptados a la sequedad) y halófilos extremos (viven en grandes cantidades de sal).
2. $a_w = 0.98-0.93$.- concentrados de tomate, pescado y cárnicos salados, embutidos fermentados no secos, cocidos, frutas en almíbar y pan. Se desarrollan sin inconveniente todos aquellos microorganismos promotores de toxiinfecciones alimentarias, multiplicándose a valores más elevados de a_w .
3. $a_w = 0.93-0.85$.- leche condensada, jamón, embutidos madurados y fermentados y queso cheddar. El *Staphylococcus aureus*, es la única bacteria que produce intoxicación alimentaria a este rango de a_w pero pueden desarrollarse mohos productores de micotoxinas.
4. $a_w = 0.85-0.60$.- extractos cárnicos, quesos madurados, mermeladas, nueces, harina, cereales y frutas secas. Bacterias patógenas no se desarrollan a este valor de a_w , la

alteración se da por microorganismo osmófilos (se desarrollan en concentraciones elevadas de azúcar) xerófilos.

5. $a_w < 0,60$.- pastas, galletas, frituras, chocolate, leche en polvo entre otras. Los microorganismos no se multiplican pero permanecen en un período de latencia. (Odar: <http://industrias-alimentarias.blogspot.com/2010/04/la-actividad-de-agua-en-los-alimentos.html>)

1.2.3. pH

El pH se refiere para referir la alcalinidad o acidez de una solución, es decir la concentración de iones hidrógeno $[H^+]$, donde un medio ácido es rico en concentración hidrógeno y en un ambiente básico se encuentra agotado los iones hidrógeno. La escala del pH va de un rango de 0 a 14, una escala logarítmica es decir cada división es diferente de las divisiones contiguas por un factor de 10. (Health & human biology in the quantum sphere, 2011)

El pH tiene gran impacto sobre el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, generalmente crecen mejor a un pH 7 y crecen escasas o ninguna por debajo de pH 4. (Texas A&M University, 2015)

Table 3. The minimal pH minimal for growth of principal foodborne disease organisms*

Microorganism	Growth reported at but not below	Reference
Staphylococcus aureus	pH 4.5	
Salmonella	4.0	Chung and Goepfer, 1970
Clostridium botulinum		
Types A and B	4.8	National Canners Assn., 1971a
Type E	5.0	National Canners Assn., 1971a
Clostridium perfringens	5.0	
Vibrio parahaemolyticus	4.8	Beuchat, 1973
Bacillus cereus	4.9	Kim and Goepfer, 1971

Figura 4-1 pH mínimo para el crecimiento de organismos patógenos transmitidos por los alimentos

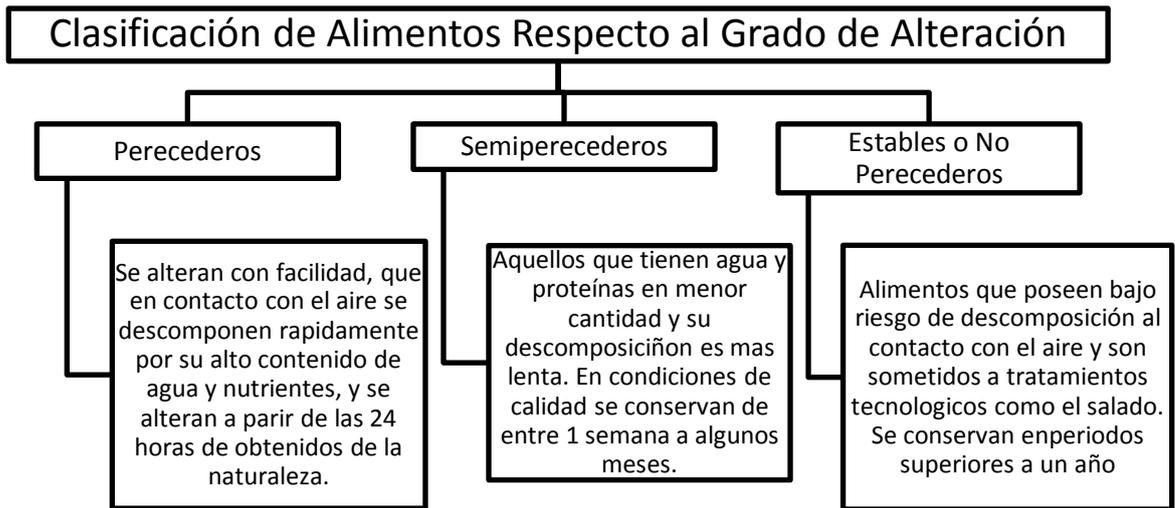
Fuente: (Texas A&M University, 2015)

1.2.4. Enfermedades de origen Alimentario

1.2.4.1. Clasificación de alimentos respecto al grado de alteración

Los alimentos están expuestos a alteraciones de mayor o menor grado dependiendo de las condiciones del medio. (Pascual 2005, pp-8-9)

Tabla 2-1 Clasificación de los alimentos respecto a su grado de alteración



Fuente: (Pascual R., 2005)

Elaborado: (Jara, 2016)

1.2.4.2. Clasificación de los alimentos por el riesgo

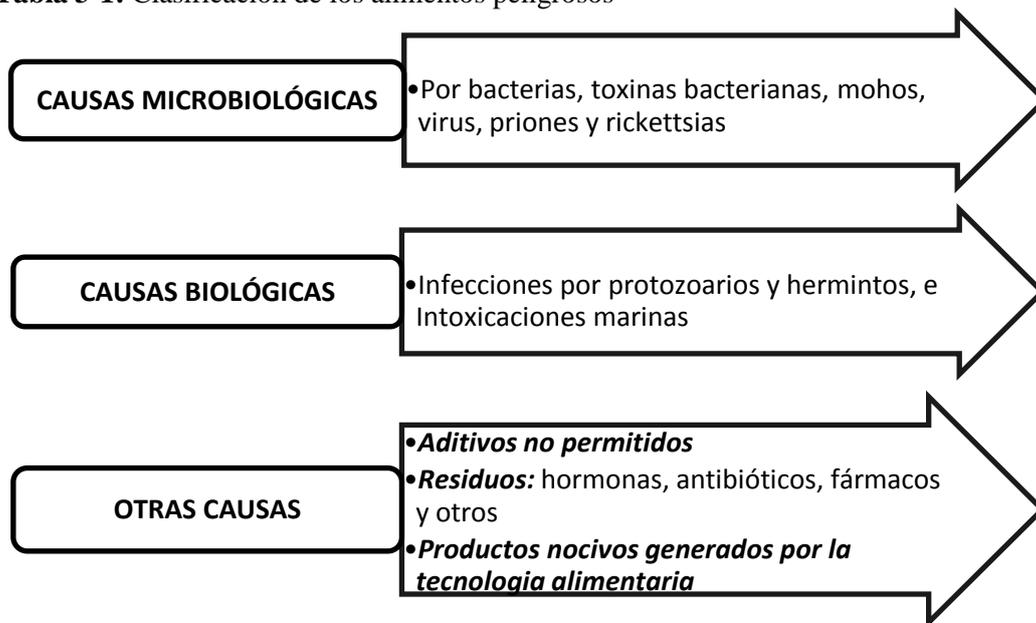
Según el reglamento técnico Centroamericano de “Alimentos, criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos” RTCA67.04.50:08 para registro y vigilancia sanitaria; clasifica a los alimentos en función de la probabilidad de causar daño a la salud clasificándolas en tres categorías:

- **Alimento Riesgo tipo A:** que comprenden a los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, poseen una ALTA probabilidad de ocasionar daño a la salud.
- **Alimento Riesgo tipo B:** que comprenden a los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, poseen una MEDIA probabilidad de ocasionar daño a la salud.
- **Alimento Riesgo tipo C:** que comprenden a los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, poseen una BAJA probabilidad de ocasionar daño a la salud. (RTCA, 2009, PP-2-6)

1.2.4.3. Clasificación de los alimentos peligrosos

Cuando hay un crecimiento microbiano en el alimento está constituido por microorganismos patógenos que se transforma en un producto peligroso que atenta a la salud del consumidor, que en algunas especies elaboran ciertas toxinas que son los precursores de *infecciones o intoxicaciones alimentarias colectivas* (Pascual 2005, pp-9-10). Las enfermedades de origen alimentaria además de causas microbiológicas constan otro tipo de consecuencias de la ingestión de alimentos.

Tabla 3-1: Clasificación de los alimentos peligrosos



Fuente: (Pascual R., 2005)

Elaborado: (Jara, 2016)

1.2.5. Enfermedades transmitidas por alimentos ETA'S

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), se especifican como el conjunto de signos originados por el consumo de bebidas y alimentos contaminados con microorganismos potencialmente patógenos y/o productos químicos perniciosos; originando cuadros clínicos que varía según el grado el agente involucrado. Y dichas enfermedades se denominan Toxico-Infecciones Alimentarias.

Las bacterias responsables de los ETA'S, se hallan presentes en los alimentos crudos, en los alimentos cocidos están presentes por la inadecuada preparación, almacenamiento, manipulación y cocción; es así que los microorganismos se multiplican y provocando que el alimento sea un peligro para la salud del consumidor, de manera que el alimento actúa como vehículo de transmisión de organismo dañinos y sustancias tóxicas. (Moreno & Alarcón, 2010)

AGENTES ETIOLOGICOS DE LOS ETA´s

- Biológicos: bacterias, virus, parásitos.
- Químicos: productos químicos añadidos en el alimento y químicos propios del alimento.
- Físicos: ocasionado por cuerpos extraños

CLAFICACIÓN DE LAS ETA´s



Figura 5-1 Clasificación de las ETA´s

Fuente: (OMS/OPS, 2002)

Elaborado por: (Jara, 2016)

1.2.6. Infecciones de origen alimentario

Son patologías que resultan de la ingestión de alimentos que poseen microorganismos nocivos vivos, como la salmonelosis. Producidas primordialmente por bacterias entéricas (bacterias que habitan en los intestinos de los animales y personas). (OPS/OMS: <http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?id=67>)

Tabla 4-1 Enfermedades producidas por consumir carne en mal estado

PRINCIPALES ENFERMEDADES CAUSADAS POR CÁRNICOS	
PROCEDENCIA	ENFERMEDAD
Carne de Aves	Infección por <i>Salmonella</i> o <i>Campylobacter</i>
Carne molida de res	Infección por <i>E. coli</i>
Salchichas	Infección por <i>E. coli</i> enterohemorrágica o <i>Salmonella</i>
Cerdo con triquinosis y carne de animales salvajes con brucelosis, tularemia o triquinosis	Infección por <i>Listeria</i>

Fuente: (Hernández, 2012)

Elaborado por: (Jara, 2016)

1.2.6.1 *Escherichia coli*

En su mayoría las cepas de *E. coli* son inocuas, y están presentes en el intestino con la función de protección frente a otras bacterias y de beneficio para la salud; a pesar de que existen cepas patógenas para el humano como la cepa de *Escherichia coli* 0157:H7, que como reservorio es el ganado vacuno y animales semejantes la enfermedad se produce con la ingesta de agua y alimentos contaminados con heces de vacas, las manifestaciones clínicas se caracterizan por disentería sanguinolenta y aguda con espasmos abdominales (cólico), acompañado de fiebre moderada del 3 al 5% de casos puede evolucionar a un síndrome urémico hemolítico siendo las causas más frecuentes de falla renal en infantes. (Prado et al., 1995, pp. 13-22)

Los síntomas son visibles a los 3 días de la ingesta con un rango 1 hasta 9, esta infección puede detectarse con un coprocultivo para el estudio de la *E. coli* 0157:H7, esencialmente en pacientes con disentería sanguinolenta. El tratamiento es a base de medidas de hidratación y alimentación (sin tratamiento específico), en un período de 5 a 10 días; determinados estudios demuestran que el tratamiento con antibióticos incrementa la complicación del cuadro clínico del paciente. La prevención de infección por esta cepa es recomendable, no ingerir leche sin pasteurizar, evitar carne de res mal cocida, lavar verduras y frutas, además lavarse las manos antes de consumir alimentos. (Moreno y Alarcón, pp. 3-10)

1.2.6.2 *Campylobacteriosis*

Campylobacter es una bacteria que produce diarrea, dolor abdominal, fiebre y sangre en heces fecales, y es el precursor más frecuente identificado de disentería en el planeta, habitan en el intestino de aves por lo que la mayoría de pollo crudo contiene *campylobacter*. (Hinton, 2000, pp-124-138)

El pollo mal cocido y otros alimentos que han sido contaminados con el líquido que gotea del animal presentan frecuentemente esta infección, está presente en carne vacuno y de cerdo. Los síntomas son visibles del segundo al quinto día después de la exposición, en la mayoría de pacientes que presentan esta infección se recuperan inmediatamente con medidas generales que contengan una hidratación adecuada.

Los antibióticos son útiles en casos crónicos y para evitar la recurrencia de síntomas, en cuanto a la prevención evitar la ingesta de carne mal cocidas, evitar el contacto del goteo de la carne cruda con otros alimentos, evitar el consumo de huevos crudos, lavarse las manos antes y después de la preparación de alimentos. (Emerging Infectious Diseases, 1997, pp-223-228)

1.2.6.3 Salmonelosis

Bacteria que habita en los intestinos de las aves, mamíferos y reptiles, se propaga a los humanos por el consumo de agua, alimentos y productos derivados de animales; se caracteriza por producir cuadros de diarrea, dolor abdominal, fiebre y vómito, en personas con el sistema inmunológico deprimido produce infecciones crónicas poniendo en riesgo la vida de la persona, es así que pacientes con sida son vulnerables a la salmonelosis. Los síntomas son visibles del primer al tercer día de contagio con la bacteria.

Está presente en leche no pasteurizada, carnes, quesos y huevos, la infección por Salmonella se contrarresta de cinco a 7 días, no se necesita de tratamiento a menos de que se encuentre deshidratado o la infección se extienda distante del intestino. La prevención de esta infección es promover una adecuada cocción de alimentos especialmente carnes y huevos, evitar el consumo de productos lácteos sin pasteurizar y el lavado de frutas y verduras así como la higiene de las manos al momento de preparar los alimentos. (Gutiérrez et al., 2007, pp-81-89)

1.2.6.4 Shigelosis

Es una infección originada por la bacteria Shigella que afecta el tracto intestinal, puede ser contraída por cualquier persona pero la incidencia es más frecuente en niños; habita en el intestino de las personas y se propaga al consumir agua y alimento contaminado por un individuo infectado, las manifestaciones clínicas son fiebre, disentería sangre en heces y aparecen del primer al séptimo día de exposición y en algunos casos ciertas personas son asintomáticas. La presencia de Shigella en las deposiciones están presentes de 1 a 2 semanas, la administración de antibióticos reduce la fase de portador.

La mayoría de pacientes que presentan esta infección se recuperan inmediatamente con medidas generales que contengan una hidratación adecuada, en tanto la prevención de esta infección y como es de conocimiento su contagio es a través de las deposiciones es necesario un lavado meticuloso de las manos después de ir al baño. (Prado, 2002, pp.495-501)

1.2.6.5 Listeria monocytogenes (listeriosis)

Es una bacteria Gram (+), que se encuentra en el intestino de los seres humanos el 10% presenta Listeria monocytogenes, además está en aves, crustáceos, mamíferos y pescados, este microorganismo resiste a diversas condiciones ambientales pudiendo multiplicarse a T° de refrigeración, las manifestaciones clínicas habituales son disentería, vómito, infección gastrointestinal pudiendo producirse septicemia en cuadros invasivos, encefalitis, meningitis e

infecciones intrauterinas en mujeres embarazadas provocando muerte perinatal y abortos espontáneos. La prevención es evitando el consumo de carnes y pescados crudos y que se encuentren parcialmente cocidos. (Mascola, 1992, pp-557-558)

1.2.7. Intoxicaciones Alimentarias

Se produce cuando los venenos, toxinas de mohos y bacterias se encuentran en el alimento ingerido, dichas toxinas no tienen olor ni sabor pero tienen potencial de producir una enfermedad una vez que el microorganismo es excluido. Algunas se encuentran de forma natural en el alimento como el botulismo una intoxicación por toxinas producidas por hongos.

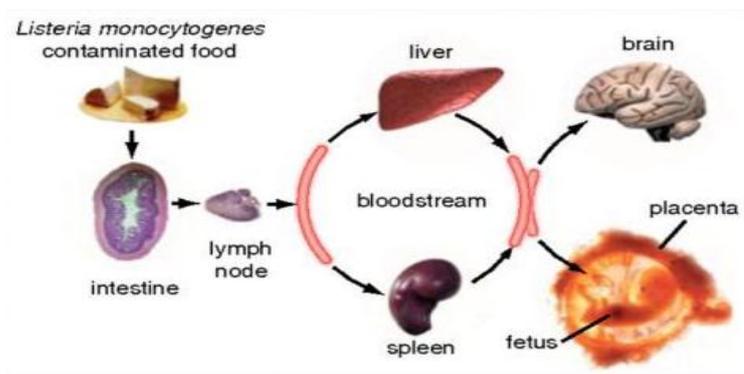


Figura 6-1 Contaminación alimentaria de *Listeria monocytogenes*
Fuente: (WordPress, 2014)

Cualquier bacteria puede multiplicarse, si es propicio condiciones de temperatura, humedad, alimento y tiempo; por lo tanto mientras mayor es la presencia de bacterias patógenas es mayor la probabilidad de enfermedad e infección, las bacterias más comunes en desencadenar una infección son *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Campylobacter*.

El período de intoxicación generalmente tiene un lapso de 1 a 3 días pero puede extenderse dependiendo del tipo de microorganismo, dificultad de la infección y el estado de salud de la persona. (NHS, 2008, pp1-4)

Las Intoxicaciones alimentarias se originan por, la ingestión de toxinas que son productos del metabolismo que forman y son excretados por bacterias, algas y hongos al momento de multiplicarse en el alimento; por la toma de sustancias tóxicas que poseen determinados tejidos de plantas y animales; y finalmente por la adición involuntaria de sustancias venenosas, durante el procesamiento, producción, preparación, almacenamiento y expendio.

1.2.7.1 Intoxicación por bacterias estafilocócicas

Se produce por la ingestión de una exotoxina formada en el alimento por el *Staphylococcus aureus* y la toxina se denomina enterotoxina estafilocócica, este tipo de bacterias son anaeróbicas se transfieren al alimento por el contacto con las manos y gotas originarias de la nariz y boca de las personas que participan en la elaboración, transporte, almacenamiento y en la preparación del alimento. La producción de esta toxina se puede prevenir manteniendo el alimento en refrigeración.

Las manifestaciones en el cuerpo al intoxicarse con esta bacteria es violenta la manifestación de la sintomatología como náuseas, vómito, diarrea, salivación excesiva y espasmo a nivel abdominal. La característica más evidente de este tipo de intoxicación alimentaria y se diferencia de otros síndromes gastrointestinales, es que el tiempo de incubación es relativamente corto y las manifestaciones aparecen a las 3 horas después de ingerir el alimento contaminado.

1.2.7.2 Intoxicación por *Clostridium botulinum* (botulismo)

Intoxicación alimentaria producida por el consumo de alimentos que contienen una exotoxina que se produce en el transcurso del crecimiento del *Clostridium botulinum*, es un bacilo anaerobio que habita generalmente en el suelo y en el tracto intestinal de animales y pescados, la contaminación con este microorganismo es por medio de la suciedad.

El *Clostridium botulinum* es un esporulado anaerobio, bacilo Gram (+), que es capaz de resistir a tratamientos térmicos moderados que devastan las formas vegetativas; la intoxicación alimentaria se debe a una serie de neurotoxinas que bloquean la liberación de la acetilcolina en las terminaciones nerviosas, desencadenando el parálisis de los músculos y conlleva a un paro respiratorio.

La intoxicación con *Clostridium botulinum*, es una intoxicación grave que se caracteriza por manifestaciones en el sistema nervioso, los síntomas se manifiestan de 12 a 16 horas después de la ingesta con el alimento contaminado. Frecuentemente se presentan trastornos gastrointestinales como vómito, diarrea, en ciertos casos estreñimiento precedido de síntomas del sistema nervioso, vértigo, dolor y sequedad en la boca, parálisis en los músculos extraoculares, cefalea, dolor en la faringe y disturbios en la visión. Aproximadamente el 1/3 de pacientes fallece del tercer al séptimo día del inicio de las manifestaciones clínicas.

1.2.7.3 Micotoxicosis

Ciertas cepas de mohos, cuando crecen y se multiplican en un ambiente propicio producen metabolitos tóxicos para el ser humano, los alimentos que contienen estas micotoxinas producen las micotoxicosis.

Como la intoxicación causada por toxinas del hongo *Claviceps purpurea*, denominada como ergotismo o “fiebre de san Antonio”, “fuego del infierno” o “fuego de San Antonio”, las secuelas de esta intoxicación alimentaria se conocían en el año 944-945 D.C, cuando en Francia fallecieron como resultado del envenenamiento del cornezuelo del centeno. (Carvalho, 2012)

Aspergillus flavus, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus oryzae*; estas especies de hongos son productoras de aflotoxinas (micotoxinas producidas por el género *Aspergillus*). (Fuentes y Cepedillo, 2008, pp-1-14)

1.2.8. *Toxico-Infecciones de origen alimentario*

Es la enfermedad que es el resultado de la ingesta de alimentos con una determinada cantidad de microorganismos potenciales de enfermedades, y son capaces de provocar o liberar toxinas una vez que sean ingeridos. (SIRVETA: <http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?id=67>)

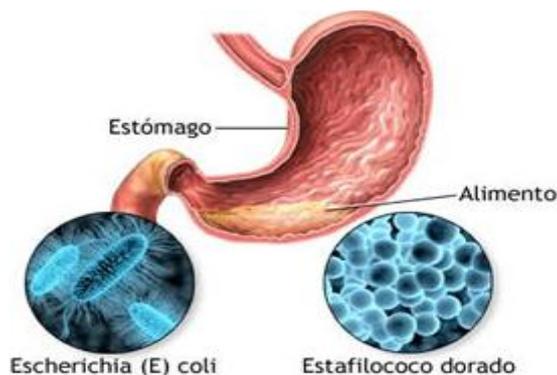


Figura 7-1 Intoxicación Alimentaria

Fuente: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001652.htm>

1.2.8.1. *Vía de Contaminación*

Militan varios reservorios de gérmenes promotores de enfermedades alimentarias entre los que cabe destacar al hombre, animales, agua, agua residual, estiércol, vectores, utensilios y equipo de cocina.

