



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

FACULTAD CIENCIAS DEL MAR

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICA
EN ACTIVIDADES PESQUERAS**

Tema:

**DETERMINACIÓN DE CARGA BACTERIANA (*Salmonella*
spp) EN PINCHAGUA (*Opisthonema spp*) EN CUATRO
ETAPAS DE PROCESO.**

AUTORES: ALVIA QUIJIJE VICTOR EMANUEL.

TRUJILLO SILVA DENNYS JAVIER.

TUTOR: Mg. A EDMUNDO MATUTE ZEAS

Manta, Enero 2013

DERECHOS DE AUTORÍA

Víctor Emanuel Alvia Quijije y Dennys Javier Trujillo Silva, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Facultad de “Ciencias del Mar”, de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

VICTOR E. ALVIA QUIJIJE

DENNYS J. TRUJILLO SILVA

CERTIFICACIÓN DE TUTORÍA

Edmundo Matute certifica haber tutelado la tesis titulada **“DETERMINACIÓN DE CARGA BACTERIANA (*Salmonella spp*) EN PINCHAGUA (*Opisthonema spp*) EN CUATRO ETAPAS DE PROCESO.”** que ha sido desarrollada por Víctor Emanuel Alvia Quijije y Dennys Javier Trujillo Silva, previa a la obtención del título de Bioquímica en Actividades Pesqueras, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. U.L.E.A.M.

Mg. A EDMUNDO MATUTE ZEAS
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han **APROBADO** la tesis **“DETERMINACIÓN DE CARGA BACTERIANA (*Salmonella spp*) EN PINCHAGUA (*Opisthonema spp*) EN CUATRO ETAPAS DE PROCESO.”**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Víctor Emanuel Alvia Quijije y Dennys Javier Trujillo Silva, previa la obtención del título de **Bioquímica en Actividades Pesqueras**, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. U.L.E.A.M.

.....
Luis Ayala Castro PhD.
DECANO

.....
Ing. Edmundo Matute Zeas Mg.A
DIRECTOR DE TESIS

.....
Ing. Javier Reyes Solórzano Mg.A
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
Blga. Sandra Solórzano Barcia
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Sobre todas las cosas le agradecemos a Dios porque Él ha sido quien nos ha permitido gozar de este bello milagro, que es la vida, en cada una de sus manifestaciones y enseñanzas, permitiéndonos reír, llorar, soñar, construir, aprender, mejorar y crecer como seres humanos que aportan al entorno con ideas positivas y proactivas en cada proyecto propuesto. Gracias a Él nos hemos cultivado académicamente y humanitariamente, para lograr ese complemento que todos anhelamos. Gracias porque la luz que nos irradia cada mañana nos dan la fortaleza necesaria para seguir afrontando nuevos retos en la vida, porque nos impulsa a seguir, sin importar cual haya sido nuestra meta más reciente y nos alienta para definir nuevos objetivos sin importar cuán lejos estos pudieran parecer, porque nos hemos convertido en personas luchadoras por nuestros ideales, dispuestos a defenderlos en cualquier circunstancia y por no dejarnos doblegar ante cualquier problema en nuestra vida. Gracias Dios por todos tus infinitos dones y regalos que de seguro con tu sabiduría los sabremos utilizar para afianzar y construir.

Sinceramente agradezco a mis queridos padres Ángel Bernardo y Aurora que en todo momento supieron brindarme su apoyo moral y económico sin desmayar sus esfuerzos por verme convertido en el ideal de sus sueños.

.....
VICTOR.E ALVIA QUIJIJE

AGRADECIMIENTOS

A Dios. A mi padre por todo por su apoyo incondicional. A mi familia y amigos por los momentos vividos.

A todos los docentes y personas que me ayudaron y confiaron en mis capacidades.

.....

DENNYS J. TRUJILLO SILVA

DEDICATORIA

Gracias Papá Dios porque guiado de tu mano he podido caminar. Nadie dijo que sería fácil, nadie lo dijo y fue en cada amanecer, atardecer y anochecer donde el entregar lo mejor con esfuerzo y valentía, han hecho posible lo que un día fue un sueño.

Gracias por tu protección, por tu amor sin límites, por cada persona que pusiste en mi camino, gracias por mi familia a quienes amo con toda mi alma y con todo mi espíritu, bendigo la vida que me diste y por haberme regalado unos padres tan maravillosos: Ángel y Aurora ya que gracias a ellos soy una persona llena de valores; con su amor, cariño y comprensión han velado por mi salud, estudios y alimentación, son a ellos a quienes les debo toda mi vida, por su confianza, sus consejos y regaños de los cuales estoy muy seguro que lo han hecho con todo el amor del mundo para formarme como un ser sabio, lleno de dicha y alegría.

.....

VICTOR E. ALVIA QUIJIJE

DEDICATORIA

A MI PADRE, en recompensa por todo su apoyo y esfuerzo, por nunca haber dado el brazo a torcer cuando sus hijos más lo necesitaron.

.....

DENNYS J. TRUJILLO SILVA

CONTENIDO GENERAL

Sección 1

Carátula

Derechos de autoría

Certificación de tutoría

Aprobación del tribunal

Agradecimientos

Dedicatoria

Contenido general

Contenido de cuadros y figuras

Resumen

Palabras clave

Summary

Key words

Introducción

Sección 2

I. ANTECEDENTES

- 1.1. Planteamiento y formulación del problema
- 1.2. Justificación
- 1.3. Objetivos

- 1.3.1. Objetivo general
- 1.3.2. Objetivos específicos
- 1.4. Hipótesis, premisas y/o ideas a defender

II. MARCO TEÓRICO

III. DISEÑO METODOLÓGICO

- 3.1. Ubicación
- 3.2. Duración del trabajo
- 3.3. Factores en estudio
- 3.4. Variables en estudio
 - 3.4.1. Variable independiente
 - 3.4.2. Variables dependientes
- 3.5. Cuadro de variantes
- 3.6. Unidad experimental
- 3.7. Diseño experimental
- 3.8. Técnicas estadísticas

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 5.1. Conclusiones
- 5.2. Recomendaciones

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

Figura # 1. Pinchagua (*Opisthonema libértate*).

Figura # 2. Morfología Externa de la Pinchagua.

Figura # 3. Distribución geográfica de las especies de Pinchagua.

Figura # 4, zonas de pesca de Pinchagua reportadas por la flota pesquera.

Figura # 5. Red de cerco.

Figura # 6. Barco de casco de madera, Clase I.

Figura # 7. Playa de Crucita, Manabí Ecuador.

Figura # 7.a Lanchas de fibra de vidrio.

Figura # 8 Mesas De Eviscerado de pinchagua.

Figura# 9 Corte céfalo visceral.

Figura# 10 Gavetas donde se deposita la pinchagua.

Figura # 11. Camión con material termoaislante.

Figura # 12. Camión con cajón de madera con material termoaislante.

Figura # 13 .Fisión binaria.

Figura # 14. Estructura química de la histamina.

Figura # 15 Identificación de muestras.

Figura # 16 Pesaje de muestra sólida de pinchagua.

Figura # 17 Añadidura de agua destilada 0.9 % de NaCl y homogenización.

Figura # 18 Cultivo en caldo Selenito.

Figura # 19 Cultivo en caja petri para prueba confirmativa de *Salmonella spp.*

Figura # 20 Confirmación de *Salmonella spp.*

Figura # 21 Hisopo de muestra de superficie de contacto.

Figura # 22 Cámara bacteriológica.

Figura # 23 Incubadora.

Figura # 24 Trabajo frente al mechero.

Figura # 25 Guantes de lana de los evisceradores en Los Arenales “Crucita”.

Figura # 26 Pinchagua Eviscerad en Los Arenales “Crucita”.

Figura # 27 Transporte de Pinchagua.

Figura # 28 Etapa de lonja de comercialización (recepción de materia prima).

GRAFICO 1: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON *Salmonella spp* EN LA ETAPA DE PINCHAGUA FRESCA DESEMBARQUE.

GRAFICO 2: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON *Salmonella spp* EN LAS SUPERFICIES DE CONTACTO DESEMBARQUE.

GRAFICO 3: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON *Salmonella spp* ETAPA PINCHAGUA CONGELADA TRANSPORTE.

GRAFICO 4: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON *Salmonella spp* EN SUPERFICIES DE CONTACTO RECEPCIÓN DE MATERIA PRIMA “LONJAS DE COMERCIALIZACIÓN”.

GRAFICO M. 1.1 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN CON *Salmonella spp.*

GRAFICO # M. 1.2 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN CON *Shigella spp.*

GRAFICO # M. 1.3 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN CON *Escherichia coli*.

GRAFICO # M. 1.4 NUMERO TOTAL DE HALLAZGOS POSITIVOS DE *Enterobacterias*.

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la inocuidad bacteriológica de la Pinchagua distribuida desde el desembarcadero los Arenales “Crucita” hacia las fabricas procesadoras de sardina, en la ciudad de “Manta”, se realizó la detección de *Salmonella spp*, en muestras solidas con caldo Selenito al 0.9 % Na Cl Según LEIFSON (1936), APHA (1984), para pasar a prueba confirmativa en Agar SS 0.9 % NaCl, APHA (1984).

Las muestras de superficie de contacto se cultivaron directamente en Agar SS al 0.9 % NaCl, APHA (1984), ya que fueron tomadas con hisopos que contienen agua peptonada que actúa igual que el caldo Selenito.

Se analizaron un promedio de 300 ejemplares de pinchagua y 50 hisopos divididas asi:

150 muestras de pinchagua fresca eviscerada seleccionadas al azar y 25 muestras de superficie contacto del desembarcadero Los Arenales, 150 muestras de pinchagua en la etapa de transporte y 25 muestras de superficie de contacto tomadas de los manipuladores en etapa de lonja de comercialización en empresas procesadoras.

Del total de muestras analizadas, se detectaron 4 resultados positivos a presencia de *Salmonella spp* en las superficie de contacto Los Arenales, 8 resultados positivos a presencia de *Salmonella spp* en pinchagua fresca Los Arenales, 8 resultados positivos a presencia de *Salmonella spp* en pinchagua congelada etapa de transporte y 1 resultado positivo a presencia de *Salmonella spp*, en superficie de contacto etapa lonja de comercialización en el área de recepción de materia prima además en cada etapa se detecto la presencia de *Shigella sp* y *E. coli*.

PALABRAS CLAVE

Enterobacterias.

Salmonella spp.

Opisthonema spp

Desembarque.

Transporte.

Lonja de comercialización.

SUMMARY

In order to determine the bacteriological safety of Alewife distributed from the landing of Arenales "Crucita" towards sardine processing factories in the city of "Blanket", was the detection of *Salmonella spp* in solid samples with selenite to 0.9% NaCl According LEIFSON (1936), APHA (1984), moving to SS Agar confirmatory test in 0.9% NaCl, APHA (1984). The contact surface samples were cultured directly on SS Agar 0.9% NaCl, APHA (1984), as swabs were taken with peptone water containing acting as selenite broth.

We analyzed an average of 300 copies of alewife and 50 swabs divided as follows:

150 samples of fresh gutted alewife and 25 randomly selected samples from the landing surface contact Los Arenales, 150 samples of alewife in the transport phase and 25 surface samples taken from the contact stage of market manipulators marketing processors.

Of the samples tested, four were found positive results for *Salmonella spp* in interface Los Arenales, 8 tested positive for *Salmonella spp* in fresh alewife Los Arenales, 8 tested positive for *Salmonella spp* in frozen alewife stage transport and one positive result of *Salmonella spp* in contact surface auction marketing stage in the reception area of raw material at each stage also detected the presence of *Shigella sp* and *E. coli*.

KEY WORDS

Enterobacteriaceae.

Salmonella spp.

Opisthonema spp.

Landing.

Transportation.

Lonja marketing.

INTRODUCCIÓN

Los tejidos internos de la carne en canal se consideran estériles, característica que se ve alterada si no se aplican las adecuadas prácticas de manufactura durante los procesos de eviscerado , manipulación en el desembarcadero, transporte y lonja de comercialización, lo que conlleva a contaminación con suciedad, materia fecal y polvo, entre otros, situación que es directamente proporcional al uso de las normas higiénicosanitarias en las mesas de eviscerado , carros termoaislados y plantas de procesamiento, el nivel de contaminación del pescado capturado con bacterias de interés en la salud pública varían con la manipulación.

Desde su captura hasta su recepción, las pinchaguas transitan por una serie de etapas en las cuales existe la posibilidad de que accedan diferentes microorganismos a la matriz alimenticia. La calidad y cantidad de los mismos definen las modificaciones que tienen lugar en el producto y sobre todo las consecuencias de su consumo por parte del hombre, estas modificaciones pueden ir desde cambios inofensivos en las características organolépticas del alimento, hasta consecuencias graves causadas por las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). Por esto es necesario encontrar las etapas más propensas.

Enfocando nuestro estudio a las etapas mencionadas determinaremos la calidad microbiana de cada etapa de manejo de la pinchagua, desde el desembarcadero de Los Arenales "CRUCITA" hasta las plantas procesadoras de sardina en Manta, utilizando como indicador microbiano a la bacteria *Salmonella spp* y como microorganismos acompañantes a la *E.coli* y la *Shigella sp* que son utilizadas como indicadores de contaminación en alimentos.

I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACION DEL PROBLEMA

El número de enfermedades de origen alimentario está creciendo rápidamente, y el nivel de inocuidad de los alimentos esperado por los consumidores no ha sido alcanzado. La continuidad del problema ha sido bien ilustrada en años recientes por estudios de vigilancia humana en patógenos específicos de origen cárnico como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* y *Yersinia enterocolitica*.

La descomposición microbiana es provocada por las bacterias la mayoría de estas son bastante inofensivas, pero existen otras que son peligrosas y perjudiciales ya pueden producir alteración de los alimentos además de enfermedades (toxiinfecciones alimentarias).

Los tejidos internos de la carne se consideran estériles, característica que se ve alterada si no se aplican las adecuadas prácticas de manufactura durante los procesos de manipulación del pescado, lo que conlleva a contaminación con suciedad, materia fecal y polvo, entre otros, situación que es directamente proporcional al uso de las normas higiénico sanitarias.

Entre las etapas de eviscerado de pinchagua fresca, las mesas de eviscerado como en el transporte y hasta las lonjas de comercialización, existen factores de manipulación que pueden favorecer al crecimiento y proliferación bacteriana como es el caso de la *Salmonella spp* convirtiéndose en un indicador de la práctica de buenos hábitos de manejo del producto es por esto importante conocer el número estadístico en el que aumentan las colonias de *Salmonella spp* entre el tiempo que transcurre desde el eviscerado de la pinchagua fresca, el contacto con las superficies en las mesas de eviscerado , el transporte hasta las lonjas de procesamiento

1.2. JUSTIFICACIÓN

La razón por la que nos vimos en la necesidad de localizar cuál de las etapas de proceso de la *Opisthonema spp* (Pinchagua) es más propensa a la contaminación bacteriana con *Salmonella spp*, es cuantificar la carga microbiana de esta bacteria que pueda existir en cada etapa a un grado en que el producto llegue a no ser aceptable para el consumo humano.

Recalcando que los límites internacionales permisibles de *Salmonella spp* en productos alimenticios es de Ausencia en 25 gr de producto, por ende no debería existir ningún tipo de contaminación con esta bacteria en ninguna de las etapas de estudio.

Por lo descrito justificamos la investigación sobre el grado de contaminación con *Salmonella spp*, para detectar las etapas más propensa a la contaminación bacteriana con *Salmonella spp*.

Se justifica ésta investigación dentro del campo técnico por la importancia que tiene los grados de contaminación con *salmonella spp* y la concentración de *salmonella spp* en las cuatro etapas de estudio de la pinchagua.

Dentro de la justificación práctica, este estudio servirá para la toma de conciencia en relación al modo de manipulación y o al tratamiento de la materia prima Pinchagua.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- En nuestro estudio determinaremos la carga bacteriana de *Salmonella spp* en ejemplares de pinchagua *Opisthonema spp* capturadas por la flota pesquera artesanal y desembarcada en los Arenales “Crucita” para la distribución y comercialización en el mercado local.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estableceremos la carga bacteriana *Salmonella spp* en la pinchagua en cada etapa desde pinchagua fresca en el desembarque, superficies de contacto desembarcadero, transporte y superficies de contacto lonja de comercialización.
- b) Determinaremos cuál de las etapas de proceso evaluadas es la más propensa a la contaminación con *Salmonella spp*.
- c) Estableceremos los posibles factores que favorezcan a la contaminación con *Salmonella spp*.

1.4. HIPÓTESIS

La determinación del grado de contaminación bacteriana con *Salmonella spp* mediante análisis microbiológicos en cada etapa de proceso fresco en el desembarque, superficies de contacto en mesas de eviscerado, transporte y lonja de comercialización, no establece el grado de deterioro en la pinchagua como factor de la seguridad alimentaria.

II. MARCO TEÓRICO

2.-GENERALIDADES DE LA PINCHAGUA.

2.1. CARACTERÍSTICAS TAXONÓMICAS.

Familia: *Cupleidae*.

Clase: *Osteichthyes*.

Subclase: *Actinopterygii*.

Orden: *Perciformes*.

Género: *Opisthonema*.

Especie: *Libértate*.

Nombres Vernáculos: Pinchagua.

Nombres comerciales: pinchaguita, sardina.

Nombre científico: *Opisthonema libértate*. (Günther, 1867) Figura # 1,

En aguas ecuatorianas se han reportado cuatro especies, tres para el área costera continental: *Opisthonema bulleri*, *O. libértate* y *O. medirastre*, y una cuarta especie (*O.berlangai*) reportada alrededor de las islas Galápagos. Estas especies son difíciles de distinguir a través de sus características morfológicas.

