



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES
RENOVABLES**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella spp*
EN CARNE DE POLLO COMERCIALIZADO EN FERIAS
LIBRES DEL CANTÓN LOJA”**

*TESIS DE GRADO PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA*

AUTOR:

DARWIN ALEXANDRO ROBLES JUMBO

DIRECTOR:

DR. GALO VINICIO ESCUDERO SÁNCHEZ Mg. Sc.

LOJA – ECUADOR

2017

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación titulado, “**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella spp* EN CARNE DE POLLO COMERCIALIZADO EN FERIAS LIBRES DEL CANTÓN LOJA**”, realizado por la Señor Egresado DARWIN ALEXANDRO ROBLES JUMBO previo a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**, ha concluido dentro del cronograma aprobado y autorizado con el trámite de graduación.

Loja, 24 de Enero del 2017



Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Que luego de haber procedido a la calificación de Tesis escrita del trabajo de investigación titulado “**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella spp* EN CARNE DE POLLO COMERCIALIZADO EN FERIAS LIBRES DEL CANTÓN LOJA**”, del señor egresado DARWIN ALEXANDRO ROBLES JUMBO, y al haber constatado que se ha incluido en el documento las observaciones y sugerencias realizadas por los miembros del tribunal autorizamos continuar con los trámites como requisito previo a la obtención del título de: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

APROBADO

Loja, 23 de marzo del 2017



Dr. Segundo Germán Barragán Mg. Sc
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Dr. Wilmer Augusto Vacacela Agila Mg. Sc.
VOCAL DEL TRIBUNAL



Dr. José Stalin Yaguana Jiménez Mg. Sc
VOCAL DEL TRIBUNAL

AUTORIA

Yo, Darwin Alejandro Robles Jumbo, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Darwin Alejandro Robles Jumbo

Firma: 

Cédula: 1105126716

Fecha: Loja, 28 de marzo de 2017

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, DARWIN ALEXANDRO ROBLES JUMBO declaro ser autor de la tesis titulada "**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella spp* EN CARNE DE POLLO COMERCIALIZADO EN FERIAS LIBRES DEL CANTÓN LOJA**", como requisito para optar al grado de Médico Veterinario y Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 28 días del mes de marzo de dos mil diecisiete, firma el autor.

Firma:


.....

Autor:

Darwin Alejandro Robles Jumbo

Número de cédula:

1105126716

Dirección:

Loja, Esteban Godoy

Correo electrónico:

Darwin.alexandro@gmail.com

Teléfono:

Celular: 0980128596

DATOS COMPLEMENTARIOS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. GALO VINICIO ESCUDERO SÁNCHEZ Mg. Sc.

TRIBUNAL DE GRADO:

Dr. Segundo German Barragán Fierro, Mg. Sc.

Dr. Wilmer Augusto Vacacela Ajila, Mg. Sc.

Dr. José Stalin Yaguana Jiménez, Mg. Sc.

AGRADECIMIENTO

Dejo constancia de mi sincero agradecimiento a Dios, quien me ha dado salud y sabiduría a lo largo de esta travesía. Mi más profundo agradecimiento a mi familia que me impulsó a seguir adelante e hizo posible el logro de esta meta.

Quiero expresar mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, especialmente a la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a sus docentes, administrativos y demás trabajadores quienes constituyeron un pilar fundamental durante mi periodo de estudio.

De igual manera quiero agradecer al Dr. Galo Escudero Mg Sc, Director de Tesis por su invaluable aporte y asesoría para la realización de este trabajo investigativo.

Darwin Robles

DEDICATORIA

Dedicado a: mis padres Mario Robles y Elsa Jumbo por su gran amor y paciencia, y sobre todo por su apoyo incondicional. A mis hermanos Edgar, Henry, Winston, Maritza y Jackeline Robles quienes de una u otra forma me apoyaron siempre.

De manera especial dedico este trabajo a Narcisa Robles quien fue un pilar fundamental durante toda mi carrera y logro de este objetivo. A todos mis compañeros y de forma especial a Diego, Gina, Richard y Alex que estuvieron siempre a mi disposición tanto en mi vida universitaria como en la personal.

Darwin Robles

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	Pág.
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS	ii
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iii
AUTORIA	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. CARNE DE POLLO	3
2.1.1. Composición.....	3
2.1.2. Principales Patógenos en la Carne de Pollo.....	4
2.2. GÉNERO SALMONELLA	5
2.2.1. Clasificación Taxonómica.....	6
2.2.2. Caracterización Morfológica y Bioquímica.....	7
2.2.3. Especificidad de Hospedador para las Infecciones por <i>Salmonella</i>	7
2.3. DIAGNÓSTICO DE SALMONELLA.....	11
2.3.1. Cultivo.....	11
2.3.2. Identificación de Colonias Sospechosas.....	13
2.3.3. Identificación Bioquímica.....	14
2.3.4. Métodos de Reconocimiento Inmunológicos y de Ácidos Nucleicos.....	15
2.3.5. Genotipificación.....	15
2.3.5.1. Reacción en cadena de polimerasa (PCR).....	15
2.4. SISTEMA 3M PETRIFILM SALMONELLA EXPRESS.....	16

2.4.1.	Descripción.....	16
2.4.2.	Procedimiento (3M™ Petrifilm™ Salmonella Express System)...	18
2.5.	SALMONELLA Y LA AVICULTURA.....	23
2.5.1.	Control de <i>Salmonella spp</i> en Carne de Pollo.....	25
2.6.	TRABAJOS SIMILARES.....	28
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1.	MATERIALES.....	30
3.1.1.	Materiales de Campo.....	30
3.1.2.	Materiales de Laboratorio.....	30
3.1.3.	Materiales de Oficina.....	31
3.2.	MÉTODOS.....	31
3.2.1.	Ubicación.....	31
3.2.2.	Delimitación del Área de Estudio.....	31
3.2.3.	Tamaño de la Muestra.....	32
3.2.4.	Variables en Estudio.....	33
3.2.5.	Toma de Muestras.....	33
3.2.6.	Condiciones Sanitarias de Faenamiento Casero (encuesta).....	33
3.2.7.	Análisis de la Muestras.....	34
3.2.8.	Pruebas Bioquímicas y Genotipificación.....	37
4.	RESULTADOS.....	38
4.1.	PRESENCIA DE <i>Salmonella spp</i> EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS.....	38
4.2.	PREVALENCIA E INTERVALO DE CONFIANZA DE <i>Salmonella spp</i> EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS.....	39
4.3.	CONDICIONES SANITARIAS DE FAENAMIENTO CASERO.....	39
4.4.	ANÁLISIS FÍSICO DE LA CARNE DE POLLO.....	41
4.4.1.	Color.....	41
4.4.2.	Olor.....	42
4.4.3.	Apariencia.....	43
4.4.4.	pH.....	43
5.	DISCUSIÓN.....	45