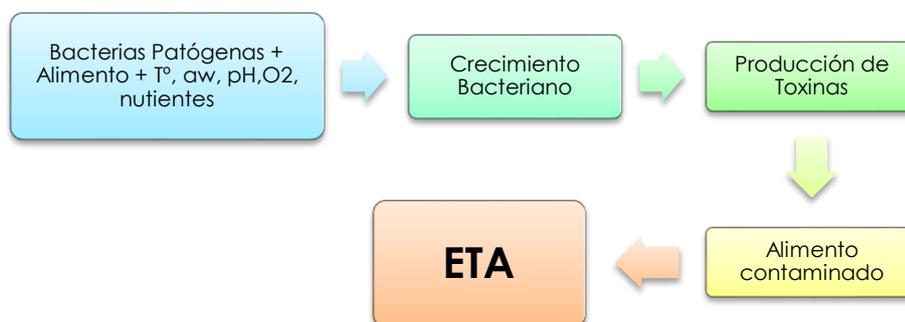


Figura 8-1: Vía de contaminación de los ETA's

Fuente: (Fuentes, Cepedillo, 2002)

Elaborado por: (Jara, 2016)

1.2.9. Carne

“La carne es el producto resultante de la transformación experimentada por el tejido muscular del animal a través de una serie concatenada de procesos fisicoquímicos y bioquímicos, que se desarrollan como consecuencia del sacrificio animal.” (Gil, 2010, p. 29)

La carne es un componente de suma importancia en la alimentación de los humanos, por su gran aporte de nutrientes que se debe a su excelente contenido en proteínas de elevado valor biológico como por ejemplo son fuente de niacina que participa en sistemas enzimáticos para a producción de energía, que son esenciales para la formación de los tejidos en el organismo es decir función estructural plástica y desarrollo físico y mental. Los seres humanos son incapaces de sintetizar el grupo amino por lo que se hace indispensable la ingesta de alimentos ricos en proteínas por lo que ingesta de carne proporciona al cuerpo proteínas con aminoácidos esenciales como isoleucina, valina, leucina y fenilalanina; vitaminas como la B12 (cobalamina), B6 (piridoxina), niacina y fuente de minerales hierro, fósforo, potasio, sodio y zinc. (Carvajal, 2001, pp-6-8)

Además de eso es uno de los alimentos más perecederos por amplio contenido de agua ($a_w=0.99$) en su composición y pH, por lo que proporciona el medio necesario para su contaminación microbiana y alteración siendo un potencial para concebir un riesgo para la salud del consumidor.

Las modificaciones de la carne se debe a su composición química y la interacción con factores químicos (luz, Tº, agua), físicos. Las alteraciones más frecuentes son la coloración anormal de la carne, enmohecimiento, enranciamiento y putrefacción.



Figura 9-1: Alteraciones de la carne

Fuente: (Hernández, 2010)

La carne es proclive a contaminarse con agentes físicos, químicos y biológicos (bacterias, moho y levaduras), en cualquier sitio de la cadena alimentaria por lo cual debe fomentarse las buenas prácticas de manipulación de los alimentos con el fin de evitar la contaminación cruzada y asegurar un alimentos son e inocuo. (Gobierno de Asturias: <http://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridad-alimentaria-documentos/carnes.pdf>)

1.2.9 1 Derivados Cárnicos o Cecinas

Son productos alimenticios elaborados parcial o completamente, con carne, restos, grasa y productos secundarios comestibles, procedentes de animales de abasto es decir todos aquellos que proporcionan carne y derivados, y que se pueden complementarse con aditivos, especias y condimentos para mejorar las propiedades organolépticas y sensoriales. (Araneda, 2015)

Tabla 5-1: Tipos y características de los derivados cárnicos

TIPO DE CECINA	DE CARACTERISTICAS	EJEMPLO
Productos cárnicos frescos	<ul style="list-style-type: none"> Son productos cárnicos que no son sometidos a desecación, cocción o salazón Están elaborados a base de carne, grasa (con o sin despojo), añadidos aditivos y especias permitidas. 	Chorizo fresco Carne molida
Embutidos curados	<ul style="list-style-type: none"> -Son sometidos a un proceso de envejecimiento y curado (desecación) y algunas veces ahumado. - Son productos cárnicos elaborados a base de carne, grasa (con o sin despojo), añadidos aditivos y especias permitidas. 	Salami Chorizo riojano Salchichón
Salazones Cárnicas	<ul style="list-style-type: none"> Son sometidos al trabajo de la sal de mesa e ingredientes permitidos. 	Jamón curado

	<ul style="list-style-type: none"> • Productos cárnicos a base de carne y partes del despiece no picados. 	
Productos cárnicos tratados por calor	<ul style="list-style-type: none"> • Están elaborados a base de carne, grasa (con o sin despojo), añadidos aditivos y especias permitidas. • Se someten a un proceso térmico. 	Salchicha vienesa Mortadela

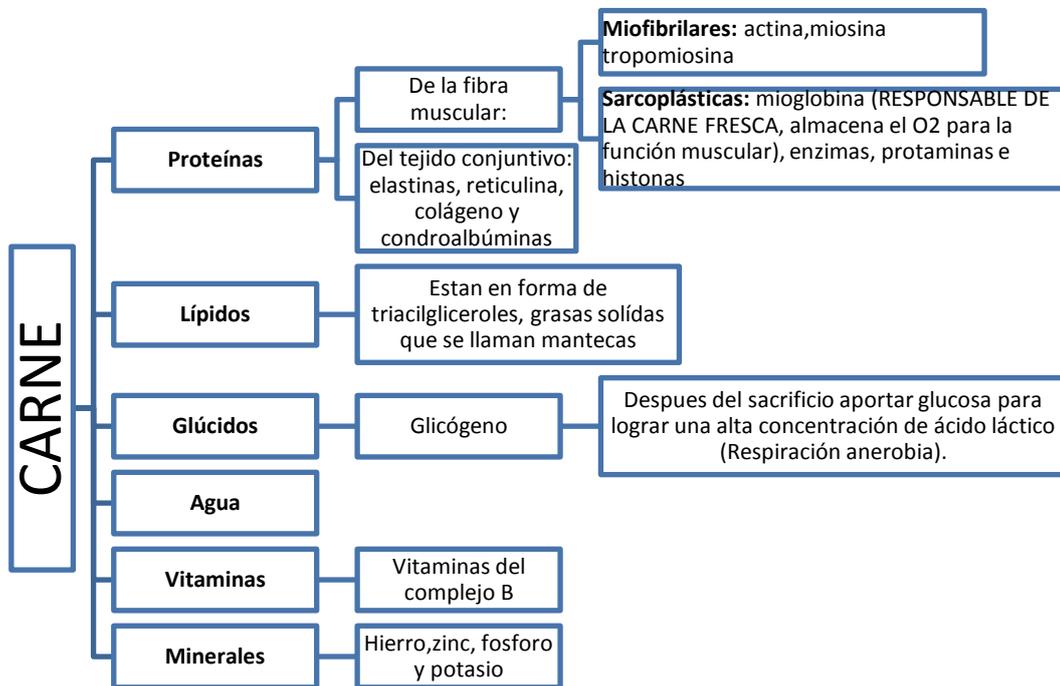
Fuente: (Araneda, 2015)

Elaborado por: (Jara, 2016)

1.2.9.2 Composición Química de la carne

La carne se compone de agua, proteínas, aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, e hidratos de carbono en menor cantidad. (FAO, 2007).

Tabla 6-1: Composición química de la carne



Fuente: (Manahén, 2010)

Elaborado por: (Jara, 2016)

COMPOSICION QUIMICA

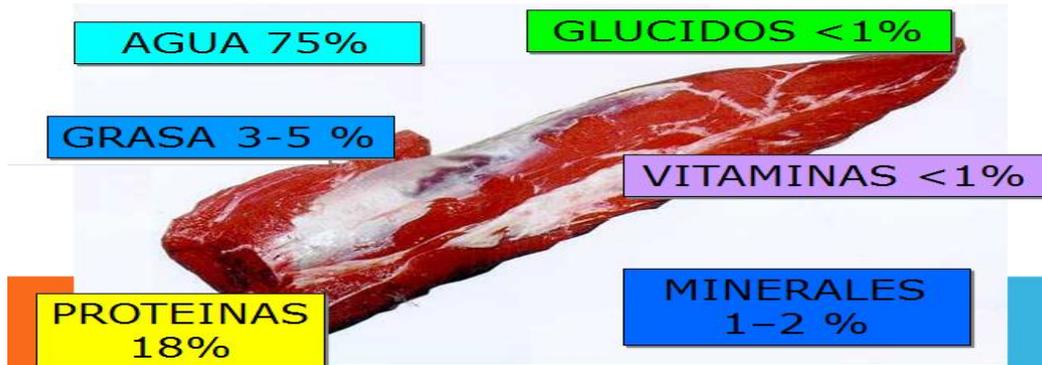


Figura 10-1: Porcentajes de la composición nutricional de la carne

Fuente: (<http://es.scribd.com/doc/82591208/Bromatologia-de-La-Carne#scribd>)

La composición química de la carne es variable depende de la raza, especie, alimentación, sexo, edad y zona anatómica. Es así que la carne magra (carne sin hueso ni grasa), es respectivamente constante en multiplicidad de animales. (Araneda, 2015)

Tabla 5-4. Valores promedio de la composición de la carne magra, cruda y cocinada, de varias especies de animales de abasto y las cantidades de nutrientes recomendadas diariamente.

Nutriente	Res ¹		Cerdo ²		Ovino ³		Pollo ⁴		Pavo ⁴		DRIs ⁵	
	Cruda	Cocida	Cruda	Cocida	Cruda	Cocida	Cruda	Cocida	Cruda	Cocida	Varón	Mujer
Energía, kcal	144	216	136	211	134	206	119	190	119	170		
Agua, g	70,6	59,2	72,9	60,7	73,4	61,9	75,5	63,8	74,2	64,9		
Proteína, g	20,8	29,6	20,5	29,4	20,3	28,2	21,4	28,9	21,8	29,3	56 ^a	46 ^a
Grasa, g	6,2	9,9	5,4	9,4	5,2	9,5	3,1	7,4	2,9	4,9	< 65 ⁽⁶⁾	
Calcio, mg	6	9	6	7	10	15	12	15	14	25	1000 ^b	1000 ^b
Hierro, mg	2,13	2,99	1,01	1,12	1,77	2,05	0,89	1,21	1,45	1,78	8 ^c	18 ^c
Zinc, mg	4,33	6,93	2,27	3,26	4,06	5,27	1,54	2,10	2,37	3,10	11 ^c	8 ^c
Fósforo	199	233	229	281	189	210	173	195	195	213	700 ^b	700 ^b
Magnesio, mg	22	26	25	25	26	26	25	25	25	26	420 ^b	320 ^b
Manganeso, mg	0,013	0,017	0,029	0,037	0,024	0,028	0,019	0,019	0,021	0,021	2,3 ^c	1,8 ^c
Potasio, mg	356	360	369	373	280	344	229	243	296	298	3500 ⁽⁶⁾	
Sodio, mg	63	67	55	64	66	76	77	86	70	70	< 2400 ⁽⁶⁾	
Cobre, µg	0,079	0,125	0,075	0,108	0,120	0,128	0,053	0,067	0,109	0,094	900 ^e	900 ^e
Selenio, µg	18,3	19,7	35,4	49,9	23,4	26,1	15,7	22,0	26,5	36,8	55 ^d	55 ^d
Vit. C, mg	0	0	0,9	0,4	0	0	2,3	0	0	0	90 ^d	75 ^d
Tiamina, mg	0,110	0,100	0,875	0,690	0,130	0,100	0,073	0,069	0,072	0,062	1,2 ^c	1,1 ^c
Riboflavina, mg	0,180	0,240	0,228	0,349	0,230	0,280	0,142	0,178	0,168	0,182	1,3 ^c	1,1 ^c
Niacina, mg	3,590	4,130	5,338	4,935	6,00	6,320	8,239	9,173	4,544	5,443	16 ^c	14 ^c
Ácido pantoténico, mg	0,360	0,400	0,805	0,670	0,700	0,690	1,058	1,104	0,907	0,943	5 ^c	5 ^c
Vit. B ₆ , mg	0,440	0,370	0,500	0,450	0,160	0,160	0,430	0,470	0,470	0,460	1,3 ^c	1,3 ^c
Folato, µg	7	8	9	12	23	23	7	6	9	7	400 ^c	400 ^c
Vit. B ₁₂ , µg	3,25	2,64	0,71	0,72	2,62	2,61	0,37	0,33	0,43	0,37	2,4 ^c	2,4 ^c
Vit. A, µg	0	0	2	3	0	0	16	16	0	0	900 ^e	700 ^e
Vit. E, mg	---	0,140	0,290	0,260	0,210	0,190	0,295	0,265	0,345	0,329	15 ^d	15 ^d
Ácidos grasos saturados, g	2,320	3,790	1,870	3,300	1,880	3,400	0,790	2,040	0,950	1,640	< 20 ⁽⁶⁾	
Ácidos grasos monoinsaturad. g	2,610	4,170	2,440	4,450	2,110	4,170	0,900	2,660	0,610	1,030		
Ácidos grasos poliinsaturados, g	0,240	0,340	0,580	0,850	0,480	0,620	0,750	1,690	0,830	1,430		
Colesterol, mg	59	86	68	94	65	92	70	89	65	76	< 300 ⁽⁶⁾	

1, 2, 3 y 4: USDA (1999a); 5: DRIs = Valores de referencia de las ingestiones dietéticas recomendadas diariamente (RDAs) o adecuadas (AI) para el hombre y la mujer adultos (30-51 años); a: FNB (2002); b: FNB (1997); b': AI = adequate intake: ingestión adecuada diaria, que se usa cuando no está determinada la RDA; c: FNB (1998); c': AI; d: FNB (2000); e: FNB (2001); e': AI; 6: Límites superiores (no con el potasio) establecidos por la FDA (1999) para planear una dieta saludable, debido a los vínculos que existen entre estos nutrientes y ciertas enfermedades.

Figura 11-1: composición de la carne

Fuente: (<http://www.fedecarne.es/ficheros/swf/pdf/guiaNutricion.pdf>)

1.2.9.3 Valor Nutricional

La carne es una fuente de aminoácidos esenciales y en cantidades apropiadas, los aminoácidos son estructuras que establecen a las proteínas y al ser consumidos pasan a constituir parte de las proteínas que necesita el cuerpo humano, para construir y conservar los músculos, sangre, huesos y órganos del cuerpo.

Los aminoácidos son bodegas de las reservas de proteínas en el cuerpo, permitiéndole la síntesis de anticuerpos proporcionando inmunidad contra enfermedades, es proporcional la capacidad de resistir enfermedades con la capacidad de creación de anticuerpos, existen 22 aminoácidos de los cuales 13 el organismo tiene la capacidad de producir y 9 tiene que ingerir mediante la alimentación es decir por ingesta de alimentos ricos en proteínas de calidad, algunos alimentos de tipo vegetal proporcionan aminoácidos pero no en la cantidad y concentración que aporta la carne.

- ✚ De 100 gramos de carne se obtiene 1.84 mg de hierro, 5.11 mg de zinc y 211 de fósforo, por su parte de 100 gramos de carne de cerdo proporciona 0.91 mg de hierro, 2.48 mg de zinc y 253 mg de fósforo.
- ✚ La carne de cerdo es rica en vitamina B1 (tiamina), que es esencial para el funcionamiento del sistema nervioso, suscita el crecimiento y colabora en la digestión de alimentos. De 100 gramos de carne de cerdo aproximadamente contiene 0.95 de vitamina B1, y parece cubrir con las necesidades diarias en hombres (1.2 mg/día), en mujeres (1.1 mg/día) y en niños (0.6 mg/día).
- ✚ De 100 gramos de carne de cerdo proporciona el 30% de vitamina B2 riboflavina diaria en hombre (1.3 mg/día) mujeres (1.1 mg/día). (USDA, 2011)

1.2.9.4 Características Organolépticas

Las características de la carne que favorecen a la aceptabilidad sanitaria como al consumidor, aquellas que hacen atractivo al paladar, vista y olfato. El aspecto, sabor, aroma, dureza, jugosidad y el color son propiedades sensoriales de la carne, influenciados por la especie, raza y alimentación; que está en dependencia del manejo post mortem del animal.

Textura.- Es uno de los atributos más importantes de calidad de la carne (Lawrie, 1985), los componentes primordiales que determinan la dureza o textura, son el tejido conectivo que incide mediante el aumento tardío que depende de la edad en la permanencia de los puentes

interfibrilares en el tiempo de vida del animal y las fibras musculares del animal, por otra parte las proteínas miofibrilares intervienen por un ágil acortamiento por la elevación del número y organización de puentes de actimosina post mortem del animal.

Sabor y Aroma.- Este atributo para ser detectado es una mezcla de estímulos olfativo (olor) y gustativo (sabor). (Forrest, 1975)

Alrededor del 70% de todos los componentes volátiles de la carne son carbonilos (cetonas y aldehídos), pirazinas, furanos y compuestos azufrados (Dwivedi, 1975), la reactividad de los carbonilos favorece a la conformación de compuestos aromáticos (cetonas cíclicas complejas), por reacciones de condensaciones de hidratos de carbono con aminoácidos en el transcurso del calentamiento y ciertas furanonas complejas. (Chang y Herz, 1970)

Los compuestos furánicos se originan por degradación térmica de los carbohidratos que puede reaccionar con compuestos nitrogenados o azufrados para producir compuestos volátiles como el piperazina (2-furil) y furfural-metil-sulfuro. (Andújar, et al., 2003, pp-75-76)

1.2.9.5 Carne Molida

Carne porcina y vacuna troceada los músculos, nervios y grasa en el extrusor. (NTE INEN 1338, 2010).

Calorías y Proteína.- Una ración de 85 gramos de carne molida, proporciona alrededor de 180 calorías y 24 gramos de proteínas basados en una dieta de 2000 calorías diarias y se necesita de 50 gramos de proteína, este tamaño de porción suministra 9% de las calorías diarias y cerca de la mitad de la proteína necesaria.

Grasa Total.- una ración de 85 gramos de carne molida, proporciona de 8.2 gramos de grasa total conjuntamente con 3.4 gramos como grasas insaturadas, según la USDA recomienda que en personas adultas no se consuma más del 20-35%, los 8.2 gramos suministra cerca de 74 calorías.

Vitaminas y minerales.- una ración de 85 gramos suministra cerca de 23 mg de magnesio, 5.8 mg de zinc, 2.6 mg de hierro y 18 µg y cumple aproximadamente la porción de un adulto sano promedio 40% de hierro, 77% de zinc, 8% de magnesio y 40% de selenio. (Morgan: http://www.ehowenespanol.com/nutricional-carne-molida-magra-93-ciento-info_144023)

1.2.9.6 Microbiología de la carne

La carne es uno de los alimentos más perecederos debido a su naturaleza química, actividad de agua (a_w) y pH; por lo que compone un ambiente favorable para la contaminación microbiana, además de ser la base de la alimentación de los seres humanos y por la importancia de su industria en el campo de la alimentación y al ser un alimento de elevado valor nutritivo por ser rico en proteína.

Lo recóndito del músculo del animal recientemente sacrificado posee una flora muy insignificante, del precepto de un germen por gramo (g), dicha microbiota desciende de los intestinos y es trasladada por la sangre al músculo. En la parte exterior de la carne, fundamentalmente en el canal; se encuentra mayoritariamente contaminada por una flora muy heterogénea que se encuentra en dependencia de las condiciones higiénicas con que se manipula y del ambiente del matadero o camal.

La contaminación del cárnico inicia en la matanza del animal (res), donde ciertos microorganismos traspasan la barrera intestinal (animales fatigados, enfermos, falta de ayuno previo al deceso); continuando en otros departamentos del matadero y lugares de expendio para llegar al consumidor.

La canal (cuerpo del animal despojado de vísceras), preparada es proclive a nuevas contaminaciones por los utensilios utilizados en el proceso de despiece y evisceración. En el almacenamiento en el frigorífico la contaminación se efectúa al estar en contacto con otras carnes en períodos de almacenaje en frío por lapsos de tiempo extensos puede darse la proliferación de una contaminación psicrófila y en algunos casos se desarrolla a temperaturas cercanas a 0°Celsius.

La contaminación se sigue desarrollando en el proceso de transporte del producto cárnico a puntos de expendio frigoríficos, tercenos, supermercados y tiendas donde se sigue contaminando si no existen condiciones higiénicas y no toma las medidas necesarias para su preservación del cárnico. (Pascual y Calderón, 2000, pp-219)

1.2.9.6.1 Vías de contaminación

MATADERO

- Falta de higiene de los manipuladores.
- Mala salud de los manipuladores.

- Roedores e insectos.

ANIMAL

- Contenido Intestinal (*Escherichia coli*, coliformes, *Streptococcus* y *Salmonella*)
- Piel (*Pseudomonas* y *micrococcus*)

OTRAS FUENTES

Posterior al almacenamiento y manipulación existen gérmenes del agua, suelo y aire

La carne puede contener protozoarios, parásitos helmintos (nematodos y cestodos) y bacterias patógenas.

PROTOZOARIOS QUE LOGRAN INFESTAR LA CARNE

- “*Sarocytis*”, el precursor de la sarcosporidiosis, que es transmitida por las carne de ovino y cerdo.
- *Toxoplasma gondii* que es transmitido por la carne porcina.

PARÁSITOS QUE INFESTAN LA CARNE

Nematodos

Se encuentran los denominados “gusanos redondos”, del género *Trichinella*, donde se encuentra la especie *Trichinella spiralis*.

Las larvas de este comensal crecen en el músculo estriado del animal, hasta llegar a su etapa infectante, se depositan en las miofibrillas del músculo en posición longitudinal para luego enrollarse y encapsularse en quistes calcificados. La contaminación se efectúa al ingerir carne de jabalí y cerdo cruda o cocida escasamente.

