



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIA**  
**INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TRABAJO DE TITULACION PREVIO A LA OBTENCION DEL**  
**TITULO DE IGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**TEMA**

Determinación de *Salmonella spp* y *Escherichia coli* en hamburguesas expendidas en carretas de comida rápida en el centro de Manta.

**AUTOR:**

INGRID TATIANA GARCIA CHELE

**TUTOR:**

DR. STALIN SANTACRUZ TERAN

MANTA- MANABI-ECUADOR

2018

## DERECHO DE AUTORIA

Yo, Dr. Stalin Santacruz Terán, certifico haber tutorado en el estudio de caso "DETERMINACION DE SALMONELLA SPP y ESCHERICHIA COLI EN HAMBURGUESAS EN CARRETAS DE COMIDA RAPIDA EN EL CENTRO DE MANTA", que ha sido desarrollado por la señorita García Chele Ingrid Tatiana, previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, de acuerdo con el REGLAMENTO PARA LA APROBACION DE MODO DE TITULACION DE EXAMEN COMPLEXIVO de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.



---

**PH.D. Stalin Santacruz Terán**

TUTOR

## DECLARACION DE AUTORIA

Yo, García Chele Ingrid Tatiana declaro bajo juramento que, el trabajo aquí descrito es de mi total y absoluta autoría, que no ha sido previamente presentado por ningún grado o calificación profesional, y que se ha consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondiente a este trabajo, a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, y a la facultad de Ciencias Agropecuarias carrera Ingeniería Agroindustrial según lo establecido por la ley de Propiedad y su Reglamento.



---

García Chele Ingrid Tatiana

## APROBACION DEL TRIBUNAL

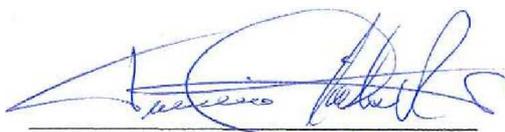
Los miembros del tribunal correspondiente, declaramos que se APROBADO el estudio de caso titulado "DETERMINACION DE SALMONELLA SPP Y ESCHERICHIA COLI EN HAMBURGUESAS EN CARRETAS DE COMIDA RAPIDA EN EL CENTRO DE LA CIUDAD DE MANTA", ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por la señorita García Chele Ingrid Tatiana, previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, de acuerdo al REGLAMENTO PARA LA APROBACION DE MODO DE TITULACION DE EXAMEN COMPLEXIVO de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.



Ing. Sayonara Reyna. Mg  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Ing. Roberth Mero. Mg  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Abg. Julio Ávila Roca, Mg  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

# INDICE

DEDICATORIA.....	
AGRADECIMIENTO.....	
I. ANTECEDENTES.....	
1.1. OBJETIVOS.....	
1.1.1. General.....	
1.1.2. Específicos.....	
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	
III. HIPOTESIS.....	
IV. JUSTIFICACIÓN.....	
V. REVISION DE LITERATURA.....	
5.1. Marco Teórico.....	
5.1.1 Generalidades de <i>Escherichia coli</i> .....	
5.1.2. Síndromes Clínicos.....	
5.1.3. Epidemiología.....	
5.1.4. Fuentes y transmisión.....	
5.1.4. Prevención.....	
5.2. <i>Salmonella</i> ssp. Generalidades.....	
5.2.1. Condiciones de supervivencia.....	
5.2.2 Salmonelosis.....	
5.2.3. Ámbito Mundial.....	
5.2.4 Ámbito Local.....	
VI. METODOLOGÍA.....	
6.1. Ubicación geográfica del área de estudio.....	
6.2. Toma de muestras.....	
6.3. Tipo de estudio.....	
6.4. Análisis de las muestras.....	
6.4.1. Determinación de <i>Salmonella spp</i> .....	
6.4.2. Determinación de <i>Escherichia coli</i> .....	
VII. RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	
VIII. CONCLUSIONES.....	
IX. RECOMENDACIONES.....	
X. Bibliografía.....	
XI. ANEXOS.....	

## I. ANTECEDENTES

Las enfermedades de tipo gastrointestinales producidas por las bacterias del género *Salmonella ssp* y *Escherichia coli*, son originadas en gran parte por el consumo de alimentos contaminados. En los últimos años han aumentado los casos tanto a nivel mundial como local, esto se debe a la falta de controles de las autoridades en las ventas de alimentos en el comercio informal ambulante, por ende la falta de aplicación de las BPM. (Buenas práctica de manufactura), conducen al acrecentamiento de casos de enfermedades transmitidas por alimentos.

En el año 1982 sucedieron dos brotes de enteritis hemorrágica aguda en Michigan y Oregón en Estados Unidos, vinculados con hamburguesas expandidas por una cadena de alimentos preparados, siendo afectadas al menos 47 personas por un síndrome poco común caracterizado por dolor abdominal intenso tipo calambre, diarrea abundante y fiebre ausente o de poca intensidad. Se aisló un serotipo de *E. coli*, el 0157: H7 en 9 de 20 casos y de una porción de la carne involucrada. Desde este brote original, *Escherichia coli* se ha relacionado con varios brotes de origen alimentario (López 2002).