5.1.	PRESENCIA DE <i>Salmonella spp.</i>	45
5.2.	CONDICIONES SANITARIAS DE FAENAMIENTO CASERO	46
5.3.	ANALISIS FÍSICO DE LA CARNE POLLO	46
5.3.1.	Color, Olor y Apariencia.....	46
5.3.2.	pH.....	47
6.	CONCLUSIONES	48
7.	RECOMENDACIONES	49
8.	BIBLIOGRAFÍA	50
9.	ANEXOS	57

ÍNDICE DE CUADROS

CONTENIDO	Pág.
Cuadro 1. Composición de la carne de pollo.....	3
Cuadro 2. Delimitación de área de estudio.	32
Cuadro 3. Tiempo de trabajo y cantidad de muestra.	33
Cuadro 4. Resultados de detección de <i>Salmonella spp</i> en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.	38
Cuadro 5. Prevalencia e intervalo de confianza de <i>Salmonella spp</i> en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.....	39
Cuadro 6. Promedio de color de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.	42
Cuadro 7. Olor de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.....	42
Cuadro 8. Apariencia de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.	43
Cuadro 9. Valores promedio de pH en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	Pág.
Figura 1. <i>Salmonella spp.</i>	7
Figura 2. Interpretación de especies presuntivas positivas de <i>Salmonella</i> especies.	18
Figura 3. Pesado de Suplemento 3M.....	18
Figura 4. Procedimiento de enriquecimiento 3M.....	19
Figura 5. Procedimiento de enriquecimiento cont. (a) 3M.....	20
Figura 6. Procedimiento de enriquecimiento cont. (b) 3M.....	20
Figura 7. Procedimiento de Hidratación (a) 3M.....	21
Figura 8. Procedimiento de Hidratación (b) 3M.....	21
Figura 9. Inoculación, incubación e interpretación de la placa 3M.....	21
Figura 10. Inoculación, incubación e interpretación de la placa cont. 3M. .	22
Figura 11. Confirmación Bioquímica (a) 3M.....	23
Figura 12. Confirmación Bioquímica (b) 3M.....	23
Figura 13. Ave tratando de eliminar calor a través del jadeo, favorece la presentación de estrés y por lo tanto el inicio de problemas de calidad de la carne, desde el punto de vista bioquímico y microbiológico.	25
Figura 14. Diagrama del proceso de faenado de pollo.....	26
Figura 15. Proceso de comercialización del pollo.	27
Figura 16. Prácticas de inocuidad en carne de pollo.....	27
Figura 17. Patrón de escala descriptiva para evaluación visual de color en carne de pollo.....	34
Figura 18. Uso de indumentaria adecuada para faenamiento de aves que se comercializan en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.	39
Figura 19. Desinfección de utensilios de faenamiento de aves comercializadas en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.....	40
Figura 20. Recipientes para almacenamiento de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.....	40
Figura 21. Aplicación de cadena frío durante transporte de la carne hasta los puntos de venta en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

CONTENIDO	Pág.
Anexo 1. Encuesta	57
Anexo 2. Feria libre San Sebastián.....	58
Anexo 3. Análisis físico de muestras.....	58
Anexo 4. Pesado de caldo base Salmonella.....	59
Anexo 5. Preparación de caldo base.....	59
Anexo 6. Autoclavado de medios.....	59
Anexo 7. Incubación de muestras (Preenriquecimiento).....	59
Anexo 8. Preparación de placas petrifilm.....	60
Anexo 9. Observación y marcaje de colonias presuntas sospechosas a <i>Salmonella spp</i>	60

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella spp* EN
CARNE DE POLLO COMERCIALIZADO EN FERIAS LIBRES
DEL CANTÓN LOJA”**

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de determinar la presencia de *Salmonella spp* en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja. Para el efecto se analizaron mediante el Sistema Microbiológico “3M Petrifilm Salmonella express” 72 muestras de carne con un peso promedio de 250 g. Se utilizó un muestreo aleatorio simple. Las variables en estudio fueron la presencia de *Salmonella spp*, condiciones sanitarias de faenamiento casero (mediante encuesta), análisis físico de la carne (color, olor, apariencia y pH) pruebas bioquímicas y genotipificación. Para determinar prevalencias y sus intervalos de confianza al 95% se utilizó el paquete EpiR del programa estadístico Sas University Edition 2016. La prevalencia de *Salmonella spp* fue 0% e intervalo de confianza (IC) de 0 – 4,95% en las 72 muestras, así como prevalencia de 0% e IC de 0 – 17,8% en 18 muestras de cada feria libre (La Tebaida, San Sebastián, Mayorista y Las Pititas). Las condiciones sanitarias de faenamiento casero aplicadas son deficientes en todo el proceso. Al análisis físico de la carne se obtuvo un color promedio (escala 1 a 5) de 2,67 (rosado intenso); 97,22% de canales con olor agradable (sui-generis); 93,06% apariencia normal y pH promedio de 5,98. En conclusión no se evidenció la presencia de *Salmonella spp* en las muestras analizadas, la carne expandida en ferias libres no presenta problemas en cuanto a características físicas antes mencionadas.

Palabras Clave: *Salmonella*, sui-generis, ferias libres, faenamiento.

ABSTRACT

This research work was developed with the purpose of determining the presence of *Salmonella spp* in chicken meat sell in farmer´s –markets of four urban parishes in Loja Canton. For this purpose, 72 samples of meat with an average weight of 250 g. were analyzed using microbiological system "3M Petrifilm *Salmonella express*". A simple random sampling was applied. The variables in the study were the presence of *Salmonella spp*, sanitary conditions of home slaughtering (by survey), physical analysis of meat (color, odor, appearance and pH) biochemical and genotyping tests. The statistical program Sas University Edition 2016 package EpiR was used to determine prevalence and 95% confidence intervals. The prevalence of *Salmonella spp* was 0% and confidence interval (CI of 0) - 4.95% in the 72 samples, as well as prevalence of 0% and 0 CI - 17.8% in 18 samples of each market (La Tebaida, San Sebastián, Mayorista and Las Pitás). The applied sanitary conditions of home slaughtering are deficient in the process. The physical analysis in the meat was obtained with a color average (scale 1-5) from 2.67 (deep pink); 97.22% of channels with pleasant smell (*sui-generis*); 93,06% normal appearance and average pH of 5.98. In conclusion, the presence of *Salmonella spp.* was not evidenced in the samples analyzed, as well as, the meat that is sold in the farmer´s-markets do not have problems in terms of the physical characteristics mentioned above.

Key words: *Salmonella*, *sui-generis*, farmer´s-markets, slaughter.

1. INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una de las zoonosis con mayor frecuencia de reporte de brotes de transmisión alimentaria en el mundo incluido los países desarrollados, siendo la carne de ave y sus derivados una de las fuentes principales FAO/OMS, (2003). En el Ecuador, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos (ETAs) están entre las diez primeras de notificación obligatoria siendo la Salmonelosis una de las más importantes. En el año 1.990 se reportaron 9.908 casos; en el 2001 esta cifra aumentó bruscamente a 18.772 periodo desde el cual el número ha ido disminuyendo paulatinamente con 3.286 casos en el 2008 MSP, (2008). *Salmonella* es un bacilo en forma de bastoncillo gram negativo que puede causar enfermedades diarreicas en humanos pues existen 2.400 serotipos de los cuales la *S. enteritidis* y *S. typhimurium* son los más comunes (Fuentes y Moreno, 2011).