Cestodos

- ❖ *Echinococcus granulosus*, precursor de la “equinococosis”, y se presenta por el quiste hidatídico o también llamado hidatidosis y equinocosis; la infesta directa en el ser humano por carne es rara.
- ❖ *Taenia saginata*, es un parásito que habita en vacas, ovejas y cabras e infecta al hombre por el consumo de carne con *Cysticercus bovis* “cisticercos” y se instituye en el intestino la forma adulta del parásito en el hombre.

- ❖ *Taenia solium*, es un parásito que se encuentra en cerdos, la infestación en el hombre se efectúa por el consumo de carne con *Cysticercus cellulosae* y se implanta en el intestino del hombre.

BACTERIAS PATÓGENAS

Existen varias enfermedades humanas que son transmitidas por las carnes como *Brucella* (brucelosis), *Salmonella* (salmonelosis), *Bacillus anthracis* (carbunco) y la *Pasteurella tularensis* (tularemia); entre otros, la carne al ser un alimento susceptible de fácil contaminación es ineludible que las operaciones posteriores del deceso del animal se efectúen en ambientes de refrigeración por lo que es necesario que la cadena de frío debe ser ininterrumpida. En la preservación de la carne se utilizan el sistema de congelación y refrigeración.

En la congelación se logra devastar ciertas bacterias e inhibir el crecimiento de otras; en el período de descongelación de la carne si es retardado puede darse la proliferación de la flora psicrófila que se ha logrado inhibir en el alimento congelado, como es el caso de la *Salmonella* que a temperatura de congelación es inhibida pero resisten y se hacen en algunos casos más resistentes.

En las diversas formas de los productos cárnicos la que está más proclive a una alteración fácil es la carne molida o carne picada, debida a su extensa superficie de contaminación, por su amplia manipulación y se encuentra blandamente triturada. (Pascual y Calderón, 2000, pp-220-222)

Las especies que generalmente se hallan en la carne son del género:

- *Escherichia*
- *Pseudomonas*
- *Streptococcus*
- *Achromobacter*
- *Sarcina*
- *Micrococcus*
- *Proteus*
- *Flavobacterium*
- *Leuconostoc*
- *Clostridium*
- *Bacillus*
- *Streptomyces*
- *Chromobacterium*

- *Levaduras: Rhodotonda, Candida, Saccharomyces.*
- *Mohos: Aspergillus, Penicillium, Sporotricum, Mucor, Alternatia, Thamnidium, Monilia y Cladosporium.*

1.2.9.7 Alteraciones de la Carne

En la maduración de la carne se pueden originan alteraciones como resultado de la degradación; por su naturaleza físico-químicas; que son originados por microorganismos.

1.2.9.7.1 Degradación por organismos aerobios

Viscosidad: se caracteriza por la manifestación de una superficie viscosa, a la par de un olor desagradable, y se produce cuando superan el valor de 10^7 (gérmenes/cm²) gérmenes por centímetro cuadrado. Normalmente es ocasionado por gérmenes hidrófilos, psicotróficos y aerobios que se desarrollan en un ambiente beneficiado para su crecimiento en un medio húmedo y frío; los géneros de microorganismos *Bacillus*, *Achromobacter*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*; mohos y levaduras.

Decoloración: se debe a procesos de oxidación producidos por bacterias del género *Leuconostoc* y *Lactobacillus* además de ciertas levaduras.

Pigmentación: transformación ocasionada por *Micrococcus*, *Pseudomonas* y *Flavobacterium*; *Penicillium*, *Cludosporium herbarum* y *Sporotrichium carnis* (mohos) y la levadura *Rhodotorula*.

Enraciamiento: es la alteración de la grasa de la carne ocasionada por *Pseudomonas*, mohos y levaduras.

Enmohecimiento: esta alteración se da por la presencia de microflora del tipo micótica como *Rhizopus*, *Penicillium*, *Mucor* entre otros.

Decoloración verde: generalmente se produce cuando se almacena carnes a temperatura de entre 1 y 2 [°C] grados Celsius y baja tensión de O₂; de manera que son temperaturas de refrigeración dichas condiciones dan lugar a la pigmentación verde que se debe a la transformación de mioglobina en sulfomioglobina ante la presencia del gas sulfídrico SH₂; producida *Pseudomonas mephitica* cuando se incrementa las colonias en la carne.

Lipólisis: es el proceso bioquímico de la hidrolisis de las grasas que dan lugar a la formación glicerol y ácidos grasos que provocan olores específicos como el Ácido butírico (olor

característico del enranciamiento), y son producidas por bacterias precursoras lipolíticas *Achromobacter* y *Pseudomonas*.

Fosforescencia: se origina por el desarrollo de microorganismos fosforescentes como es el caso de la *Photobacterium*, que es una alteración provocada por procesos oxidativos de la luciferina; en el cual la luciferina es oxidada por O₂ y catalizada por la enzima luciferasa bacteriana, de flavinmononucleótido reducido y aldehído de cadena larga y la reacción produce un exceso de energía que se libera en forma de luz. (Ilyiná et al., 1998, pp.2-11)

Sabor y Olores anormales:

- + **Agrio sabor y olor.-** se debe a la fabricación de ácidos volátiles, al crecer levaduras y bacterias que son acidificantes.
- + **Sabor Rancio y a tierra:** por desarrollo de actinomicetos.
- + **Sabor a húmedo:** por el desarrollo de mohos.

1.2.9.7.2 Degradación por organismos anaerobios

Las degradaciones por microorganismos anaerobios se originan siempre y cuando existan condiciones de anaerobiosis.

✚ **Agriado:** por la presencia de compuestos volátiles y no volátiles (Ácidos), como resultado de:

- **Proteólisis microbiana.-** es la degradación de proteínas por enzimas, que no es de origen de la putrefacción; sino que se debe a la acción de bacterias lácticas, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium* y *Staphylococcus*.
- **Procesos fermentativos microbianos.-** con la formación de compuestos químicos (ácido láctico y ácidos grasos).
- **Acción enzimática.-** del cárnico en el transcurso de su maceración.

✚ **Putrefacción.-** degradación que revela la descomposición de tipo anaeróbica de las proteínas con la producción de olores desagradables como escatol, ácido sulfhídrico mercaptano, indol y amoníaco; el producto cárnico que presenta alteración putrefacta se encuentra colmada de gas, presentan una pigmentación verdosa que desprenden olores desagradables; generalmente se produce en carnes que son mal refrigeradas o no se almacena en refrigeración, pues las bacterias que produjeron se inhiben a temperaturas menores a 20 °C y carnes con un pH a 6.2 son las más perturbadas.

✚ **“Hueso Hediondo”**.- alteración caracterizada por la fabricación de un olor fétido en las partes más internas de la carne, especialmente en la zona cercana al hueso del animal, y es ocasionado por la mala refrigeración del cárnico con un elevado pH.

Generalmente participan las bacterias *Clostridium hystoliticum*, *Clostridium putrefaciens* y *Clostridium putrificum*. (Pascual y Calderón, 2000, pp-220-224)

1.2.9.8 Análisis microbiológico de Carnes

Suele emplearse el recuento de anaerobios totales y bacterias aeróbicas totales, y la exploración de una o algunos grupos de microorganismos a temperaturas diferentes. (Moseel, 2003)

CUADRO 1. Valores microbiológicos observados en las carnes frescas cuando se cumplieron las buenas prácticas de faenamiento (2).

Tipos de carnes	Media res y cuartos mayorista*	Deshuesada congelada**	Cortes minorista*	Carne picada***
Recuento de colonias a 30°C	10 ⁵ ufc/100 cm ²	10 ^{6.5} ufc/1 mL	10 ⁶ ufc/100 cm ²	10 ⁷ ufc/g
<i>Enterobacteriaceae</i>	10 ³ ufc/100 cm ²	10 ⁴ ufc/mL	10 ⁴ ufc/100 cm ²	10 ⁵ -10 ⁶ ufc/g
<i>Salmonella</i>	1 ufc/100 cm ²	0,1 ufc/mL	10 ufc/100 cm ²	1 ufc /g
<i>S. aureus</i>	na	na	na	10 ² -10 ³ ufc/g
Presencia-ausencia de <i>E. coli</i>	70% positivo/10 cm ² 20% positivo/1 cm ²	na	50% positivo/1 cm ²	na
na: no aplicable, * muestreo por hisopado, ** jugo exprimido manualmente, *** depende del tipo y origen, además de la preparación en la carnicería				

Figura 12-1: valores microbiológicos en carnes frescas

Fuente: (www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/.../10%20carnes%20rojas.pdf)

La evaluación de bacterias psicótrofas (microorganismos que son capaces de crecer a 5°C o temperaturas menores sin afectar a su temperatura óptima de desarrollo), Gram (-) de carnes que se encuentran en refrigeración se puede realizar mediante la estimación de la actividad de aminopeptidasa por medio de un sustrato cromógeno.

En el análisis microbiológico de carnes picadas o molida y salchichas, se efectúan en placas de las diluciones en un rango de 10⁻⁴ hasta 10⁻⁸, debido que al momento de realizar el recuento hay un excesivo número de bacterias que se hace incontable, resulta factible escatimar el valor de coliformes presentes y establecer la proporción de *Escherichia coli*.

Coliformes y Enterobacteriaceae en su mayoría nos son pobladores del tracto de los animales, es frecuente que se hallen en ambientes donde se fabriquen alimentos y haya una falta de medidas

higiénicas. Por el cual se cuestionan la deducción de que *Escherichia coli* indica contaminación fecal y la presencia de bacterias entero patógenas. (Universidad de Salta: www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/.../10%20carnes%20rojas.pdf)

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>Staphilococcus 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

Figura 13-1: requisitos microbiológicos para carne molida

Fuente: (NTE INEN 1346:2010)

1.2.10. Microorganismos Indicadores

La vasta gama de la utilización de especies de microorganismos, por el cual el recuento o cuantificación se efectúa con mayor facilidad y su presencia en los alimentos (UFC), muestra que los productos cárnicos estaban expuestos a ambientes que podrían haberse contaminado con microorganismos patógenos, y con la probabilidad de la multiplicación de géneros toxigénicas e infecciosas.

Las especies empleadas con dichos fines se designan “Microorganismo Indicadores”; y se emplea como parámetros de evaluación de la inocuidad de los alimentos en referencia a las toxinas y microorganismos patógenos, así como de la calidad microbiológica. (Universidad de Murcia, 2010, pp-2-20)

1.2.10.1 Recuento de microorganismos viables “Aerobios mesófilos”

La cuantificación de estos organismos y resultados elevados en alimentos perecederos demuestran la falta de condiciones inapropiadas del almacenamiento en relación de tiempo-temperatura. La existencia de un recuento donde se evidencia valores elevados de aerobios mesófilos que se desarrollan a temperatura corporal o cercana representa que pudo haberse condiciones óptimas para la multiplicación de patógenos microbianos.

Cualquiera de las bacterias patógenas, que son vehiculizadas por los alimentos son mesófilas y en determinados casos favorecen con su presencia en la cuantificación en placa.

1.2.10.2 Recuento de mohos y levaduras

En alimentos de baja actividad de agua y alimentos ácidos, se desarrollan con mayor rapidez a diferencia que las bacterias, estableciendo trascendentales pérdidas por la alteración de frutas, quesos, vegetales y alimentos deshidratados y congelados que se almacenan en deplorables condiciones.

En los alimentos que no son ácidos, que conserven la humedad, los mohos y levaduras crecen más lento que las bacterias, por lo que es escaso las veces que establecen dificultades en dichos alimentos.

1.2.10.3 Bacterias entéricas indicadoras *Escherichia coli*, coliformes y *Enterobacteriaceae*

Escherichia coli habita en el tracto intestinal tanto en los hombres y animales; por lo que es un indicador de contaminación fecal. Al ser un indicador tradicional de la probable existencia de patógenos entéricos en lácteos, alimentos crudos y agua.

Es habitual en la práctica emplear ensayos para coliformes, que incluyen *Escherichia coli*, en las pruebas preliminares o screening; si en estos exámenes se concluye la posibilidad de contaminación fecal, las *Enterobacteriaceae* y coliformes se someten a estudios posteriores para comprobar la presencia de *Escherichia coli*.

Al hablar de coliformes aborda a la familia *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli*; que son bacterias fermentadoras de lactosa con la producción de gas a temperatura de 31 a 37°C, pudiendo ser o no fecal.

Los Coliformes fecales están integrados por microorganismos seleccionados mediante incubación de los agentes patógenos, procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a elevadas temperaturas de 44 a 45 °C; dichos cultivos de enriquecimiento poseen un elevado porcentaje de *Escherichia coli* por lo que demuestran la probable contaminación fecal del alimento.

1.2.10.4 Microorganismos índice e indicador

- El único microorganismo viable como índice en el análisis de vegetales frescos es la *Escherichia coli*.
- En alimentos de origen animal, la gran mayoría resultan de contaminación fecal, y su presencia en un elevado número muestra la antihigiénica manipulación del alimento y un inadecuado almacenamiento.

MICROORGANISMOS INDICADOR

- Incremento microbiano que pudiese haber permitido el desarrollo y crecimiento de microorganismos toxigénicos y patógenos.
- Procesamiento incorrecto y contaminación por parte de equipo, materia prima y manipulación antihigiénica.

I. **Streptococcus del grupo D de Lancifield**

Consta de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* y *Streptococcus equinus* y *Streptococcus bovis* que son microorganismos más vulnerables al calor. Se hallan extensamente distribuidos en el ambiente su denominación como indicadores de contaminación fecal se encuentra seriamente restringido. Son microorganismos que resisten temperaturas bajas como elevadas, a desinfectantes y detergentes como a la desecación.

- ☞ Son indicadores de la falta de práctica de desinfección y limpieza en industrias alimentarias.
- ☞ Como son microorganismos que resisten a procesos de congelación son indicadores de procesos sanitarios deficientes en industrias de alimentos congelados.
- ☞ Resisten a tratamientos térmicos que pueden darse condiciones favorables para la existencia de virus en alimentos deshidratados y pasteurizados.

II. ***Clostridium* sulfitorreductores (*Clostridium perfringens*)**

Son microorganismos anaerobios que proceden del intestino del ser humano como de animales, son formas esporuladas son indicadores de deficiencias antihigiénicas por contaminación telúrica (contaminación a través del suelo). Su importancia reside que en este grupo se halla el patógeno *Clostridium perfringens*. (Universidad de Murcia, 2010, pp-2-20) (1)

1.2.11. Recuento de microorganismos indicadores

La cuantificación de microorganismos indicadores se fundamenta en el recuento de bacterias viables que se basan en el número de colonias que se desarrollan en placas que contienen un agar nutritivo; que previamente han sido inoculadas con cantidades del inóculo del alimento que está en dilución para su posterior incubación que generalmente es de 35-37° Celsius. Es de suma importancia el recuento de microorganismo para establecer las condiciones del alimento son inocuos como también detectar posibles contaminaciones. La estimación y/o recuentos de

microorganismos destacan aerobios totales, enterobacterias, coliformes totales, *Escherichia coli*, enterococos, clostridios sulfito-reductores y *Salmonella*.

(ANALIZA: <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi168arf2005-1.pdf>)

1.2.11.1 Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del Número más probable (NMP)

Las bacterias coliformes tienen la capacidad de proliferar en los alimentos incrementado su número rápidamente independientemente que haya habido una alta contaminación, la demostración y conteo se puede realizar mediante a la fermentación de tubos que poseen caldo triptosa lauril sulfato de sodio o caldo lactosado y cuantificando mediante las tablas del número más probable NMP. (Aarcón y Olivas, 2001, pp-84-85)

El método radica en la determinación del número más probable NMP; mediante la dilución de tubos, empleando el medio selectivo líquido caldo verde brillante bilis-lactosa y los tubos que presenten la presencia de gas en tubos Durham, se confirman en agar eosina azul de metileno EMB, dichas bacterias Gram negativas en presencia de sales biliares fermentan la lactosa formando gas y ácido; la importancia de este grupo de microorganismos es que se emplean como indicadores del grado de higiene. (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1990, p. 1)

1.2.11.2 Recuento mediante placas 3M Petrifilm

Las Placas 3MTM PetrifilmTM son métodos reconocidos por la AOACTM INTERNATIONAL (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales) como Métodos Oficiales de Análisis (OMA); los métodos con placas Petrifilm han sido validados por AFNOR (Asociación francesa de Normalización); sus placas radican en medios de cultivo listos para sembrar, que contiene un agente gelificante soluble en agua, los nutrientes e indicadores todos los componentes necesarios para el crecimiento microbiano, las ventajas de utilizar este método: placas lista para usar, reduce el tiempo en obtener resultados microbiológicos, evita la preparación de medios de cultivo, rápido y fácil interpretación de resultados.

Pasos para recuento de microorganismos en placas PetrifilmTM

- A) Inocular B) Incubar C) Sembrar



Figura 14-1: Recuento de microorganismos en placas Petrifilm™

Fuente: (<http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm.pdf>)

➤ Placa 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX)

Es una prueba cualitativa para la detección de patógenos que se usa para la detección rápida y confirmación bioquímica de *Salmonella* en muestras enriquecidas de alimentos y ambientes en plantas de alimentos el sistema 3M Petrifilm *Salmonella* Express consiste en;

- 3M™ Enriquecimiento Base para *Salmonella* y 3M™ suplemento para enriquecimiento de *Salmonella*: medios exclusivos para la recuperación y el desarrollo de las especies de *Salmonella*.
- La placa 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express es un sistema con medio de cultivo cromogénico listo para el análisis que contiene un agente gelificante soluble en agua fría que es selectivo y diferencial para *Salmonella* que permite proveer un resultado presuntivo.
- Disco de confirmación 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express es un sustrato bioquímico que facilita la confirmación bioquímica de los organismos *Salmonella* (3M, Petrifilm, 2013, pp-1-3)

➤ Placa Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus*

Es un sistema de medio modificado cromogénico de Baird-Parker en la placa es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*, y en la placa se presentan como colonias rojo-violeta. Si se halla en el fondo de la prueba, el disco Staph Express Petrifilm que se utiliza para la detección de *Staphylococcus aureus* con respecto a la presencia de colonias sospechosas como colonias de color negro o azul verdoso; el disco de confirmación posee una tintura y un ácido desoxirribonucleico DNA, *Staphylococcus aureus* origina desoxirribonucleico DNAasa que reaccionan con la tintura del disco de confirmación para formar un halo rosado; esporádicamente el *Staphylococcus hycus* y el *Staphylococcus intermedius* generan zonas rosadas, todos ellos pertenecientes al grupo conocido como *Staphylococcus* de coagulasa positiva. (3M, Petrifilm, 2004. p.6).

➤ Placa Petrifilm de *Escherichia coli* y Coliformes Totales contienen nutrientes de Bilis Rojo

Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad Glucoronidasa y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias. Aproximadamente el 97% de las colonias de *Escherichia coli* producen β -glucoronidasa la que a su vez forma un precipitado azul asociado a la colonia. La película superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por parte de los Coliformes y *Escherichia coli*. Cerca del 95% de las *Escherichia coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo azuladas asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm.

La AOAC y el manual de Bacteriología Analítica BAM de la US FDA, definen a los coliformes como bacilos Gram negativos que en la ruta metabólica de la lactosa producen gas de la fermentación y ácido, por lo que en la placa Petrifilm durante su crecimiento van generando ácido, por lo que el indicador de pH se va opacando o penetrando el color del gel; el gas que es atrapado alrededor de la colonia hace confirmatoria la presencia de un coliforme. (3M, Petrifilm, 1998. p.2).

1.2.12 Medios de cultivo

Para estudiar y determinar los microorganismos, así como sus reacciones metabólicas y fisiológicas es preciso aislarlas y cultivarlas en un medio de cultivo donde proporcione los medios necesarios para el desarrollo multiplicación y crecimiento, que dependerá de cada una de las especies y géneros en cuanto a las necesidades de composición, pH, presión osmótica, potencial redox, hidratación temperatura y la atmósfera. (Alvarez et. al., 1995, p. 28)

1.2.12.1 Tipos de medios de cultivo

Al no existir un medio universal y abarque a las necesidades de todas las bacterias, la deliberación del medio de cultivo, se realiza a partir a sus necesidades nutritivas y hábitat. (Alvarez et. al., 1995, pp. 28-29)

Según el fin que estén destinados a emplearse se clasifican en:

- **Medios selectivos:** son aquellos que se emplean para inhibir en su totalidad el crecimiento de bacterias diferentes al que se quiere aislar y están presentes en la muestra; como la azida sódica que permite el crecimiento de cocos Gram (+).

- **Medios de enriquecimiento:** son aquellos que favorecen las condiciones para el crecimiento de una bacteria en particular, que se encuentra en una cantidad mínima como el caldo selenito y tetrionato que se emplea para incrementar el número de *Salmonella*.

- **Medios de diferenciación:** son aquellos que se emplean para poner en notorio a las bacterias que dan positiva en alguna prueba bioquímica. Como los medios empleados para enterobacterias que en su composición incluyen lactosa.

- **Medios de identificación:** se emplean para la identificación de un solo tipo de bacteria.

- **Medios de multiplicación:** aquellos que poseen una composición categórica y óptima para un grupo de microorganismo al cual va encaminado.

- **Medios de conservación:** en su composición favorece para el mantenimiento de los microorganismos y se incuban a $+2 \pm 4$ °C.

1.2.12.2 Agar Eosina Azul de metileno EMB

Es un medio diferencial para el cultivo de *Enterobacteriaceae*, en su composición contiene eosina y azul de metileno y la inserción de lactosa permite distinguir los microorganismos que fermentan el azúcar y los que no.

1.2.12.3 Agar Standard Methods

Standard Methods o Placa de agar recuento PCA; es un medio no selectivo recomendado para enumerar las bacterias de interés sanitario, que son indicadores de la contaminación o la carga microbiana en los alimentos, ajustada a la American Public Health Association APHA y la Association of Official Analytical Chemists AOAC. (NEOGEN, 2011)

1.2.12.4 Agar Manitol

El agar manitol salado, es un medio para aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva donde la concentración de cloruro de sodio (NaCl), inhibe el crecimiento de bacterias que no pertenecen al género *Staphylococcus*. (Chapman G.H, 1945, pp.201.203)

1.2.13 Diluyentes

Posterior a la toma de la muestra, se efectúan diluciones con el objetivo de lograr conseguir una muestra representativa del alimento, en cuanto al aspecto cuantitativo y cualitativo con el fin de lograr una distribución de microorganismos lo más uniforme posible y se realiza gracias al empleo del diluyente.