La bacteria *Salmonella Spp* a nivel mundial está involucrada en millones de casos de gastroenteritis humana y más de cien mil muertes cada año. Los productos de origen aviar son una de las principales fuentes de contagio de esta bacteria. La utilización generalizada de antimicrobianos en la industria avícola ha favorecido el apareamiento de cepas de *Salmonella* multirresistentes, cepas que podrían transferirse al ser humano mediante el consumo de productos cárnicos contaminados. (Villagómez 2017)

Según la información publicada por el Ministerio de salud pública (MSP) (Gaceta Epidemiológica Semana 1-50 año 2017) se registra que la provincia de Manabí almacena 321 casos de *salmonella ssp* equivale (16.1%) del total de casos notificados en el año 2017, luego sigue Guayas con 223 casos y Loja con 213, siendo estas las provincias con mayor número infecciones por la bacteria de *Salmonella ssp*. (MSP 2017)

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. General**

Determinar la presencia o ausencia de bacterias del género *Salmonella* y *Escherichia coli* en hamburguesas comercializadas en carretas ambulantes en el centro de la ciudad de Manta.

### **1.1.2. Específicos**

- Identificar mediante análisis microbiológicos la presencia de las bacteria del género *Salmonella* y *Escherichia coli* en hamburguesas comercializadas en carretas ambulantes en el centro de la ciudad de Manta.
  
- Entregar información básica sobre buenas prácticas de manufactura a los vendedores de hamburguesas en carretas ambulantes del centro de la ciudad de Manta.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La venta de comida rápida ambulante es un negocio que ha ido en crecimiento en los últimos años esto debido en gran parte a la falta de oportunidades para conseguir un empleo estable. En el centro de la ciudad de Manta existen alrededor de unas 50 carretas ambulantes distribuidas en distintas calles que ofrecen comidas rápidas tales como hamburguesas, hot dog, sandwiches y varios productos más.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), desarrolladas a partir de agua contaminada o un alimento contaminado, establecen una importante causa de discapacidad y morbimortalidad, en contra de lo que se pueda creer, y constituyen un problema importante de salud pública en todo el mundo, tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. Se estima que anualmente aproximadamente 600 millones de personas enferman por consumo de alimentos contaminados, esto equivale a una de cada diez personas según la (OMS) Organización Mundial de la Salud (Arboix 2015).

*La Salmonella* es un género bacteriano importante que provoca uno de los formularios más comunes de la intoxicación alimentaria en todo el mundo. La fiebre tifoidea - causada por Tifus serovar del enterica de las Salmonellas - accionó muchos brotes calamitosos a lo largo de la historia, y la gente reconoció la conexión de esta enfermedad con el consumo eventual de comida y bebidas contaminadas. (Meštrović 2017)

La bacteria *Escherichia coli*, es uno de los principales microorganismos contaminantes de la carne, es la misma que se encuentra de forma natural en los intestinos del ser humano y de los animales, sin causar ningún daño , pero al ser esta introducida en la carne provoca un gran peligro para la salud huma, por las verotoxinas que produce. Al estar en un ambiente adecuado esta bacteria puede vivir por meses, ocasionando daños a la salud humana con el desarrollo de enterotoxemias y otras patologías de carácter gastrointestinal. (Carvajal 2017)

### III. HIPOTESIS

Existe la presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en hamburguesas que se expenden en el centro de la ciudad de Manta.

## IV. JUSTIFICACIÓN

La causa principal en el desarrollo de esta investigación es identificar si existe presencia de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* en hamburguesas expandidas en carretas ambulantes en el centro de la ciudad de Manta, consumidas de manera libre por toda la ciudadanía, lo que podría perjudicar directamente a la salud de los Mantenses.

Una gran cantidad de empleos ambulantes ofrecen productos diseñados para un nicho específico como son los productos alimenticios y perecederos, convirtiéndose en un medio relativamente fácil para la contención de las enfermedades de transmisión alimentaria ya que la mayoría ignora o no aplican ningún tipo de normas sanitarias ni de inocuidad. (Suárez 2017)

La simple presencia de microorganismos como *Escherichia coli* y *Salmonella*, aun en cantidades pequeñas simboliza un peligro significativo ya que, de proporcionarse las condiciones ambientales necesarias, se produce irremediablemente la proliferación y multiplicación del microorganismo. Solamente a través del origen buenas prácticas de manipulación y del control de alimentos en toda la cadena se puede mitigar la incidencia y llegar a su erradicación (Sánchez 2014).