En países industrializados, la carne fresca proviene de instalaciones modernas de sacrificio, y durante su despiece, transporte y comercialización, se le aplica una cadena de frío la cual no es interrumpida, mientras que en los países en desarrollo la comercialización y distribución de la carne fresca se realiza en mercados tradicionales o ventas callejeras FAO, (2014). Así mismo la carne de pollo considerada una fuente de proteína barata, sana y accesible constituye también un vehículo frecuente en casos de intoxicación alimentaria como consecuencia de un inadecuado sistema de calidad higiénico sanitario en los procesos de sacrificio y faenado animal (Soria, 2013).

En el Cantón Loja, las ferias libres donde se comercializan diferentes productos agrícolas y pecuarios entre estos carne de pollo, no cuentan con la debida infraestructura sanitaria que garantice la inocuidad de dicho producto durante su comercialización, incluso la canal es manipulada directamente por los vendedores de los puestos de expendio sin las mínimas condiciones higiénicas y muchas de las veces con utensilios que no cumplen las condiciones asépticas adecuadas.

En vista de lo antes mencionado nos hemos planteado los siguientes objetivos:

- Determinar la presencia de *Salmonella spp* en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja
- Establecer la especie de *Salmonella* presente en la carne de pollo
- Realizar pruebas bioquímicas para determinar especie de *Salmonella*
- Genotipificar los aislamientos de *Salmonella*

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CARNE DE POLLO

La carne de ave, es la proveniente de las especies domésticas o de criadero. Incluye los tejidos blandos que rodean el esqueleto incluyendo músculo, piel, el tejido adiposo, tendones, vasos, nervios y todos aquellos otros no separados durante la operación de faena, declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial (Barceló *et al.*, 2006).

Carne fresca, es el tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica comestible, sano y limpio de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para el consumo humano. Sometida a refrigeración, entre 0°C y 4°C en el centro del corte, que puede estar envasada en atmósfera modificada o al vacío (NTE INEN 1217, 2006).

2.1.1. Composición

Se pueden apreciar variaciones en la composición de la carne, en función de la edad del animal sacrificado. También existen diferencias en la composición de las distintas piezas cárnicas, como en el caso de la pechuga, cuyo contenido en proteínas es mayor que el que presenta el muslo. El contenido, distribución y composición de la grasa del pollo es similar al del resto de las aves de corral (Matía *et al.*, 2006).

La carne de pollo es buena aliada de la salud “comer sano”, resalta su aporte de la calidad de proteínas, aminoácidos esenciales de alta digestibilidad, vitaminas B1, B2, B6, niacina y ácido fólico, además de su contenido en minerales como hierro, fósforo, potasio, calcio y magnesio. El consumo de carne de pollo aporta el 30% de las necesidades medias de proteínas diarias, el 5% de las Kcal de una dieta estándar (Matía *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Composición de la carne de pollo (Por 100g de porción comestible).

Nutrientes del pollo			
	Unidad	Con piel	Filetes
Agua	MI	70,3	75,4
Energía	Kcal	167	112
Proteína	G	20	21,8
Grasas	G	9,7	2,8
Zinc	Mg	1	0,7
Sodio	Mg	64	81
Vitamina B1	Mg	0,1	0,1
Vitamina B2	Mg	0,2	0,2
Niacina	Mg	10,4	14
Grasas saturadas	G	3,2	0,9
Grasas mono insaturadas	G	4,4	1,3
Grasas poliinsaturadas	G	1,5	0,4
Colesterol	mg	110	69

Fuente: Fundación Grupo Eroski, (2001).

2.1.2. Principales Patógenos en la Carne de Pollo

Los tipos de microorganismos que pueden causar enfermedad en los consumidores se dividen en: virus, bacterias, hongos y parásitos, de los cuales las bacterias son responsables de más del 90% de los casos confirmados de Enfermedad de Transmisión Alimentaria (ETA's). Las 5 bacterias asociadas a ETA's, más frecuentes son: *Campylobacter spp.*, *Salmonella* (no tifoidea), *Escherichia coli* O157: H7, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (Eberle y Kiess, 2012).

Las poblaciones bacterianas en las canales de pollo, están determinadas por el tipo de poblaciones de bacterias en el tracto gastrointestinal de las aves en la granja, así como de las bacterias que se agregan cuando se maneja el ave antes de su matanza y después de ella. Sin embargo en nuestro país la comercialización es muy diversa y muchas ocasiones por idiosincrasia la carne no es manejada bajo buenas prácticas de higiene lo que causa que la carne de ave sea un alimento frecuentemente implicado en enfermedad gastrointestinal. Los patógenos reportados en productos avícolas son: *Campylobacter spp.*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria*

monocytogenes, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Pasteurella multocida*, *Riemerella anatipestifer*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp* y *Yersinia enterocolitica*. Sin embargo recientes estudios demuestran que en caso de carne de ave, *Salmonella spp* y *Campylobacter spp* son las causas más comunes de ETAs vinculadas, mientras que *L. monocytogenes* es un problema grave asociado a productos procesados de carne de ave (Keklik, 2010).

2.2. GÉNERO SALMONELLA

El género *Salmonella* recibe su nombre en honor al microbiólogo americano Daniel Elmer Salmon, quien en 1.876, fue reconocido como el primer doctor en medicina veterinaria graduado en una universidad de los Estados Unidos. Junto con Theobald Smith, conocido por su trabajo en anafilaxis, fueron quienes descubrieron los gérmenes designados como *salmonellas*, en 1885 aislándolos de cerdos con cólera Stanchi, (2007). *Salmonella spp* es la enterobacteria de mayor importancia en salud pública por producir trastornos del tracto gastrointestinal y septicemia no solo en el ser humano, sino en toda las especies animales (Lujan y Blass, 2007).

Los microorganismos del género *Salmonella* están extensamente diseminados en la naturaleza como comensales y patógenos del aparato digestivo de los mamíferos domésticos y silvestres, aves, reptiles e insectos. En los cuales pueden llegar a producir una amplia gama de enfermedades, pues todas las *Salmonellas* son potencialmente peligrosas (Stanchi, 2007).

En medicina humana están descritas diversas presentaciones de salmonelosis: fiebre entérica, septicemia y finalmente gastroenteritis; mientras en medicina veterinaria se ha determinado que esta bacteria puede provocar septicemia, enteritis aguda, subaguda, crónica y abortos en diferentes animales. Las diversas especies de salmonellas se transmiten por contacto tanto con enfermos como con portadores sanos, aunque por lo general la enfermedad producida por este agente microbiano tiene un origen alimentario debido a la ingesta de alimentos contaminados con el patógeno (Stanchi, 2007).