El diluyente favorece a la recuperación de microorganismo que se encuentran en la muestra para ponerlos en manifiesto cuando se cultivan, un diluyente debe poseer osmolaridad y pH favorables para la activación y recuperación de las colonias microbianas. Y se utiliza en la preparación de la solución madre y para las respectivas diluciones decimales. (Camacho et al., 2009, p. 2)

En análisis microbiológico de alimentos un buen diluyente es aquel que no produzca modificaciones en la flora del alimento de análisis es decir contenga lo más fielmente la microbiota de la muestra, sin favorecer ni suprimir el desarrollo. (Pascual y Calderón, 2000, p. 10)

Los que comúnmente se utiliza en microbiología alimentario son:

- Agua de triptona con sal (Tryptone Water: TW)
- Solución de Ringer $\frac{1}{4}$
- Agua de peptona

1.2.13.1 Agua de peptona

Se utiliza como diluyente en muestra alimentarias, como leches y derivados y productos de origen animal además se emplea como caldo de enriquecimiento no selectivo en particular de enterobacterias patógenas. Compuesta por una mezcla de fosfatos es una solución tampón para mantener las variaciones de pH al momento de agregar la muestra como en el crecimiento microbiano en sí, el cloruro de sodio mantiene el nivel salino adecuado para el desarrollo y mantenimiento de los microorganismos; por su parte la peptona provee los nutrientes necesarios para los organismo que no presentes exigencias particulares.

El proceso de pre-enriquecimiento con este caldo de crecimiento especialmente de enterobacterias patógenas, pues activa a microorganismos inactivos en los procesos industriales; es notable el pre-enriquecimiento en muestras de alimentos que se debe detectar *Salmonella*. Su

composición corresponde a las recomendaciones propuestas por la ISO en productos cárnicos. (PANREAC QUÍMICA, 2003, pp. 9-10)

1.2.14 Mercado “La Condamine”

El mercado popular “La Condamine”, se encuentra ubicado en las calles Esmeraldas y Carabobo, es un sitio emblemático en la comercialización de productos de primera necesidad como verduras, frutas y productos cárnicos, debido a la gran concurrencia de la población hacia este lugar de comercio especialmente los días sábados. (Jara, 2016)

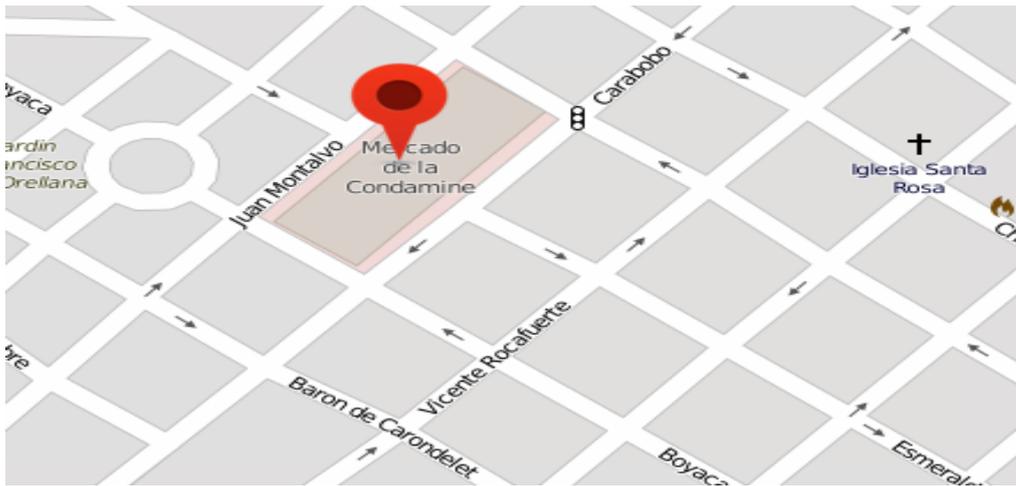


Figura 15-1: Ubicación del mercado “La Condamine”

Fuente: (Ubica, 2016)

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

El plan de análisis microbiológico de carnes molidas expendidas en el mercado de la ciudad de Riobamba, se detalla en la Figura 1-2; que comprende el muestreo, proceso de la carne molida, siembra, incubación, cuantificación de unidades formadoras de colonias y pruebas confirmatorias.

2.1 Lugar de Investigación

El mercado popular de estudio “La Condamine” está ubicado en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, sitio donde se realizó los muestreos de la carne molida.

Para el análisis y procesamiento microbiológico de las muestras se realizara:

Lugar: Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Cantón: Riobamba

Provincia: Chimborazo

2.2 Factores de Estudio

2.2.1 Población de estudio y localización del muestreo

La población de estudio son los microorganismos Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*; presentes en la carne molida que se expende en el mercado popular “La Condamine” de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo.

2.3 Materiales, equipos y reactivos

	Guantes
	Mascarilla
	Gorro
	Mandil
	Cooler

<p style="text-align: center;">Materiales</p>	<p>Marcador</p> <p>Envases de vidrio estériles 250 mL</p> <p>Algodón</p> <p>Gasa</p> <p>Cinta indicadora</p> <p>Puntas azules estériles</p> <p>Pipeta automática de 1000 µL</p> <p>Probeta de 100mL</p> <p>Jeringuillas de 10mL</p> <p>Tubos de ensayo</p> <p>Gradilla</p> <p>Lámpara de alcohol</p> <p>Asa de platino</p> <p>Tubos Durham</p> <p>Hisopos</p> <p>Parafilm</p> <p>Erlenmeyer de 50mL</p> <p>Cajas Petri</p> <p>Placas porta y cubre objetos</p> <p>Placas 3M Petrifilm Staph Express</p> <p>Placa 3M™ Petrifilm™ <i>Salmonella</i> Express</p> <p>Placa Petrifilm de <i>E. coli</i> y Coliformes</p> <p>Reverbero</p> <p>Agar Eosina azul de metileno</p> <p>Agar Standard Methods</p> <p>Agar manitol</p> <p>Caldo verde bilis brillante</p> <p>Agua de peptona</p> <p>Enriquecimiento Base para Salmonella</p> <p>Suplemento de enriquecimiento de Salmonella</p>
<p style="text-align: center;">Equipos</p>	<p>Balanza analítica</p> <p>Cámara de flujo laminar</p> <p>Estufa bacteriológica</p> <p>Autoclave</p> <p>Microscopio</p>

Reactivos	Tinción Gram
	- Cristal violeta
	- Lugol
	- Alcohol acetona
	- Safranina
	Aceite de Inmersión

Elaborado por: (Jara, 2016)

2.4 Metodología

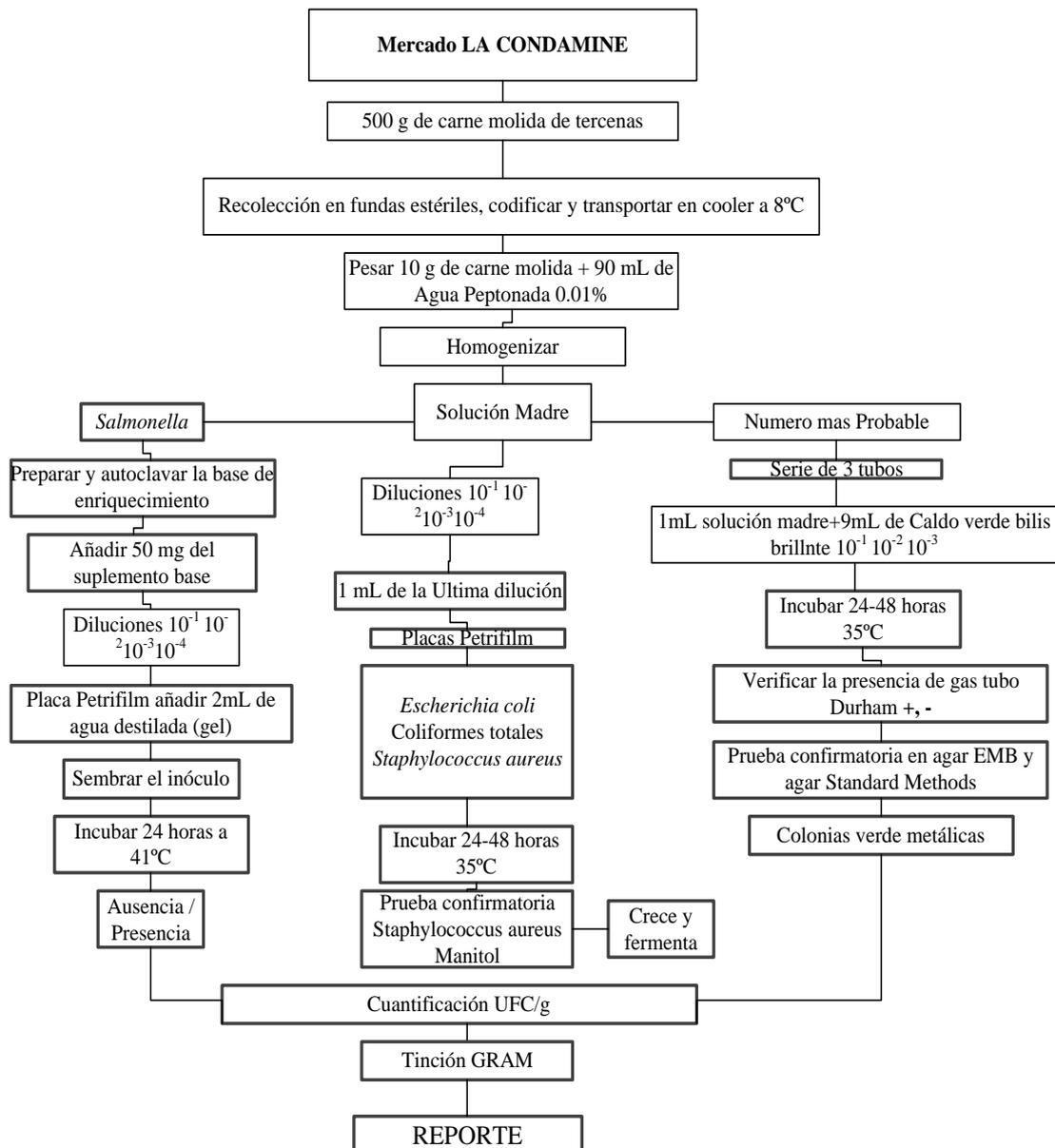


Figura 1-2: Metodología para el análisis microbiológico de carne molida

Elaborado por: (Jara, 2016)

2.4 Muestreo

Para el plan de muestreo se tomó referencia la norma técnica Ecuatoriana de Carne y productos cárneos, muestreo NTE INEN 776: 2012; y realizando en condiciones asépticas la toma de muestra en las tercenas.

- ⊙ Recoger las muestras de carne molida en fundas Ziploc y codificar.
- ⊙ Transportar las muestras en el cooler para evitar contaminación.

2.5 Análisis Microbiológico

2.5.1 Métodos y técnicas

El método empleado en las placas Petrifilm para la cuantificación de microorganismos es por siembra directa.

Técnicas: protocolo de muestreo de la guía para muestreos de alimentos FAO (Organización de las naciones Unidas para la agricultura y la alimentación). (FAO, 2010, pp. 35-36)

Protocolo de análisis microbiológico de carnes molidas expandidas en el mercado La Condamine de la ciudad de Riobamba

- 1) **Objeto del muestreo:** carne molida o de hamburguesa
- 2) **Objetivo del muestreo:** análisis microbiológico de la carne molida que se expende en los mercados populares de la ciudad de Riobamba.
- 3) **Características a evaluar:** cuantificar las unidades formadoras de colonias de Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*.
- 4) **Punto de muestreo:** mercado popular “la Condamine”.
- 5) **Plan de muestreo:** recolección de 500 gramos de muestra de carne molida de cada terciena.
- 6) **Envases de recolección:** bolsas de plástico estériles.
- 7) **Toma de muestra:** 500 gramos de carne de cada terciena del mercado con su respectiva codificación.
- 8) **Transporte de la muestra:** cooler´s para mantener la muestra a una temperatura de 2 a 8 °C, hasta llegar al laboratorio para su análisis.
- 9) **Informe de muestreo:** elaboración de un croquis del sitio del muestreo en el mercado.

- 10) **Análisis de laboratorio:** protocolo de análisis microbiológico en placas Petrifilm.
- 11) **Análisis y Discusión de resultados:** interpretación con la norma para carne molida NTE INEN 1346:2010.

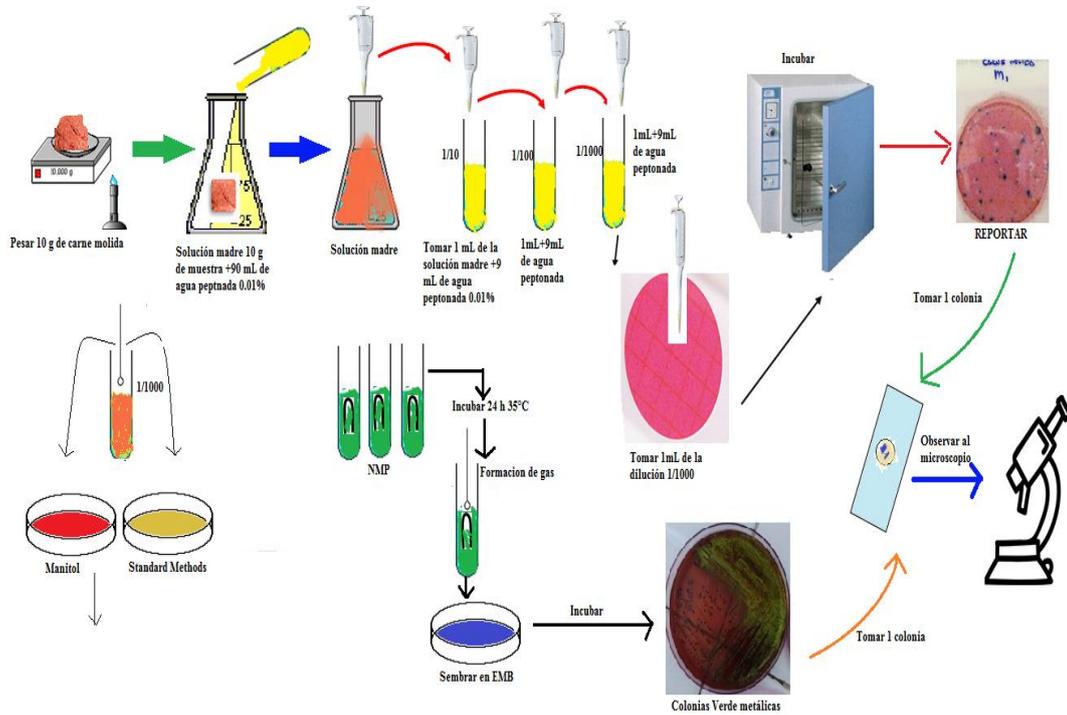


Figura 2-2: Protocolo de análisis microbiológico de carnes molidas expandidas en el mercado La Condamine de la ciudad de Riobamba
Elaborado por: (Jara, 2016)

2.5.2 Recuento en placas Petrifilm

Preparación de la muestra

Después del muestreo en el mercado se procede a procesar la muestra en el laboratorio.

1. Desinfectar el área de trabajo con alcohol o tego.
2. Codificar los envases de vidrio en donde se colocara la muestra.
3. Retirar la muestra de carne molida de la funda ziploc.
4. Pesar 10 g de carne en el envase de vidrio de cada una de las muestras a analizar.
5. Añadir 90 mL de agua de peptona a los gramos de carne, “Solución madre”.
6. Homogenizar.
7. Esperar 15 minutos aproximadamente hasta que se sedimente.
8. Del sobrenadante tomar 1000 μ L + 9 mL de agua de peptona. (1/10)
9. Homogenizar

10. De la solución anterior tomar 1000 μL + 9 mL de agua de peptona. (1/100)
11. Homogenizar
12. De la solución anterior tomar 1000 μL + 9 mL de agua de peptona. (1/1000)
13. Homogenizar
14. De esta última dilución tomar 1000 μL y sembrar en los respectivos medios para el crecimiento de unidades formadoras de colonias.

- Preparación del diluyente agua de peptona (pre-enriquecimiento de la muestra)

Suspender 15 gramos del medio en 1 litro de agua destilada, se calienta a ebullición y posteriormente hervir por 1 minuto ajustar a pH 7.2 ± 0.2 y esterilizar en el autoclave a 121°C por el lapso de 15 minutos. Enfriar a una temperatura aproximada 40°C y se reparte en cajas Petri estériles, se deja solidificar a temperatura ambiente.

Composición por litro:

Peptona	10 g
Sodio cloruro	5 g

Inoculación de la muestra

Antes de iniciar el análisis microbiológico se desinfecta la cámara de flujo laminar con alcohol y posteriormente exponer al UV por 20 min.

- a) Realizar las diluciones respectivas de la muestra 1/1000.
- b) Codificar las placas Petrifilm
- c) Colocar la placa en una superficie plana y se levanta la película superior de la placa y en el centro de la placa colocar perpendicular la pipeta y colocar 1 mL de la muestra en la película inferior.
- d) Bajar la película superior con precaución de que se forme burbujas de aire en la película inferior.
- e) Colocar el difusor en el centro de la placa y presionar ligeramente para que se distribuya la muestra uniformemente. (3M, 2002)

Incubación

Las placas Petrifilm se incuban en estufa a $35^\circ\text{C} \pm 1$; puede existir variación en la incubación de placas Petrifilm en cuanto al tiempo y su temperatura como es el caso de Salmonella se incubaba a $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$, y se debe tomar precaución al apilar las placas en no más de 20 placas. (3M, 2002)

Interpretación

Realizar el conteo de las colonias características en cada placa Petrifilm, característico del color para cada microorganismo. (3M, 2002)

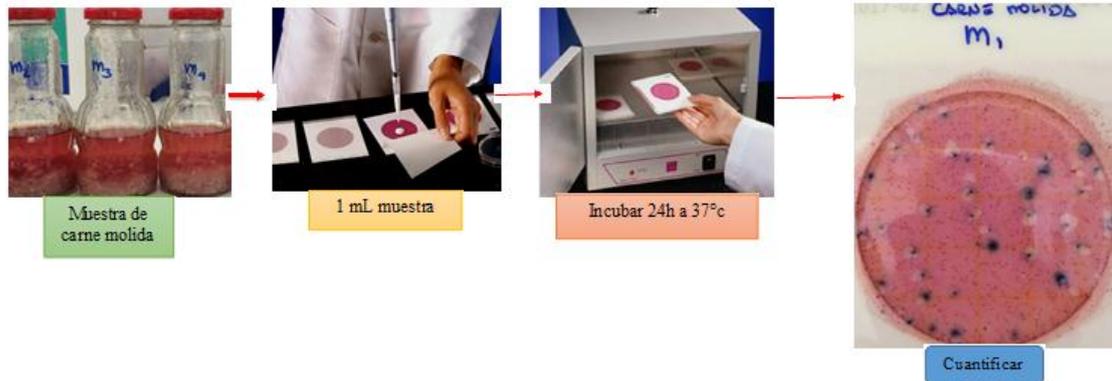


Figura 3-2: Metodología para el recuento en placas Petrifilm

Fuente: (3M, 2013).

Elaborado por: (Jara, 2016)

2.5.2.1 Recuento *Escherichia coli*/coliformes totales, *Staphylococcus aureus*

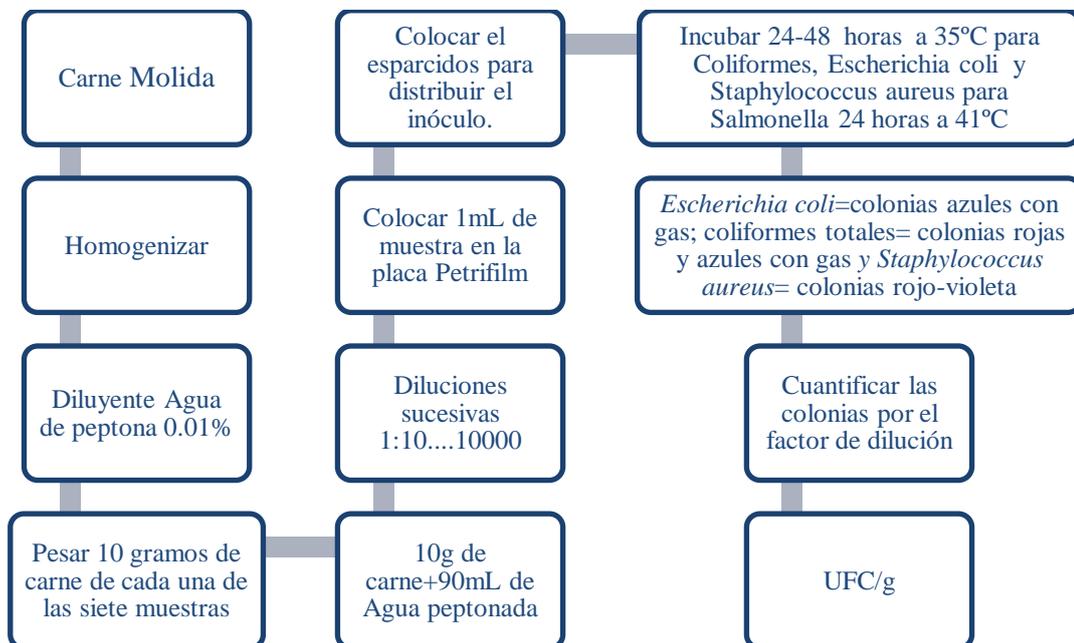


Figura 4-2: Metodología para el recuento de *Escherichia coli*/coliformes y *Staphylococcus aureus* totales en placa Petrifilm

Fuente: (3M, Petrifilm, 1998. pp-3-5).

Elaborado por: (Jara, 2016)

➤ Interpretación y cuantificación en placa Petrifilm de *Escherichia coli*/coliformes

Una vez transcurrido el período de incubación en la estufa, se cuantifica las unidades formadoras de colonias; teniendo en cuenta las premisas de la **AOAC método oficial 991.14;**

para la detección de coliformes se incubaba a 24 horas (± 2 horas) a 35° (± 1 $^{\circ}\text{C}$); y para *Escherichia coli* se incubaba a 48 horas (± 2 horas) a 35° (± 1 $^{\circ}\text{C}$).