(Alimentarias 2006)

2.2. BIOLOGÍA DE LA PINCHAGUA.

La pinchagua a pesar de su pequeño tamaño, posee una gran importancia en la pesquería de muchos países, y constituye uno de los principales eslabones de la cadena alimenticia. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

2.2.1. MORFOLOGÍA

La Pinchagua presenta cuerpo moderadamente alto, 38% del largo estándar. Radios dorsales 17; radios anales 19-20; 63-110 espinas en la parte central del primer arco branquial; último radio dorsal largo y filamentosos, que se extiende casi a la base de la aleta; aleta pectoral larga, sobrepasando el origen de la aleta dorsal. Azulado en el dorso, plateado blanco en los costados y vientre; parte superior de los costados con bandas angostas negras, y generalmente con manchas negras esparcidas en los costados; con frecuencia una mancha negra detrás del borde superior trasero del opérculo; las bases de las aletas dorsal y caudal amarilla (Solórzano, L & Macías, D. 2009) Figura #2.

2.2.2. BIOLOGÍA.

La Pinchagua es una especie pelágica marino costero, es endémico del Pacífico Oriental Tropical (POT) y del Pacífico Este. Habita en el mar en columnas de agua, con una media de temperatura de 24° Celsius. Forman cardúmenes de hasta 24.500 individuos. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

Los individuos de esta especie forman cardúmenes compactos y constituyen la principal fuente de proteína en los mares tropicales y subtropicales. (Solórzano, L & Macías, D. 2009) .

2.2.3. ALIMENTACIÓN

Es una especie omnívora que presenta un amplio espectro trófico. La Pinchagua emplea dos procesos para la captura de sus presas: la filtración y el ataque por medio del mordisqueo, por medio del primer mecanismo ingiere a las diatomeas y a las larvas de los crustáceos y es muy probable que se alimente con mayor intensidad durante las horas del atardecer y del alba. La Pinchagua presenta espacios interbranquiales muy reducido lo que garantiza la alimentación planctónica. Por ser un pez pelágico costero su hábitad depende enteramente de las costas, porque sus aguas están ricas en organismos planctónicos. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

2.2.4. REPRODUCCIÓN.

Su fecundación es externa, la frecuencia de desove es variable durante un rango, su asociación reproductiva sin protección de los huevos, estos son esparcidos en aguas abiertas o en el sustrato. Los huevos fecundados, dependiendo de los parámetros de eclosión, como corriente, consumidores de estos huevos, físicos y químicos del agua, depende el porcentaje de una buena stock de peces. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

2.3. DISTRIBUCIÓN DE LA PINCHAGUA EN EL O.P.O Y EN AGUAS DE LAS COSTAS MANABITAS.

La Pichagua tiene su distribución geográfica bien definida, en términos pesqueros, por ser especie que depende mucho de las costas en cual habita. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

Su distribución en América va desde el norte del Golfo de California hasta la Bahía de Sechura en Perú (Figura #. 3). Se encuentran en abundancia con respecto al clima en el Golfo de California con un clima Templado; en la provincia de Cortez y en la brecha de Sinaloa con un clima Subtropical Norteño; en la zona Ecuatorial, que va desde Costa Rica hasta Ecuador, mas las Islas Galápagos, Clipperton, Cocos, Malpelo, tenemos un clima tropical y en la provincia Peruana la encontramos en un clima Templado Sureño. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

En el Ecuador la Pinchagua forma cardúmenes compactos y migratorios que se han observado a lo largo de toda la zona costera. Su distribución está comprendida desde el norte de Bahía de Caraquez (Provincia de Manabí), hasta el sur del Golfo de Guayaquil (Provincia del Guayas) donde se encuentran las mayores concentraciones. Cabe indicar la existencia de una pequeña población en la Provincia de Esmeraldas (Solórzano, L & Macías, D. 2009) .

Los rangos de posicionamiento global en el Océano Pacifico Este son los siguientes:

- Al norte limita hasta los 33° N
- Al este limita hasta los 76° E
- Al sur limita hasta los 12° S
- Y al oeste limita hasta 118° W. Figura # 4

2.4 PESCA

La pesca de la sardina para fines industriales empezó a fines de 1970 con el inicio de las actividades de las empresas transformadoras en el puerto de Manta. Las capturas, según el Instituto Nacional de Pesca, en el 2009 se situaron en las 22 527 toneladas de sardina larga y de la redonda en 1154 toneladas. (El comercio.com. 2011)

2.4.1 ARTE DE PESCA.

El arte de pesca utilizado en estas embarcaciones es la red de cerco (figura # 5), cuyas características principales son las siguientes: Longitud 220 brazas, profundidad 35 brazas y apertura de malla (ojo de malla) de 1 pulgada. (Alimentarias 2006)

La actividad de pesca es realizada durante las noches correspondientes a la fase denominada “oscura”, durante la cual los pescadores se guían por la bioluminiscencia que producen los cardúmenes al desplazarse. La pesca cesa durante la fase de luna llena. (Alimentarias 2006)

Cabe resaltar, que estas especies también son observadas dentro de la pesca incidental generada por el uso de otros tipos de artes, tales como redes de enmalle utilizadas por el sector artesanal y redes de arrastre camaronero por parte de la flota industria. (Alimentarias 2006)

2.4.1.1 TIPO DE EMBARCACIONES UTILIZADAS. (Figura # 6),

Las embarcaciones que dirigen su esfuerzo a la captura de estas especies se encuentran conformadas principalmente por embarcaciones pequeñas, con una capacidad de bodega reducida, esto es, menos de 70 toneladas de registro neto (TRN). Estas embarcaciones constituyen casi el 50% de la flota de cerco total, las cuales son de casco de madera cuya gran mayoría carece de equipos electrónicos para la detección de cardúmenes, tienen poca autonomía y no poseen sistema de refrigeración. (Alimentarias 2006)

2.4.1.2 TEMPORADA DE PESCA.

La sardina, también conocida como pinchagua en las costas de Ecuador, es una especie cuya pesca se efectúa desde los meses de abril hasta mediados de agosto. (El comercio.com. 2011)

En la calidad de su carne influyen dos factores: el grado de frescura y época del año en la que se degusta. Su mejor momento es el verano, cuando las sardinias presentan un mayor índice de grasa, lo que acentúa el sabor y aroma de su carne. (El comercio.com. 2011)

2.4.1.3 VEDA.

Debido a las drásticas reducciones en la abundancia de esta especie así como la disminución de talla de los especímenes capturados en base a recomendaciones el INP implementó una veda total para la captura de la especie la Pinchagua (*Opisthonema spp.*) durante los meses de marzo y septiembre de cada año. La veda comprende también la venta, transporte, procesamiento y comercialización de estas especies así como se prohíbe la utilización de esta especie para la elaboración de harina de pescado. (Alimentarias 2006)

Prohibir la utilización de la especie Pinchagua (*Opisthonema spp.*) para la fabricación de harina de pescado. Los desembarques de esta especie serán destinados exclusivamente a la elaboración de conservas para consumo humano directo. (Alimentarias 2006)

Los desperdicios de esta producción podrán ser destinados a la elaboración de harina de pescado, en un volumen que no excederá el 40% de los desembarques, a cuyo efecto las plantas procesadoras deberán mantener un registro actualizado de ingresos de materia prima, así como de producción. (SRP. 2001)

2.4.1.4 ZONA DE PESCA.

Las zonas de pesca donde la flota de cerco realiza sus faenas de pesca son principalmente en las costas del Golfo de Guayaquil y la parte centro-sur de la provincia de Manabí, el zarpe lo realizan en la tarde del día anterior para llegar en la madrugada del día siguiente, insertándose hasta 40 millas mar adentro en las costas del Ecuador en busca de los cardúmenes, en cada embarcación viajan 10 hombres, incluido el capitán. (Hoy.com.ec, 2008)

2.4.1.5 PUERTO DE DESEMBARQUE.

El mayor centro de eviscerado se concentra entre Los Arenales, Las Gilses y Los Ranchos, al noroeste de Crucita Figura # 7. Allí 8 000 personas trabajan desde fines de junio hasta fines de agosto. (El comercio.com, 2011)

La jornada empieza cuando los pescadores llegan en los barcos chinchorreros o sardineros. (Hoy.com.ec, 2008)

Los intermediarios se encargan de la limpieza del pescado, antes de vender el producto en las envasadoras. (Hoy.com.ec, 2008)

Para este proceso, en el que se extraen las vísceras y la cabeza de cada pinchagua, se debe trasladar el producto desde el barco hasta la orilla de la costa. Por ello, los comerciantes contratan una panga o una lancha (Figura 7.a) de fibra en donde entra una tonelada. Ya en la orilla, la pesca se coloca en recipientes que son trasladados por hombres, hasta las mesas donde se realizan las tareas de limpieza. De esa labor se encargan grupos de mujeres, ellas trabajan hasta completar 5 tachos después las sardinas llegan a las industrias alimenticias. (Hoy.com.ec, 2008)

2.4.1.6 EVISCERADO DE LA PINCHAGUA.

Una vez capturada la pinchagua es llevada en pangas de fibras hacia el desembarcadero para ser trasladado en gavetas hacia las mesas en donde los evisceradores realizan su tarea de faenar la Pinchagua. (Figura#8) (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

2.4.1.6.1 EVISCERADORES

Dependiendo de la cantidad de pescado que fue capturado, cada evisceradora tiene a su haber de 2 a 3 gavetas en un lugar determinado en las mesas. Entre su responsabilidad esta sacar completamente las escamas, luego se hace un corte céfalo visceral, que es un tajo desde la parte superior de la cabeza hasta donde comienza las vísceras hasta la cavidad anal. (Figura #9) y al final se corta la aleta caudal.

De esta responsabilidad depende mucho la calidad del pescado cuando llega a las fábricas, Las vísceras son la causa principal del deterioro del pez en cada gaveta cortada, hay un total de tres tachos (medida usada para el pago de eviscerar), cada tacho lleno de pinchagua cortada esta en un costo de \$ 1 la pinchagua grande y \$1,50 es el valor de la pinchagüilla. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

2.5 TRANSPORTE.

Una vez evisceradas las pinchaguas, son depositadas en gavetas de plástico 100 libras de capacidad (Figura # 10), las cuales son embarcadas a carros termo aislados que reducen la transmisión de calor a través de las paredes, para que el producto llegue en buen estado es necesaria la refrigeración con hielo para conservar por tratamiento físico, el pescado en buenas condiciones de temperatura (de -3°C a 5°C) para disminuir o inactivar microorganismos en reproducción, el producto limpio es llevado hasta Manta o Guayaquil,. (Hoy.com.ec, 2008)

La reducción de temperatura se realiza extrayendo energía del cuerpo, generalmente reduciendo su energía térmica, lo que contribuye a reducir la temperatura de este cuerpo. (Wikipedia. Sin fecha)

2.5.1 DESTINOS DE LA PINCHAGUA

En Crucita existe una sola pista de embarque para otra provincia, como es el Centro de Acopio MARSAL, que envía pinchagua para la Industria Real en Posorja, o a Chanduy.

Cuando no son comercializadas a otra provincia, las pinchaguas son llevadas a Manta a diversas empresas pesqueras para su producción. (Hoy.com.ec, 2008)

2.5.2 TIPOS DE TRANSPORTES EMPLEADOS.

Las condiciones higiénicas de transportación influyen grandemente en la prolongación del mantenimiento de su calidad. Es necesario desinfectar los equipos utilizados como utensilios y frigoríficos o tipos de transporte para evitar en posible contaminación de la especie.

El transporte de la pesca, desde el muelle hasta la fábrica se realiza en dos tipos de transportes, los cuales están provistos de hielo triturado para su conservación. Se diferencian principalmente en su estructura de fabricación el cual uno es un camión o furgón cuya bodega es de acero inoxidable mientras que el otro son camiones de balde de madera enfibrado. (Figura # 11) (Figura # 12) (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

Siendo el más adecuado el tipo camión ya que presenta las condiciones adecuadas para el transporte de la pesca y su conservación debido a que mantiene mejor la temperatura al ser totalmente cubierto.

2.5.3 RECEPCIÓN EN LAS FÁBRICAS.

Se recibe la materia prima en el área de recepción, llega a la fabrica después se realizan los análisis sensorial, de color, olor y textura y así poder identificar cualquier posible contaminación como de combustible o materias extrañas, y la calidad de la carne del pescado, después pasa a la bascula para obtener el peso. Se toma la muestra de Pinchagua por parte del laboratorio para determinar su contenido de histamina. Si esta en los niveles aceptados la Pinchagua se recibe caso contrario se rechaza.

Una vez evaluada la materia prima se lo considera como satisfactorio, se anotan todos estos datos anteriores en la plantilla correspondiente también la hora, fecha, cantidad y código del lote, nombre, código del proveedor y presentación si es fresco o congelado. (Solórzano, L & Macías, D. 2009)

2.6 COMPOSICIÓN DE LA CARNE DE PINCHAGUA.

Aunque el consumidor puede elegir la carne en primer lugar por su apariencia atractiva, o por costumbre, es importante no olvidar su valor nutritivo.

La carne se considera, como un alimento de alto contenido proteico, del contenido total de nitrógeno del músculo, aproximadamente el 95% es proteína y el 5% pequeños péptidos, aminoácidos y otros compuestos, la calidad de la

proteína es muy alta, los tipos y las proporciones de aminoácidos son muy similares a los que requiere el crecimiento y el mantenimiento del tejido humano, de los aminoácidos esenciales, la carne aporta cantidades sustanciales de lisina y treonina y cantidades adecuadas de metionina y triptófano, aunque el contenido de estos aminoácidos en la carne es relativamente bajo. (Varnam, AH.; Sutherland, JP. 1995.)

La pinchagua es un pez más graso que los comunes. Es energético y con más vitaminas liposolubles que el pez de carne blanca. Las sardinas frescas tienen un elevado rendimiento nutritivo con 18% de proteínas. Poseen 74% de agua, vitaminas A, D, B2, B3 y minerales muy diversos como el sodio, fósforo, calcio, magnesio y hierro. Cada 100 gramos de sardina proporciona alrededor de 150 calorías. (El comercio.com, 2011.)

La proporción de grasa de este pescado azul varía mucho entre unos y otros, incluso la misma especie puede cambiar significativamente. (El comercio.com, 2011.)

En determinadas épocas, un mismo pescado puede ser magro o graso. En la calidad de su carne influyen dos factores: el grado de frescura y época del año en la que se degusta. Su mejor momento es el verano, cuando las sardinas presentan un mayor índice de grasa, lo que acentúa el sabor y aroma de su carne. (El comercio.com, 2011.)

Las pinchaguas son un alimento muy recomendable. Su composición en ácidos grasos insaturados ayuda a equilibrar el exceso de grasas saturadas. Su contenido en calcio (si se come la espina), magnesio y hierro y en vitaminas como A y D convierten a este alimento en muy adecuado en la infancia, la adolescencia, el embarazo y la lactancia. (El comercio.com, 2011.)

2.7. MÉTODOS O TÉCNICAS DE PRESERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS Y DEL PESCADO.

La mayoría de los métodos de conservación se orientan a controlar el crecimiento de bacterias sobre y en el interior del alimento. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

La conservación de los alimentos consiste básicamente en la aplicación de diferentes procesos físicos, químicos y biológicos que, realizados en forma adecuada, permiten prolongar la vida útil del alimento. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

La conservación permite mantener los alimentos bajo condiciones apropiadas de manejo y almacenamiento, por un determinado período de tiempo, sin que sufran alteraciones. (Villalobos, R. 2006.)

La conservación se puede obtener mediante uno o varios métodos; luego es asegurada por el uso de un empaque apropiado. (Villalobos, R. 2006.)

Los métodos de conservación de alimentos más utilizados en procesos agroindustriales se pueden agrupar de la siguiente manera:

Empleo de altas temperaturas, empleo de bajas temperaturas, secado o deshidratación, adición de azúcar, adición de sal, ahumado, aditivos, fermentación. (Villalobos, R. 2006.)

2.7.1. CONTROL DE LA TEMPERATURA.

El control de la temperatura ocupa el primer lugar en la lista de los métodos de conservación. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

Resulta variable la capacidad de los microorganismos para resistir el calor y el frío. La actividad bacteriana disminuye considerablemente a la temperatura de refrigeración y es casi imperceptible a temperaturas por debajo de la

congelación; sin embargo, algunos microorganismos como los termófilos, crecen con temperaturas superiores a las consideradas comúnmente como óptimas para el crecimiento. Otros, en el extremo opuesto, psicrófilos sobrevivirán y crecerán con las temperaturas medias del refrigerador. La congelación limita el crecimiento, aunque no mata las esporas ni incluso todas las células vegetativas. Las condiciones anormales de temperatura son probablemente la causa de alteraciones y de muerte gradual de las bacterias. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

La refrigeración y la congelación son métodos bien conocidos para la conservación de los alimentos. (Jawetz, E. 1996.)

En la actualidad existen muchos y modernos métodos de preservación del pescado, pero el más cómodo, económico y más utilizado es el hielo. El hielo es un medio portable de preservación o refrigeración que puede ser fácilmente transportado y usado hasta el lugar que se requiere y en la cantidad necesaria. En el mercado existen varios tipos de hielo: (escama o escarcha, picado, en marqueta o bloque, etc.). (Villalobos, R. 2006.)

El de mayor uso y más eficiente es el de escama o escarcha, porque tiene una mayor capacidad de contacto, es decir puede más fácilmente cubrir mayor cantidad de superficie, convirtiéndole en el más apropiado para un enfriamiento rápido, ya que el intercambio de calor se lleva a cabo más rápidamente y por ende un enfriamiento más eficaz. (Villalobos, R. 2006.)

2.7.1.1 REFRIGERACIÓN.

Se trata de temperaturas próximas aunque superiores al punto de congelación de los alimentos frescos, generalmente 4°C a 7°C. Cuando desciende la temperatura se frena la multiplicación e incluso se interrumpe. Sin embargo, con respecto a la inocuidad de los alimentos, es importante saber que los

microorganismos pueden crecer, aunque lentamente, a temperaturas de refrigeración. (Knabel, SJ. 2002.)