2.2.1. Clasificación Taxonómica

La más reciente clasificación del género *Salmonella* está basada en estudios realizados sobre la base de técnicas de hibridación del DNA de la bacteria y se ha concluido que éste está formado por dos especies:

a) ***Salmonella entérica***, dividida en seis subespecies aisladas de:

- Subespecie I. *S. entérica* subsp. *entérica*: humanos y animales de sangre caliente.
- Subespecie II. *S. entérica* subsp. *salmae*
- Subespecie III a. *S. entérica* subsp. *arizonae*
- Subespecie III b. *S. entérica* subsp. *diarizonae*
- Subespecie IV. *S. entérica* subsp. *houtenae*
- Subespecie VI. *S. entérica* subsp. *indica*

b) ***Salmonella bongori***, Subespecie V: no constituye un patógeno para los humanos, pero ha sido implicada en algunas patologías en animales (Stanchi, 2007).

Es de suma importancia aclarar que aunque existan sólo dos especies de *Salmonellas* según su hibridación de DNA, tanto las especies como las subespecies mencionadas se encuentran constituidas por más de 2.400 variedades serológicas, determinadas según las distintas asociaciones de los antígenos somáticos O y flagelares H (Stanchi, 2007).

2.2.2. Caracterización Morfológica y Bioquímica

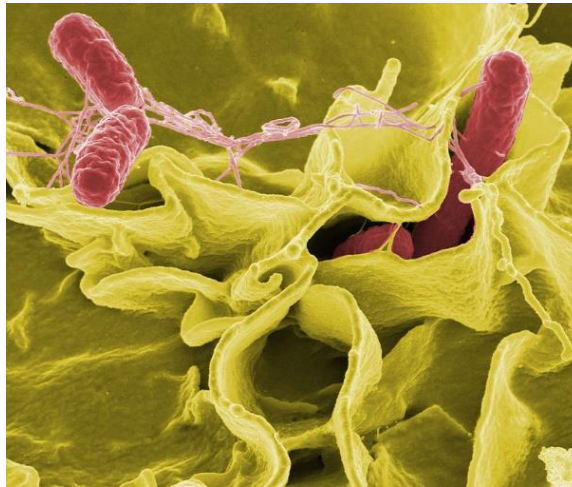


Figura 1. *Salmonella spp* (National Institutes of Health; United States Department of Health and Human Services; U.S. federal government, 2005).

Los miembros del género *Salmonella* comprenden bacilos Gram-negativos, pequeños (0,7-1,5 μm de ancho x 2-5 μm de largo) rectos, la mayoría móviles con flagelos peritricos. Reducen los nitratos a nitritos, en general fermentan la glucosa con producción de gas, producen sulfuro de hidrógeno y son capaces de desarrollar en medios de cultivo que sólo disponen de citrato como única fuente de carbono. Además, no hidrolizan el indol ni la urea, no fermentan la lactosa, sacarosa, salicina e inositol y descarboxilan la lisina y ornitina Molbac *et al.*, (2006). Sin embargo, en la literatura se describe que 1% de las cepas de *Salmonella* fermentan lactosa Edwards y Ewin, (1986). Y algunas también a la sacarosa. Pueden vivir por largos periodos asociados a sustratos orgánicos, creciendo óptimamente a 37 grados, se inactivan a un pH inferior a 5 y temperaturas superiores a los 60 grados (Gonzales, 1996).

2.2.3. Especificidad de Hospedador para las Infecciones por *Salmonella*

Los miembros del género *Salmonella* están ampliamente distribuidos en la naturaleza; se los encuentra tanto como comensales o patógenos en el tracto gastrointestinal de mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves e insectos, causando un amplio espectro de enfermedades en el hombre y en los animales. Dichas enfermedades se denominan salmonelosis y presentan una variación en la morbilidad y mortalidad según la especie afectada y los

huéspedes intervinientes. Desde el punto de vista de los hospedadores a los que infecta, las *Salmonelas* se pueden clasificar en tres grupos:

- **Las que no tienen preferencia por ningún hospedador en particular**, por lo que infectan tanto al hombre como a distintas especies de animales. En este grupo se encuentran todos los serotipos de *S. entérica* causantes de zoonosis.
- **Las que sólo están adaptadas al hombre y nunca causan enfermedad en los animales**: *S. typhi*, *S. paratyphi A* y *S. paratyphi C*. Se transmiten en forma directa o indirecta de una persona a otra.
- **Las que sólo están adaptadas a una determinada especie animal y rara vez causan enfermedad en el hombre**: *S. abortus ovis*, en ovinos; *S. abortus equi*, en equinos y *S. gallinarum*, en aves (Caffer y Terragno, 2001).

2.2.3.1. Serotipos frecuentes en la carne de pollo

Los serotipos más frecuentemente aislados de embutidos, corresponden a *Salmonella anatum* y *Salmonella agona*. Las vías de transmisión son múltiples, entre las cuales la más importante se refiere a los alimentos de origen animal. En las plantas faenadoras de aves, bovinos y cerdos, existe el peligro de contaminar la carne de estos animales con *Salmonella spp.*, en las distintas secciones de la planta faenadora (recepción, sacrificio, evisceración, envasado), por contaminación cruzada (Gimferrer, 2014).

Los diversos serotipos tienen diferentes grados de adaptación y patogenicidad para los humanos y las especies animales; por ejemplo, *Salmonella entérica* serotipo typhi y paratyphi causan enfermedades severas en humanos, conocidas como síndrome septicémico y fiebre tifoidea, pero estos serotipos no son patógenos para los animales. Así mismo, los serotipos *Salmonella gallinarum* y *abortus ovis* son, respectivamente, causantes de la tifoidea aviar y de abortos infecciosos en las ovejas, pero sólo ocasionalmente producen infecciones leves o asintomáticas en humanos. Existen, sin embargo, serotipos como *Salmonella choleraesuis* que causa enfermedad severa en cerdos, pero también puede causar enfermedad sistémica grave en humanos.

Los serotipos *Salmonella enteritidis* y *typhimurium* infectan tanto a humanos como a animales, pero en éstos, principalmente en los pollos, producen infecciones asintomáticas (Gilsetas *et al.*, 2002).

Salmonella heidelberg se observó como el serotipo más aislado en Brasil desde 1.962 en carne de ave y subproductos. En un estudio realizado en tres mataderos al sur de Brasil, detectaron un 37,7% y 20% de presencia de *Salmonella spp* en canales de aves antes y después de enfriadas respectivamente; de éstas el 63,9% resultaron *Salmonella Heidelberg* Dickel *et al.*, (2005). Sonali *et al.*, (2014), reporta en su trabajo “Modelo preventivo para la gestión de riesgos de *Salmonella spp* en carne de ave importada – Cuba”, que de un total de 3.132 muestras analizadas en siete años (2003-2009), fueron positivas a *Salmonella enterica* subsp, enterica 83 muestras (3,0 %). Los serotipos más frecuentes observados fueron *Salmonella Heidelberg* (18%), *Salmonella Emek* (14%), *Salmonella Agona* (11%), *Salmonella Enteritidis* (7%), *Salmonella Chester* (7%) y *Salmonella Banalia* (7%).