Las características de composición adecuadas de actividad acuosa ( $a_w$ ) y pH de la carne constituyen un medio muy propicio para las contaminaciones microbianas convirtiendo a la carne es uno de los alimentos más perecederos (Pascual 2000). Las infecciones diarreicas son comúnmente las más vinculadas a la ingesta de alimentos contaminados.

Las infecciones diarreicas son comúnmente las más vinculadas a la ingesta de alimentos contaminados. Cada año se enferman unos 550 millones de personas y provocan al menos 230. 000 muertes. Los alimentos insalubres que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas nocivas causan más de 200 enfermedades, que van desde la diarrea hasta el cáncer. Según la OMS (2017) anualmente se enferman a nivel mundial unos 600 millones de personas, casi 1 de cada 10 habitantes por el consumo de alimentos contaminados y alrededor de 420. 000 mueren por esta misma causa.

La enfermedad diarreica aguda (EDA) es una de las causas más importantes de mortalidad en niños menores de 5 años, en países en vías de desarrollo como los de África y el Sudeste Asiático, además de Latinoamérica y también en algunos países industrializados. Alrededor de 0.8 a 2 millones de niños menores de 5 años mueren en el mundo a causa de EDA siendo esta la segunda causa de muerte después de las infecciones respiratorias. Las bacterias *E. coli* enteropatógenas y *Salmonella spp.* Son las más importantes y principales causantes de esta enfermedad. (Gómez 2015)

## V. REVISION DE LITERATURA

### 5.1. Marco Teórico

#### 5.1.1 Generalidades de *Escherichia coli*

*Escherichia coli* es la especie preponderante de la flora anaeróbica facultativa del colon humano. Las infecciones producidas por las cepas patógenas de *E. coli* pueden estar limitadas a mucosas o bien diseminarse. Los síndromes clínicos presentados por infección de estas cepas patógenas pueden ser cuatro: enfermedad diarreica, infección de vías urinarias, meningitis y sepsis (Romero 2007).

La mayoría de las bacterias pertenecientes a esta especie *Escherichia coli* forman parte de la microflora normal del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente, encontrándose comúnmente en sus heces. Es un bacilo, gramnegativo, casi siempre móvil. La mayoría de sus cepas son inocuas, pero existen algunas que son patógenas para el hombre (Pascual 2000).

Esta bacteria fue originariamente aislada y descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la nombró *Bacterium coli*, la bacteria 'E. coli' O157:H7 fue reconocida como causa de enfermedad en 1982 durante un brote de diarrea aguda con sangre en EE.UU. Se estableció que el origen estaba en hamburguesas contaminadas. Desde entonces, la mayoría de las infecciones han provenido por el consumo de carne de vacuno picada con un grado de cocción inadecuado. (Méndez 2012).

Existen muchas cepas de '*E. coli*', inofensivas, (Méndez 2012) aunque existe una variedad, '*E. coli*' O157: H7 que produce una potente toxina (Shiga) y puede ocasionar enfermedades graves como el Síndrome Urémico Hemolítico, que puede acabar en fallo renal. Los síntomas de esta infección por *E. coli* Enterohemorrágica presentan fuertes dolores abdominal, diarrea a menudo con sangre a veces náuseas, vómitos y fiebre. Este síntoma suele aparecer 3 a 4 días después del contagio, aunque también puede ser entre 1 a 10 días.

### 5.1.2. Síndromes Clínicos

Las cepas de *Escherichia Coli* causantes de diarrea se han agrupado en seis tipos patógenos (**Tabla 1**), determinado cada uno por sus propiedades de virulencia.

**Tabla 1: Tipos de Cepas E. coli y síndromes**

Síndromes clínicos	<i>Escherichia coli</i> patógenas
<b>Enteritis/ enfermedad diarreica</b>	<i>E. coli</i> adherente difusa - DAEC2 <i>E. coli</i> enteropatogénica - EPEC <i>E. coli</i> enterohemorrágica - EHEC <i>E. coli</i> enterotoxigénica - ETEC <i>E. coli</i> enteroagregativa - EAEC <i>E. coli</i> enteroinvasiva – EIEC
<b>Sepsis/meningitis</b>	MNEC
<b>Infecciones del tracto urinario</b>	<i>E. coli</i> uropatogénica – UPEC

Fuente: (Eslava 2015)

### 5.1.3. Epidemiología

La población afectada es uno de los aspectos más importantes de la epidemiología de la diarrea producida por EPEC. Se presenta principalmente como una enfermedad de niños menores de 2 años de edad. En los últimos años sin embargo se han reportado varios brotes en distintos países, principalmente en guarderías y otros centros de atención a niños. La incidencia de diarrea producida por EPEC en países en desarrollo sigue siendo alta. Varios estudios realizados en México, Brasil, y África del Sur relatan que entre el 30 y 40% de los casos de diarrea puede ser acusado a cepas EPEC (Eslava 2015).