2.7.1.2 CONGELACIÓN.

La congelación no es un proceso pensado para mejorar la calidad, o para cambiar la naturaleza física o la calidad sensorial de los alimentos. La congelación es un sistema de conservación, y como tal, se dirige a limitar los daños con la intención de inducir los menores cambios posibles. (Varnam, AH.; Sutherland, JP. 1995.)

Algunos microorganismos, tales como la mayoría de las esporas y algunas células vegetativas sobreviven a la congelación sin ser dañados, algunas sobreviven aunque son alteradas, y otras son inactivadas. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

Temperaturas de congelación altas (-10 a -20°C) son más letales para los microorganismos, que las temperaturas más bajas (-20 a -30°C), aunque el alimento puede ser perjudicado por cambio de su estructura. Muchas enzimas y algunas toxinas se mantienen activas durante la congelación de forma que puede deteriorarse lentamente la calidad de los alimentos. La flora microbiana que persiste tras la descongelación dependerá del número y tipo de microorganismos presentes en el alimento antes de su congelación, aunque algunos serán destruidos. Las condiciones en que se realiza la descongelación y el margen tiempo/temperatura tras la descongelación son hechos importantes con respecto al crecimiento de los microorganismos que sobreviven. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

En consecuencia, la congelación conserva a los alimentos durante un largo período de tiempo, mientras que la refrigeración simplemente retrasa el crecimiento de los gérmenes y amplía la vida útil del alimento. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

2.7.1.3. EL USO DEL HIELO.

Es muy importante en las buenas prácticas de manipulación para asegurar y mantener la calidad. La relación adecuada de hielo: pescado es 1:1, es decir para enfriar un kilo de pescado se requiere un kilogramo de hielo. La temperatura óptima de mantenimiento de la frescura y calidad del producto es no mayor a los 4 grados °C. (Villalobos, R. 2006.)

Los pescados enteros deben estar rodeados y cubiertos de hielo, para mantenerse a las temperaturas adecuadas (Entre 0 y 4 grados centígrados). Si vamos a colocar el pescado entero en caja, entonces debemos estibarlos de la siguiente manera, debe colocarse una capa de hielo de 5 cm de espesor en la parte inferior de la caja, seguido de una capa de pescado. (Villalobos, R. 2006.)

A continuación se agrega otra capa de hielo, que se entremezcle con el pescado y lo cubra con 5 cm de espesor. (Villalobos, R. 2006.)

El acondicionamiento del pescado post-captura o post-cosecha se debe hacer de la siguiente forma:

1. Lavado (eliminar suciedades y fango)
2. Separación de agallas.
3. Cuidadosa evisceración.
4. Lavado en agua limpia para eliminar sangre, mucosidad, etc.
5. Almacenamiento o estibado adecuado.
6. Mantener la altura de estibas. Esta altura, alternado con hielo, pescado no debe exceder los 45 centímetros en total. (Villalobos, R. 2006.)

2.7.1.4. VENTAJAS DEL USO DE HIELO.

1. El hielo posee una gran capacidad de enfriamiento
2. No contamina, ya que es inocuo, siempre y cuando sea producido bajo estas condiciones.
3. El hielo es relativamente barato.
4. El entrar en contacto directo con el pescado, lo enfría rápidamente.
5. Se puede transportar fácilmente, convirtiéndose en un método de enfriamiento portátil.
6. El agua derretida del hielo mantiene el pescado húmedo, lavado y de apariencia atractiva. (Villalobos, R. 2006.)

2.8 ALTERACIÓN DE LA CARNE.

El interés en la bacteriología de los alimentos se centraliza en su alteración o descomposición y en la transmisión de enfermedades. (Jawetz, E. 1996.)

Puede esperarse la alteración de los alimentos, y posiblemente la intoxicación alimenticia, cuando los microorganismos se multiplican hasta alcanzar números no razonables durante el transporte tras la recolección y durante el almacenamiento antes y después de ser procesados. (Hobbs, BC; Roberts, D. 1993)

La alteración se reconoce generalmente por cambios de olor, color, textura y sabor e incluso por una descomposición aparente. En esta etapa los recuentos bacterianos habrán aumentado hasta más de un millón, con frecuencia hasta 10¹⁰ o más millones por gramo; la actividad metabólica bacteriana asociada con el crecimiento causa tanto la descomposición de las sustancias del alimento como la liberación de productos de fermentación, digestión y otros procesos.

El potencial de descomposición de las bacterias en las carnes frescas refrigeradas, es predominantemente bacterias gramnegativas. Se alcanza un

momento en el que se han agotado los nutrientes y crecimiento y división celular mantienen un equilibrio. (Varnam, AH & Sutherland, JP. 1995.)

Los microorganismos proporcionan inseguridad al consumidor al provocar apariencia y/u olores desagradables. Sin estos indicadores de deterioro, los organismos patógenos podrían multiplicarse al pasar desapercibidos y ser ingeridos. (Jawetz, E. 1996.)

La tecnología alimenticia incluye factores de seguridad en la producción de alimentos para mantener una buena calidad. (Varnam, AH & Sutherland, JP. 1995.)

Si las carnes han sido cuidadosamente tratadas no deben aparecer toxiinfecciones alimentarias. Pero a veces surgen casos de *Salmonella typhi*, debido a contaminación en los mataderos y refrigeradores, o contacto con manipuladores portadores. La *Salmonella* para su crecimiento necesita temperaturas de 18° a 24° C, no reproduciéndose en sitios refrigerados, por lo que su presencia indica que ha habido fallos en la cadena de frío, cuya temperatura óptima debe ser 3°C. (Torre, G. López, D. Carballo, B. Madrid, A. 2001.)

2.8.1 FACTORES QUE CONTRIBUYEN A LA CONTAMINACIÓN DE LA CARNE

En la preparación de los alimentos se producen muchas malas prácticas que permiten la contaminación, supervivencia y crecimiento de bacterias que originan intoxicación por alimentos. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

2.8.1.1 COCINADO, REFRIGERACIÓN Y CONGELACIÓN

Cuando los alimentos se someten a un cocinado escaso o se descongelan de forma incorrecta, realizando un cocinado demasiado corto y con temperaturas demasiado bajas, pueden sobrevivir salmonellas y otros microorganismos. Un

posterior almacenamiento inadecuado permitirá su multiplicación. Los procesos realizados durante la preparación de la carne de pescado para la mesa ofrecen muchas oportunidades para la difusión de la contaminación y para la supervivencia y multiplicación de los gérmenes. Así, en brotes asociados con carne de pescado, son importantes factores tales como descongelación incorrecta, cocinado inferior al necesario y contaminación cruzada. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

El almacenamiento congelado es a una temperatura habitualmente de -18 a -20 °C pero la calidad microbiológica de un alimento congelado no puede ser mejor que la que tenía antes de la congelación por lo tanto se debe congelar materia de buena calidad manipulado higiénicamente etc. El crecimiento microbiano se reanuda cuando se descongela la materia prima después de descongelado el crecimiento bacteriano continuara en la misma proporción (relacionada con la temperatura de la materia prima) como si no hubiese sido nunca congelado en la carne refrigerada y congelada puede existir una reducción en total de microbios debido al secado de la superficie. (Ranken, M.D. 2003.)

2.8.1.2 CONTAMINACIÓN CRUZADA

Los alimentos crudos contienen microorganismos de forma natural, y puede constituir la vía de contaminación de otros alimentos, especialmente los ya cocinados, si no se toma las debidas precauciones, especialmente en lo referente a los utensilios de cocina y a las manos de los manipuladores. (Mataix, J. sin fecha.)

Aunque prácticamente todos los alimentos se pueden contaminar, hay algunos que por sus características constituyen unos medios de cultivos ideales para el desarrollo microbiano. Son alimentos con un alto contenido en nutrientes proteicos, vitaminas, minerales y humedad. Las carnes crudas son especialmente peligrosas en este sentido, ya que además pueden contener de forma natural mas carga microbiana que otros alimentos y la multiplicación de

microorganismos se realiza con extraordinaria rapidez en ambientes cálidos, el pescado es un alimento riesgoso: (Mataix, J. sin fecha.)

2.9 FACTORES QUE AFECTAN AL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

Los microorganismos están presentes en el ambiente vital del hombre (agua, suelo, aire, etc.), en el propio hombre y en todos los seres vivos, plantas o animales. La contaminación de alimentos se produce desde cualquiera de estas fuentes, más tarde las operaciones de procesado y distribución proporcionan nuevas posibilidades de contaminación. (Saludalia. 2006.)

Cuando las bacterias se extienden sobre un medio con agar en una placa de Petri y se dejan durante la noche con una temperatura adecuada, como 37°C comienzan a multiplicarse. Mediante la división de una célula en dos cada 15-30 minutos se forma un pequeño acúmulo de bacterias, consistente en millones de células, que es llamado una colonia. Cada clase de bacterias produce colonias con una forma típica; el tamaño, forma, color y consistencia de estas colonias en determinados medios de cultivo ayudan a su identificación. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

Las bacterias vivirán y se multiplicarán en muchos alimentos; algunas veces el tipo de alimento, y la temperatura y humedad de la cocina proporcionan unas condiciones similares a las usadas para el cultivo en laboratorio. Las carnes de mamíferos y aves son ejemplos, y las bacterias se multiplicarán en ellas cuando se mantienen sin refrigeración en tiendas o cocinas. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

2.9.1 TEMPERATURA.

La mayoría de las personas reconocemos la relación inversa que hay entre la estabilidad de los alimentos y la temperatura. A mayores temperaturas, más rápidamente se deterioran los alimentos. La calidad del alimento puede ser conservada por largos períodos de tiempo a bajas temperaturas. (Saludalia. 2006.)

A temperaturas bajas la actividad bacteriana disminuye notablemente a temperaturas de refrigeración y es prácticamente imperceptible a temperaturas de congelación. La refrigeración y congelación son métodos bien conocidos en la preservación de alimentos. (Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, E.1997.)

Los microorganismos que provocan alteración de los alimentos y que son capaces de multiplicarse en ambientes fríos son llamados psicrófilos; su temperatura de crecimiento va desde -10°C o más baja y la máxima de 20°C o inferior. Las formas mesofílicas crecen entre $20-40^{\circ}\text{C}$ estos abundan en alimentos que han permanecido a temperatura ambiente y cuando se ha roto la cadena de frío, mientras que las termofílicas crecen entre $50-65^{\circ}\text{C}$, se caracterizan por tener una tasa de crecimiento elevado. La mayoría de los organismos son mesofílicos; 30°C es la temperatura óptima para la mayoría de las bacterias de vida libre y 37°C para los parásitos de los animales. (Saludalia. 2006.) (Jawetz, E. 1996.)

El frío intenso no destruirá a la totalidad de las bacterias, aunque evitará que se multipliquen y por esta razón los alimentos que permiten el crecimiento bacteriano serán conservados a bajas temperaturas. Los refrigeradores domésticos no solamente retrasan la alteración de los alimentos sino que también evitan la multiplicación de bacterias nocivas. La congelación mata a una proporción de células. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

Deberán evitarse las fluctuaciones de temperatura durante el almacenamiento ya que se incrementará la tasa de crecimiento según aumente la temperatura. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

2.9.2. ACTIVIDAD DE AGUA

El agua de un alimento, su situación y disponibilidad, es uno de los factores más importantes que influyen en el crecimiento de los microorganismos en general las bacterias necesitan disponer de más agua que las levaduras y mohos. (Amerling, C. 2001)

La necesidad de agua de los microorganismos se expresa como A_w , que se define como la relación que existe entre la presión de vapor de una solución y la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura. Las bacterias crecen a valores de A_w comprendidos entre 1,0 y 0,75 y las levaduras y mohos pueden crecer lentamente a valores de A_w de 0,62 como mínimo. (Amerling, C. 2001)

A_w mínima aproximada para el crecimiento de microorganismos

Bacterias. 0.91

Levaduras. 0.88

Mohos. 0.80

Bacterias halófilas. 0.75

Mohos xerófilos 0.65

Levaduras osmófilas 0.60 (Amerling, C. 2001)

La actividad de agua de la carne fresca por lo general se encuentra cerca de 0.99 por lo que la hace susceptible a la alteración por microorganismos, de ahí la importancia de disminuir la A_w con el fin de inhibir. (Amerling, C. 2001)

2.9.3 PH

Cada microorganismo tiene pH de crecimiento óptimo, mínimo y máximo. La mayoría de las bacterias crecen mejor en un pH casi neutro y algunas se ven favorecidas por los medios ácidos (acidofilas) y otras crecen bien en medios

débilmente ácidos o alcalinos. Los mohos y las levaduras ven favorecido su crecimiento en pH ácidos con valores de 4.5 como mínimo comprendido entre 4,5 y 5,5. (Amerling, C. 2001)

El pH postmortem de la carne fresca es muy importante en lo referente al crecimiento de los microorganismos, ya que va a ser un factor determinante en la vida útil de esta. Ese pH final depende de la cantidad de ácido láctico producido. Es por esto que en animales sometidos a fatiga, ayuno y stress antes del sacrificio, la cantidad de ácido láctico producido es poco, su pH será bajo, por lo que la carne será susceptible al ataque de microorganismos, lo que disminuye su vida útil. (Amerling, C. 2001)

El pH de la carne de bovino varía entre 5.1 y 6.2, los microorganismos que comúnmente alteran la carne, crecen mejor en condiciones de pH próximo a 7,0 o ligeramente alcalinos. Cuando se alcanza valores de pH ácidos, como por ejemplo 5,0 cualquier disminución en el pH aunque sea pequeña, determinará una disminución de la velocidad de crecimiento de los microorganismos. (Amerling, C. 2001)

2.9.4. AMBIENTALES

La contaminación de la carne se puede producir indirectamente por las heces, polvo o plumas que se diseminan durante las operaciones de la captura. Alternativamente técnicas deficientes en la manipulación pueden permitir la contaminación directa de la carne, o de las instalaciones. (Varnam, AH & Sutherland, JP. 1995.)

Se debe considerar siempre la posibilidad de que las instalaciones o los equipos de procesado permitan la supervivencia a largo plazo de patógenos y de este modo actúen como un foco puntual de contaminación. (Varnam, AH & Sutherland, JP. 1995.)

El aire no constituye un hábitat bacteriano; las bacterias existen en el aire únicamente como contaminantes accidentales. Sin embargo, muchas bacterias

patógenas son transportadas a través de aire sobre partículas de polvo o sobre residuos secos de partículas de saliva. (Jawetz, E. 1996.)

2.9.5. HUMANOS

El cuerpo humano es portador habitual de microorganismos saprófitos y temporal de patógenos, y constituye la fuente y la vía más frecuente de contaminación de los alimentos. La boca, nariz, orejas, pelo, uñas e intestino, contienen microorganismos que pueden alcanzar los alimentos por contacto directo de las manos durante la manipulación o por la microgotículas expulsadas vía oral o nasal. Esto obliga a que los manipuladores deben mantener unas estrictas condiciones higiénicas corporales y no padecer enfermedades infectocontagiosas. (Mataix, J. sin fecha.)

2.10 PRINCIPALES BACTERIAS QUE ALTERAN LA CARNE

Las bacterias son microorganismos vivos unicelulares presentes casi en todos los sitios, en el suelo, agua, polvo, ensilado, estiércol y en el aire, frecuentemente en gran número. Existen miles de tipos diferentes y muchas realizan funciones útiles, aunque algunas alteran los alimentos y otras provocan enfermedades en personas y animales. Tanto el hombre como los animales pueden albergar bacterias patógenas productoras de enfermedades que pueden invadir los alimentos y multiplicarse cuando son adecuadas las condiciones de temperatura, tiempo y humedad. Estas células bacterianas vivas raras veces serán capaces de multiplicarse en ambientes fríos y mueren si son expuestas a calor intenso. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

No todos los microorganismos que contaminan los alimentos crudos tienen la misma importancia sanitaria, unos se denominan microorganismos alterantes: responsables del deterioro y cambios en los caracteres sensoriales de los

alimentos y el resto corresponde a microorganismos patógenos o causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias; a diferencia de los anteriores, los alimentos que los contienen no presentan por lo general signos claros de alteración, lo que permite el que puedan ser consumidos sin que la contaminación sea evidente. (Saludalia. 2006.)

Las bacterias que pueden propagarse por los alimentos tienen diversas formas. Algunas disponen de cápsulas, envolturas mucosas externas, que las protegen contra sustancias que podrían destruirlas. Las cápsulas pueden ser importantes en la enfermedad. Ciertas bacterias pueden producir cuerpos en reposo llamados esporas cuando las condiciones son desfavorables para su multiplicación, y particularmente cuando carecen de humedad. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

Muchas esporas pueden resistir temperaturas elevadas durante períodos largos de tiempo. Cuando las bacterias esporuladas pueden multiplicarse en los alimentos, pueden ser responsables de su alteración por descomposición del alimento con formación de gas. La multiplicación celular es más rápida con temperaturas entre 20 y 50°C (máxima 43-47°C). (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

2.10.1. CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN

El ciclo celular procariota es la secuencia completa de sucesos que ocurren desde la formación de una nueva célula hasta la siguiente división. La mayoría de los procariotas se reproducen mediante fisión binaria, aunque algunos lo hacen mediante gemación fermentación u otros métodos. (Figura # 13) la fisión binaria es un tipo de división celular relativamente simple: la célula se alarga replica sus cromosomas, y separa las células de DNA, recién formadas de modo que exista un cromosoma en cada uno de las dos mitades de la célula. (Willey, J. Sherwood, L. Woolverton, C. 2008.)

Finalmente se forma un septo(o pared transversal) en mitad de la célula, que divide la célula progenitora en dos células hijas, cada una de ellas con su

propio cromosoma y un equipamiento de otros componentes celulares. (Willey, J. Sherwood, L. Woolverton, C. 2008.)

A pesar de su simplicidad aparente, el ciclo celular procariota presenta muchos aspectos desconocidos. (Willey, J. Sherwood, L. Woolverton, C. 2008.)