Salmonella ha sido establecida como una de las causas más importantes de enfermedad de transmisión alimentaria en el mundo. La enfermedad causada por esta bacteria se conoce como salmonelosis, la cual es una infección gastrointestinal causada por varios serotipos de *Salmonella* (se conoce con este nombre a las variedades de un mismo agente, éstas son determinadas por pruebas de laboratorio. *Salmonella* puede causar dos tipos de enfermedad, que dependen del serotipo, y se describen a continuación (Adams y Moss, 2008):

a) Salmonelosis no tifoideas:

Estas enfermedades son causadas por otros serotipos diferentes a *S. typhi* y *S. paratyphi A*. Los síntomas de Salmonelosis no-tifoidea son bastante desagradables, sin embargo esta enfermedad es autolimitante, es decir tiene un ciclo que comienza y termina en un tiempo programado, entre personas sanas con un sistema inmune intacto (aunque puede causar enfermedad grave aún en personas sanas) (Lampel, 2012).

- **Mortalidad:** Menor a 1%, sin embargo *S. enteritidis* tiene reportes de hasta 3.6% de mortalidad en brotes en hospitales y asilos, por lo que la gente anciana es afectada más severamente. Aparición: 6 a 72 horas después de la exposición.
- **Dosis infectante:** Tan baja como una célula, dependiendo de la edad y salud del huésped, así como de la cepa por las diferencias que existen entre miembros del mismo género.
- **Síntomas:** Nausea, vómito, dolores abdominales, diarrea, fiebre y dolor de cabeza.
- **Complicaciones:** Puede presentarse deshidratación y desbalance electrolítico como resultado de la diarrea y del vómito. Esto puede desencadenar la muerte en personas jóvenes, ancianos y personas inmunocomprometidas si no son tratadas inmediatamente. Otra presentación grave se puede presentar cuando *Salmonella* puede escapar del tracto gastrointestinal hacia el cuerpo y puede causar septicemia, por tanto ésta puede migrar a órganos internos y articulaciones.
- **Ruta de entrada:** oral (ingestión de alimento contaminado, partículas fecales o agua contaminada).
- **Vía:** Penetración en el organismo y paso de *Salmonella* del tracto gastrointestinal al epitelio del intestino delgado donde se presenta inflamación (Lampel, 2012).

b) Fiebre tifoidea

Enfermedad severa la cual posee un alto índice de mortalidad, causada por serotipos de *S. typhi* y *S. paratyphi A*, los cuales son encontrados solamente en humanos.

- **Mortalidad:** En pacientes no tratados, tan alta como 10%
- **Aparición:** Generalmente de 1 a 3 semanas, pero puede llegar a ser tan larga como 2 meses después de la exposición.

- **Dosis infectante:** Menor a 1000 células
- **Síntomas:** Fiebre elevada de 39.4 a 40°C, letargia, síntomas gastrointestinales que incluyen dolor abdominal, diarrea, constipación, dolor de cabeza, pérdida del apetito.
- **Duración:** Generalmente 2 a 4 semanas
- **Complicaciones:** Septicemia con colonización de otros tejidos y órganos, puede presentarse artritis séptica, en la cual la infección afecta directamente articulaciones y puede amenazar la vida. Puede ocurrir también infección crónica de la vesícula biliar, lo cual puede causar que la persona infectada se convierta en portadora.
- **Ruta de entrada:** Oral (ingestión de alimento contaminado, partículas fecales o agua contaminada).
- **Vía:** Penetración y paso de los microorganismos de *Salmonella* del lumen del tracto gastrointestinal hacia el epitelio del intestino delgado y de ahí al torrente sanguíneo, por lo tanto puede causar una septicemia, lo que puede producir que el microorganismo pase a otros sitios en el organismo, donde ocurre la inflamación (Lampel, 2012).

2.3. DIAGNÓSTICO DE SALMONELLA

La detección de *Salmonella* se realiza generalmente mediante el cultivo microbiológico, pero se han desarrollado diversos métodos rápidos, que se basan en las características inmunológicas y en la secuencia de bases de los nucleótidos en los ácidos nucleicos (Ray, 2010).

2.3.1. Cultivo

Comprende una fase de pre-enriquecimiento de la muestra en un caldo de nutrientes, seguida del enriquecimiento selectivo, en un medio de agar diferencial selectivo, así como la confirmación bioquímica y serológica (OIE, 2008).

a) Medios de preenriquecimiento

El número de salmonelas es normalmente bajo en las heces de animales asintomáticos, en muestras ambientales y en alimentos, por lo que es necesario utilizar medios de preenriquecimiento para facilitar el aislamiento, tal como el agua de peptona tamponada, medios comerciales como Salmoscyst® o el caldo universal de preenriquecimiento. Esto puede permitir que un escaso número de *Salmonella* se multiplique o puede ayudar a la recuperación de las que presentan daños subletales, debido a la congelación, el calentamiento, la exposición a las sustancias microbicidas o a la desecación (OIE, 2008).

b) Medios de enriquecimiento

Los medios de enriquecimiento son medios líquidos o semisólidos que contienen sustancias que permiten el crecimiento selectivo de las *Salmonelas* a la vez que inhiben el crecimiento de otras bacterias. La composición del medio, que puede variar de un proveedor a otro, o incluso en algunos casos de un lote a otro, la temperatura y la duración de la incubación, y el volumen de las muestras utilizadas como inóculo del medio, pueden servir para influir en la tasa de aislamiento, y se deben tener siempre en cuenta estas variables. Ejemplos de medios de enriquecimiento son: Rappaport–Vassiliadis (MSRV), Caldo Selenito Cistina, Caldo Trypticase de soya suplementado con sulfato ferroso, Caldo Tetracionato suplementado con bilis Verde Brillante o pastillas de suplemento selectivo comerciales como las Salmoscyst® de Merck (OIE, 2005; OIE, 2008).

c) Agares selectivos diferenciales

Estos medios usualmente contienen nutrientes, agentes selectivos y uno o más sistemas de reacciones diferenciales para distinguir las colonias de interés del resto de los microorganismos entre los medios selectivo-diferenciales usados se citan (Entis, 2002):

- **Agar verde brillante:** este medio ha sido suplementado con componentes antimicrobianos para aumentar su selectividad. Entre estos componentes se encuentran la sulfapiridina o sulfadiazina y la novobiocina

principalmente para inhibir a las bacterias del género *Proteus* (Waltman y Gast, 2008).

- **Agar mac conkey:** es inhibidor para los microorganismos no entéricos, diferencia microorganismos fermentadores de lactosa (colonias rosadas) de los no fermentadores de dicho azúcar (colonias transparentes). Es el medio de elección para el cultivo directo de tejidos (OIE, 2008).

- **Agar EF-18:** este medio de cultivo inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas y ciertas Gram-negativas, mientras que mejora el crecimiento de *Salmonella*. Las bacterias del género *Salmonella* se diferencian del resto de las enterobacterias por medio de la fermentación de sacarosa y descarboxilación de lisina (Van der Zee, 2003).

- **Agar xilosa-lisina-desoxicolato:** el desoxicolato presente en el medio inhibe las bacterias coliformes y permite la dispersión de colonias de *Proteus*, que pueden confundirse con las salmonelas. La forma de acción del medio se basa en que la degradación a ácido de la xilosa, lactosa y sacarosa produce un viraje del medio a amarillo por el indicador rojo fenol. El tiosulfato y el citrato férrico revelan la formación de ácido sulfhídrico por la precipitación de sulfuro de hierro en las colonias; esta reacción es inhibida en condiciones ácidas (Tate *et al.*, 1990).