#### **5.1.4. Fuentes y transmisión**

La bacteria *Escherichia coli* se transmite al hombre especialmente por la ingesta de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida además de leche cruda. La contaminación fecal de otros alimentos y del agua, así como la contaminación cruzada durante la preparación de estos (con carne de vacuno y otros productos cárnicos, superficies y utensilios de cocina contaminados), son causas también de infecciones.(OMS 2018)

La bacteria '*E. coli*' se encuentra en el tracto digestivo de los mamíferos y de allí puede dar el salto a una gran variedad de alimentos:

- Carnes (fundamentalmente rojas)
- Frutas y verduras y productos derivados.
- Leche y productos derivados (queso, yogurt, etc.). (Practicopedia 2011)

#### **5.1.4. Prevención**

Cocinar bien los productos de origen animal y evitar los lácteos no pasteurizados además de lavarse las manos antes de preparar los alimentos son algunas medidas para menguar el riesgo de transmisión de *Escherichia coli*. Siempre lavar los utensilios que hayan tocado alimentos que deban ser cocinados antes de comerse y antes de tocar los alimentos listos para comer.

## **5.2. *Salmonella* ssp. Generalidades**

*Salmonella* es un género de bacterias, que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, integrado por células en forma de bacilo, no esporuladas y habitualmente móviles mediante flagelos peritricos. Son bacterias Gramnegativas, de metabolismo anaerobio facultativo, que reducen los nitratos a nitritos y que fermentan la glucosa produciendo ácido y gas. (Odumeru & LeónVelarde 2012).

El género *Salmonella* adquiere su nombre en honor al microbiólogo americano Daniel E. Salmon, quien en 1876 fue reconocido como el primer doctor en medicina veterinaria titulado en una universidad de los Estados Unidos. Conjuntamente con Theobald Smith descubrieron los gérmenes designados como *salmonelas*, aislándolos de cerdos con cólera (Pachón 2009).

Este género se halla muy extenso. Se extiende por zoonosis, ya sea por contacto directo o manipulación alimentaria. Los serotipos menos perjudiciales constituyen parte de la flora habitual del intestino. Las *Salmonellas* son capaces de huir de los glóbulos blancos y penetrar en los tejidos gracias a sus flagelos, saliendo de la luz intestinal y ocasionando la fiebre tifoidea. (Contreras 2015)

### **5.2.1. Condiciones de supervivencia**

Una vez que las bacterias *Salmonella* ssp., pasan de los animales hospedadores a los alimentos derivados (carne, huevos, leche) son capaces de multiplicarse a velocidades muy elevadas, y pueden duplicar su número cada 15 o 20 minutos si la temperatura es elevada (superior a 20° C), y más significativamente, si la temperatura ambiente supera los 30°C, la temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C. Si los alimentos no se refrigeran rápidamente (su límite de crecimiento estará en 6° C) el microorganismo se multiplica, con el consiguiente riesgo de contaminar los alimentos (Elika 2013).

## 5.2.2 Salmonelosis

La salmonelosis es causada por microorganismos de dos especies (*S. bongori* y *S. entérica*). Es una enfermedad infecciosa del hombre y los animales. Si bien fundamentalmente son bacterias intestinales, las salmonellas están muy distribuidas en el ambiente y se encuentran con frecuencia en las aguas residuales humanas y en cualquier material con contaminación fecal. La salmonelosis humana es la enfermedad zoonótica más frecuente e importante causada por estos organismos. (OIE 2004)

Esta infección se produce cuando una persona consume altas cantidades (generalmente millones) de *salmonellas* que penetran el epitelio del intestino delgado en donde se multiplican. Al día siguiente de haber ingerido el alimento contaminado aparecen los síntomas, las personas contaminadas en su mayoría presentan diarrea, fiebres náuseas y vómitos (Ingrahan 1998).

## 5.2.3. Ámbito Mundial

La incidencia de salmonelosis de origen alimentario se ha elevado considerablemente desde la década de los ochenta en el mundo industrializado alcanzando en varios países proporciones epidémicas. Este acrecentamiento es el resultado de una combinación de factores afines con el desarrollo en la industrialización en todas las fases de producción de alimentos, además de cambios en la práctica del manejo de los alimentos, así como el almacenamiento, distribución y preparación de los mismos (Gutiérrez et al. 2000).

La *Salmonella* está vinculada en el ámbito mundial, con la enfermedad diarreica aguda (EDA), que continúa siendo unas de las causas más importantes de mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos. Además, se estima que en África, Latinoamérica y Asia las posibilidades de que un niño menor a 7 años muera por enfermedad diarreica pueden aumentar hasta al 50% (Durango et al 2004).