Las bacterias se multiplican mediante división binaria, y en condiciones ambientales y de temperaturas idóneas esto sucede cada 15-20 minutos. Cuando cada célula ha alcanzado su tamaño máximo, aparece una constricción a ambos lados de su eje central, la membrana o envoltura externa de la célula crece hacia el interior y forma una división que finalmente se rompe, dejando libres dos células nuevas gemelas. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

Cuando se han agotado los nutrientes disponibles en el alimento o en el medio de laboratorio o de los productos residuales del crecimiento determinan que el medio ambiente sea inadecuado, se interrumpe la multiplicación y la célula muere. La duración de la vida de una célula bacteriana depende del alimento o del medio sobre o en el que se multiplica o permanece en reposo, y también del tipo de microorganismo. Las esporas producidas por determinadas bacterias pueden sobrevivir en estado latente durante largos períodos de tiempo en condiciones adversas, aunque cuando vuelven a ser adecuadas las condiciones del alimento, humedad y temperatura son capaces de germinar dando origen a bacterias que se multiplican activamente. (Hobbs, BC & Roberts, D. 1993)

La habilidad que tienen algunos tipos de patógenos bacterianos de multiplicarse rápidamente, hasta alcanzar niveles peligrosos en los alimentos que se entibian o que permanecen tibios por períodos extensos de tiempo, es la razón por la cual se ven implicados frecuentemente en las enfermedades transmitidas a través de los alimentos. (Knabel, SJ. 2002.)

Para fines de esta investigación, se consideró una las principales Enterobacterias: ***Salmonella spp***

2.10.2. INVASIÓN MICROBIANA

El músculo de un pez saludable o de un pescado recién capturado es estéril, debido a que el sistema inmunológico del pez previene el crecimiento de bacterias en el músculo. Cuando el pez muere, el sistema inmunológico colapsa y las bacterias proliferan libremente. En la superficie de la piel, las bacterias colonizan en una amplia extensión la base de las escamas. Durante el almacenamiento, las bacterias invaden el músculo penetrando entre las fibras musculares aunque sólo un número muy limitado de bacterias invade el músculo durante el almacenamiento en hielo las bacterias pueden ser detectadas en el músculo cuando el número de microorganismos en la superficie de la piel incrementa por encima de las 10^6 ufc/cm². Este resultado es observado tanto en el almacenamiento en hielo como en ambiente refrigerado. (Huss, H. 1999.)

Dado que sólo un número limitado de microorganismos realmente invade el músculo y el crecimiento microbiano se lleva a cabo principalmente en la superficie, el deterioro es probablemente una consecuencia de la difusión de enzimas bacterianas hacia el interior del músculo y de la difusión externa de nutrientes. (Huss, H. 1999.)

El pescado se deteriora a velocidades muy diferentes y se ha propuesto como explicación las diferencias en las propiedades de la superficie del pescado. Las pieles de los peces tienen texturas muy diferentes sea una cubierta muy frágil se deterioran rápidamente en comparación con algunos peces que posee una dermis y una epidermis robusta. Además, este último grupo cuenta con una gruesa cubierta de mucus, que contiene algunos compuestos antibacterianos, como anticuerpos, complementos y enzimas bacteriolíticas. (Huss, H. 1999.)

2.10.2.1. BACTERIAS PATÓGENAS TRANSMITIDAS POR EL PESCADO

Las bacterias patógenas transmitidas por el pescado se pueden dividir convenientemente en dos grupos. (Huss, H. 1997.)

Bacterias autóctonas (grupo 1): *Clostridium botulinum*, *Vibrio sp. V. Cholerae*, *V. Parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides*, *Listeria monocytogenes*.

Bacterias no autóctonas (Grupo 2): *Salmonella sp.*, *Shigella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*.

2.10.2.2. BACTERIAS AUTÓCTONAS (GRUPO 1)

Las bacterias que pertenecen al grupo 1 son comunes y están ampliamente distribuidas en los medios acuáticos de diferentes lugares del mundo. La temperatura del agua tiene claramente un efecto selectivo. Así, los organismos psicrótróficos (*C. botulinum* y *Listeria*) abundan en el Ártico y en los climas más fríos, mientras que los tipos mesófilicos (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*) representan parte de la flora natural de los peces de los hábitats costeros y estuarinos de las zonas templadas o tropicales cálidas. (Huss, H. 1997.)

2.10.2.3. BACTERIAS NO AUTÓCTONAS (GRUPO 2)

Este tipo de bacterias son producto de la contaminación es decir son introducidas ya sea al ambiente marino o a través de factores que contaminan al pez. (Huss, H. 1997.)

2.11. *Salmonella spp.*

Salmonella es un género de bacterias gram negativa no esporuladas móviles descubiertas por el veterinario estadounidense Daniel Elmer Salmon en 1885 el género *Salmonella* se incluye en la familia *Enterobacteriaceae*, integrada por bacilos Gram negativos anaerobios facultativos. Poseen, por lo tanto, las características generales de las *enterobacterias* (se encuentran en el intestino de los mamíferos) cuya clasificación científica constituyen la familia *Enterobacteriáceas*.

La salmonelosis que es producida por las especies *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella enteritidis*; la peste, por *Yersinia pestis*. Otros géneros de esta familia son *Shigella*, *Escherichia*, *Proteus* y *Enterobacter* estas familia de *enterobacterias* no fermentan la lactosa y son patógenos para el hombre y los animales por vía oral, existen tres especies: *Salmonella typhi*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*. Esta última presenta más de 1.400 variedades antigénicas distintas. Con excepción de *S. typhi*, que afecta a los seres humanos y produce la fiebre tifoidea, la mayoría son patógenas tanto para el hombre como para los animales. (Acuña, A. 2002), (Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, E.1997.)

Los microorganismos casi siempre ingresan por vía oral, generalmente por medio de alimentos o bebidas contaminadas. La dosis infectante promedio capaz de producir infección clínica en seres humanos es de 10^5 a 10^8 salmonellas pero quizás hasta menos de 10^3 microorganismos de *Salmonella Typhi*. (Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, 2002)

Hay una práctica generalizada en los animales, especialmente en las aves de corral y cerdos. Las fuentes ambientales del organismo incluyen el agua, el suelo, los insectos, las superficies de fábrica, superficies de la cocina, las heces de animales, carnes crudas, aves crudas, y los pescados y mariscos crudos, por nombrar sólo algunos pueden resistir la congelación y la desecación, mantienen su inefectividad por semanas en hielo, alimentos, tierra y agua. (Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, E.1997.)

Estas bacterias pueden sobrevivir a rangos de temperaturas de mínimo 5°C óptimo 37°C y máximo 45-47 °C. (Huss, H. 1997.)

Así según la resistencia a varias temperaturas se puede decir que la salmonella es una bacteria tanto **Psicrofila** que viven a temperaturas entre -10° C y 20° C. y **Mesofila** que pueden sobrevivir entre temperaturas de 20°C a 40°C. (Villalobos, R. 2006.)

Todas la *enterobacterias* son productoras de **Aminas Biogenas (intoxicación por histamina)**, que no es más que una intoxicación química debida a la ingestión de alimentos que contienen altos niveles de histamina. (Huss, H. 1997.)

Como se muestra en la Figura # 14 la histamina se forma en el pescado *post mortem* por descarboxilación bacteriana del aminoácido histidina. Frecuentemente, los pescados afectados son aquéllos con un alto contenido natural de histidina, como los pertenecientes a la familia *Scombridae*, *Clupeidae* y el mahi-mahi (dorado). (Huss, H. 1997.)

Las bacterias productoras de histamina son ciertas *Enterobacteriaceae*, algunos *Vibrio sp.*, unos pocos *Clostridium*, *Lactobacillus sp.* y también la *Salmonella sp.* .La histamina es un producto secundario de su metabolismo, por acción de su enzima histidina descarboxilasa. Estas bacterias pueden encontrarse en la mayoría de los pescados, probablemente como resultado de una contaminación post captura. (González, A. 2008)

Como dijimos anteriormente las bacterias productoras de histamina son ciertas *Enterobacteriaceae*, algunos *Vibrio sp.*, y unos pocos *Clostridium* y *Lactobacillus sp.* Las productoras más potentes de histamina son *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Hafnia alvei*. Se desarrollan bien a 10 °C, pero a 5 °C el desarrollo se retarda considerablemente. (Huss, H. 1997.)

La intoxicación histamínica más frecuente se asocia al consumo de pescado porque los microorganismos responsables de su formación actúan cuando la

temperatura del pescado es superior a 15°C. Y si la temperatura es superior a 20°C la velocidad de formación se incrementa considerablemente.

Muchos estudios coinciden en que las bacterias que producen histamina son mesofílicas. (Huss, H. 1997.)

La principal bacteria productora de histamina, *M. morgani*.

Debe recalcar que una vez producida la histamina en el pescado, el riesgo de que se provoque la enfermedad es muy alto. La histamina es muy resistente al calor, y aunque el pescado se haya cocido, enlatado o haya sido sometido a cualquier otro tratamiento térmico antes de su consumo, la histamina no se destruye.

2.11.1. EPIDEMIOLOGÍA Y EVALUACIÓN DE RIESGOS

En los seres humanos las salmonellas son responsables de diferentes cuadros clínicos como la fiebre tifoidea y paratifoidea, la gastroenteritis por *Salmonella* (salmonelosis), y las bacteriemias e infecciones localizadas. Además, existen personas que sufren una infección asintomática y otras que son portadoras sanas transitorias o crónicas (presentan el agente patógeno pero no sufren la infección) y que son responsables de la diseminación de los bacilos. Las salmonellas se transmiten sobre todo a través de alimentos contaminados.

La *Salmonella* normalmente está presente en las aves y los animales domésticos y muchos son excretadores asintomáticos de *Salmonella*. Por tanto, la carne cruda de dichos animales y aves a menudo está contaminada por este organismo. (Huss, H. 1997.)

La contaminación del pescado con *Salmonella* debido a su proliferación en aguas costeras contaminadas ha sido un problema en muchas partes del mundo. (Huss, H. 1997.)

En lo que corresponde a la intoxicación por histamina es un problema de alcance mundial en los países donde los consumidores ingieren pescado que contiene altos niveles de histamina. Es una enfermedad benigna, su período de incubación es muy corto (de pocos minutos a pocas horas) y la duración de la enfermedad es corta (pocas horas). Los síntomas más comunes son los cutáneos, como el rubor facial o bucal, urticaria, o edema localizado, pero también puede verse afectado el tracto gastrointestinal (náuseas, vómitos, diarrea), o producirse complicaciones neurológicas (dolor de cabeza, hormigueo, sensación de quemazón en la boca). (Huss, H. 1997.)

2.11.2. *Shigella* sp

El género *Shigella* también es un miembro de las *Enterobacteriaceae* y está formado por 4 especies distintas. Este género está específicamente adaptado a huéspedes humanos y primates superiores, y su presencia en el medio ambiente se debe a contaminación fecal las cepas de *Shigella* sobreviven hasta 6 meses en agua. (Huss, H. 1997.)

La *Shigella* ocasiona una infección intestinal denominada shigelosis (antes conocida como disentería bacilar). Los síntomas varían desde la infección asintomática o diarrea leve hasta la disentería, caracterizada por: heces sanguinolentas, secreción mucosa, deshidratación, fiebre alta y fuertes calambres abdominales. El período de incubación de la shigelosis es de 1– 7 días y los síntomas pueden durar 10–14 días o más. Es rara la muerte en adultos, pero la enfermedad en los niños puede ser grave. En los países tropicales con bajos niveles de nutrición, la diarrea por *shigella* es la causa de la muerte de menos 500.000 niños cada año. (Huss, H. 1997.)

2.11.2.1. EPIDEMIOLOGÍA Y EVALUACIÓN DE RIESGOS

La gran mayoría de los casos de shigelosis son causados por la transmisión directa, persona a persona, de las bacterias por la ruta oral-fecal. También es importante la transmisión por el agua, en especial donde los niveles de higiene son bajos. (Huss, H. 1997.)

No obstante, los alimentos, incluido el pescado (cóctel de gambas, ensaladas de atún), han sido el origen de un cierto número de brotes de shigelosis. En estos casos la causa ha sido casi siempre la contaminación de los alimentos, crudos o previamente cocinados, durante su preparación por un portador infectado y asintomático, con una higiene personal pobre. (Huss, H. 1997.)

2.11.3. *Escherichia coli*

E. coli es el organismo aeróbico más común en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente. En general, las cepas de *E. coli* que colonizan el tracto gastrointestinal son comensales inofensivos y juegan un papel importante en el mantenimiento de la fisiología intestinal. No obstante, dentro de la especie hay al menos 4 tipos de cepas patógenas: (Huss, H. 1997.)

1. *E. coli* enteropatógena (ECEP)
2. *E. coli* enterotoxígena (ECET)
3. *E. coli* enteroinvasora (ECEI), *E. coli* del tipo de la disentería shiga
4. *E. coli* enterohemorrágica/ (ECEH)/
E. coli productora de verocitoxina (ECVT) o *E. coli* 0157:H7

Evidentemente, *E. coli* puede aislarse en medios contaminados por materias fecales o aguas residuales y puede además, multiplicarse y sobrevivir durante mucho tiempo en este medio. No obstante, recientemente se ha demostrado

que *E. coli* puede encontrarse también en aguas tropicales cálidas no contaminadas, donde puede sobrevivir indefinidamente. (Huss, H. 1997.)

Las cepas patógenas de *E. coli* producen enfermedades del intestino que pueden variar, en cuanto a la gravedad, desde extremadamente ligera a grave, y posiblemente mortal, dependiendo de un cierto número de factores como: el tipo de las cepas patógenas, la susceptibilidad de la víctima y el grado de exposición. (Huss, H. 1997.)

2.11.3.1. EPIDEMIOLOGÍA Y EVALUACIÓN DE RIESGOS

No existe ningún indicio de que el pescado sea una fuente importante de infección por *E. coli*. La mayoría de las infecciones parecen estar relacionadas con la contaminación del agua o la manipulación de los alimentos en condiciones no higiénicas. (Huss, H. 1997.)

2.11.4. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIACEAE

Todas las *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*) están presentes en los productos pesqueros como resultado de la contaminación a partir del reservorio animal/humano. Esta contaminación normalmente se ha relacionado con la contaminación fecal o la contaminación de las aguas naturales o de los medios acuáticos, donde estos microorganismos pueden sobrevivir durante mucho tiempo (meses), o a través de la contaminación directa de los productos durante su elaboración. (Huss, H. 1997.)P

Una buena higiene personal y la educación sanitaria de los manipuladores de alimentos son, por tanto, esenciales en la lucha contra las enfermedades causadas por las *Enterobacteriaceae*. Un tratamiento adecuado del agua (p. ej.

cloración) y una red de saneamiento de aguas residuales son también parte esencial en un programa de control. (Huss, H. 1997.)

Los actuales niveles de *Salmonella* en diversos alimentos y la creciente tendencia de las infecciones en el hombre, así como de los brotes transmitidos por alimentos, subrayan que los ensayos bacteriológicos y los niveles bacteriológicos rigurosos (niveles de tolerancia cero) de la mayoría de los alimentos, son medidas insuficientes para la lucha contra la salmonelosis. (Huss, H. 1997.)

2.11.4.1. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA LAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR AMINAS BIÓGENAS

La medida preventiva más eficaz es una baja temperatura de preservación y almacenamiento de los productos de la pesca en todo momento. Todos los estudios parecen estar de acuerdo en que el almacenamiento a 0 °C, o muy cerca de 0°C, limita la formación de histamina en el pescado a niveles insignificantes. (Huss, H. 1997.)

Varios países han adoptado reglamentos que regulan los niveles máximos permitidos de histamina en el pescado. En los EE.UU. (FDA) el nivel de intervención por defecto (indicador de manipulación deficiente) mg/100g es de 10 a 20mg y de 10mg para la UE; mientras que el límite máximo permitido mg/100g es de 0mg para lo EE.UU y de 20mg para la UE en cuanto al nivel de intervención por riesgo es de 50mg para los EE.UU y de 0mg para la UE. Estos son reglamentos de la Unión Europea publicados en la Directiva 91/493/CEE (CEE 1991b). (Huss, H. 1997.)

2.12. IMPORTANCIA DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS

La mayor parte de los alimentos se convierten potencialmente patógenos para el consumidor después que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección durante el proceso de elaboración transporte y conservación. El control microbiológico de los alimentos es importante desde el punto de vista sanitario si los alimentos han estado sometidos a condiciones que pudieran haber permitido la llegada a los mismos y/o la multiplicación de agentes infecciosos puede constituir un vehículo de transmisión de enfermedades, tales como salmonelosis. (ECU, sin fecha.)

2.13. MUESTREO PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

El estudio microbiológico de muestras de alimentos y superficies de contacto o manipulación corporal permite establecer el diagnóstico etiológico de diferentes enfermedades infecciosas. Por tal motivo es importante garantizar la calidad en la obtención de la muestra y la información que debe acompañarla durante el proceso que comienza en la fase previa al análisis, que incluye la preparación, la obtención y el transporte, lo cual concluye en el análisis de la muestra.

Errores en cualquiera de las fases llevan a pérdidas económicas y temporales, mala utilización de recursos y, lo más grave, a errores diagnósticos de gran impacto en el pronóstico y la seguridad en la determinación de una contaminación bacteriana. (Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 2008.)

2.13.1 LA TOMA DE MUESTRA

Para el éxito de la determinación microbiológica es esencial la comunicación entre todo el equipo de trabajo. El estudio se solicita con una orientación clara de acuerdo con la situación problemática. (Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 2008.)

2.13.2 IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS

Toda muestra debe ser etiquetada con los siguientes datos básicos:

1. Nombre
2. Fecha y hora de recolección. Figura # 15 (Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 2008.)

2.13.3 CONDICIONES GENERALES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El tiempo de transporte de todos los especímenes obtenidos para estudio debe ser corto y de acuerdo con la viabilidad del organismo sospechado y el recipiente donde se colectó.