- **Agar XLT4:** fue diseñado por el microbiólogo D. Miller por adición de tergitol 4 al medio base xilosa-lisina para el aislamiento de *Salmonella* en muestra de excretas avícolas. El tergitol tipo 4 es un surfactante que inhibe las especies de *Proteus*, *Pseudomonas* y *Providencia* (Yuño *et al.*, 1995).

2.3.2. Identificación de Colonias Sospechosas

Las colonias sospechosas se subcultivan en medios sólidos selectivos y no selectivos para asegurar la ausencia de posibles contaminantes como *Proteus spp.* Si hay un crecimiento abundante en cultivo puro, las colonias sospechosas se pueden probar por aglutinación en porta con sueros

polivalentes para la tipificación de *Salmonella*, sin embargo, deben someterse a pruebas bioquímicas para confirmar la identificación. Estas pruebas se pueden realizar con azúcares en agua de peptona o con sistemas comerciales (tales como el sistema Índice de Perfil Analítico [API]), la prueba OBIS o en medios compuestos (tales como el agar triple azúcar-hierro [TSI]). La identificación serológica, según el esquema de Kauffman y White, de los antígenos O y H, y en circunstancias especiales, del antígeno Vi, se realiza mediante aglutinación directa en porta o por aglutinación en tubo utilizando antisueros específicos (OIE, 2008).

2.3.3. Identificación Bioquímica

El crecimiento de colonias morfológicamente compatibles con *Salmonella sp.*, en los agares selectivos-diferenciales permite seleccionar las mismas para su posterior siembra en medios de cultivo para realizar distintas pruebas bioquímicas. El uso combinado del agar hierro tres azúcares (TSI) o agar Kligler (agar hierro dos azúcares) junto al agar lisina hierro (LIA) es generalmente suficiente para la identificación de la mayoría de las colonias sospechosas de *Salmonella*. Al menos tres colonias claramente separadas se transfieren a estos medios Waltman y Gast, (2008). En el caso del TSI la mayoría de las *Salmonellas* producen reacción alcalina (rojo) en el bisel y ácida (amarillo) en el fondo del tubo con producción de gas y H₂S que a menudo oscurece la reacción ácida. En el agar lisina hierro, *Salmonella* muestra descarboxilación de la lisina, con reacción alcalina en el bisel y alcalina en el fondo del tubo. La prueba de LIA es útil para diferenciar *Salmonella* de otras bacterias intestinales, tales como *Citrobacter sp* y *Proteus sp.*, ambas similares en TSI Waltman y Gast, (2008). En el caso de las aves, en donde predominan las bacterias del género *Proteus*, el agar urea (*Proteus* es positivo y *Salmonella* es negativa) es una prueba que permite diferenciar colonias de *Proteus* que son idénticas a las de *Salmonella* en algunos de los agares (Salmonella-Shigella, XDL, XLDT), pues ambas son lactosa negativas y productoras de sulfhídrico. Para la confirmación bioquímica, además de las pruebas bioquímicas comunes a todas las *Salmonellas*, deben realizarse pruebas específicas que permiten distinguir las biovariedades, como la prueba

de acidificación de tartrato de Jordan, Chacana y Terzolo, (2003). La prueba en agar citrato, se utiliza para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono. Esto conduce a la alcalinización del medio con cambio de color del indicador de pH, originando un color azul profundo (Merck, 2005).

El agar SIM (sulphídrico, indol, movilidad) pone de manifiesto la movilidad, la formación de sulfuro de hidrógeno y la producción de indol Caffer y Terragno, (2001). La movilidad se indica por la presencia de una turbidez difusa alrededor del punto de siembra; si las bacterias son inmóviles, el crecimiento ocurre sólo en la línea de punción. La formación del sulfuro de hierro se observa por un color negro en el área de crecimiento. Para la formación de indol, el medio es cubierto con el reactivo de Kovács. Éste genera un color rosado lo que indica una reacción positiva. La prueba de la β -galactosidasa demuestra la presencia o ausencia de esta enzima utilizando el compuesto orgánico o-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (Mac Faddin, 1980).

2.3.4. Métodos de Reconocimiento Inmunológicos y de Ácidos Nucleicos

Estos incluyen métodos basados en la conductancia/ impedancia eléctrica, en la separación inmunomagnética (IMS), en los enzimoimmunoensayos (ELISA), métodos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con sondas génicas, incluyendo la amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos (NASBA) y en la PCR en tiempo real. Muchos de estos métodos resultan más adecuados para el análisis de alimentos humanos pero no han sido validados para muestras fecales y ambientales (OIE, 2008).

2.3.5. Genotipificación

2.3.5.1. Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

La técnica de PCR es altamente sensible para la detección de ADN Fredericks y Relman, (1999). La región que va a ser amplificada es específica para los cebadores (primers) seleccionados Jasson et al., (2010). Rahn *et al.*, (1992)

utilizaron cebadores seleccionados a partir de la secuencia del gen *invA* y desde entonces éstos han sido usados en combinación con otros en PCR múltiples para la detección de *Salmonella* junto a otros patógenos. El gen *invA* está implicado en la capacidad del microorganismo para invadir las células epiteliales, y está presente en la mayoría de los serotipos de *Salmonella* Galán *et al.*, (1992). Existen numerosos juegos de primers cuyos sitios de amplificación son distintos del gen *invA* y, a través de los cuales, no sólo puede detectarse la presencia del patógeno, sino también la de otros genes de virulencia y resistencia a antibióticos Beutlich *et al.*, (2011). Agrón *et al.*, (2001) diseñaron un par de cebadores específicos para *S. Enteritidis*, estudiando distintos fragmentos de restricción del ADN presentes en dicho serotipo y ausentes en otras bacterias, estos cebadores llamados sdf I (por sus siglas en inglés *Salmonella* Different FragmentII) fueron útiles para la detección de aislamientos clínicos y ambientales de *S. Enteritidis*.