## 5.2.4 Ámbito Local

De acuerdo a la información del Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP) registrada en la Gaceta epidemiológica, existen varios casos de salmonelosis en Ecuador. Desde del año 2016 al 2017, la provincia de Manabí se ubica en el primer lugar con 549 casos (**Tabla 2**), mientras que en el 2018 (sem.1-20) se han reportado 77 casos en esta provincia (MSP 2018)

**Tabla 2 Casos de infecciones por *Salmonella spp* durante los años 2016 a 2018**

Provincia	2016	2017	2018(Semana 1-20)
Guayas	<b>404</b>	<b>119</b>	<b>177</b>
Manabí	<b>549</b>	<b>219</b>	<b>74</b>
Los Ríos	<b>184</b>	-	<b>24</b>
Azuay	-	-	<b>42</b>
El Oro	-	-	<b>33</b>
Pichincha	<b>168</b>	<b>96</b>	<b>96</b>
Loja	-	<b>82</b>	<b>39</b>
Zamora Chinchipe	<b>157</b>	-	<b>127</b>
Cotopaxi	-	<b>115</b>	<b>57</b>
Sumatoria De Casos	<b>1462</b>	<b>631</b>	<b>669</b>

**Fuente:**Gaceta Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

## **VI. METODOLOGÍA**

### **6.1. Ubicación geográfica del área de estudio**

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Ciencias de Alimentos de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicada en la ciudad de Manta, realizándose en el primer semestre del año 2018.

### **6.2. Toma de muestras**

Las muestras de hamburguesas fueron obtenidas en la zona céntrica de la ciudad de Manta en los puestos de ventas ambulantes, para luego ser llevadas al laboratorio. El muestro se realizó desde el 21 al 28 de mayo y el 4 de junio.

### **6.3. Tipo de estudio**

El estudio es de tipo descriptivo, en el cual se busca conocer si las hamburguesas expendidas en carretas ambulantes en la zona céntrica de la ciudad de Manta, presentan contaminación de *Escherichia Coli* y *Salmonella spp.*

### **6.4. Análisis de las muestras**

El muestreo se realizó de manera semanal (dos días por tres semanas consecutivas) tomando veinte y cinco muestras al azar, cada muestra fue analizada por triplicado. Se realizaron los análisis microbiológicos para *Salmonella spp* y *Escherichia coli* en las 25 muestras de hamburguesas para establecer la ausencia o presencia, de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-15:2009 y NTE INEN 1529-8 respectivamente.

### **6.4.1. Determinación de *Salmonella spp***

El análisis de la presencia/ausencia de *Salmonella* se realizó de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-15:2009. Control microbiológico de los alimentos. *Salmonella*. Método de detección. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

#### **Materiales**

- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Vasos de precipitación de 250 ml
- Pinzas
- Bisturíes
- Frascos de vidrio con tapa rosca
- Espátulas
- Probetas graduadas de 100 ml
- Micropipetas
- Cajas Petri

#### **Reactivos**

- Agua de Peptona Buferada GranuCult TM
- Caldo de bilis-verde brillante al 2% DIFCO TM
- Tritón X-100 SIGMA-ALDRICH
- Agar Salmonella Shigella (SS)

#### **Equipos**

- Balanza analítica STARTORIUS 0.1 mg
- Autoclave LDZX-75KBS
- Plancha calentadora/agitadora FISHER SCIENTIFIC
- Estufa de secado MEMMERT □ Cabina Flujo Laminar BIOBASE
- Refrigeradora Indurama

**Procedimiento:**

**Diluyente:** Se utilizó Agua peptona tamponada con un pH > 6

**Pre-enriquecimiento:** Se preparó el homogeneizado con 25g de muestra y 225 cm<sup>3</sup> de diluyente, y se dejó por 24 h.

**Productos procesados en general:** Asépticamente se pesaron 25 g de la muestra en un frasco de boca ancha con tapa de rosca (500 cm<sup>3</sup>), se adicionó 225 cm<sup>3</sup> de diluyente, se homogenizó a alta velocidad durante 2 minutos. Se procedió a tapar el frasco y se dejó a temperatura ambiente por 60 minutos.

Mezclar bien y ajustar el pH  $6,8 \pm 0,2$ . Se adicionó tres gotas de Tritón X-100, esterilizados a vapor por 15 minutos. Las muestras fueron incubadas con la tapa aflojada 1/4 de vuelta a 37 °C durante 20 horas. Se procedió a ajustar la tapa y delicadamente se mezcló el cultivo de pre-enriquecimiento, se pipeteo 10 cm<sup>3</sup> en 100 cm<sup>3</sup> de caldo tetrionato verde brillante. Se incubo a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas.

**Siembra en placa de medios sólidos selectivos y diferenciales:** Cuando el período de incubación del tetrionato alcanzó 24 h, se ajustó las tapas y de cada uno de ellos, se inoculo con 1 mL de muestra sobre la superficie seca de placas de agar Salmonella-Shigella (SS), se invirtieron las placas y se incubaron a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 h.