- Las muestras para cultivo de bacterias no deben ser almacenadas por más de 24 horas, independientemente del medio y la temperatura de almacenamiento. (Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 2008.)

2.13.4 PRECAUCIONES DE BIOSEGURIDAD

La manipulación inapropiada puede convertirse en una fuente de contaminación biológica para las muestras que están en contacto o para el

medio ambiente. Utilizar los elementos de protección personal necesarios para evitar contaminación, de acuerdo con la fuente de la muestra.

- Protección ocular: gafas o mascarilla con visera.
- Mascarilla.
- Guantes.
- Bata.
- Contenedores para especímenes, a prueba de fugas y de fácil sellamiento. (Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 2008.)

2.13.5. PREPARACIÓN DE ELEMENTOS

Se debe preparar el equipo necesario para la obtención, la conservación y el transporte correctos de la muestra. Las propiedades biológicas de esta pueden ser alteradas por variables medioambientales como: tiempo, contenedor, contaminación externa. (Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D.C. 2008.)

2.14. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS

Las salmonellas son bacilos gramnegativos, no esporulados, de longitud variable, la mayoría de las especies son móviles merced a flagelos peritricos (excepto *S. pullorum* y *S. gallinarum*). Las salmonellas crecen fácilmente en los medios de cultivo ordinarios pero no fermentan la lactosa, la sacarosa, ni la sacarina; forman ácido y generalmente gas a partir de la glucosa, maltosa, manitol y dextrina, la fermentación de los azúcares constituye un método para la diferenciación de varias especies. (Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, E.1997.)

L salmonella es sembrada en placas de gelosa SS (*salmonella shigella*) (cultivos en medios selectivos) o en agar citrato de deoxicolato, favoreciendo al

crecimiento de *salmonellas* y *shigellas* sobre el de los organismos coliformes. (Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, E.1997.)

Generalmente el interior de la carne intacta es estéril o cuando menos muy pobre en bacterias. Sin embargo, la superficie se contamina por el polvo o por el manejo inmediatamente después del desmembramiento del animal. Puede encontrarse cualquier bacteria organotrófica incluyendo aquellas del suelo, del estiércol o de las personas que la manejan o manipulan. (Jawetz, E. 1996.)

2.14.1 AGAR SS (AGAR PARA *Salmonella* Y *Shigella*)

Para el aislamiento de *Salmonellas* y *Shigellas* a partir de heces, alimentos, y otros materiales objeto de investigación.

El medio de cultivo corresponde a las recomendaciones de la APHA (1984) para la investigación de alimentos.

2.14.1.1 FORMA DE ACTUACIÓN

El verde brillante, la bilis de buey y la elevada concentración de tiosulfato y de citrato inhiben considerablemente la flora acompañante. Con el tiosulfato e iones de hierro se pone de manifiesto la formación de sulfuro por el ennegrecimiento de las correspondientes colonias. Las colonias de Coliformes quedan señaladas por la demostración de la degradación de lactosa a ácido, a cargo del indicador de pH rojo neutro.

2.14.1.2 COMPOSICIÓN (g/litro)

Peptonas 10,0; lactosa 10,0; bilis de buey, desecada 8,5; citrato sódico 10,0; tiosulfato sódico 8,5; citrato de amonio y hierro (III) 1,0; verde brillante 0,0003; rojo neutro 0,025; agar- agar 12,0.

2.14.1.3 PREPARACIÓN

Disolver 60 g/litro y verter en placas

¡No esterilizar en autoclave! pH: 7,0 +- 0,1

Las placas con el medio de cultivo son claras y parduscas.

2.14.1.4. EMPLEO E INTERPRETACIÓN

Sembrar, por estría, la superficie del medio de cultivo con el material de muestra o con el procedente de un cultivo de enriquecimiento previo.

Incubación: 18-24 horas 37°C

Las colonias de gérmenes lactosa-negativas son incoloras, y las de gérmenes lactosa-positiva son rosadas hasta rojas. Las colonias de microorganismos formadores de H₂S presentan un centro negro. (Manual de medios de cultivo. 1994.)

2.14.1.4 .1 INTERPRETACIÓN

Shigellas y la mayoría de las salmonellas. Colonias incoloras, transparentes.

Proteus y algunas Salmonellas. Colonias transparentes, con centro negro.

Escherichia coli. Colonias rosadas hasta rojas.

Enterobacter aerogenes. Colonias mayores que las de *E.coli*, rosadas hasta de color cremoso-blanquecinas, opacas, mucosas. ((Manual de medios de cultivo. 1994.)

2.14.2 CALDO DE ENRIQUECIMIENTO SELENITO SEG. LEISON

Para el enriquecimiento selectivo de Salmonella a partir de eses, orina, agua, alimentos, etc. según LEIFSON (1936)

El medio de cultivo corresponde a las recomendaciones de APHA (1984) para el análisis de alimentos.

2.14.2.1 FORMA DE ACTUACIÓN.

El selenito inhibe el crecimiento de bacterias intestinales Coliformes y Enterococos, principalmente en las primeras 6 a 12 horas de incubación. Salmonella, proteus y pseudomonas no son inhibidas.

2.14.2.2 COMPOSICIÓN (g/lit)

Peptona de carne 5,0; lactosa 4,0; selenito sódico 4,0; hidrogenofosfato dipotasico 3,5; dihidrogenofodfato potásico 6,5

2.14.2.3 PREPARACIÓN

Disolver 23 g/litro a temperatura ambiente. En caso necesario calentar brevemente como máximo a 60 °C, esterilizar por filtración si se prevé un almacenamiento prolongado y distribuir en tubos.

No esterilizar en autoclave.

pH 7.0 +- 0.2.

El caldo preparado es claro y ligeramente amarillento.

Tras largo almacenamiento del medio de cultivo deshidratado puede presentarse una modificación del color medio de cultivo preparado a rojizo/rojo. Ello altera la eficacia microbiana.

2.14.2.4 EMPLEO E INTERETACIÓN

El material sólido sometido a ensayos se introduce en el caldo preparado (concentración sencilla). Si el material a ensayar fuera un líquido, mezclar en la porción de 1:1 con un caldo preparase a concentración doble de la anteriormente indicada.

Incubación hasta 24 horas a 37° C, o mejor según BÄNFEFER(1971) a 43°C al cabo de 6 a 12 horas (y eventualmente al cabo de 18 a 24 horas) se resiembró en medios de cultivos selectivos. ((Manual de medios de cultivo. 1994.)

III. DISEÑO METODOLÓGICO.

3.1 UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en dos etapas diferentes de toma de muestra la primera (Etapa superficies de contacto desembarcadero y de pinchagua fresca eviscerada en desembarcadero) en la provincia de Manabí, cantón Portoviejo parroquia Crucita Latitud: 0° 45' 00.79" S Longitud: 80° 29' 59.11" O, en los puntos de venta en el desembarcadero "Los Arenales" 0° 51' 21.02" S Longitud: 80° 32' 09.00" O, mientras que la segunda (Etapa de transporte y lonja de comercialización) se la realizaron en las empresas Inepaca S.A Latitud: 0° 57' 05.76" S Longitud: 80° 43' 13.57" O y en la empresa Olimar S.A Latitud: 0° 57' 03.85" S Longitud: 80° 42' 30.42" O, que son procesadoras de pinchagua de la provincia de Manabí cantón Manta.

Los análisis de laboratorio se los realizó en los laboratorios de microbiología de la ESPAM Calceta y la ULEAM Manta – Manabí – Ecuador.

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

El trabajo de investigación efectuó desde el 22 de mayo del 2012 al 29 de octubre del 2012.

3.3 FACTORES EN ESTUDIO

Los factores que se estudiarán son:

FACTOR A: Carga de microorganismos *Salmonella spp.*

3.4. VARIABLES EN ESTUDIO

3.4.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

- Carga bacteriana *Salmonella spp* en cada etapa.

3.4.2 VARIABLES DEPENDIENTES.

Temperatura.

Manipulación.

Tiempo.

Desembarque.

Transporte.

Lonja de comercialización.

3.5. CUADRO DE VARIANTES

4 MUESTRAS.

Muestra A: Pinchagua fresca desembarque.

Muestra B: Superficies de contacto mesas de eviscerado.

Muestra C: Pinchaguas Transporte.

Muestra D: Superficies de contacto Lonja de comercialización.

Muestra	Dato de salmonella spp	Tipo de manipulación	Temperatura	Tiempo
A	"1"	Muestra de Pinchagua fresca en desembarque	Temperatura optima de crecimiento <i>Salmonella</i> 37 °C	De 7:00 a 9:00 am
B	"2"	Muestra tomada de las manos de evisceradores en las mesas	Temperatura optima de crecimiento <i>Salmonella</i> 37 °C	De 7:00 a 9:00 am
C	"3"	Muestra tomada a la llegada al patio de recepción de materia prima	Temperatura mínima de crecimiento de <i>Salmonella</i> 5°C	De 13:00 a 15:00 pm
D	"4"	Muestra de las manos de manipuladores (cuadrilla)recepción de pinchagua en materia prima	Temperatura mínima de crecimiento de <i>Salmonella</i> 5°C	De 13:00 a 15:00 pm

Fuente. Los Autores

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL:

Muestreo de pinchagua fresca y congelada:

Promedio de pinchaguas frescas por gaveta	Promedio de peso gaveta	Promedio de piezas tomadas al azar para análisis	Peso de pinchagua para análisis	Días de muestreo	Peso de pinchaguas frescas para análisis.	Peso total de pinchaguas tomadas.
115	45k	6	1k	25	25k	50 k
Promedio de pinchaguas congelada por gaveta.	Promedio de peso gaveta	Promedio de piezas tomadas al azar para análisis	Peso de pinchagua para análisis	Días de muestreo		
115	45 k	6	1k	25	25k	

Muestreo de superficies de contacto.

Promedio de personas que laboran en etapa de desembarque los Arenales	Muestras de superficie de contacto (guantes de eviscerados)	Días de muestreo	Total muestras tomadas con hisopos.
65	1	25	50
Promedio de personas que laboran en etapa de lonja de comercialización (cuadrilla)	Muestras de superficie de contacto (guantes de cuadrilla)	Días de muestreo	
10	1	25	

3.6.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.6.2 MATERIALES.

3.6.2.1 RECURSOS HUMANOS:

- Estudiante Investigador.
- Asesores del estudio.

3.6.2.2 RECURSOS DE LABORATORIO:

- Refrigeradora.
- Incubadora.
- Autoclave.
- Balanza.
- Probetas.
- Pipetas de 10ml.
- Cajas de Petri.
- Bolsas Plásticas.
- Mechero de Bunsen.
- Matraz de Erlenmeyer.
- Bisturí.

- Pinzas Estériles.
- Hielera.
- Bolígrafo.
- Tijeras.
- Campana de flujo laminar.

3.6.2.3 RECURSOS BIOLÓGICOS:

- 50 kilos de muestras de pinchagua tomadas en total: 10gr/muestra de pinchagua por muestra en laboratorio.
- 50 muestras de hisopos para superficies de contacto.

3.6.2.4 RECURSOS QUÍMICOS:

- Agar SS (agar para salmonella y shigella).
- Caldo de cultivo Selenito.

3.6.2.5 RECURSOS FÍSICOS:

- Equipo de oficina (computadora, papel bond, impresora, dispositivo de almacenamiento, etc).
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Pecuaria de la ESPAM.
- Laboratorio CE.SE.C.CA. Facultad de Ingeniería Industrial ULEAM.

3.6.3 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA DE LABORATORIO:

3.6.3.1 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS SOLIDAS PARA DETERMINAR UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA SALMONELLA spp (ufc/gr.) CON CULTIVO SELENITO.

Se pesaron 10 gramos de cada muestra previamente cortado con un bisturí estéril (Figura # 16) se agregaron 90 ml de solución de agua destilada al 0,9 % de Na Cl; y se colocaron dentro de un matraz Erlenmeyer de 250 ml estéril debidamente rotulado, se homogenizó durante 2 a 3 minutos (Figura #17). Luego de homogenizado, se tomó 10ml de esa solución usando una pipeta y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 10ml de caldo selenito con NaCl al 0,9 %. (Figura #18)

Las siembras se incubaron durante 24 a 48 horas a 37°C, una vez que hubo crecimiento en los tubos durante la prueba presuntiva (rojizo/rojo) se moja un hisopo estéril con la muestra del tubo para extender en las cajas petri que previamente contenían 12 ml de agar SS. (Figura #19)

Estas cajas Petri se dejan incubar durante 24 horas a 37°C, después de esto se determina la presencia del microorganismo siendo esta la prueba confirmativa para *Salmonella spp.* (Figura # 20)

3.6.3.2 PROCESAMIENTO PARA DETERMINAR UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA SALMONELLA spp (ufc/gr.) PROVENIENTES DE LOS HISOPOS EN AGAR SS.

Ya que los hisopos tenían agua petonada esta se usó como un enriquecedor bacteriano evitando el proceso con caldo selenito, se procede a pasar el hisopo con la muestra del tubo para extender en las cajas petri que previamente contenían 12 ml de agar SS. (Figura # 21)

Estas cajas petri se dejan incubar durante 24 horas a 37°C, después de esto se determina la presencia del microorganismo siendo esta la prueba confirmativa para *Salmonella spp.*

Todo el procedimiento desde el pesaje de la muestra, realización de siembras se llevó a cabo con la ayuda de la campana bacteriológica, incubadora y mechero. (Figura # 22, 23, 24)

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Análisis de varianza de un factor con varias muestras por grupo (pinchagua fresca eviscerada, superficies de contacto, transporte y lonjas de comercialización).

3.8. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS.

Utilización del solver para análisis de varianza

Los resultados se analizarán mediante:

- ANOVA: Sirve para determinar la existencia de diferencia significativa entre los tratamientos.
- Coeficiente de variación (CV): Sirve para analizar la variabilidad de los datos obtenido con respecto a las variables.
- Prueba de Duncan: Es una comparación de las medias de tratamientos todos contra todos de manera que cualquier diferencia existente entre cualquiera de los tratamientos contra otro se verá reflejado en este análisis.

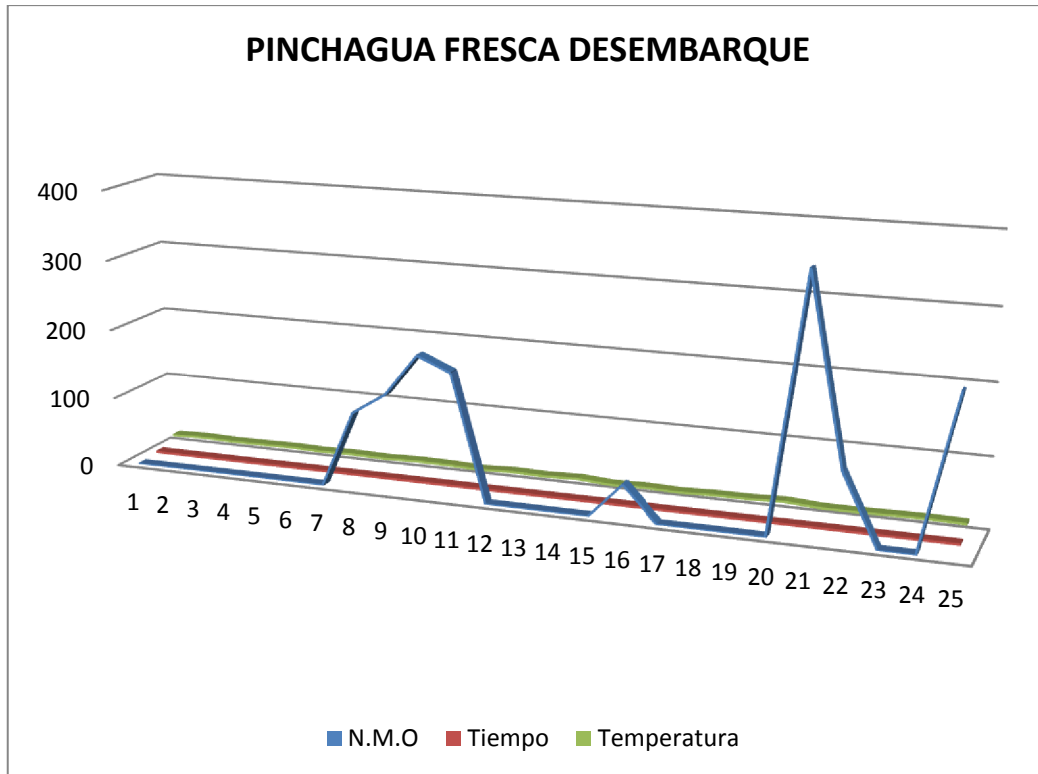
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se monitorearon un total de 3 meses (de finales de mayo a agosto) en el desembarcadero de los Arenales – Crucita y las diferentes fabricas de la ciudad de Manta donde el producto era receptado, con muestreos *In situs* de 3 días a la semana durante 3 meses, se monitorearon un total de 50 kg de pinchagua y 50 muestras de superficies de contacto durante el tiempo que duraron los estudios.

Respecto a los análisis de laboratorio realizados durante la fase experimental, las muestras fueron tomadas de acuerdo al **MANUAL DE TOMAS DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO** de la **Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, D. C.**, considerando que son muestras que deben ser tratadas con la mayor precaución posible en temperatura, tiempo y manipulación por esto para evitar su contaminación o alteración se colocó las muestras tanto de materia prima como hisopos en fundas herméticamente selladas debidamente etiquetadas en una hielera con hielo para ser transportadas al laboratorio de microbiología de la facultad de Pecuaria de la ESPAM.

Durante el monitoreo realizado en este trabajo se obtuvieron resultados que nos permiten conocer la calidad microbiana que existe en la pinchagua durante las diferentes etapas considerando las condiciones de desembarque, instalaciones de eviscerado, los métodos de manejo y transporte de la materia prima ya que durante el estudio no solo se encontró *Salmonella spp* sino otras especies de la familia *Enterobacteriaceae* como son la *Shigella sp* y la *E.Coli* los cuales están graficados para un mejor entendimiento de las mismas, y las describimos a continuación:

GRAFICO 1: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON SALMONELLA EN LA ETAPA DE PINCHAGUA FRESCA DESEMBARQUE.