Coliformes totales: colonias rojas y azules con gas.

Escherichia coli: colonias azules con gas

Cuantificar las colonias y calcular el recuento de UFC; mediante el cálculo del recuento de *Escherichia coli* y coliformes utilizando como factor de correlación.

UFC/g= n* f (Dilución de la muestra) (INEN, 1990, p.3)

Donde:

n= número de colonias

f= factor de dilución

Reportar

➤ Interpretación y cuantificación en placa Petrifilm de *Staphylococcus aureus*

Una vez transcurrido el período de incubación en la estufa, se cuantifica las unidades formadoras de colonias color rojo-violeta si en placa se aprecia este tipo de colonias la prueba se completa; teniendo en cuenta que para la detección de *Staphylococcus aureus* se incubaba a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ó $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 24 horas (± 2 horas) a 35° . De existir la presencia de colonias diferentes de rojo-violeta como negras o azul-verdosas, se procede a utilizar el disco de confirmación Staph Express Petrifilm; se incubaba la placa con el disco de confirmación de 1 a 3 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ o a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Staphylococcus aureus: colonias rojo-violetas.

***Staphylococcus aureus* disco de confirmación:** colonias con zonas rosadas

Cuantificar las colonias y calcular el recuento de UFC; mediante el cálculo del recuento de *Staphylococcus aureus* utilizando como factor de correlación.

UFC/g= n* f (Dilución de la muestra)

Donde:

n= número de colonias

f= factor de dilución

Reportar

2.5.2.2 Recuento *Salmonella*

Para la cuantificación de *Salmonella* en placa Petrifilm se debe prepara el diluyente que se aplicara con la muestra de carne.

I. Procedimiento de enriquecimiento

1. Pesar asépticamente 37 gramos del 3M™ enriquecimiento base para *Salmonella* y disolver en 1 litro de agua destilada.
2. Tratar en autoclave en un lapso de 15 minutos a 121°C.
3. Pesar 50 mg de Suplemento para enriquecimiento de *Salmonella*
4. A la solución tratada añadir los 50mg de Suplemento para enriquecimiento de *Salmonella*
5. Enfriar a temperatura ambiente
6. Utilizar el medio para realizar las respectivas diluciones con la muestra.

II. Procedimiento de hidratación: antes de colocar la muestra en la placa 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express debe tratarse antes de su utilización y consta de 3 películas.

1. Colocar sobre superficie plana
2. En la última película colocar perpendicular con la pipeta 2 mL de agua destilada (Hidratación de la placa).
3. Desplegar la película suavemente evitando que se forme burbujas.
4. Colocar el difusor en el centro de la placa y presionar ligeramente para distribuir homogéneamente el agua destilada en la placa.
5. Dejar a temperatura ambiente por 1 hora fuera de la luz.
6. Hasta que se forma un gel en la placa.

III. Inoculación e incubación

1. De las diluciones preparadas con la ayuda del asa de platino y sumergir.
2. Estriar en el gel de la placa suavemente en sentido superior hacia la inferior de la placa-
3. Bajar la película superior evitando que se forme burbujas.
4. Presionar ligeramente sobre la película para eliminar el aire de la zona de inoculación.
5. Incubar a 40 ± 3 °C por 24 horas
6. ***Salmonella***: colonias roja con zona amarilla y asociada una burbuja de gas, colonia roja con zona amarilla, colonia roja a burbuja de gas, sin zona amarilla

7. Verificar la presencia o ausencia en la placa
8. Reportar

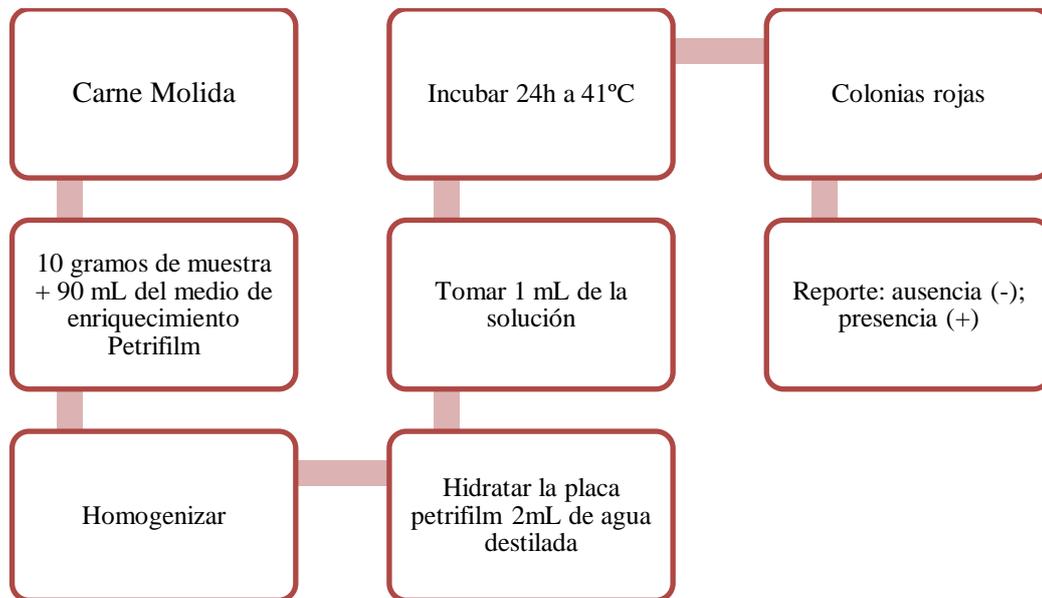


Figura 5-2: Metodología para el recuento de *Salmonella* en placa Petrifilm

Fuente: (3M, Petrifilm, 2013, pp-1-3).

Elaborado por: (Jara, 2016)

2.5.3 Determinación de microorganismos coliformes por el número más probable (NMP)

La presencia de *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas, denominadas coliformes, poseen la particularidad de fermentar lactosa produciendo gas y ácido, al estar en medios de sales biliares.

Se prepara una serie de tres tubos para cada de las muestras con 9mL de Caldo verde bilis brillante, con 1 mL de la muestra en dilución, 1:10; 1:100; 1:1000. Incubar 24-48 horas a 37°C, la prueba se reporta como positiva cuando hay presencia de gas en el tubo Durham, para determinar la cantidad de coliformes por gramo o mililitro de muestra. (Pascual y Calderón, 2000, pp-17-19)

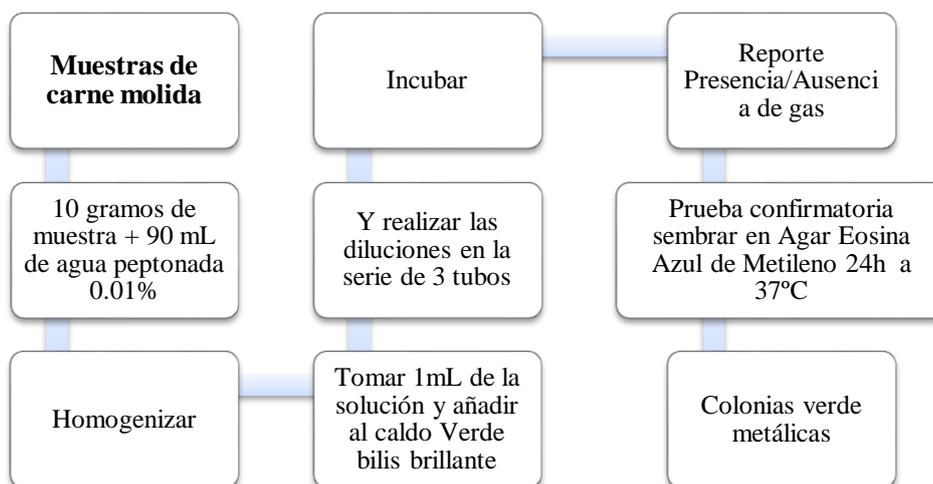


Figura 6-2: Metodología para la determinación de coliformes NMP

Fuente: (INEN, 1990, pp.1-4).

Elaborado por: (Jara, 2016)

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS EN CADA DILUCION			NMP POR GRAMO O cm ³	LIMITES DE CONFIANZA DEL 95%		CATEGORIA
DILUCION 10 ⁻¹	DILUCION 10 ⁻²	DILUCION 10 ⁻³		INFERIOR	SUPERIOR	
0	0	0	0	-	-	-
0	0	1	3	0,5	9	3
0	1	0	3	0,5	13	2
1	0	0	4	0,5	20	1
1	0	1	7	1	21	3
1	1	0	7	1	23	2
1	1	1	11	3	36	4
1	2	0	11	3	36	3
2	0	0	9	1	36	1
2	0	1	14	3	37	3
2	1	0	15	3	44	2
2	1	1	20	7	89	4
2	2	0	21	4	47	3
2	2	1	28	10	150	4
3	0	0	23	4	120	1
3	0	1	39	7	130	2
3	0	2	64	15	380	4
3	1	0	43	7	210	1
3	1	1	75	14	230	2
3	1	2	120	30	380	3
3	2	0	93	15	380	1
3	2	1	150	30	440	2
3	2	2	210	35	470	3
3	3	0	240	36	1 300	1
3	3	1	460	71	2 400	1
3	3	2	1 100	150	4 800	1

Figura 7-2: Índice del NMP de bacterias cuando se utiliza tres alícuotas de 1 cm³ por dilución.

Fuente: (INEN, 1990, p. 5).

Posterior al reporte de las series de 3 tubos, se ve la presencia de gas en cada serie correspondiente a cada dilución, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, y se compara con la tabla de la norma INEN 1529-6, para la Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del NMP, y se reporta en NMP/g.

Reportar

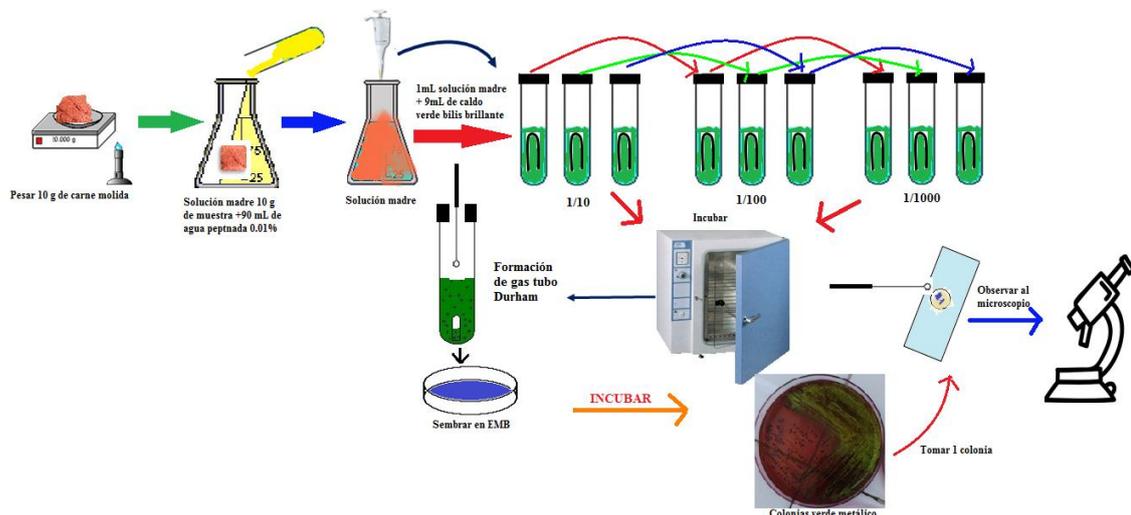


Figura 8-2: Proceso para la determinación de coliformes mediante la técnica del NMP
 Elaborado por: (Jara, 2016).

2.5.4 Prueba confirmatoria de coliformes

Para la confirmación de la presencia de coliformes se siembra el inóculo de la muestra *en agar eosina azul de metileno* (EMB) e incuban por 24 horas a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$; verificar macroscópicamente el color de las colonias y tomar una colonia para realizar la tinción Gram y ver su morfología microscópica. (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1990, p. 3)

Este medio diferencial por sus colorantes contenidos inhiben la flora Gram (+) en su mayoría. Por el contrario la bacterias Gram (-) como el caso de *Escherichia coli* tiene un aspecto característico sus colonias son verde metálicas brillantes. (Alvarez et. al., 1995, p. 32)

- Preparación del medio de cultivo EMB (eosina azul de metileno)

Suspender 37.5 gramos del medio en 1 litro de agua destilada, se calienta a ebullición y posteriormente hervir por 1 minuto ajustar a pH 7.2 y esterilizar en el autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por el lapso de 15 minutos. Enfriar a una temperatura aproximada $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se reparte en cajas Petri estériles, se deja solidificar a temperatura ambiente.

2.5.5 Determinación del contenido microbiano de interés sanitario

Este medio se utiliza para la enumeración de bacterias en alimentos aguas y productos lácteos. Se toma 1 mL de la dilución inoculando en el medio y estriando por toda el área e incuban por 18-48 horas a $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, posteriormente verificar macroscópicamente el color de las colonias y tomar una colonia para realizar la tinción Gram y ver su morfología microscópica. (PRONADISA: <http://www.algimed.by/download/1056.pdf>)

➤ Presencia de colonias blancas cremosas.

-Preparación del medio

Suspender 23.5 gramos del medio en 1 litro de agua destilada, se calienta a ebullición y posteriormente hervir por 1 minuto ajustar a pH 7.0 ± 0.2 y esterilizar en el autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por el lapso de 15 minutos. Enfriar a una temperatura aproximada 40°C y se reparte en cajas Petri estériles, se deja solidificar a temperatura ambiente.

2.5.6 Prueba de confirmación de *Staphylococcus aureus*

El agar manitol salado, es un medio para aislamiento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva. Se toma un 1mL y estriar en el medio e incubar a $35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas. Crece y fermenta la placa.

-Preparación del medio

Suspender 111.02 gramos del medio en 1 litro de agua destilada, se calienta a ebullición y posteriormente hervir por 1 minuto ajustar a pH 7.4 ± 0.2 y esterilizar en el autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por el lapso de 15 minutos. Enfriar a una temperatura aproximada 40°C y se reparte en cajas Petri estériles, se deja solidificar a temperatura ambiente.

2.6 Tinción Gram

Una vez de realizado las pruebas de confirmación, se realiza la tinción Gram para cada *Enterobacteriaceae*, tomando una colonia de las medios de cultivos Standard Methods, EMB y manitol y proceder a realizar la coloración y verificar su morfología microscópicas bacilos Gram (-).

1. Codificar la placa portaobjetos
2. Agregar una gota de solución salina
3. Tomar asépticamente con el asa de platina una colonia,
4. Extender con el asa de platino en la placa
5. Fijar y secar la placa
6. Cubrir la superficie con cristal violeta por 1 minuto. Lavar y escurrir.
7. Cubrir la superficie con lugol por 1 minuto. Lavar y escurrir.
8. Colocar alcohol al 95% de 10 -20 segundos. Lavar y escurrir

9. Cubrir con safranina por 30 segundos. Lavar y escurrir
10. Secar
11. Colocar una gota de aceite de inmersión y observar en el microscopio con el lente de 100x. (Vizcarrondo y Gutiérrez, 2008, pp. 3-7)

➔ **Bacilos Gram (-)**

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados encontrados presentan los valores promedios obtenidos en el análisis microbiológico de la carne molida; datos de los tres muestreos realizados en el mercado popular “La Condamine” de la ciudad de Riobamba.

Para el análisis estadístico se aplicó ANOVA con un factor para determinar si hay diferencias significativas entre las muestras de las tercenas y muestreos realizados.

3.1 *Escherichia coli*

3.1.1 *Análisis estadístico*

Análisis de varianzas

ADEVA						
F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. F.	
Total	20	1,80E+13				
Tercenas	6	5,14E+12	8,57E+11	1,35	0,31	
Período de muestreo	2	5,21E+12	2,61E+12	4,10	0,04	
Error	12	7,63E+12	6,36E+11			
CV %			1,69E+02			
Media			4,71E+05			

Separación de medias según Tukey (P < 0,05)

Tercenas	Media	Grupo
M1	1,0E+06	a
M2	3,9E+04	a
M3	1,1E+06	a
M4	1,3E+04	a
M5	9,5E+04	a
M6	2,6E+04	a
M7	1,0E+06	a

Período de muestreo	Media	Grupo
I	1,17E+06	a
II	4,57E+04	b
III	1,97E+05	a

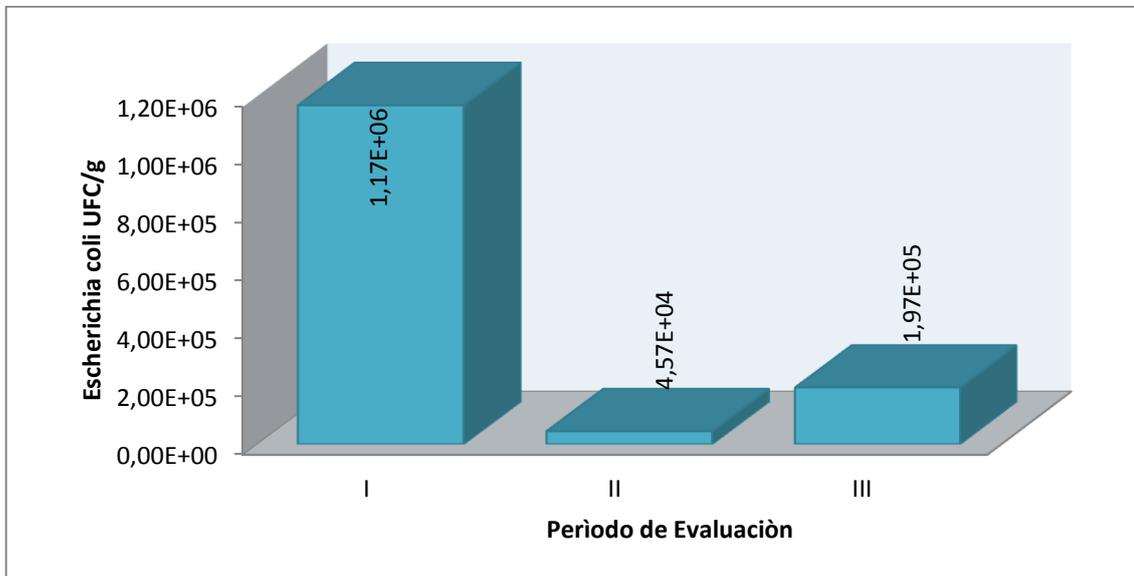


Figura 1-3: Diferencia significativa de *Escherichia coli* en muestras de las tercenas del .mercado

Elaborado por: (Jara, 2016).

Una vez cuantificada las unidades formadoras de colonias en los tres muestreos, se realizó el análisis estadístico ANOVA, para verificar si existe o no diferencia significativa en los muestreos realizados para *Escherichia coli*. Se establece que entre los muestreos realizados para la cuantificación de este microorganismo existe una diferencia significativa entre los grupos, que en este caso son los muestreos realizados, mas no hay diferencias significativas entre muestras ($p < 0.05$; Fig. 1-3). Lo cual establece mayor carga de *Escherichia coli* en el muestreo número uno, que se puede atribuirse que la muestras obtenidas presentaban una mayor contaminación debido que existe contaminación cruzada por parte de los expendedores del mercado.

3.1.2 Tabulación de resultados para *Escherichia coli*

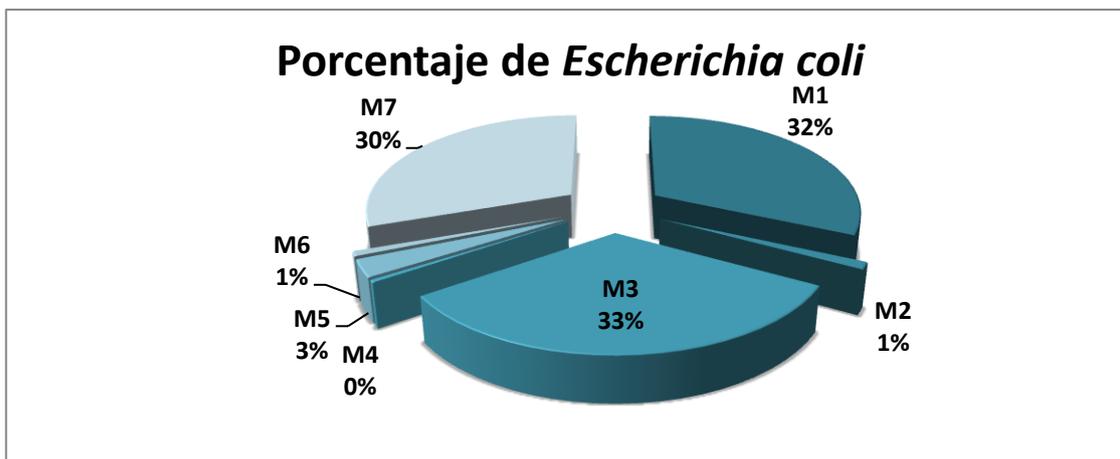


Figura 2-3: Porcentaje de presencia de *Escherichia coli* en muestras de las tercenas del mercado

Elaborado por: (Jara, 2016).

En la Figura 2-3 se analiza los porcentajes de la presencia de *Escherichia coli*, en las muestras durante tres semanas del análisis microbiológico realizado a las siete muestras de carne molida que se expende en las tercenas al interior del mercado, exponiendo en consideración que las muestras de la tercena uno presenta un 32%, la tercena tres un 33% y la tercena siete un 30% siendo las muestras que presentan mayor carga de esta bacteria entero hemorrágica. Similar estudio en Buenos Aires, presentado por (Srednik, M. E. et al., 2013); analizaron 98 muestras de carne molida de carnicerías, el 8% de muestras que se categorizan como portadoras de cepas de *Escherichia coli* genérica y comercializada sin estimar el impacto que produce para la salud.