#### **6.4.2. Determinación de *Escherichia coli***

El análisis de la presencia/ausencia de *E. coli* se realizó de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-8:2025 Control microbiológico de los alimentos. *E. coli*. Método de detección. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

## **Materiales**

- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Vasos de precipitación de 250 ml
- Frascos de vidrio con tapa rosca
- Probetas graduadas de 100 ml
- Micropipetas
- Cajas Petri

## **Reactivos**

- Agua de Peptona Buferada GranuCult TM
- Caldo de bilis-verde brillante al 2% DIFCO TM
- Tritón X-100 SIGMA-ALDRICH
- Agar Mack Conkey

## **Equipos**

- Balanza analítica STARTORIUS 0.1 mg
- Autoclave LDZX-75KBS
- Cabina Flujo Laminar BIOBASE

## **Procedimiento:**

### **Preparación:**

- Disolver los componentes del medio completo deshidratado en agua, por calentamiento si es necesario.
- Ajustar el pH, si es necesario, de modo que después de la esterilización sea  $6,8 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .
- Dispensar el medio en cantidades de 10 mL dentro de tubos de 16 mm x 160 mm que contengan tubos Durham.
- Esterilizar por 15 min en una autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$ .

- Los tubos Durham no deben contener burbujas de aire después de la esterilización.
- Disolver los componentes del medio completo deshidratado en agua, por calentamiento si es necesario.
- Ajustar el pH, si es necesario, de modo que después de la esterilización sea  $6,8 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

### **Método de detección**

- Agregar 1 mL de suspensión inicial a 9 mL de caldo lauril sulfato (medio de enriquecimiento selectivo) de concentración simple (3.2.1) o 10 de suspensión inicial a 10 mL de caldo lauril sulfato de concentración doble (3.2.1).
- Incubar los tubos a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2$  h por 24 h, si no se observa opacidad ni producción de gas incubar hasta  $48 \text{ h} \pm 2$  h.
- A los tubos que presentaron opacidad o presencia de gas se debe subcultivar, inoculando con un asa de muestreo (3.2.22) un tubo que contiene Caldo EC (medio líquido selectivo) (3.2.2) e incubarlos en el baño de agua (3.3.3) o en la incubadora (3.3.2) a  $44^{\circ}\text{C}$  por  $24 \text{ h} \pm 2$  h. Si no se observa la presencia de gas extender la incubación hasta  $48 \text{ h} \pm 2$  h.
- A los tubos que presentaron opacidad o presencia de gas, se debe subcultivar, inoculando con un asa de muestreo (3.2.22) a un tubo con agua de peptona (3.2.3) precalentada a  $44^{\circ}\text{C}$ . Incubar por  $48 \text{ h} \pm 2$  h a  $44^{\circ}\text{C}$ .

## VII. RESULTADO Y DISCUSIÓN

Los resultados fueron positivos (+), es decir se observó presencia de *Salmonella ssp.* Y *E. coli* en las muestras de hamburguesas (**Tabla 3**). Se encontró que 6.7 y 2.7 % de las hamburguesas reportó presencia de *Salmonella* y *E. coli*, respectivamente. De acuerdo a las normas INEN los alimentos no deben reportar presencia de ninguno de los dos microorganismos antes citados.

Existe una gran probabilidad de que la mayor parte de contaminación se encuentre en la ensalada que se añaden a este producto ya que para estas no hay un manejo adecuado y la tasa de contaminación cruzada es alta. Para realizar los análisis las muestras de hamburguesas fueron obtenidas en 25 establecimientos de la ciudad de Manta, los sitios tales como: Portuaria, Calle 13, Ave Flavio Reyes, Santa Martha, Santa Mónica, y Calle 12.

**Tabla 3. Resultado de análisis microbiano de *E. coli* y *Salmonella ssp* en muestras de hamburguesas obtenidas en el centro de la ciudad de manta.**

Tiempos de estudio	N	R	(N*R)	Muestras con <i>Salmonella</i>	Muestras con <i>E. coli</i>
Semana 1	25	3	75	2	0
Semana 2	25	3	75	1	1
Semana 3	25	3	75	2	1
Total	75	-	225	5	2
Porcentaje %	100%	-	-	6.7%	2.7%

N=número de muestra por semana

R= Repeticiones

En base a los resultados obtenidos se requiere una capacitación en BPM a los vendedores de hamburguesas ubicados en la zona céntrica de la ciudad de Manta. En el presente trabajo se adjunta una guía con unas recomendaciones básicas sobre BPM (**Anexo 1**), mismas que podrán servir para mejorar la inocuidad de los alimentos en expendio en la vía pública.

Se entregaron trípticos a los vendedores en las carretas de comidas rápidas como hamburguesas en el centro de la ciudad de manta en las mismas que se tomaron las muestras para realizar los siguientes análisis, se les dio una pequeña charla de BPM a cada uno de los vendedores. De los cuales fueron tomadas las muestras para los respectivos análisis.