Hubo un total de 25 días efectivos de análisis, en los cuales se encontró contaminación con *Salmonella spp* el 19-07-12, 20-07-12, 30-07-12, 31-07-12, 13-08-12, 22-08-12, 23-08-12, y 29-08-12 días en los cuales existían temperaturas promedio de 24,5 ° C entre las pinchaguas contaminadas.

PINCHAGUA FRESCA DESEMBARQUE

DIA	N.M.O	Tiempo	Temperatura
22/05/2012	0	4	15,8
23/05/2012	0	4	17,2
25/05/2012	0	4	16
18/06/2012	0	4	16,3
20/06/2012	0	4	17
22/06/2012	0	4	15,8
18/07/2012	0	4	16,8
19/07/2012	110	4	21,3
20/07/2012	140	4	25,6
30/07/2012	200	4	26
31/07/2012	180	4	24,8
01/08/2012	0	4	17
06/08/2012	0	4	15,9
07/08/2012	0	4	17,6
08/08/2012	0	4	14,4
13/08/2012	50	4	20,6
14/08/2012	0	4	14,6
15/08/2012	0	4	16,2
20/08/2012	0	4	16,3
21/08/2012	0	4	18,1
22/08/2012	360	4	23,5
23/08/2012	100	4	24,5
27/08/2012	0	4	15,8
28/08/2012	0	4	16,3
29/08/2012	220	4	27,8

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
N.M.O	25	1360	54,4	9192,33333
Tiempo	25	100	4	0
Temperatura	25	471,2	18,848	16,6592667

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad para F	Valor crítico
Entre grupos	33538,0651	2	16769,03253	5,46282311	0,006182594	3,12390745
Dentro de los grupos	221015,822	72	3069,6642			
Total	254553,887	74				

Cuando el F de la tabla es mayor al F calculado es altamente significativo

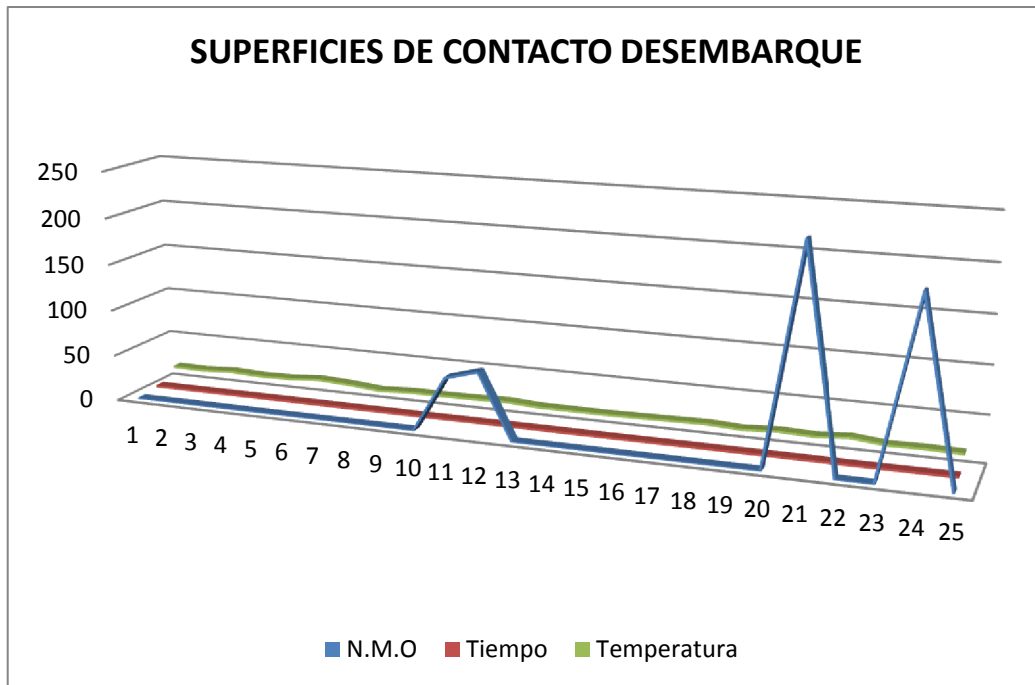
Cuando el F de la tabla es menor al F calculado es NO SIGNIFICATIVO

Resultado 5,46 mayor a 3,12

FC menor al FT Significativo

Muestra que esta etapa es significativamente propensa a la contaminación bacteriana con *Salmonella spp.*

GRAFICO 2: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON SALMONELLA EN LAS SUPERFICIES DE CONTACTO DESEMBARQUE.



Hubo un total de 25 días efectivos de análisis, en los cuales se encontró contaminación con *Salmonella spp* el: 31-07-12, 01-08-12, 22-08-12, 28-08-12 en las superficies de contacto de desembarcadero cuando era más generalizado el uso de guantes de lana por parte de los evisceradores.

SUPERFICIES DE CONTACTO

DESEMBARCADERO

DIA	N.M.O	Tiempo	Temperatura
22/05/2012	0	4	15,8
23/05/2012	0	4	16,4
25/05/2012	0	4	15,8
18/06/2012	0	4	17,8
20/06/2012	0	4	16,3
22/06/2012	0	4	17
18/07/2012	0	4	19,5
19/07/2012	0	4	17,8
20/07/2012	0	4	14,8
30/07/2012	0	4	16,7
31/07/2012	0	4	16,6
01/08/2012	60	4	16,9
06/08/2012	70	4	17,9
07/08/2012	0	4	15,9
08/08/2012	0	4	15,9
13/08/2012	0	4	15,8
14/08/2012	0	4	16,3
15/08/2012	0	4	16,9
20/08/2012	0	4	17,5
21/08/2012	0	4	15,7
22/08/2012	0	4	17,9
23/08/2012	230	4	16,7
27/08/2012	0	4	19,5
28/08/2012	0	4	15,8
29/08/2012	190	4	16,3

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
N.M.O	25	550	22	3558,33333
Tiempo	25	100	4	0
Temperatura	25	419,1	16,764	1,3449

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad para F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	4286,12827	2	2143,064133	1,80611617	0,171654704	3,123907449
Dentro de los grupos	85432,2776	72	1186,559411			
Total	89718,4059	74				

Cuando el F de la tabla es mayor al F calculado es altamente significativo

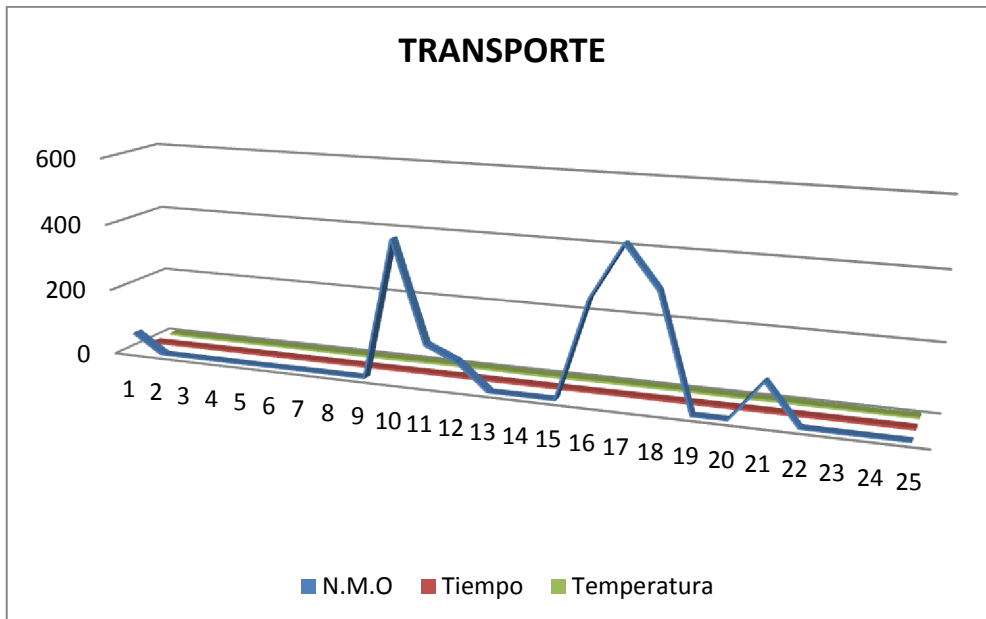
Cuando el F de la tabla es menor al F calculado es NO SIGNIFICATIVO

Resultado 1,80 menor a 3,12

FC menor al FT NO Significativo

Muestra de esta etapa no es significativamente propensa a la contaminación bacteriana con *Salmonella spp.*

GRAFICO 3: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON SALMONELLA ETAPA PINCHAGUA CONGELADA TRANSPORTE



Hubo un total de 25 días efectivos de análisis, en los cuales se encontró contaminación con *Salmonella spp* el: 30-07-12, 31-07-12, 01-08-12, 13-08-12, 14-08-12, y 15-08-12 en la etapa de transporte en los cuales se pudo observar que la temperatura de la pinchagua al llegar a los patios de recepción de materia prima era de promedio 4.8 °C y que el hielo con el que se transportaba era colocado sobre la calzada del desembarcadero de los arenales.

PINCHAGUA CONGELADA

"TRANSPORTE"

DIA	N.M.O	Tiempo	Temperatura
22/05/2012	60	4	5
23/05/2012	0	4	3,1
25/05/2012	0	4	3,9
18/06/2012	0	4	3,2
20/06/2012	0	4	3,3
22/06/2012	0	4	3
18/07/2012	0	4	3
19/07/2012	0	4	3,5
20/07/2012	0	4	3,5
30/07/2012	420	4	4,5
31/07/2012	120	4	5
01/08/2012	80	4	4,7
06/08/2012	0	4	3,7
07/08/2012	0	4	3,1
08/08/2012	0	4	3,9
13/08/2012	300	4	4,8
14/08/2012	460	4	4,4
15/08/2012	340	4	4,9
20/08/2012	0	4	3,7
21/08/2012	0	4	2,7
22/08/2012	120	4	4,7
23/08/2012	0	4	2,6
27/08/2012	0	4	2,8
28/08/2012	0	4	2
29/08/2012	0	4	2,9

Análisis de varianza de un factor

Resumen

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
N.M.O	25	1900	76	20333,333
Tiempo	25	100	4	0
Temperatura	25	91,9	3,676	0,7485667

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las</i>	<i>Suma de</i>	<i>Grados de</i>	<i>Promedio</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor</i>
<i>variaciones</i>	<i>cuadrados</i>	<i>libertad</i>	<i>de</i>			<i>crítico</i>
			<i>los</i>			<i>para F</i>
			<i>cuadrados</i>			
Entre grupos	86790,5496	2	43395,2748	6,4023458	0,002759651	3,12390745
Dentro de los grupos	488017,9656	72	6778,0273			
Total	574808,5152	74				

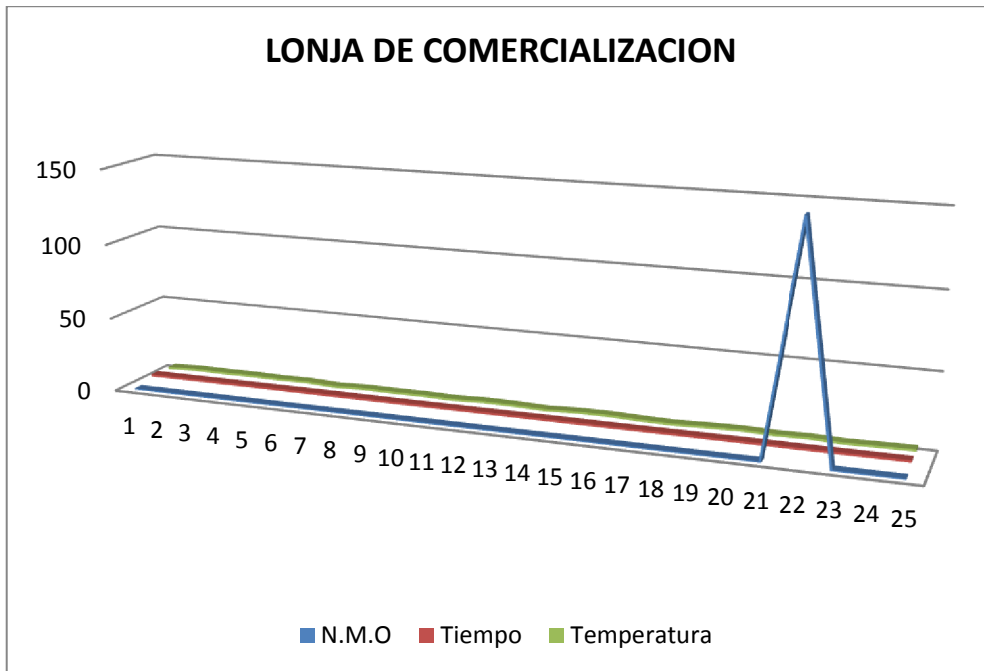
Cuando el F de la tabla es mayor al F calculado es altamente significativo

Cuando el F de la tabla es menor al F calculado es NO SIGNIFICATIVO

Resultado 6.40 mayor a 3,12
 FC menor al FT Significativo

Muestra que esta etapa es la más propensa a la contaminación bacteriana con *Salmonella spp.*

GRAFICO 4: DÍA EN QUE SE ENCONTRÓ CONTAMINACIÓN CON SALMONELLA EN SUPERFICIES DE CONTACTO RECEPCIÓN DE MATERIA PRIMA “LONJAS DE COMERCIALIZACIÓN”



Hubo un total de 25 días efectivos de análisis, en los cuales se encontró contaminación con *Salmonella spp* el: 23-08-12 en la etapa de lonja de comercialización en la cual se pudo observar que el trabajador del cual se tomo la muestra no tenía los equipos apropiados de manipulación.

**SUPERFICIES DE CONTACTO EN
RECEPCION DE MATERIA PRIMA
"LONJA DE COMERCIALIZACION"**

DIA	N.M.O	Tiempo	Temperatura
22/05/2012	0	4	3,2
23/05/2012	0	4	4,1
25/05/2012	0	4	3,9
18/06/2012	0	4	4,1
20/06/2012	0	4	3,8
22/06/2012	0	4	4
18/07/2012	0	4	3
19/07/2012	0	4	3,7
20/07/2012	0	4	3,5
30/07/2012	0	4	3,6
31/07/2012	0	4	3,2
01/08/2012	0	4	3,9
06/08/2012	0	4	3,7
07/08/2012	0	4	3,1
08/08/2012	0	4	3,9
13/08/2012	0	4	4
14/08/2012	0	4	3,3
15/08/2012	0	4	3
20/08/2012	0	4	3,7
21/08/2012	0	4	4,1
22/08/2012	0	4	3,5
23/08/2012	150	4	3,9
27/08/2012	0	4	3,1
28/08/2012	0	4	3,5
29/08/2012	0	4	3,8

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
N.M.O	25	150	6	900
Tiempo	25	100	4	0
Temperatura	25	90,6	3,624	0,13273333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad para F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	81,5562667	2	40,77813333	0,13590707	0,873147156	3,12390745
Dentro de los grupos	21603,1856	72	300,0442444			
Total	21684,7419	74				

Cuando el F de la tabla es mayor al F calculado es altamente significativo

Cuando el F de la tabla es menor al F calculado es NO SIGNIFICATIVO

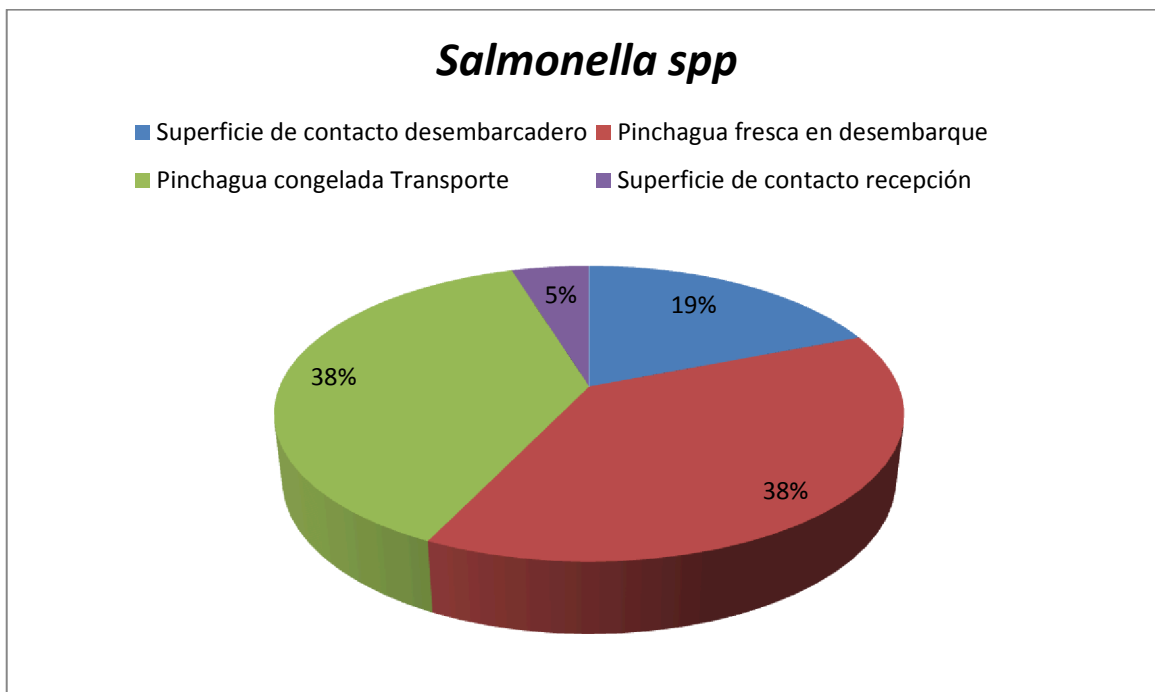
Resultado 0,13 menor a 3,12

FC menor al FT NO Significativo

Muestra que esta etapa no es significativamente propensa a la contaminación bacteriana con *Salmonella spp.*