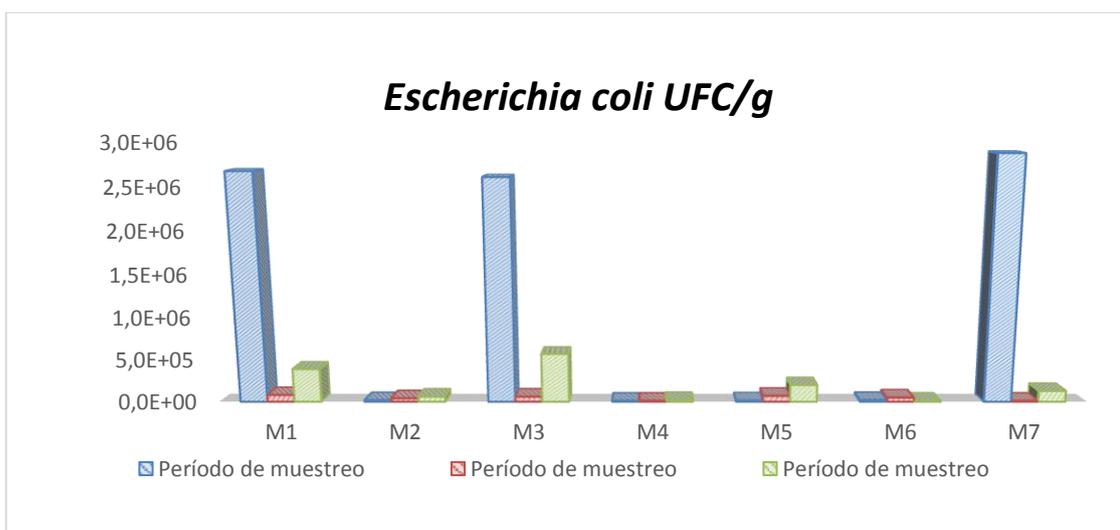


Figura 3-3: Cuantificación de *Escherichia coli* en muestras de las tercenas del mercado

Elaborado por: (Jara, 2016).

En la figura 3-3 se aprecia la cuantificación de *Escherichia coli* en las tres etapas de muestreo, discerniendo, de los tres muestreos realizados y para esta enterobacteria, el muestreo número

uno es el que presenta mayor carga microbiana preponderando en las muestras de las tercenas uno, tres y siete, oscilando en valores de 1.3×10^4 y 1×10^6 UFC/g.

En el estudio realizado por Jiménez Maribel; et al. Sapiens, en la calidad microbiológica de la carne de res comercializada en un mercado municipal encontraron que el 31.5% de 16 muestras resultaron positivas para *Escherichia coli*, en concentraciones de entre 100 y 700 UFC/g, indicándose la probabilidad de contaminación de fuentes fecales. (Jiménez, M. et al., 2012. 273-283)

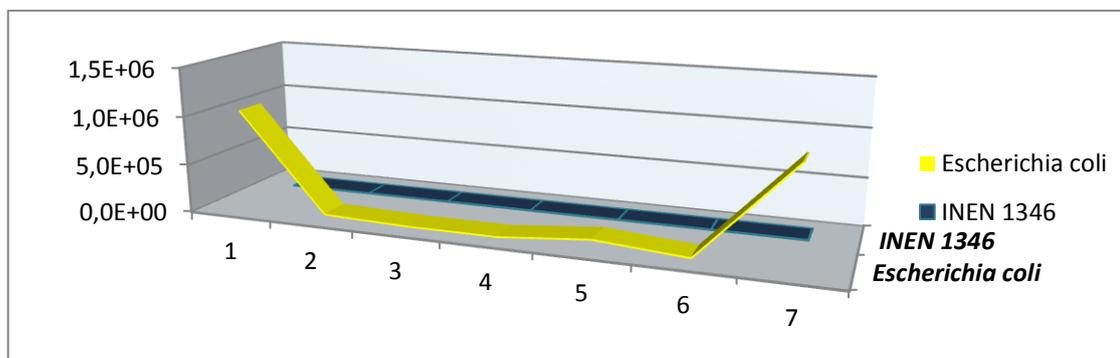


Figura 4-3: Estimación de *Escherichia coli* en comparación con la norma NTE INEN 1346:2010

Elaborado por: (Jara, 2016).

En la Figura 4-3, se analiza los valores promedios de *Escherichia coli* con la norma oficial ecuatoriana NTE INEN 1346:2010, para carne molida y establece que el valor máximo permitido de la presencia de *Escherichia coli*, es de 1.0×10^3 UFC/g; el valor promedio obtenido en el análisis microbiológico fue de 3.2×10^5 UFC/g, excediendo con lo establecido en la norma, derivando una gran contaminación tipo fecal en el alimento cárnico que puede atribuirse a la deficiencia de condiciones higiénicas en donde se expende el alimento. Un resultado similar se reportó en Lima-Perú; por parte de Méndez, Carmen et al. 2013; un 87.18% de *Escherichia coli* en muestras de carne molida, presentando una contaminación según la norma Técnica Sanitaria Peruana (R.M. N° 591-2008-MINSA); estableciendo inaceptable para el consumo humano (Méndez, Carmen., et al., 2013)

Por su parte los resultados obtenidos son equivalentes con los valores del estudio de *Escherichia coli* en carne molida de los mercados municipales de Guayaquil, reportado por Jara Luis, en el año 2014, donde el 94,4% de las muestras evidencia la presencia de *Escherichia coli* en la totalidad de las muestras, con valores que se exceden los límites permitidos en dicha norma citada para carne picada y tan solo el 5.6% se encuentra dentro del límite aceptable. (Jara, Luis., 2014). Un porcentaje en menor proporción de esta enterobacteria, el 55.8% se obtuvo en Argentina (Cicuta et al., 2006) manifestando que el empleo de las buenas prácticas de manufactura disminuye la carga microbiana y la inocuidad del alimento.

3.2 Coliformes totales

3.2.1 Análisis Estadístico

ADEVA					
F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. F.
Total	20	3,5E+14			
Marcas	6	1,1E+14	1,8E+13	1,37802	0,29903
Período de muestreo	2	8,7E+13	4,3E+13	3,27887	0,07310
Error	12	1,6E+14	1,3E+13		
CV %			1,5E+02		
Media			2,4E+06		

Separación de medias según Tukey (P < 0,05)

Tercenas	Media	Grupo
M1	6,9E+06	a
M2	5,9E+05	a
M3	2,7E+06	a
M4	1,4E+06	a
M5	8,1E+05	a
M6	4,7E+04	a
M7	4,2E+06	a

Período de

muestreo	Media	Grupo
I	5,1E+06	a
II	1,3E+05	a
III	2,0E+06	a

Una vez cuantificado las unidades formadoras de colonias en los tres muestreos se realizó el análisis estadístico ANOVA, para verificar si existe o no una diferencia significativa en los muestreos realizados y las muestras de las tercenas para *Coliformes totales*. Estableciendo que en los muestreos y las muestras analizadas de este microorganismo no existe una diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.2.2 Tabulación de resultados para Coliformes totales

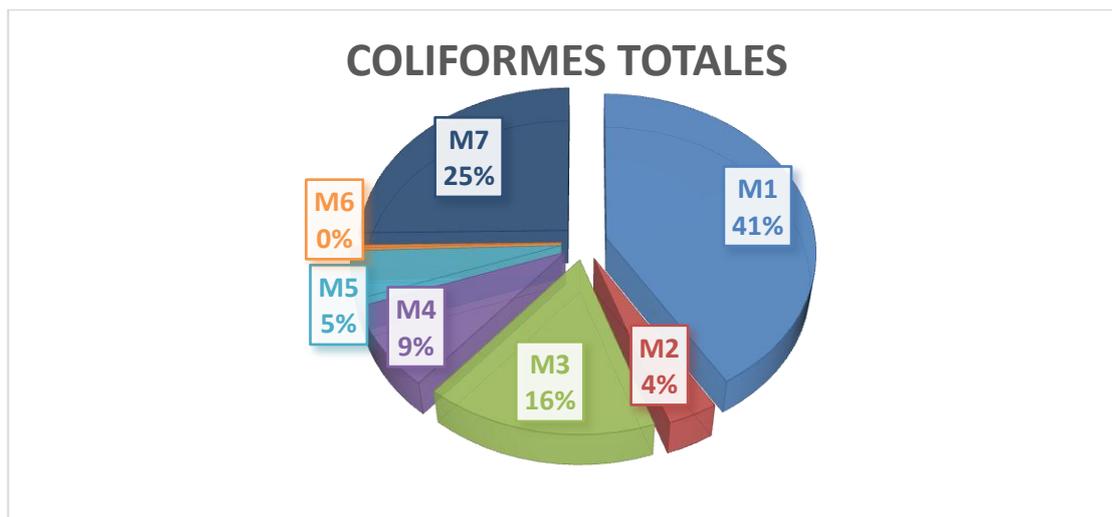


Figura 5-3: Porcentaje de presencia de Coliformes en ternenas del mercado
Elaborado por: (Jara, 2016).

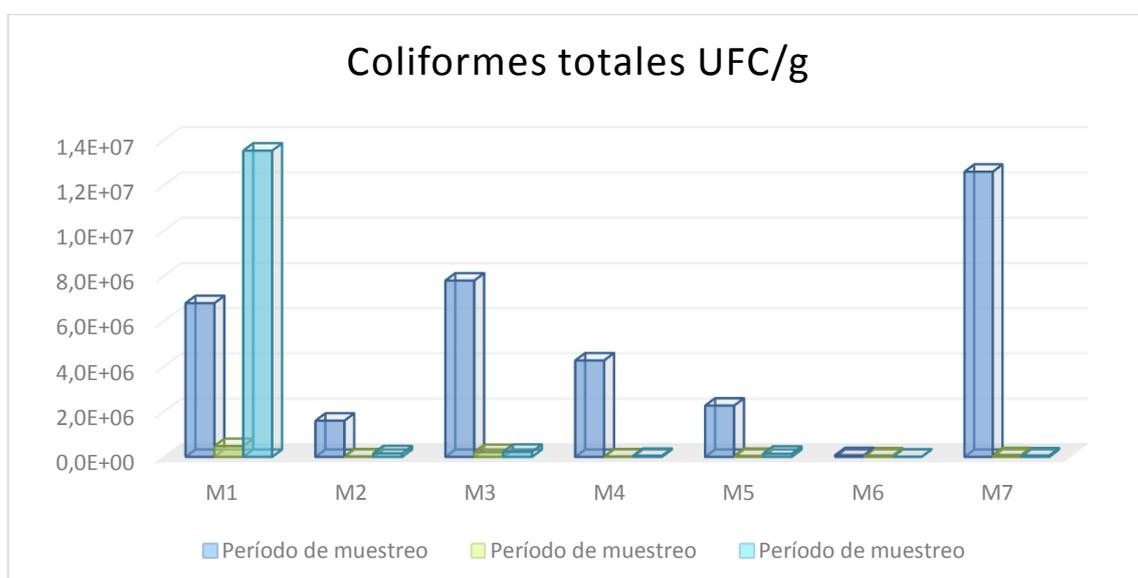


Figura 6-3: Cuantificación de Coliformes por muestreos en ternenas del mercado
Elaborado por: (Jara, 2016).

En la Figura 5-3 y 6.3 se expone la presencia microbiana de coliformes en carne molida de las ternenas en los tres muestreos realizados, conteniendo la ternena uno mayoritariamente la presencia de este microorganismo correspondiente al 41% de las siete muestras analizadas semanalmente determinando que el valor promedio de coliformes en la carne molida expandidas al interior del mercado es de $2,4 \times 10^6$ UFC/g, valores semejantes o superiores reporta en el análisis realizado en mercados de la ciudad de Guayaquil en el recuento de coliformes totales en carne bovina realizado por Cañizares, M. en el año 2014; el mercado Florida norte posee un índice de $5,4 \times 10^6$ UFC/g, el mercado Caraguay $5,4 \times 10^5$ UFC/g, y se incumple con las normas

del CÓDEX ALIMENTARIUS CA/RCP 58/2005, es decir no se manipula en condiciones adecuadas.(Cañizares, 2014, pp-51-52)

3.3 *Staphylococcus aureus*

3.3.1 *Análisis estadístico*

ADEVA					
F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. F.
Total	20	2,37E+13			
Marcas	6	1,30E+13	2,17E+12	2,99803821	0,05
Período de muestreo	2	1,91E+12	9,55E+11	1,31638599	0,30
Error	12	8,71E+12	7,25E+11		
CV %			1,81E+02		
Media			4,71E+05		

Separación de medias según Tukey (P < 0,05)

Tercenas	Media	Grupo
M1	2,4E+06	a
M2	1,1E+05	b
M3	2,5E+05	b
M4	2,9E+05	b
M5	9,2E+04	b
M6	3,1E+04	b
M7	1,4E+05	b

Período de muestreo	Media	Grupo
I	6,7E+05	a
II	4,5E+04	a
III	7,0E+05	a

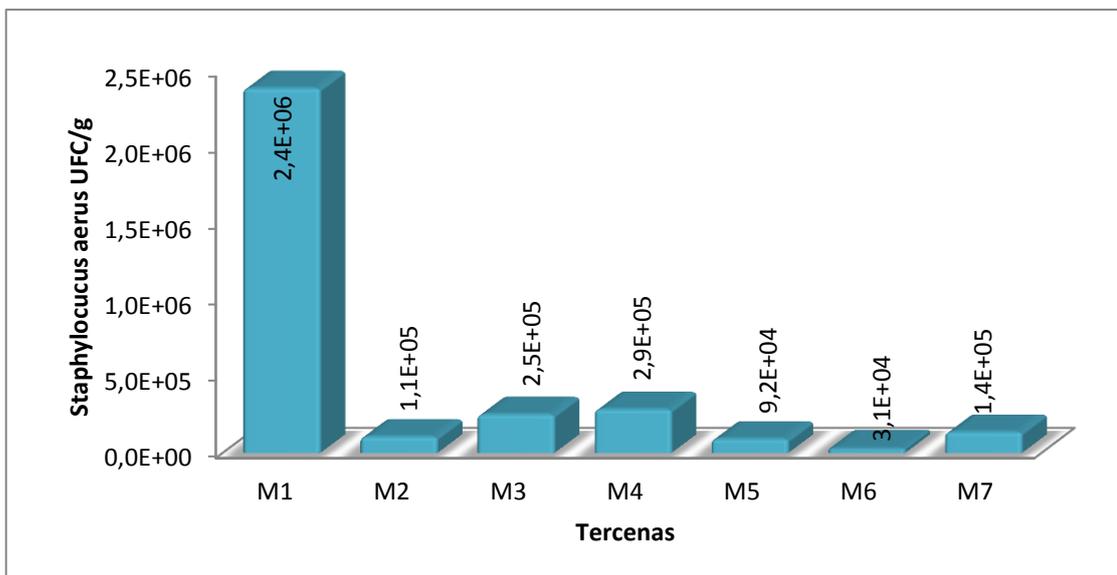


Figura 7-3: Diferencia significativa entre muestras del mercado para *Staphylococcus aureus*
 Elaborado por: (Jara, 2016).

Una vez cuantificado las unidades formadoras de colonias en los tres muestreos se realizó el análisis estadístico ANOVA, para verificar si existe o no una diferencia significativa en los muestreos realizados y sus respectivas muestras para *Staphylococcus aureus*. Se establece, entre los muestreos realizados para la cuantificación de este microorganismo, que existe una diferencia significativa entre las muestras, mas no hay diferencia significativas entre muestreos ($p < 0.05$; Fig. 7-3). Lo cual establece mayor carga de *Staphylococcus aureus*, en la tercena N°1.

3.3.2 Tabulación de resultados de *Staphylococcus aureus*

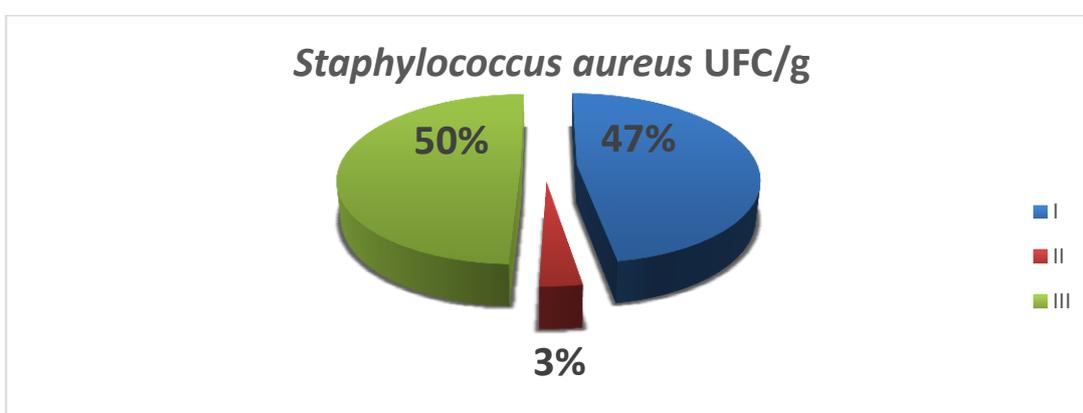


Figura 8-3: Porcentaje de la presencia de *Staphylococcus aureus* en tercenas del mercado
 Elaborado por: (Jara, 2016).

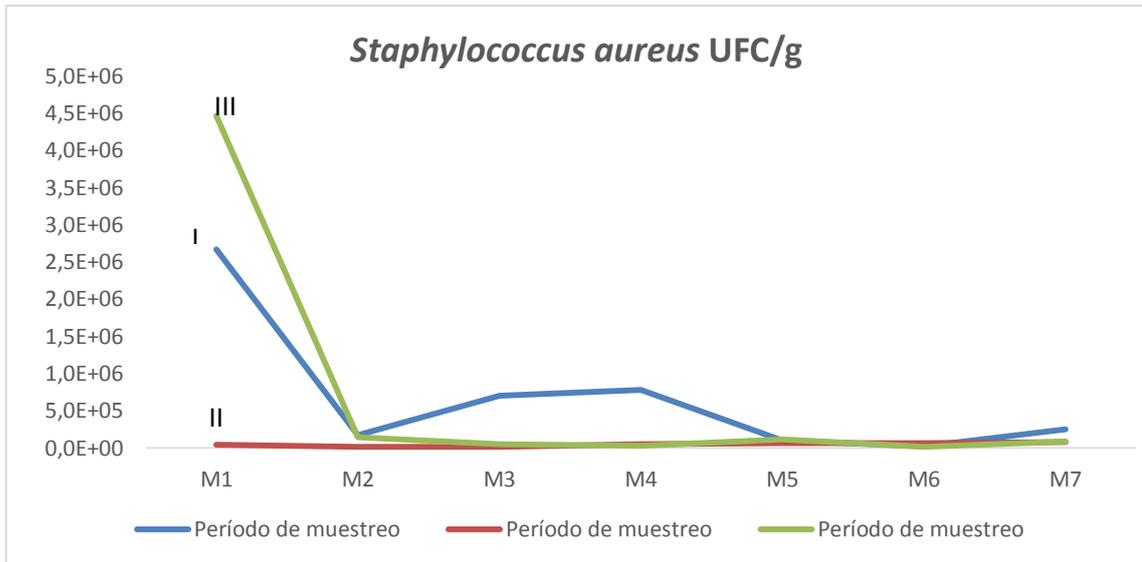


Figura 9-3: Cuantificación de *Staphylococcus aureus* por muestreos en tercenas del mercado
Elaborado por: (Jara, 2016).

En las figuras 8-3 y 9-3 se expone la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* en la carne molida, de los lugares de expendios en las tercenas del mercado popular, de los resultados obtenidos esta bacteria se encuentra en un 50% con mayor frecuencia en el muestreo tres, a diferencia de los otros dos muestreos realizados que se encuentran en menor proporción; valores en menor porcentaje se reportó en el análisis del Consumer Reports donde del total de las muestras, el 10% obtuvo una cepa de *Staphylococcus aureus*, que no se logran eliminar durante el proceso de cocción meticulosa, además consecuente al aislamiento, se determinó que tres muestras presentan resistencia a la meticilina. (Mercola, J., 2015), valores semejantes se reportaron en la determinación *Staphylococcus aureus* a partir de alimentos hallándose un 19.47% dando colonias menores a 10 UFC/g (Perdonomo, Ingrid & Meléndez Pilar; 2004); contrastando con la notable diferencia con el valor promedio obtenido en el mercado La Condamine de 4.7×10^5 UFC/g.

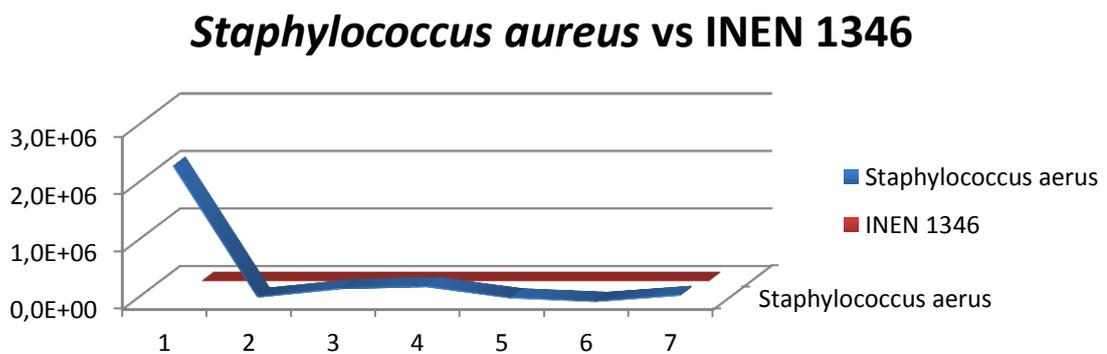


Figura 10-3: Estimación de *Staphylococcus aureus* en comparación con la norma NTE INEN 1346:2010
Elaborado por: (Jara, 2016).

En la Figura 10-3, se realiza la comparación de los promedios de unidades formadoras de colonias de *Staphylococcus aureus* en cada una de las siete muestras analizadas en los tres periodos de muestreo. En la norma establece que 5.0×10^2 UFC/g es el límite de la presencia de esta bacteria NTE INEN 1346:2010, en el análisis se obtuvo 4.7×10^5 UFC/g, excediendo notoriamente con lo estipula en la normativa para carnes molidas; (Galván, A. et al., 2011) similares resultados se obtuvieron en el estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida proveniente de una cadena de supermercados y mercados; donde las colonias cuantificadas en los mercados populares la presencia *Staphylococcus aureus* sobrepasan con la normativa excediendo con valores superiores de 1×10^3 UFC/g donde ,185000 casos de ETA´s se atribuyen a esta bacteria, y su contaminación surge en la nariz, heridas, lesiones y garganta de las personas que manipulan la carne molida, efectuando una contaminación cruzada. En Ecuador el estudio (Loayza, Santiago, 2011) en el control de la calidad de la carne de bovino en el mercado de las ciudad de Piñas-El Oro, se determinó que existe 1.1×10^4 UFC/g encontrando que este microorganismo en la carne molida supera considerablemente los límites de la normativa microbiológica.