## VIII. CONCLUSIONES

- Los resultados conseguidos determinaron presencia de *E. coli* y *Salmonella spp*, en las muestras de hamburguesa analizadas, lo que nos refleja que el comercio ambulante requiere de la aplicación de BPM.
- Las cantidades de *Salmonella* encontradas en las muestras de hamburguesas fueron de 6.7% mientras que para *E. coli* fueron de 2.7%.
- Se entregó información básica sobre BPM a los vendedores de hamburguesas en carretas ambulantes del centro de la ciudad de Manta, con lo que se espera contribuir a una mejor educación y por ende manejo de los alimentos con la consecuente disminución de la contaminación microbiológica.

## **IX. RECOMENDACIONES**

- Realizar mayor control por parte de las autoridades a los negocios de comidas rápidas y verificar que se cumplan con las normas sanitarias capacitando a su vez a los dueños de los negocios en buenas prácticas de manufactura.
- Lavar y desinfectar con cloro previamente todos los vegetales utilizados para la ensalada, colocar dos cucharadas de cloro en un litro de agua añadir los vegetales y dejarlos por un tiempo de 20 minutos.
- Lavar constantemente los frascos en donde se colocan las salsas además de las mesas y otros utensilios que se manipulan, para así mitigar la propagación de estas bacterias y la contaminación cruzada.

## X. Bibliografía

1. Arboix, M. (12 de Diciembre de 2015). *Observatorio de Alimentacion. Obtenido de Enfermedades de Transmisión Alimentaria:* <http://observatorio.escoladealimentacion.es/entradas/alimentacion-y-salud/enfermedades-de-transmision-alimentaria>
2. Carvajal, w. (2017). *determinación de escherichia coli en carne y piel de cerdo en expendios del mercado 10 de noviembre de guaranda. guaranda: tesis de grado.*
3. Contreras, R. (15 de Agosto de 2015). *La Guía De La Biología. Obtenido de El Género Salmonella:* <https://biologia.laguia2000.com/microbiologia/el-genero-salmonella>
4. Durango, J. (2004). Presencia de salmonella ssp. En un área del caribe Colombia: un riesgo para la salud pública. *Red de revista científica de américa latina y el caribe*, 89-96.
5. Elika. (28 de Enero de 2013). *Elika. Obtenido de (Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria) Salmonella:* [:http://www.elika.eus/datos/pdfs\\_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf](http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf)
6. Epizootias), O. (. (2014). *Salmonelosis. In: Manual de la OIE sobre animales terrestre 2004. Capítulo 2.10.3. quinta edición. Paris.*
7. Eslava, C. (2015). *Universidad Nacional Autónoma de México. Obtenido de Recursos en Bacteriología y Paracitología-Recursos en Bacteriología:* <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
8. Gómez, O. (16 de Junio de 2015). *US National Library Of Medicine. Obtenido de Enfermedad diarreica aguda por Escherichia coli patógenas en Colombia:* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4469391/>

9. Gutierrez, G. (2000). *Serotipo de salmonella identificada en los servicios de la salud en México*. Mexico.
10. Ingraham, J. (1998). *Introducción a la Microbiología*. Reverte S.A. .
11. Lopez, W. (2002). Infección por escherichia coli enterohemorrágica. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma* .
12. Méndez, A. (s.f.). *Ciencias Médicas*. Obtenido de Enfermedades Bacterianas, Gastrointestinal: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373>
13. Meštrović, T. (06 de Noviembre de 2017). *News Medical Life Sciences*. Obtenido de Historia De Las Salmonellas: [https://www.news-medical.net/health/Salmonella-History-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Salmonella-History-(Spanish).aspx)
14. MSP. (2017). Infecciones debidas a Salmonella. *Gaceta Epidemiológica del Ministerio de Salud Publica*.
15. Odumero, J. (2012). *Salmonella Detection Methos for food and food Ingredients, Salmonella A Dangerous Foodborne Pathogen*. In Tech.
16. Pachón, D. (2009). *Aislamiento, Identificación y Serotificación de Enterobacterias del Genero Salmonella*. Bogota: Tesis De Grado.
17. Pascual, R. (2000). *Microbiología Alimentaria, Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Madrid: Diaz de Santos.
18. Practicopedia. (05 de Julio de 2011). *La Informacion.com Salud*. Obtenido de Cómo se propaga la bacteria 'E. Coli': <http://salud.practicopedia.lainformacion.com/enfermedades-y-trastornos/como-se-propaga-la-bacteria-e-coli-13356>
19. Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana 3era Edicion*. Panamericana S.A.

20. Sánchez, M. (2014). Mecanismos de interacción de Salmonella con la mucosa intestinal. 22-29.
  
21. Soteras, A. (14 de Enero de 2014). *EFE: SALUD*. Obtenido de ¿Qué es la Escherichia coli (E. coli) y cómo se contagia?: <https://www.efesalud.com/e-coli-la-bacteria-peligrosa/>
  
22. Suárez, W. (27 de Enero de 2016). *Las Dos Orillas*. Obtenido de El problema no son las ventas ambulantes sino la desprotección del Estado: <https://www.las2orillas.co/problema-no-las-ventas-ambulantes-sino-la-desproteccion-del-estado/>
  
23. Villagómez, S. (2017). Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de Salmonella enterica aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*.