DATOS DE HALLAZGOS DE ENTEROBACTERIAS EN CADA ETAPA DEL PROCESO DE PINCHAGUA

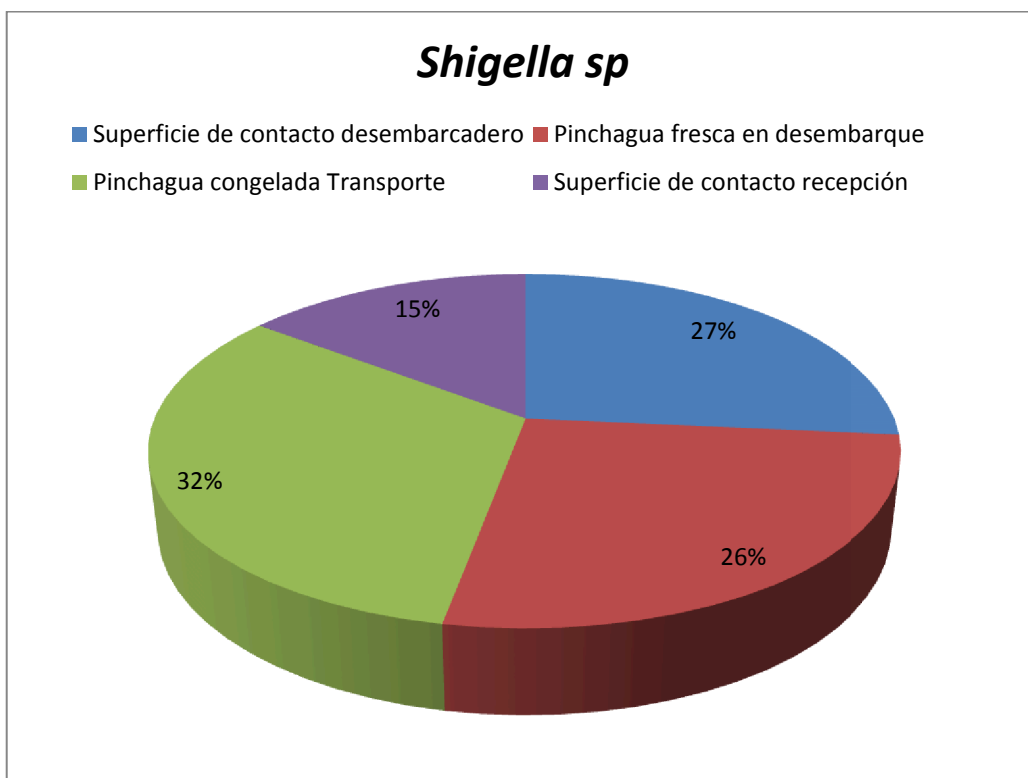
GRAFICO M. 1.1 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN CON *Salmonella spp.*



MUESTRA DE	Hallazgos positivos de <i>Salmonella spp</i>
Superficie de contacto desembarcadero Los Arenales	4
Pinchagua fresca en desembarque Los Arenales	8
Pinchagua congelada Transporte	8
Superficie de contacto recepción materia prima	1

En este grafico se muestra como la contaminación con *Salmonella spp* es más abundante en las etapas de fresca desembarque y congelada transporte.

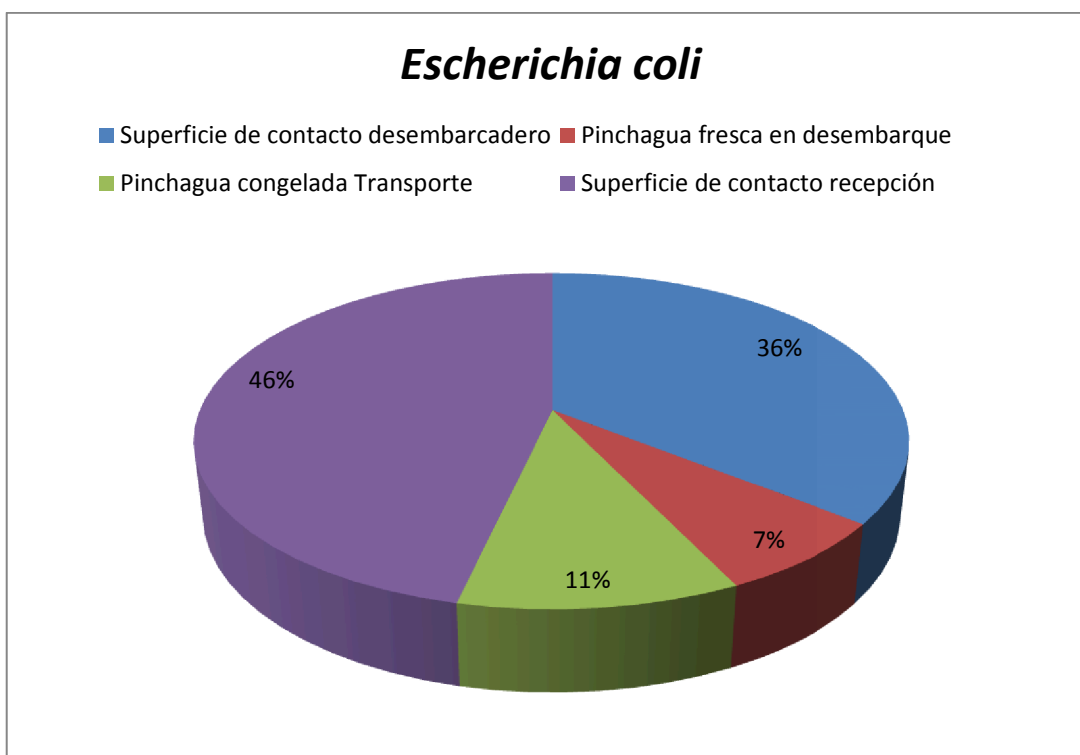
GRAFICO # M. 1.2 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN CON *Shigella sp.*



MUESTRA DE	Hallazgos positivos de <i>Shigella sp</i>
Superficie de contacto desembarcadero Los Arenales	9
Pinchagua fresca en desembarque Los Arenales	9
Pinchagua congelada Transporte	11
Superficie de contacto recepción materia prima	5

En este grafico se muestra como la contaminación con shigella sp es más abundante en las etapas de fresca desembarque y congelada transporte.

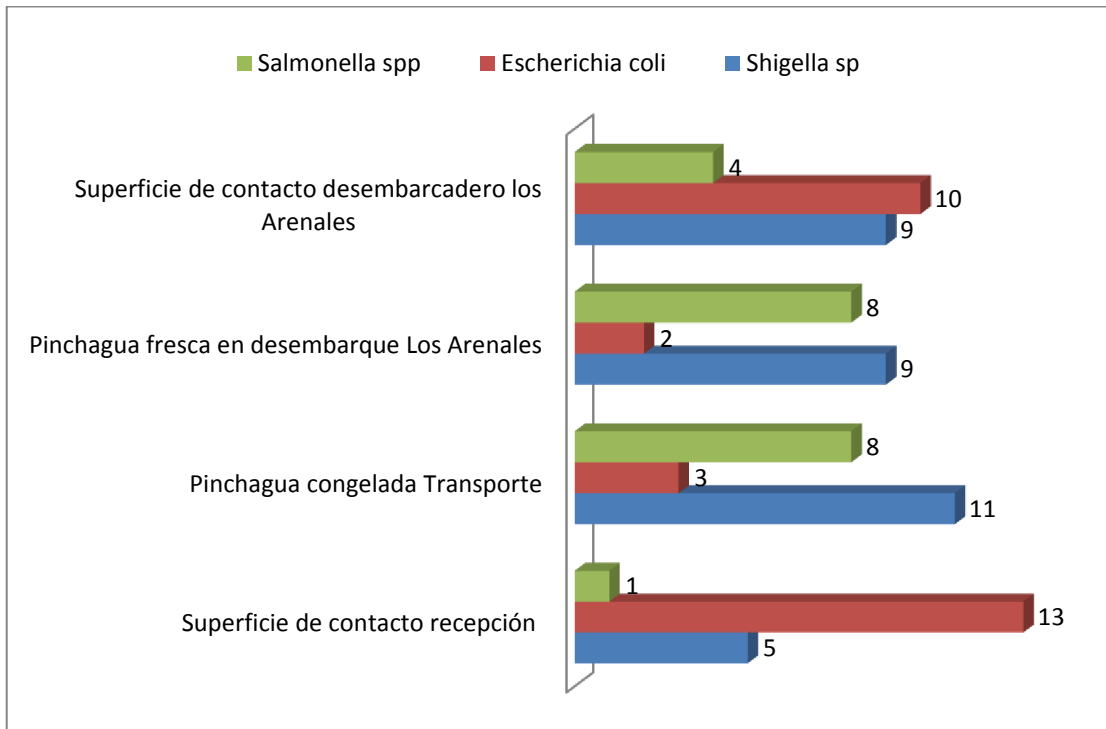
GRAFICO # M. 1.3 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN CON ESCHERICHIA COLI.



MUESTRA DE	Hallazgos positivos de <i>Escherichia coli</i>
Superficie de contacto desembarcadero Los Arenales	10
Pinchagua fresca en desembarque Los Arenales	2
Pinchagua congelada Transporte	3
Superficie de contacto recepción de materia prima	13

En este grafico se muestra como la contaminación con *E.coli* es más abundante en las etapas de superficie de contacto desembarcadero y superficies de contacto materia prima.

GRAFICO # M. 1.4 NUMERO TOTAL DE HALLAZGOS POSITIVOS DE ENTEROBACTERIAS.



En este cuadro se demuestra que la *Salmonella spp* es la bacteria que menos infecta a la pinchagua ya que tiene un total de 21 resultados positivos en todas las etapas siendo la más propensa la del transporte, mientras que la *E.coli* ocupa el segundo lugar con 28 resultados positivos en las cuatro etapas dejando en primera instancia a la *Shigella sp* con 34 resultados positivos.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONE

5.1. CONCLUSIONES

- Los datos obtenidos sobre la carga bacteriana *Salmonella spp*, *Shigella sp* y *E. coli* en individuos recibidos en el desembarcadero de los Arenales muestran mayor contaminación en las muestras tomadas de los guantes de lana y de las manos de los evisceradores, Figura #25 en segundo lugar se encuentra la pinchagua fresca desembarcada en Los Arenales “Crucita” Figura # 26 en el tercer lugar se encuentra la etapa de transporte Figura # 27 mientras que el cuarto lugar lo ocupa las superficies de contacto en la etapa descrita como lonja de comercialización que en el caso del trabajo de tesis es la etapa de recepción de materia prima en las fabricas procesadoras. Figura # 28.
- La contaminación bacteriana afecta a las fábricas que ven incrementado el riesgo de obtener producto de baja calidad por el incremento de histamina generado por la carga bacteriológica.
- En los estudios realizados las muestras que determinan significancia no pueden ser analizadas hasta la diferencia mínima significativa por ser muestras únicas y su forma de determinar es Análisis de varianza de un factor en varias muestras por grupo (fresca eviscerada, superficies de contacto desembarcadero, transporte y lonjas de comercialización).
- A pesar de ser una especie de un gran interés comercial en la ciudad se nos hizo imposible encontrar estudios bacteriológicos que garantiza la calidad bacteriológica de la especie y más aun algún control por parte de las autoridades en este desembarcadero.

- El estudio del manejo de esta especie con relación a la carga bacteriana que significa la calidad final del producto y el valor comercial del mismo queda establecido que las buenas prácticas de manipulación son un factor determinante en la calidad final del producto.

5.2. RECOMENDACIONES.-

- Realizar charlas enfocadas a la educación sobre prácticas de manufactura para los evisceradores.
- Realizar un manual de buenas prácticas para los pescadores en lo que se refiere al tratamiento de la pesca para que esta alcance los niveles óptimos de calidad al momento de llegar al puerto
- A los futuros egresados de la Facultad de Ciencias del Mar que realicen y a la vez fomenten la investigación sobre los datos más importantes sobre la calidad bacteriológica de las especies comerciales del puerto de Manta, para de esta manera crear alternativas viables para precautelar la seguridad alimentaria de la ciudad y el país.

BIBLIOGRAFÍA

Acuña, A. 2002. Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. Montevideo, OPS. p 18

Amerling, C. 2001. Antología Tecnología De la Carne. San José, Euned p. 29, 30

Villalobos, R. 2006. Buenas prácticas de manejo y aseguramiento de la calidad del pescado y mariscos. San José, INCOPECA. p 14,15

ECU, Conocimiento con todos y para todos. Microbiología de los alimentos. EC Consultado el 01 sep. 2012. Disponible en http://www.ecured.cu/index.php/Microbiolog%C3%ADa_de_los_alimentos

El comercio.com, Agromar. La captura de la sardina esta en apogeo. (En línea). Manta, EC. Consultado 23, ene 2012. Disponible en http://www.elcomercio.com/agromar/captura-sardina-apogeo_0_521947968.html

González, A 2008. Intoxicación Histamínica o Escombroidosis en Pescados. (En línea). Cuba. Consultado el 10, oct 2012. Disponible en <http://www.16deabril.sld.cu/rev/219/articulo2.html>

González, N. Jurado, V. seguimiento a la pesquería de peces pelágicos pequeños durante abril 2012 (En Línea). Manta, EC. consultado el 15 ene 2012. Disponible en http://www.inp.gob.ec/irba/ppp/imensual/2012/Info_Web_PPP_abr_12.pdf p 3

Hobbs, BC. ; Roberts, D. 1993. Higiene y toxicología de los alimentos. Trad. por Pedro Ducar Maluenda. 3 ed. España, Acribia. p 275.

Hoy.com.ec, Diario de negocios. En Crucita crecen los ingresos gracias a la sardina. (En línea). Manta, EC. Consultado 23, ene 2012. Disponible en <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/en-crucita-crecen-los-ingresos-gracias-a-la-sardina-304086.html>

Huss, H. 1997. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. Dinamarca, FAO Documento Técnico de Pesca. No. 334. Roma, FAO. P 17, 31, 32, 33,34.

Huss, H. 1999. El pescado fresco: su calidad y cambios en su calidad. Dinamarca, FAO Documento Técnico de Pesca. No. 348. Roma, FAO. P 58, 59.

Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, E.1997. Manual de microbiología medica. 7 ed. México, El manual moderno. p, 99, 243, 244

Jawetz, E. 1996. Microbiología Médica 15 ed. México, Manual Moderno. p 807

Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, 2002. Microbiología Médica 17 ed. México, Manual Moderno. p 281

Knabel, SJ. 2002. Enfermedades transmitidas a través de los alimentos: Papel que juegan las prácticas usadas en el manejo de los alimentos en el hogar. Estados Unidos. 1 p. (En línea). Consultado el 11 oct. 2012. Disponible en <http://www.worldfoodscience.org/cms/?pid=1001315>

Manual de medios de cultivo. 1994. Alemania, Merck. p 172

Mataix, J. sin fecha. Nutrición y alimentación Humana 1. Barcelona, ES. MMV EDITORIAL OCEANO. p 451

Saludalia. Higiene alimentaria. (En línea). MAD.ESP. Consultado el 1, sep. 2012. Disponible en <http://www.saludalia.com/nutricion/higiene-alimentaria>

Santillán, X. Romero, A. Seguimiento a la pesquería de peces pelágicos pequeños durante octubre 2011 (En Línea). Manta, EC. Consultado el 15 ene 2012. Disponible en <http://www.inp.gob.ec/irba/ppp/imensual/2011/Inf%20WEB%20PPP%20Oct%202011.pdf>. p 2

Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, D.C. Dirección de Salud Pública. 2008. Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. Bogotá. Linotipia Bolívar y Cía. S. en C. p 5, 7, 8, 9, 10

Solórzano, L. Macías, D. 2009. "EVALUACION DE LA PESCA, CONSERVACION, TRANSPORTE, COMERCIALIZACION Y PROCESAMIENTO DE LA PINCHAGUA *Opisthonema libertate* (Smith 1987) EN EL PUERTO DE CRUCITA DE LA PROVINCIA DE MANABI". Tesis. Blog Pesquero. ULEAM. Manta – Manabí. EC. p 4,6.

SRP. Establecerse la veda total para la captura de la especie Chuhueco (*Cetengraulis mysticetus*) y para la Pinchagua (*Opisthonema* spp). RO 475, 17 de diciembre del 2001. (En línea). Manta, EC. Consultado el 25 ene 2012. Disponible en

<http://www.miliarium.com/paginas/leyes/internacional/Ecuador/Aguas/A183-01.asp>.

Torre, G. López, D. Carballo, B. Madrid, A. 2001. Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. Madrid, ES. AMW Ediciones Mundi – Prensa. p 90, 105

Varnam, AH. ; Sutherland, JP. 1995. Carne y productos cárnicos; Tecnología, química y microbiología. Trad. por Isabel Jaime Moreno España, Acribia. 423 p.

Wikipedia. Refrigeración. (En línea). Alabama. Consultado 23, ene 2012. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Refrigeraci%C3%B3n>

Willey, J. Sherwood, L. Woolverton, C. 2008. Microbiología de Prescott, Harley y Klein. 7 ed. Madrid. Mc Graw Hill. p 119,

Ranken, M.D. 2003. Manual de la industria de la carne. Madrid, ES. Mundi – prensa. p 97

15º Reunión Comité Coordinador para América Latina y el Caribe FAO/OMS Sobre normas alimentarias (2006, Mar del Plata, Argentina.) 2006. Informe técnico sobre las características biológico – pesquera de la Pinchagua (*Opisthonema* spp) En aguas Ecuatorianas: solicitud de Ecuador para la inclusión dentro de la NORMA CODEX DE SARDINAS. Mar del Plata, AG. p 1, 2,3.

Anexos

Figura # 1. Pichagua (*Opisthonema libértate*) Fuente: *Discover life* (Gerard Allen).