3.4 Salmonella

3.4.1 Análisis estadístico

ADEVA						
F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. F.	
Total	20	4,29				
Marcas	6	0,95	0,16	0,77	0,61	
Período de muestreo	2	0,86	0,43	2,08	0,17	
Error	12	2,48	0,21			
CV %			63,60			
Media			0,71			

Separación de medias según Tukey (P < 0,05)

Marcas	Media	Grupo
M1	1,00	a
M2	0,67	a
M3	0,67	a
M4	0,67	a
M5	1,00	a
M6	0,67	a
M7	0,33	a

Período de muestreo	Media	Grupo
I	1,00	a
II	0,57	a
III	0,57	a

Una vez realizada la cuantificación de las unidades formadoras de colonias en los tres muestreos se realizó el análisis estadístico ANOVA, para verificar si existe o no una diferencia significativa en los muestreos y las muestras de las tercenas, para *Salmonella*, para el análisis con lo estipulado en la NTE INEN1346:2010, se reporta presencia o ausencia en /25g. Estableciendo que entre los muestreos realizados y las muestras para la cuantificación de este microorganismo no existe una diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.4.2 Tabulación de datos

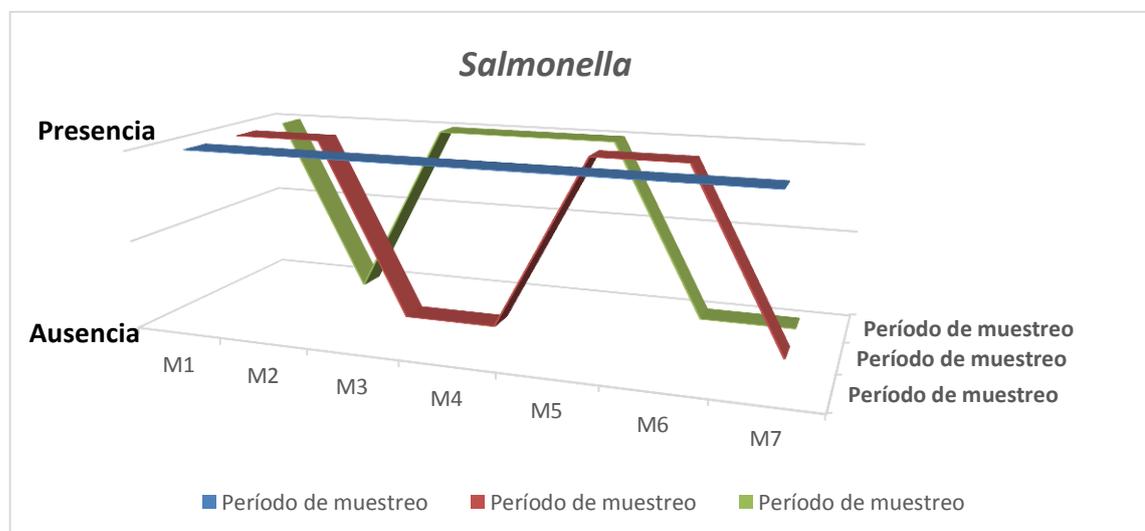


Figura 11-3: Cuantificación de *Salmonella* por muestreo en tercenas del mercado
 Elaborado por: (Jara, 2016).

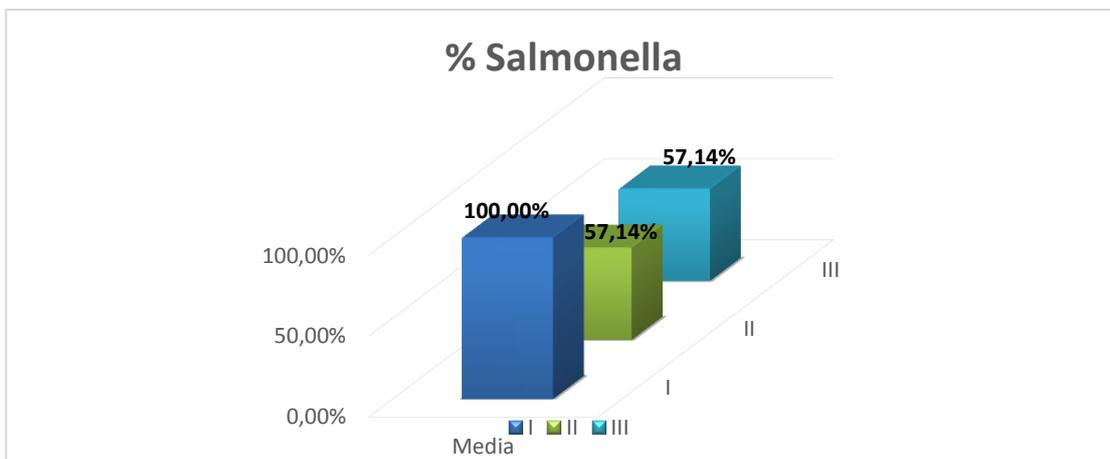


Figura 12-3: Porcentaje de la presencia *Salmonella* por muestreo en tercenas del mercado
Elaborado por: (Jara, 2016).

En la figura 11-3 y 12-3 se observa, la presencia o ausencia de *Salmonella* realizado en los tres muestreos al interior del mercado, evidenciando la elevada o presencia en la totalidad de las muestras en el muestreo número uno, similares valores se encontraron en el estudio realizado por Durango et al., en el año 2004, donde de la totalidad de muestras recolectadas el porcentaje más elevado con la presencia de este microorganismo corresponde a carne de res siendo el 12.6%; la elevada frecuencia de contaminación evidencia el riesgo potencial de infección, que se atribuye al factor de mala manipulación del alimento. (Durango et al., 2004., pp 89-96)

Rojas, Guadalupe., en el año 2000, análisis de la calidad sanitaria de carne molida reporta que el 11.4% de las muestras analizadas están fuera de las normativas oficiales establecidos por la secretaria de salud NOM-034-SSA-1993; pudiendo revelar un foco de infección y un riesgo potencial para el consumidor. (Rojas, 2004., pp 51-52)

En Ecuador en el año 2011 en la ciudad de Piñas-El Oro, se observó la presencia de *Salmonella* en un 65% y ausencia del 37.5%, cuantificados en 25 gramos de muestra respectivamente considerando que no cumple con los límites establecidos de la normativa de carne molida NTE INEN 1346:2010. (Loayza, Santiago, 2011, pp 61-62)

3.5 Pruebas confirmatorias

3.5.1 Bacterias de interés sanitario (Standard Methods)

Tabla 1-3. Crecimiento de colonias en agar Standard Methods

<i>Standard Methods</i> (1/10)	
MUESTREO 1	Incontables >100
MUESTREO 2	Numerosas 10-100
MUESTREO 3	Escasas <10

En la tabla 1-3 se detalla el crecimiento de microorganismos en agar Standard Methods, utilizando la dilución 10^{-1} , de los resultados obtenidos en placa las colonias son incontable a excepción del tercer muestreo donde el crecimiento fue menor de 10 UFC/g colonias; (Gómez, Lorenzo et al. 2013), realizó la evaluación de mesófilos aerobios y coliformes en carne de hamburguesa, donde presentó un menor incremento en Plate count agar (PCA); En Turquía (Siriken, 2004) y en México (Heredia et al., 2001) en la calidad microbiológica se obtuvieron recuentos menores a $6 \log_{10}$ UFC/g, y elevados presencia de colonias aerobios mesófilos probablemente de la mala manipulación y condiciones de proceso de la carne molida.

3.5.2 Coliformes (NMP)

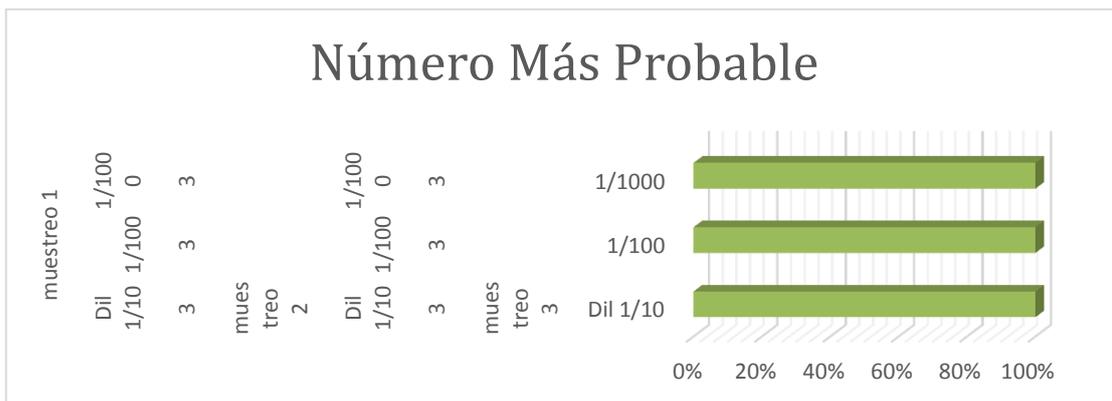


Figura 13-3: Determinación de coliformes mediante el número más probable (NMP)
Elaborado por: (Jara, 2016).

En la figura 13-3, se representa los valores obtenidos en la cuantificación de coliformes mediante la técnica del Número más probable NTE INEN 1529-6, en todos los muestreos con sus respectivas muestras, a las 24-48 horas en la campana de Durham se evidenció la presencia de gas y en algunas muestras cambió en la coloración del caldo de verde brillante a amarillo, con la confirmación de la presencia de gas en las 3 series de tubos se verificó en la tabla en valor de coliformes por gramo correspondiendo a la serie 3-3-3; $>2400\text{NMP/g}$ y se inoculó en agar EMB para observar colonias verde metálicas; en el análisis semejante de *Escherichia coli* el 60% de las muestras resultaron con contaminación con *Escherichia coli*, el INVIMA para productos cárnicos considera como límite de aceptabilidad de NMP entre un rango 120-110 NMP/g, con lo que se establece un alimento con una calidad microbiana deficiente ocasionando un riesgo para la salud de los consumidores (Franco, Piedad et al., 2013). En Lima-Perú en el año 2003, la caracterización de *Escherichia coli* en carne molida por NMP, donde del total de muestras presento un recuento igual o superior a 50NMP/g que según la Norma Técnica Sanitaria Peruana RMN N°591-2008-MINSA; se considera inaceptable para el consumo humano por la deficientes condiciones higiénicas (Méndez, Carmen et al., 2013).

3.5.3 *Staphylococcus aureus* (Manitol)

Tabla 2-3. Crecimiento de colonias en agar Standard Methods

MANITOL		
	CRECE	FERMENTA
Muestreo 1	✓	✓
Muestreo 2	✓	✓
Muestreo 3	✓	✓

En la tabla 2-3 se observa los resultados obtenidos en agar manitol, para la confirmación de *Staphylococcus aureus* en los tres muestreos realizados, a las 24-48 horas de incubación se observó la presencia de colonias que fermentan el medio por el cambio de pH característica representativa de los estafilococos que crecen en altas concentraciones de sal y pueden o no fermentar manitol (Alvarez, V. et al 1995). El sustrato de manitol permite la identificación de estafilococos coagulasa –positivos; que por fermentar manitol se lo ha considerado como índice de patogenicidad (Durán, A. et al. 2004)

3.6 Resultados del análisis microbiológico

Tabla 3-3. Valores obtenidos del análisis microbiológico de carne molida

Tercenas	Muestreo	Coliformes totales UFC/g	Escherichia coli UFC/g	Staphylococcus aureus	Salmonella
m1	1	6,80E+06	2,67E+06	2,67E+06	1,00E+00
m2	1	1,60E+06	1,60E+04	1,70E+05	1,00E+00
m3	1	7,80E+06	2,60E+06	7,00E+05	1,00E+00
m4	1	4,27E+06	1,00E+04	7,80E+05	1,00E+00
m5	1	2,27E+06	1,40E+04	1,00E+05	1,00E+00
m6	1	7,30E+04	1,90E+04	2,00E+04	1,00E+00
m7	1	1,26E+07	2,87E+06	2,50E+05	1,00E+00
m1	2	4,80E+05	8,00E+04	4,00E+04	1,00E+00
m2	2	2,00E+04	4,00E+04	1,00E+04	1,00E+00
m3	2	2,10E+05	6,00E+04	1,00E+04	0,00E+00
m4	2	2,00E+04	1,00E+04	5,20E+04	0,00E+00
m5	2	4,00E+04	7,00E+04	6,20E+04	1,00E+00
m6	2	6,00E+04	5,00E+04	6,00E+04	1,00E+00
m7	2	8,00E+04	1,00E+04	8,00E+04	0,00E+00
m1	3	1,35E+07	3,90E+05	4,47E+06	1,00E+00
m2	3	1,56E+05	6,00E+04	1,39E+05	0,00E+00
m3	3	2,24E+05	5,70E+05	4,80E+04	1,00E+00

m4	3	4,80E+04	2,00E+04	2,60E+04	1,00E+00
m5	3	1,37E+05	2,00E+05	1,15E+05	1,00E+00
m6	3	8,00E+03	1,00E+04	1,40E+04	0,00E+00
m7	3	6,60E+04	1,30E+05	8,20E+04	0,00E+00

Tabla 4-3. Promedio de UFC/g del análisis microbiológico de carne molida

Variables	Tercenas \bar{X}		
	M1	M2	M3
Coliformes totales UFC/g	5,10E+06	1,30E+05	2,00E+06
Escherichia coli UFC/g	1,20E+06	4,60E+04	2,00E+05
Staphylococcus aureus UFC/g	6,70E+05	4,50E+04	7,00E+05
Salmonella	1,00E+00	5,70E-01	5,70E-01

En la tabla 3-3 y 4-3, se estratifica los resultados cuantificados del análisis microbiológico de la carne molida que se expende en el mercado “La Condamine” de la ciudad de Riobamba, donde del análisis se evidencia la elevada contaminación de este derivado cárnico, poniendo en manifiesto la deficiencia o escasas condiciones higiénicas poniendo en grave riesgo a la población, constando de contaminación fecal por el elevado índice de *Escherichia coli* y coliformes totales; transmitida por la contaminación fecal de agua y alimentos; así como de contaminación cruzada por contacto o mala cocción de los alimentos. A pesar de la ausencia de síntomas de patologías entéricas el ser humano libera 10^6 - 10^9 UFC/g de heces (FAO, 2009).

Staphylococcus aureus conjuntamente con bacterias del grupo coliformes se emplean como medidas de la manipulación y evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos y establecer si es inocuo y apto para el consumo (Schlech, W. 1988), es alarmante que el 89% de las muestras estén fuera de los requerimientos microbiológicos de la (NTE INEN1346:2010), llegando a la cuantificación de hasta 10^7 UFC/g. La significativa presencia de *Salmonella* 71.33%, en la carne molida de las tercenas del mercado, esta bacteria está asociada con la patología diarreica aguda, propagándose por la ingestión de alimentos contaminados y la mala manipulación (Durango. J, et al., 2004). Es alarmante la falta de control por parte de las autoridades sanitarias. Las Bacterias *Salmonella*, *Campilobacter* y *Escherichia coli* enterohemorrágica, forman los patógenos más comunes en transmisión alimentaria afectando a millones de personas al año, ocasionando consecuencias graves o mortales (OMS, 2015).

La OMS, 2015 en su comunicado acerca de la inocuidad de alimentos, manifiesta “*el acceso a alimentos inocuos y nutritivos en cantidad suficiente es fundamental para mantener la vida y fomentar la buena salud*”, de tal manera las autoridades tienen la obligación y la competencia de regular y vigilar la calidad e inocuidad de los alimentos, al ser una prioridad trascendental en la salud pública y de esta manera fomentar el cumplimiento del objetivo 3 de Plan Nacional del Buen Vivir, 2013, “*Mejorar la calidad de vida de la población*”

CONCLUSIONES

- ✓ La carne molida que se expende en el mercado popular “La Condamine” de la ciudad de Riobamba, posee una elevada microbiota de patógenos entéricos, probables agentes que desencadenan enfermedades transmitidas por alimentos ETA´s.
- ✓ Estadísticamente se determinó que existe diferencias significativas en las etapas de muestreos para la cuantificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en las muestras recolectadas de las tercenas.
- ✓ Del análisis microbiológico realizado, reflejó las malas prácticas de manipulación y expendio en las tercenas del mercado, evidenciando las escasas condiciones higiénico-sanitarias, en el expendio de carne molida, por el personal que se encuentra en contacto directo con el alimento, atribuidos a la falta de aseo en manos y utensillos, derivando en una contaminación cruzada; al mismo tiempo que no se cumple con la cadena de frío para la preservación de la carne molida.
- ✓ Se cuantificó la microbiota de la carne molida , encontrándose 4.7×10^5 UFC/g de *Escherichia coli*; 2.4×10^6 UFC/g de Coliformes totales; 4.7×10^5 UFC/g de *Staphylococcus aureus* y para Salmonella Presencia/25g; encontrándose fuera de los límites permitidos en la norma NTE INEN 1346:2010; sugiriendo deficiencias en la aplicación de las buenas prácticas de manipulación de alimentos
- ✓ Desde el punto de vista sanitario se evidenció contaminación de origen fecal por la elevada presencia de *Escherichia coli* revelando la antihigiénica manipulación del alimento e inadecuado almacenamiento.
- ✓ La presencia de Salmonella y otras enterobacterias en el alimento, representa un peligro potencial para la población, involucrando que su origen y conservación son un riesgo de salud pública latente, estos resultados ponen en manifiesto información epidemiológica que revela el poco o escaso control por parte del municipio y la agencia de vigilancia sanitaria.

- ✓ Con los resultados obtenidos del estudio, se elaboró material de información impresa dirigido a las personas que expenden el producto cárnico en el mercado, informando de las bacterias enterohemorrágica que se encuentran en la carne molida y el peligro que representa para la salud, a más de proporcionar directrices de buenas prácticas de higiene; y adecuado mantenimiento de la cadena de frío, limpieza de manos y utensillos que están en contacto directo con el alimento

RECOMENDACIONES

- ❖ Verificar en los puntos de expendio al interior del mercado aplican las buenas prácticas de higiene.
- ❖ Efectuar capacitaciones continuas y permanentes al personal que expenden productos cárnicos en el mercado, para que mejoren las condiciones de inocuidad de la carne molida.
- ❖ Realizar un estudio complementario en las personas que expenden el producto cárnico y verificar como se produce la contaminación cruzada en el alimento.
- ❖ Ejecutar planes periódicos, de análisis microbiológicos en el mercado, para de esta manera promover la disminución del riesgo de contaminación cruzada y la probabilidades de ser un agente de ETA's; enfermedades transmitidas por alimentos.
- ❖ La prueba de coliformes totales se debe realizar minuciosamente porque detecta bacterias que no están relacionadas directamente con contaminación fecal, y el indicador más fiable es *Escherichia coli*.
- ❖ Realizar estudios microbiológicos de superficie y de los utensillos empleados en el expendio de carne molida, y así determinar en qué condiciones higiénicas se encuentran las tercenas del mercado.
- ❖ En la detección de *Salmonella* por el método de Petrifilm, tomar muy en cuenta que antes de la siembra la placa se debe hidratar con 2mL de agua destilada durante una hora y fuera de luz.
- ❖ En el recuento de *Staphylococcus aureus*, en la placa Petrifilm se puede encontrarse colonias presuntivas y pueden ser otro tipo de microorganismo por lo que se recomienda el uso del disco de confirmación.

GLOSARIO

AOAC	Association of analytical communities
°C	Grado Celsius
ETA's	Enfermedades transmitidas por alimentos
EMB	Eosin methylene blue
NaCl	Cloruro de sodio
NMP	Número más probable
pH	Potencial de hidrógeno
UFC/g	Unidades Formadoras de colonias por gramo
UV	Ultravioleta

BIBLIOGRAFIA

ALARCÓN, Luis; & OLIVAS, Evangelina. *Manual de prácticas de microbiología básica y microbiología de alimentos*, Juárez-México, Universidad Autónoma de ciudad Juárez, 2001, pp 84-85

ALVAREZ, Victoria; et al. *Sapiens: Manual de técnicas en microbiología clínica*, 2ª ed. Madrid España: Garsi S.A, 1995, pp 22-32.

ANDÚJAR, Gustavo; et al *Sapiens: Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos*, La Habana-Cuba: Universitaria, 2003, pp 75-79

ARANEDA, Mabel. *Educación en Alimentación y Nutrición*. [en línea] 2015. [Consulta: 27 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.edualimentaria.com/carnes-cecinas-composicion-propiedades>.

ARENASMELIBEA. *Bioquímica de Alimentos*. [en línea] 2015. [Consulta: 24 de Agosto de 2015.] Disponible en: http://arenasmelibea.mex.tl/662249_3-2--Actividad-de-agua.html.

ASTURIAS Seguridad Alimentaria. Tematico . [en línea] [Consulta: 27 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridad-alimentaria-documentos/carnes.pdf>.

BELLO, J., *Ciencia Bromatológica, Principios generales de los alimentos*, Madrid-España, Diaz de Santos, 2000, pp. 21-23.

BRABYN, David. *La “enfermedad de las hamburguesas” un mal que afecta cada vez a más argentinos*. [en línea] 2011. [Consulta: 18 de Septiembre de 2015.] Disponible en: <http://actualidad.rt.com/ciencias/view/26259-La-enfermedad-de-hamburguesas%2C-un-mal-que-afecta-cada-vez-a-mas-argentinos>.

BUSTABAD, María. *Calidad, Seguridad Alimentaria y Nutrición .* [blog] 2013. [Consulta: 24 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://encalidadde.blogspot.com/2013/02/actividad-de-agua-de-los-alimentos.html>.