# XI. ANEXOS

## ANEXO #1

Tríptico de información entregado a los comerciantes de hamburguesas.

### Recomendaciones:

- Lavarse las manos antes y después de preparar el producto.
- Lavar todos los utensilios a utilizar antes de ponerlos en contacto con el producto.
- Cocinar bien la carne para matar cualquier tipo de microorganismo presente.
- Lavar y desinfectar previamente los vegetales utilizados para la ensalada colocar dos cucharadas de cloro en un litro de agua por 20 min.
- Lavar constantemente los frascos de salsas antes de usar y al rellenarlos volverlos a lavar.

FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERIA  
AGROINDUSTRIAL

TRABAJO DE TITULACIÓN

ELABORADO POR: INGRID  
GARCIA CHELE

MANTA

Junio del 2018



PRESENCIA DE SALMONELLA Y E.COLI  
EN COMERCIO DE HAMBURGUESAS EN  
CARRETAS AMBULANTES DEL CENTRO  
DE MANTA



## ANEXO #2

### ANTECEDENTES

Las bacterias *Escherichia coli* y las del género *Salmonella* ssp., son causantes de enfermedades gastrointestinales, mismas que han aumentado en los últimos años tanto a nivel local como a nivel mundial según la (OMS). La infección es originada por la ingesta del consumo de alimentos contaminados. Esto se debe en su gran mayoría a la falta de controles gubernamentales, el manejo inadecuado de los vendedores ambulantes y la falta de aplicación de buenas prácticas de manufactura (BPM).

### JUSTIFICACION

De acuerdo a la información (MSP) Ministerio de salud pública de Ecuador, la Gaceta epidemiológica existen un gran número de casos por salmonella ssp. En diferente provincia del país desde el año (2014 -2018 sem.1 -21) la provincia de Manabí se registran casos con mayor incidencia y se ubica en el segundo lugar con 219 casos en el año 2017. En lo que va del 2018 en Manabí se registran 77 casos notificados hasta la fecha. El grupo de edad con mayor afectación es de 20 a 49 años en su mayoría de sexo femenino. (MSP 2018).

### Analisis de Salmonella y E. Coli muestras de hamburguesas

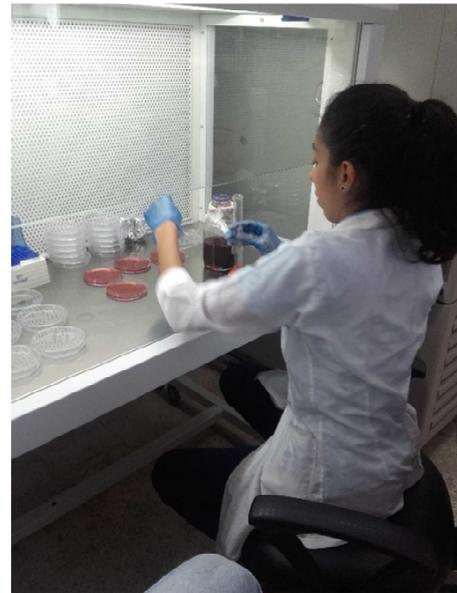
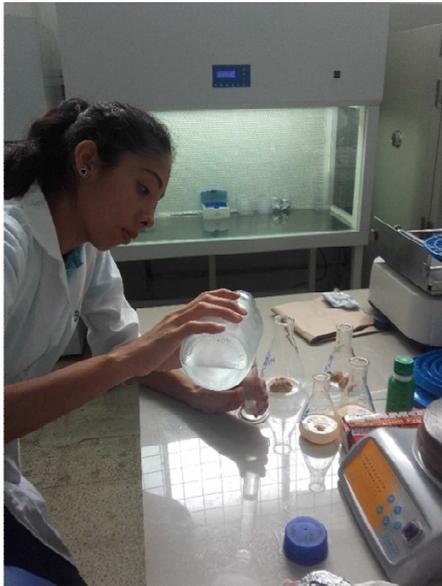
Se tomaron 25 muestras al azar de hamburguesas de carretas ambulantes en el centro de manta y se realizó el análisis de Salmonella spp y Escherichia Coli ; por método INEN 1529-15 y NTE INEN 1529-15 respectivamente donde se determinará la presencia o ausencia de estas bacterias.

### RESULTADOS

Muestra	N	Muestras con Salmoneila	Muestras con E.Coli
Hamburguesas	25	5	2

N= numero de muestras

**Figura 1**



**Fuente:** Lab. De ciencias de alimentos

**Figura 2**



**Fuente:** Lab. De ciencias de alimentos

Figura 3