2.4. SISTEMA 3M PETRIFILM SALMONELLA EXPRESS

2.4.1. Descripción

En la industria de alimentos generalmente, el aislamiento y la identificación de *Salmonella* se realizan mediante métodos de cultivo tradicionales, que consisten en una serie de etapas tales como: pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo; enriquecimiento en medios líquidos selectivos; aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos; confirmación bioquímica de las colonias sospechosas; y confirmación serológica de dichas colonias, lo que hace que la técnica sea demorada, requiera demasiada mano de obra y puede generar una gran incertidumbre respecto a los resultados obtenidos. El sistema 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX) es una prueba cualitativa para la detección de patógenos que se usa para la detección rápida y confirmación bioquímica de *Salmonella* en muestras enriquecidas de alimentos y ambientes en plantas de alimentos. El sistema 3M™ Petrifilm *Salmonella* Express consiste en:

- **3M™ Enriquecimiento Base para Salmonella:** medio exclusivo (mezcla de nutrientes, mezcla selectiva) para la recuperación y el desarrollo de las especies de *Salmonella*.
- **3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella:** (combinación de agentes selectivos).
- **La Placa 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express:** Es un sistema con medio de cultivo cromogénico listo para el análisis que contiene bilis rojo violeta y un agente gelificante soluble en agua fría que es selectivo y diferencial para *Salmonella*, que permite proveer un resultado presuntivo.
- **El Disco de Confirmación 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express:** es un sustrato bioquímico (citrato, TSI, urea, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina) que facilita la confirmación bioquímica de los organismos *Salmonella* (3M Petrifilm, 2013).
- **Caldo de enriquecimiento para *salmonella rappaport-vassiliadis*:** El bajo pH del medio de cultivo combinado con la presencia de verde malaquita y la alta concentración de cloruro de magnesio, que incrementa la presión osmótica, tiene carácter selectivo para las especies de *Salmonella*. Composición; Cloruro de magnesio, cloruro de sodio, caseína peptona, fosfato de monopotasio, verde malaquita, agua desmineralizada (3M Petrifilm, 2013).

Color de la Colonia			Metabolismo de la Colonia		Resultado
Rojo	Rojo Oscuro	Marrón	Zona Amarilla	Burbuja de gas	
●			●		Presuntiva +
●				●	Presuntiva +
●			●	●	Presuntiva +
	●		●		Presuntiva +
	●			●	Presuntiva +
	●		●	●	Presuntiva +
		●	●		Presuntiva +
		●		●	Presuntiva +
		●	●	●	Presuntiva +

Figura 2. Interpretación de especies presuntivas positivas de *Salmonella* especies (3M Petrifilm, 2013).

2.4.2. Procedimiento (3M™ Petrifilm™ Salmonella Express System)

a) Suplemento para el medio

- 1) Pese asépticamente la cantidad apropiada del 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella.

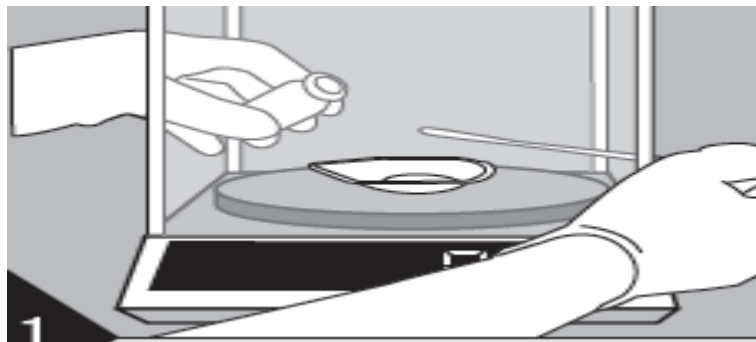


Figura 3. Pesado de Suplemento 3M (3M Petrifilm, 2013).

b) Procedimiento de Enriquecimiento

- 2) Agregue de manera aséptica el 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la cantidad apropiada de 3M Enriquecimiento Base para Salmonella, preparado y esterilizado en el autoclave.
- 3) Prepare la dilución del producto alimenticio. Pese o agregue con pipeta el producto alimenticio dentro de un contenedor estéril, tal como una bolsa para homogeneizador u otro contenedor.
- 4) Agregue una cantidad apropiada de la combinación de 3M Enriquecimiento Base para Salmonella más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la bolsa o el contenedor de la muestra.

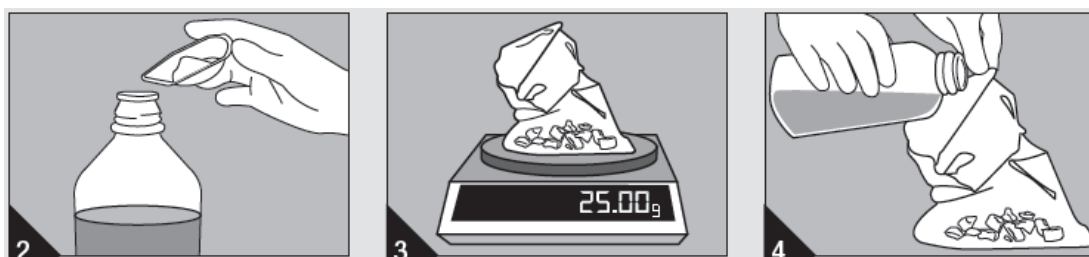


Figura 4. Procedimiento de enriquecimiento 3M (3M Petrifilm, 2013).

c) Procedimiento de enriquecimiento cont.

- 5) Mezcle u homogenice la muestra según el procedimiento actual.
- 6) Incube las muestras enriquecidas a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante de 18 a 24 horas.
- 7) Después de la incubación del enriquecimiento, transfiera 0,1 ml a 10 ml de R-V R10.
- 8) Incube el caldo R-V R10 a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ de 8 a 24 horas.

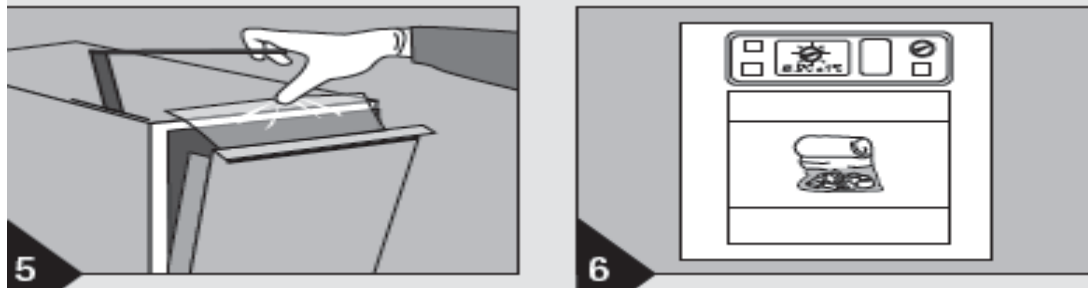


Figura 5. Procedimiento de enriquecimiento cont. (a) 3M (3M Petrifilm, 2013).

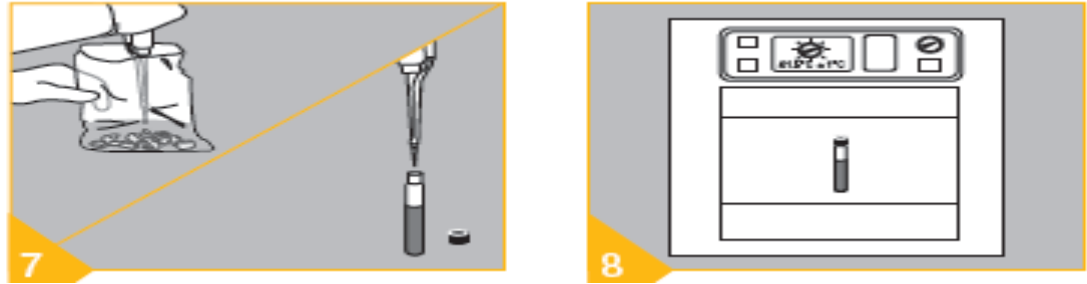


Figura 6. Procedimiento de enriquecimiento cont. (b) 3M (3M Petrifilm, 2013).

d) Procedimiento de hidratación

- 9) Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2,0 ml de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.
- 10) Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.
- 11) Coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Distribuya el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa 3M Petrifilm SALX antes de que se forme el gel. **No deslice el difusor a través de la película.**
- 12) Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante al menos 1 hora a temperatura ambiente (20–25 °C), protegida de la luz, para que se forme el gel.