Figura # 2. Morfología Externa de la Pinchagua. Fuente (*fish fase, Morfology Opisthonema*).

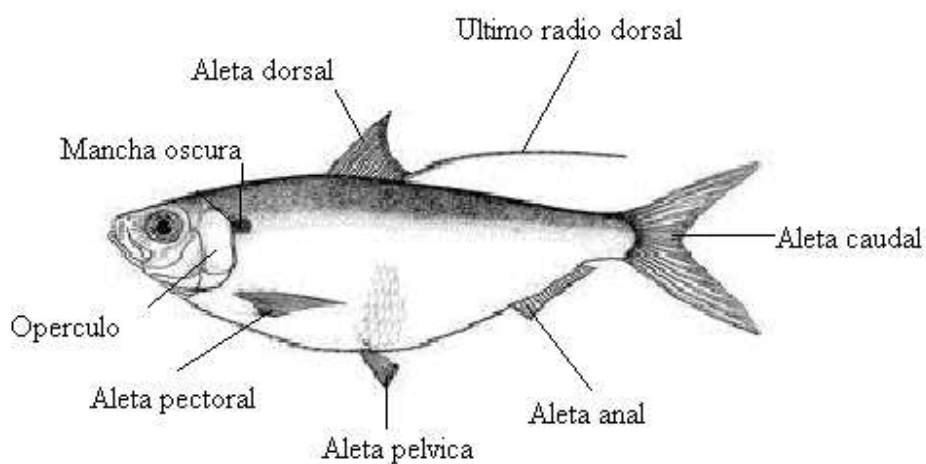


Figura # 3. Distribución geográfica de las especies de Pinchagua. Fuente (Lyle 1997).

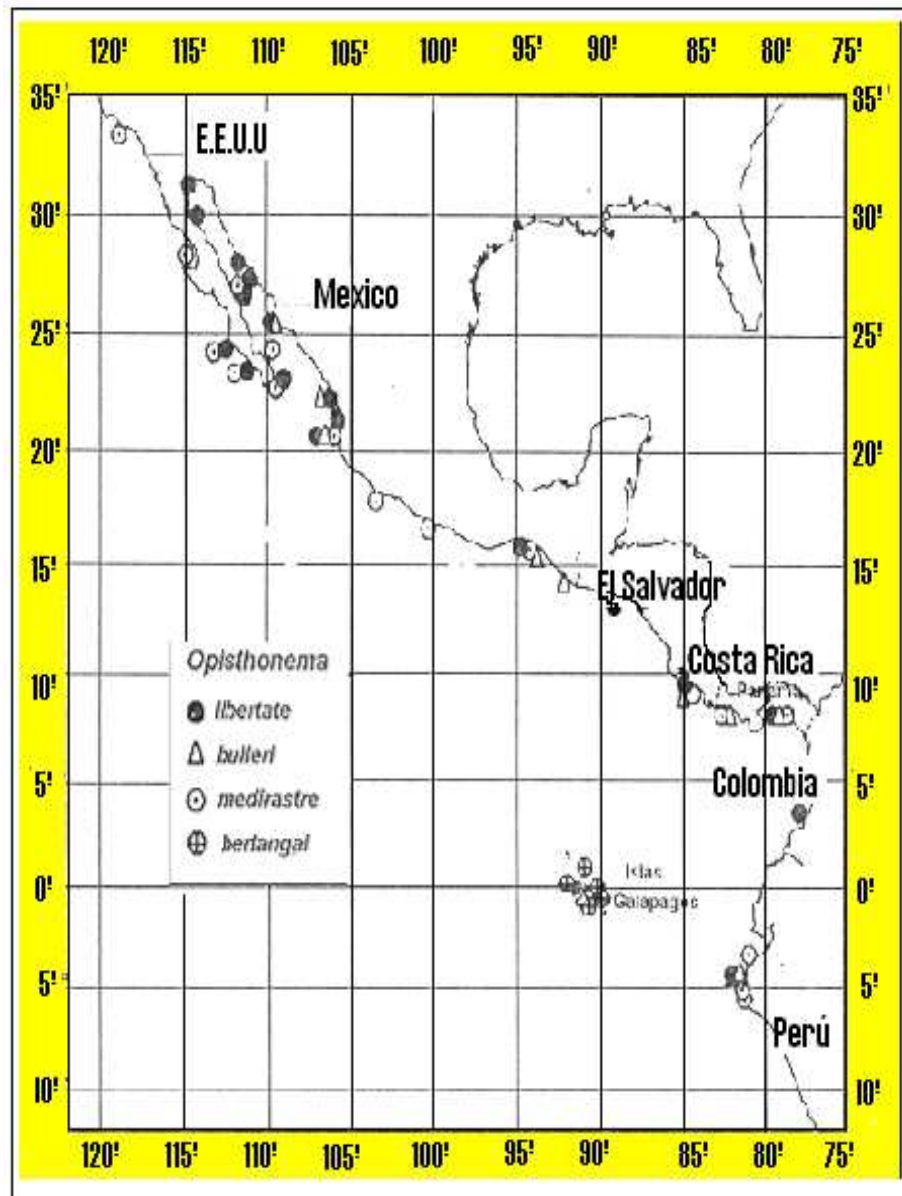


Fig. 4a Distribución geográfica de las especies de pinchagua: *O. libertate*, *O. medirastre*, *O. bulleri* y *O. berlangai*. Fuente: Lyle et al., 1997.

Figura # 4, zonas de pesca de Pinchagua reportadas por la flota pesquera. Fuente (Lyle 1997).

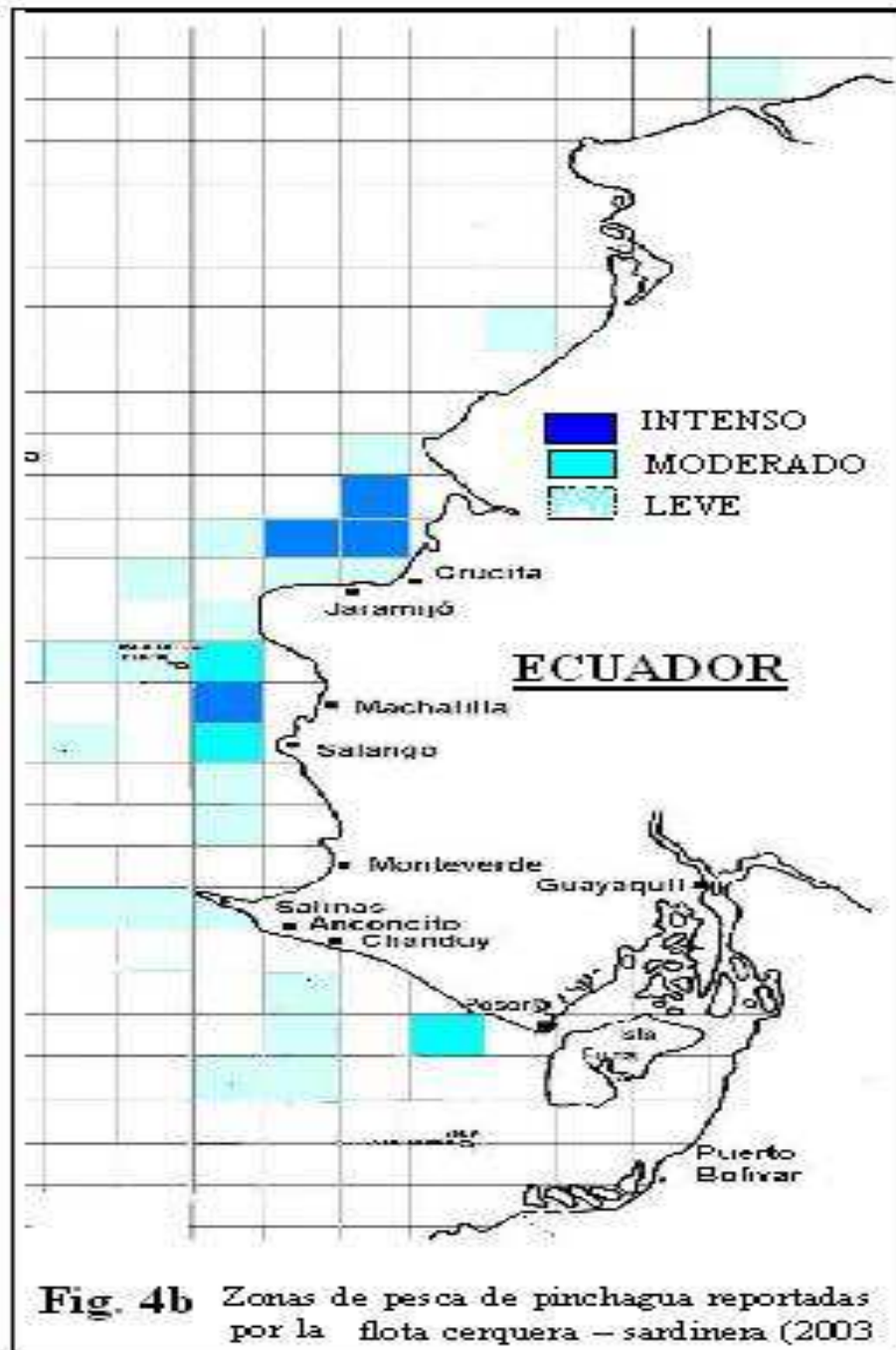
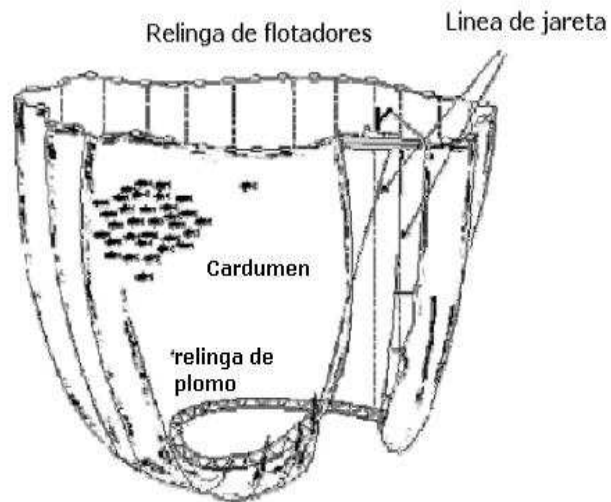


Figura # 5. Red de cerco.



Esquema operacional de la red de cerco para la captura de pelagicos menores

Figura # 6. Barco de casco de madera, Clase I.



Figura # 7. Playa de Crucita, Manabí Ecuador.



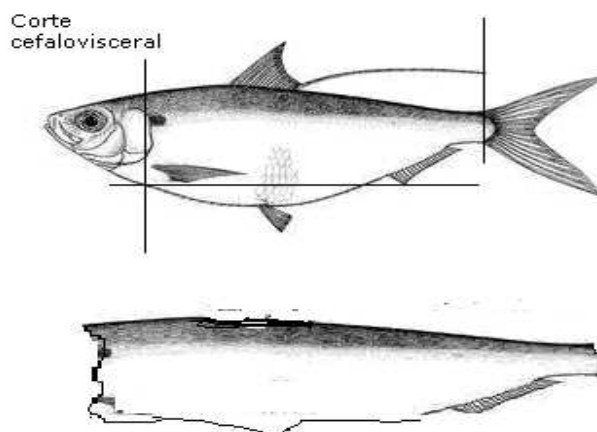
Figura # 7.a Lanchas de fibra de vidrio.



Figura # 8 Mesas De Eviscerado de pinchagua.



Figura# 9 Corte céfalo visceral.



Fuente: *Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias.*

Figura# 10 Gavetas donde se deposita la pinchagua.



Figura # 11. Camión con material termoaislante.



Figura # 12. Camión con cajón de madera con material termoaislante.



Figura # 13 .Fisión binaria.

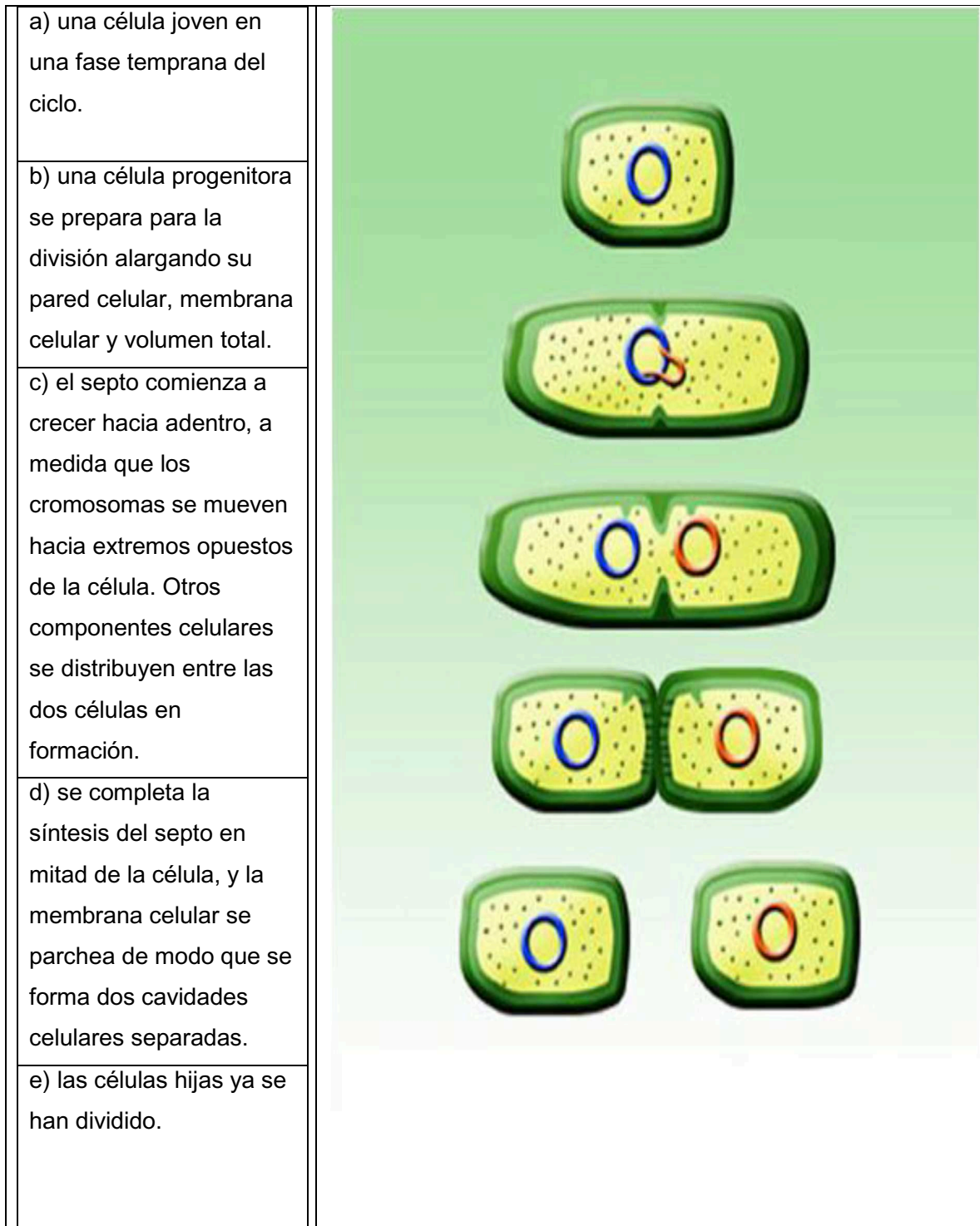


Figura # 14. Estructura química de la histamina (fotografía: Pan y James 1985).

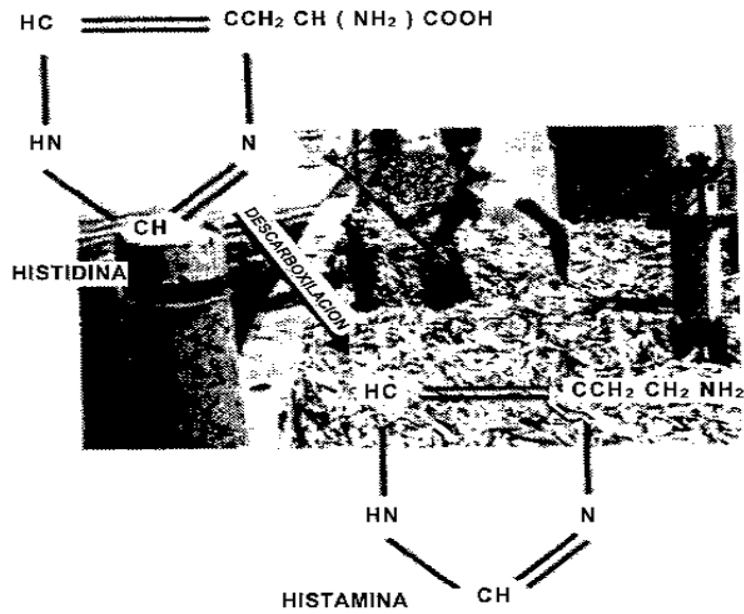


Figura # 15 Identificación de muestras.



Figura # 16 Pesaje de muestra solida de pinchagua.



Figura # 17 Añadidura de agua destilada 0.9 % de NaCl y homogenización.



Figura # 18 Cultivo en caldo Selenito.



Figura # 19 Cultivo en caja petri para prueba confirmativa de *Salmonella* spp.



Figura # 20 Confirmación de Salmonella spp.



Figura # 21 Hisopo de muestra de superficie de contacto.



Figura # 22 Cámara bacteriológica.



Figura # 23 Incubadora.



Figura # 24 Trabajo frente al mechero.



Figura # 25 Guantes de lana de los evisceradores en Los Arenales "Crucita".



Figura # 26 Pinchagua Eviscerad en Los Arenales “Crucita”.



Figura # 27 Transporte de Pinchagua.



Figura # 28 Etapa de lonja de comercialización (recepción de materia prima).