BRAVO, Francisco. *El manejo higiénico de los alimentos*. México D.F: Limusa. 2004, pp. 11-14

CAMACHO, A., et al. *Sapiens: Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico*. 2ª ed. México. Facultad de Química. 2009, pp. 1-9

CAÑIZARES BANGUERA, Mirella Carina. “Determinación de la presencia de *Coliformes* en la carne bovina comercializada en los mercados municipales de la ciudad de Guayaquil” [En línea] (Tesis). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo, Carrera de Ingeniería Agropecuaria. (Guayaquil-Ecuador). 2014. pp. 51-52.

[Consulta: 20 de Enero de 2016.] Disponible en:
<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/123456789/2717/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-53.pdf>

CARVAJAL, Gabriela. *Valor Nutricional de la Carne de Res, Cerdo y Pollo.* San José-Costa Rica: CORFOGA, 2001, pp 44-45

CÓDEX ALIMENTARIUS. *Código de prácticas de higiene para la carne.* CA/RCP 58/2005 [En línea] 2005. [Consulta: 21 de Enero de 2016.] Disponible en:
www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXP_058s.pdf

DELTABIOLOGY Health Human Biology In The Quantum Sphere. *pH in Microbiology* [En línea] 2011. [Consulta: 25 de Agosto de 2015.] Disponible en:
[http://deltabiology.com/2011/ph-in-microbiology/.](http://deltabiology.com/2011/ph-in-microbiology/)

DIARIO PP EL VERDADERO. *En 2014 se han reportado 3.418 casos de intoxicación alimentaria.* [en línea] 2014. [Consulta: 19 de Agosto de 2015.] Disponible en:
<http://www.ppelverdadero.com.ec/pp-saludable/item/en-2014-se-han-reportado-3418-casos-de-intoxicacion-alimentaria.html>

DURÁN, Anabel.; ZHURBENKO, Raisa.; VIERA, Diana. “Propuesta de una modificación en la formulación del medio agar manitol salado utilizado en el aislamiento de estafilococos de importancia clínica”. *Scielo* [en línea], 2004, (Cuba) vol.56 n° 3. [Consulta: 22 de Enero de 2016.]. ISSN 1561-3054. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602004000300004&script=sci_arttext

DURANGO J. “Presencia de *Salmonella* spp. en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública” *Biomédica* [en línea], 2004, (Colombia) vol. 24, n°1. [Consulta: 22 de Enero de 2016.]. ISSN 0120-4157. Disponible en:
<http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1252>

EL TELÉGRAFO *Los retos para garantizar la soberanía alimentaria en Ecuador* [En línea] 2013. [Consulta: 19 de Septiembre de 2015.] Disponible en:
[http://telegrafo.com.ec/economia/masqmenos/item/los-retos-para-garantizar-la-soberania-alimentaria-en-ecuador.html.](http://telegrafo.com.ec/economia/masqmenos/item/los-retos-para-garantizar-la-soberania-alimentaria-en-ecuador.html)

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Organismos que causan enfermedades transmitidas por los alimentos en los EEUU* [en línea] 2014. [Consulta: 17 de Julio de 2015.] Disponible en:
[http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM187529.pdf.](http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM187529.pdf)

FRANCO, P. RAMIRÉZ, L. OROZCO, M. LÓPEZ, L. “Determinación de *Escherichia coli* e identificación del serotipo O157:H7 en carne de cerdo comercializada en los principales supermercados de la ciudad de Cartajena [en línea], 2013. (Colombia) vol. 10, n° 1 [Consulta: 22 de Enero de 2016.] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v10n1/v10n1a09>

FUENTES, José; & CEPEDILLO, Lilia. *E.T.A.* [en línea] [Consulta: 26 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos-pdf2/enfermedades-trasmitidas-alimentos/enfermedades-trasmitidas-alimentos.pdf>.

GIL HERNÁNDEZ, Ángel; & RUIZ LÓPEZ, María Dolores. *Tratado de Nutrición composición y calidad nutritiva de los alimentos* 2ª ed. Madrid-España: Panamericana, 2010, p.29

GUTIÉRREZ, Adriana., PAASCH, L., CALDERÓN, N., “Salmonellosis and campylobacteriosis, the most prevalent zoonosis in the world” *Universidad Autónoma de México*, vol.1, n° 39 (2008), (México) pp.81-90

HINTON, M. H., “Infections and Intoxications Associated with Animal Feed and Forage which may Present a Hazard to Human Health” *The veterinary journal*, n° 159 (2000), (Reino Unido) pp. 124-138

HMSO. NHS Choices. [en línea] 2008. [Consulta: 26 de Agosto de 2015.] Disponible en: http://www.nhs.uk/translationspanish/Documents/Food_Poisoning_Spanish_FINAL.pdf.

ILYINA, A. D., CERDA, F. R., ESTRADA, B. C., .DUKHOVICH, A. F., GAONA, L. G. J., GRAZA, G. Y., RODRIGUÉZ, M. J., “Propiedades bioquímicas y catalíticas de la enzima luciferasa” *Journal of the Mexican Chemical Society*, vol. 3, n° 42 (1998). (México) pp. 99-108 [Consulta: 31 de Agosto de 2015.]. ISSN 1870-249X. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47542301>.

INEN, Carne y productos cárneos. Carne molida. Requisitos. [en línea]. 2010. [Consulta: 25 de Septiembre de 2015.] Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1346.2010.pdf>

INEN, Carne y productos cárneos. Muestreo [en línea]. 2012. [Consulta: 25 de Septiembre de 2015.] Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte_inen_776.pdf

INEN, Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias [en línea]. 1990. [Consulta: 13 de Enero de 2016.] Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.7.1990.pdf>

JARA BUÑAY, Luis Alfonso. “Determinación de *Escherichia coli* en carne molida comercializada en los mercados municipales: “José Mascote”, “Oeste” y “4 Manzanas” de la ciudad de Guayaquil, 2014” (Tesis). Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas, (Guayaquil-Ecuador). 2015. pp. 47-60. [Consulta: 20 de Enero de 2016.] Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8129/1/BCIEQ-T-0076%20Jara%20Bu%C3%B1ay%20Luis%20Vicente.pdf>

La prensa. Control de Calidad de Carne. [en línea]. 2014. [Consulta: 1 de Septiembre de 2015.] Disponible en: <http://www.laprensa.com.ec/interna.asp?id=3356#.VpgHbxXhCM8>

LOAYZA CARRIÓN, Santiago Paúl. Control de calidad de la carne de bocino en el mercado municipal de la ciudad de Piñas provincia de El Oro (Tesis) [en línea].Universidad Nacional de

Loja, Facultad de Agropecuaria y recursos naturales renovables, Carrera de Medicina veterinaria y zootecnia. (Loja-Ecuador). 2011, pp. 58-64. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5387/1/tesis%20de%20control%20de%20caalidad%20de%20carne.%20%20Santiago%20Loayza.pdf>

LUCA, Juan. *Petrifilm™. Placas para Recuento de E. coli y Coliformes Petrifilm™.* [en línea] 2002. [Consulta: 12 de Julio de 2015.] Disponible en: <http://multimedia.3m.com/mws/media/374964O/pec-interp-guide-spa.pdf>.

MASCOLA, L., SORVILLO, F., GOULET, V., HALL, B., WEAVER, R., LINNAN, M., “Fecal carriage of *Listeria monocytogenes* observations during a community-wide, common-source outbreak” *Clinical Infectious Diseases*. vol.15, n° 3 (1992), (Reino Unido) pp. 557-558

MÉNDEZ, Carmen; VERGARAY, Germán; MORANTE Hilda; FLORES, Paulo; GAMBO, Roger., “Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de carne molida de bovino en Lima-Perú” *Revista Peruana de Biología* vol.20, n° 2 (2013); (Perú) [Consulta: 21 de Enero de 2016.] ISSN 1727-9933. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332013000200008&script=sci_arttext

MERCOLA, Joseph. *La carne molida convencional es tres veces más propensa a contener bacterias fecales resistentes a los antibióticos que la carne de res de pastoreo* [en línea] 2015. [Consulta: 21 de Enero de 2015.] Disponible en: <http://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2015/09/09/carne-con-bacteria-fecal.aspx>

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA ECUADOR. “Diez principales causas de morbilidad general-Ecuador 2009 (egresos hospitalarios-lista detallada CIE 10)” *Indicadores básicos de salud Ecuador 2010*, (2010), (Ecuador) p.12.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA ECUADOR. “Marco conceptual del modelo de atención integral de saludn familiar, comunitario e intercultural-MAIS-FCI”. *Manual del modelo de atención intregral de salud MAIS* [en línea] 2013, (Ecuador), pp. 40-49 [Consulta: 17 de Julio de 2015.] Disponible en: http://instituciones.msp.gob.ec/somossalud/images/documentos/guia/Manual_MAIS-MSP12.12.12.pdf

MORENO, Manuel; & ALARCÓN, Alejandra “Higiene alimentaria para la prevención de transtornos digestivos infecciosos y por toxinas”, *Med. Clin. CONDES* vol.27, n°5 (2015), (Chile) pp.749-755

MORGAN, Laura. *El valor nutricional de la carne molida de res magra de 93%.* [en línea] 2012 [Consulta: 28 de Agosto de 2015.] Disponible en: http://www.ehowenespanol.com/nutricional-carne-molida-magra-93-ciento-info_144023/.

NEOGEN. *Sthandard Menthods agar (7157)* [en línea] 2011. [Consulta: 12 de Enero de 2016] Disponible en : http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7157_PI.pdf

ODAR, Renato. *La página de la Industria Alimentaria.* [blog] 2010. [Consulta: 25 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://industrias-alimentarias.blogspot.com/2010/04/la-actividad-de-agua-en-los-alimentos.html>.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD *Coliforme total. Determinación del número más probable de coliforme total por la técnica de los tubos múltiples* [en línea] [Consulta: 14 de Enero de 2016] Disponible en : <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/scan/013761/013761-02.pdf>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Enfermedades de transmisión alimentaria* [en línea] 2015. [Consulta: 17 de Julio de 2015.] Disponible en : http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos.* Salud, [en línea] 2007. [Consulta: 17 de Julio de 2015.] Disponible en : http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf

PALMA, Darwin. . *Evaluación Física y Microbiológica de la Carne de Pollo expendidos en los mercados de la ciudad de Loja* (Tesis). Universidad Nacional de Loja, Facultad de agropecuaria y recursos naturales renovables, Carrera de Medicina veterinaria y zootecnia. (Loja-Ecuador). 2013, pp. 55-60.

PANALIMENTOS. *Enfermedades Transmitidas por Alimentos.* [en línea] 2002. [Consulta: 20 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?cd=151&id=67>.

PASCUAL ANDERSON, Ma del Rosario; & CALDERÓN PASCUAL, Vicente. *Microbiología Alimentaria metodología analítica para alimentos y bebidas.* 2^a ed. Madrid-España: Díaz de Santos, 2000, pp. 8-224

PRADO, V., CORDERO, J., GARREAUD, C., OLGUIN, H., ARELLANO, C., NACHAR, C.L., MISRAJI A., MARTÍNEZ, J., TOUS, M., RIVAS M. “Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in hemolytic uremic syndrome in Chilean children. Evaluation of different techniques in the diagnosis of the infection”. *Medica Chile Re*, vol. 1, n°123 (1995), (Chile) pp. 13-22

REVISTA LÍDERES. *En ocho provincias se concentra el mayor consumo de cárnicos.* [En línea] 2015. [Consulta: 19 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.revistalideres.ec/lideres/consumo-carnicos-ecuador.html>.

ROJAS VERDE, Ma. Guadalupe. *Calidad sanitaria de carne molida de res que se expende en cuatro municipios del área metropolitana de Nuevo León* (Tesis) (Posgrado). [En línea] Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México. 2000. pp-49-51 [Consulta: 22 de Enero de 2016.] Disponible en: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080124377.PDF>

SABOR ARTESANO. *Historia de los embutidos* [en línea] [Consulta el: 20 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.sabor-artesano.com/embutidos-historia.htm>.

SIRVETA. Sistema Regional de información para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. *Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis.* [En línea] 2002. [Consulta el: 19 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.panalimentos.org/sirveta/e/index.htm>.

SOLANO, Cristina. *Microbiología de alimentos guión de prácticas* [en línea] 2016. [Consulta: 13 de Enero de 2016.] Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/micalm/manual%20practicass%20micalimentos.pdf>

SREDNIK, M. E., RUMI M. V., BENTANCOR, A. *Inocuidad de carne molida y presencia de cepas Escherichia coli causantes de lesiones de adherencia y esfacelación.* [En línea], 2013, (Argentina), 15(1-2), pp. 123-130. [Consulta el: 20 de Enero de 2016.]. ISSN 1668-3498. Disponible en: http://www.fvet.uba.ar/publicaciones/archivos/vol_15_n1-2-2013/Articulo-13.pdf

TAPIA, Guadalupe. *Alerta sobre refrescos y la carne molida.* [en línea] [Consulta: 18 de Septiembre de 2015.] Disponible en: http://www.la-razon.com/ciudades/Alcaldia-alerta-refrescos-carne-molida_0_2259374085.html

TORRES ENRÍQUEZ, Vanessa Elizabeth. Evaluación in vitro del efecto bactericida de cepas nativas de Lactobacillus sp. contra Salmonella sp., Salmonella typhi y Escherichia coli [En línea] (Tesis) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química de Alimentos, (Quito-Ecuador) 2013. [Consulta: 21 de Octubre de 2015.] Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2155/1/T-UCE-0008-14.pdf>

UNIVERSIDAD DE MURCIA. *Nutrición y Bromatología* [en línea] 2010. [Consulta el: 1 de Septiembre de 2015.] Disponible en: https://www.um.es/nutbro/docs/hica/Microorganismos_marcadores.pdf

UNIVERSIDAD DE NAVARRA. *Microbiología Industrial.* [en línea] [Consulta: 24 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/micind-2-7.htm>.

UNIVERSIDAD DE NAVARRA *Microorganismos Indicadores.* [en línea] 2010. [Consulta: 31 de Agosto de 2015.] Disponible en: https://www.um.es/nutbro/docs/hica/Microorganismos_marcadores.pdf.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA. *Carnes rojas* [en línea] 2007. [Consulta: 31 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/10%20carnes%20rojas.pdf>.

UNIVERSITY, TEXAS A&M. *Introduction to the Microbiology of Food The Microorganisms.* [en línea] [Consulta: 25 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://aggie-horticulture.tamu.edu/food-technology/food-processing-entrepreneurs/microbiology-of-food/>.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference. [en línea] 2011. [Consulta: 27 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.choosemyplate.gov/protein-foods>.

VÉLEZ, Andrea., & ORTEGA, Johanna. *Determinación de Coliformes Totales y E.Coli en Muestras de Lechuga Expendidas en Cuatro Mercados de La Ciudad De Cuenca* (Tesis). Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia. (Cuenca-Ecuador) 2013, pp.65-70

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global aspects of emerging and potential zoonoses: a WHO perspective* [en línea] 1997. [Consulta: 29 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2627609/>

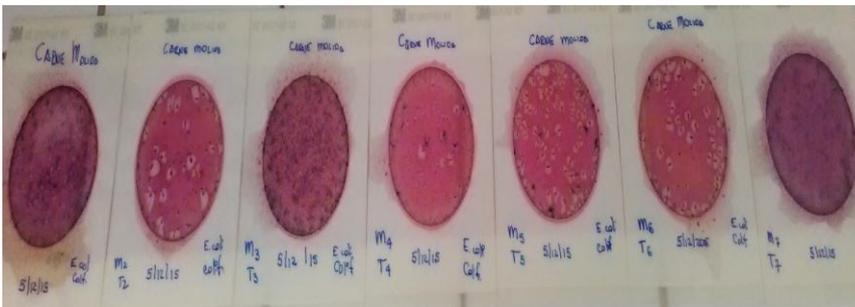
3M MICROBIOLOGY. *Guía de interpretación Petrifilm* [en línea] 2002. [Consulta: 1 de Septiembre de 2015.] Disponible en: http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf.

ANEXOS

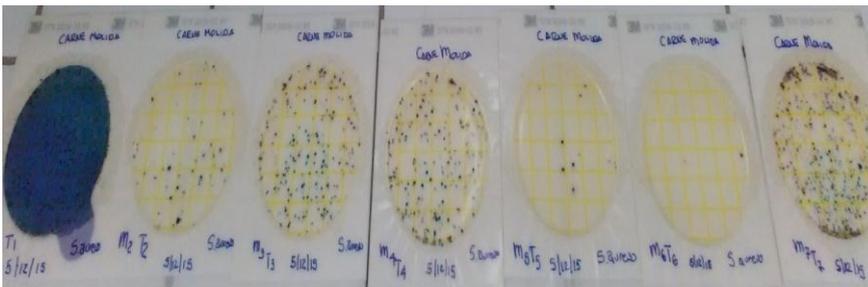
Anexo A. Muestras de carne molida empleados para el análisis microbiológico



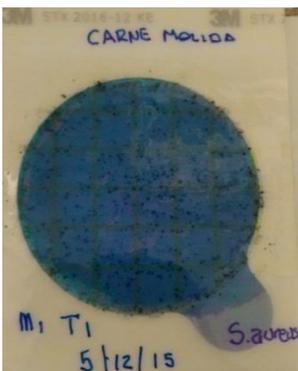
Anexo B. Recuento de coliformes/*Escherichia coli* en placa Petrifilm



Anexo C. Recuento de *Staphylococcus aureus* en placa Petrifilm (Placas Staph Express)



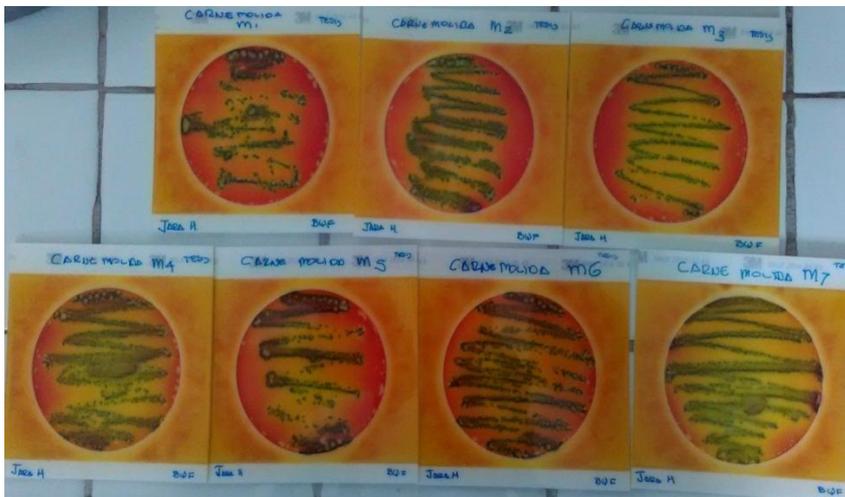
Anexo D. Disco de confirmación *Staphylococcus aureus* en placa Petrifilm (Placas Staph Express)



Anexo E. Medio de enriquecimiento base y suplemento de enriquecimiento para *Salmonella* (*Salmonella* Express)



Anexo F. Recuento de *Salmonella* en placa Petrifilm (*Salmonella* Express)



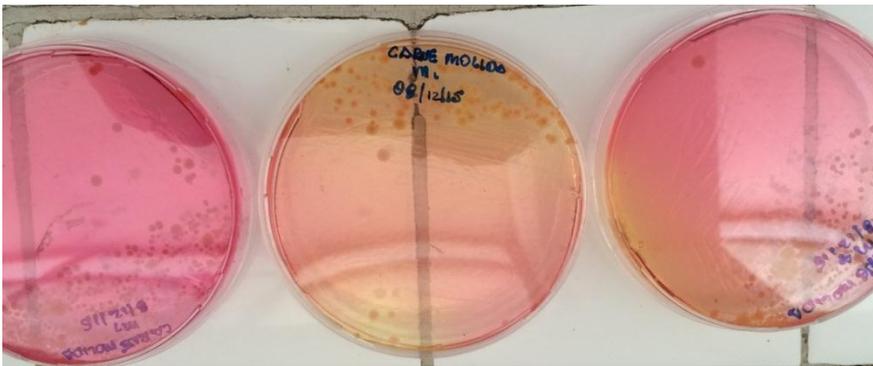
Anexo G. Recuento de coliformes técnica del NMP (número más probable)



Anexo H. Prueba de confirmación de *Escherichia coli* en agar Eosina azul de metileno



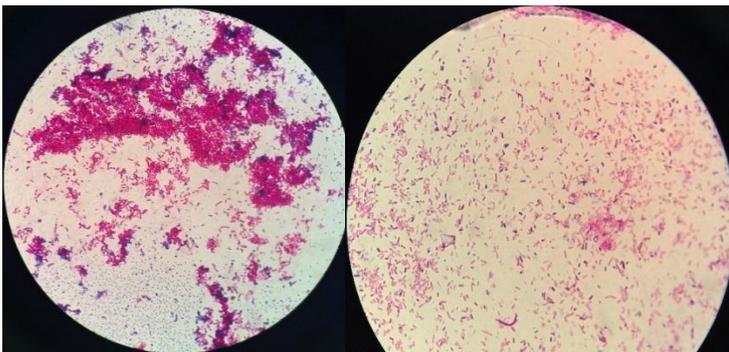
Anexo I. Prueba de confirmación de *Staphylococcus aureus* en agar Manitol



Anexo J. Prueba de confirmación de colonias de interés sanitario en agar Standard Methods



Anexo K. Morfología microscópica de Enterobacterias; Bacilos Gram (-) [100x]



Anexo L. Material de difusión dirigido a las personas que expenden el producto cárnico en el mercado

Recuerda

La carne cruda es un alimento que con frecuencia puede presentar un alto grado de contaminación.




ESPOCH 2016
 ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
 SAZUL



Carne Molida



LA CARNE COMO ALIMENTO

La carne es un ingrediente de gran importancia en la alimentación humana

—Su gran riqueza nutritiva se debe fundamentalmente a su elevado contenido en proteínas de alto valor biológico.

—Es uno de los alimentos más perecederos debido a su alto contenido en agua, composición y pH, lo que favorece la alteración y contaminación microbiana, pudiendo constituir un riesgo para la salud.



Alteraciones

La carne puede contaminarse con agentes biológicos en cualquier punto de la cadena alimentaria, por lo que se debe fomentar las buenas prácticas de manipulación.





Que hacer???????

- Mantener un alto grado de higiene personal.
- Mantener limpios los equipos, utensilios y superficies.
- Limpieza y desinfección de la terrena.
- Buenas prácticas de manipulación