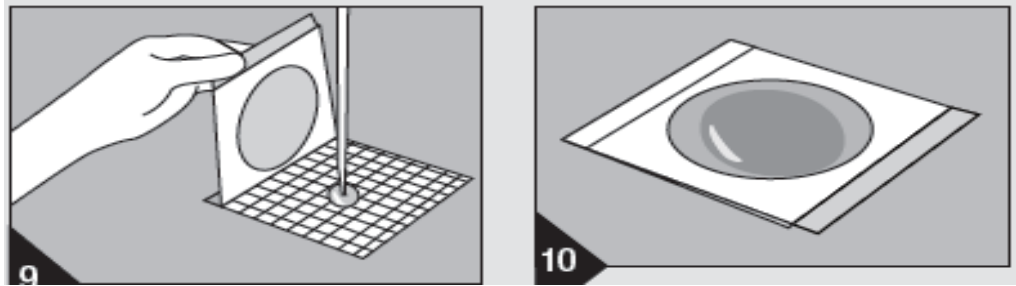


Figura 7. Procedimiento de Hidratación (a) 3M (3M Petrifilm, 2013).

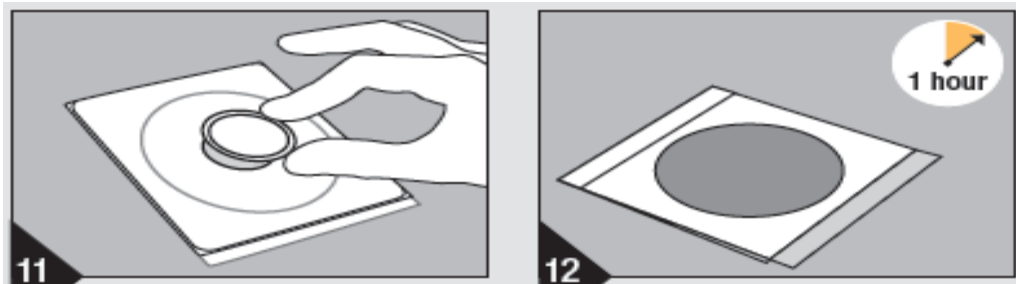


Figura 8. Procedimiento de Hidratación (b) 3M (3M Petrifilm, 2013).

e) Inoculación, incubación e interpretación de la placa

- 13) Use un asa estéril de 10 μL y retire un volumen completo de muestra a fin de sembrar por estriado en la placa.
- 14) Realice una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.

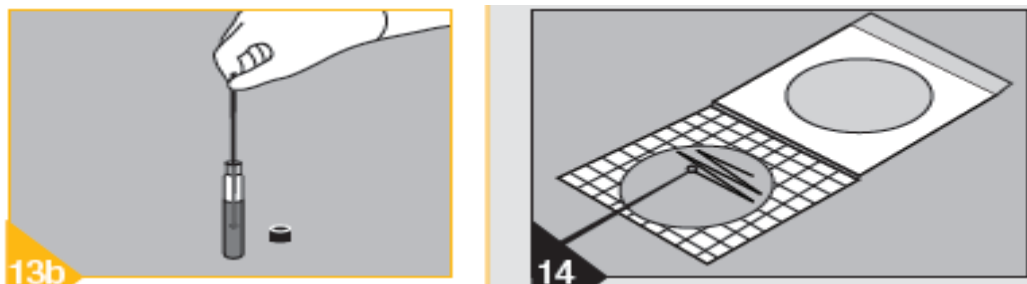


Figura 9. Inoculación, incubación e interpretación de la placa 3M (3M Petrifilm, 2013).

f) Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa cont.

- 15) Baje la película superior para cerrar la Placa 3M Petrifilm SALX. Asegúrese de que usar guantes.
- 16) Incube las placas a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante 24 ± 2 horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.
- 17) En la película superior de la Placa 3M Petrifilm SALX, marque con círculos las colonias aisladas presuntivas positivas de *Salmonella* usando un marcador permanente de punta fina.

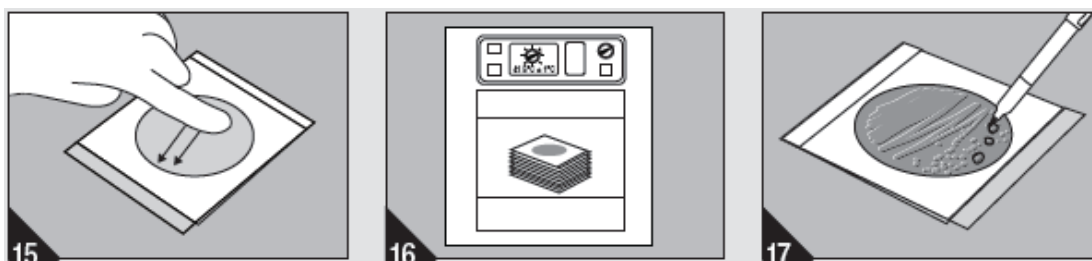


Figura 10. Inoculación, incubación e interpretación de la placa cont. 3M (3M Petrifilm, 2013).

g) Confirmación Bioquímica

- 18) Asegúrese de que usa guantes y deslice suavemente sus dedos con un movimiento de barrido a una presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación, y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.
- 19) Incube el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express (placa y disco) a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ de 4 a 5 horas.
- 20) Retire el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express de la incubadora y proceda a leer los resultados (3M Petrifilm, 2013).

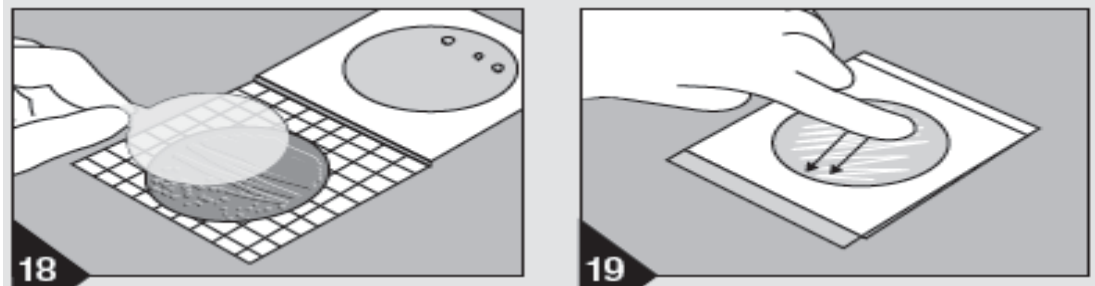


Figura 11. Confirmación Bioquímica (a) 3M (3M Petrifilm, 2013).

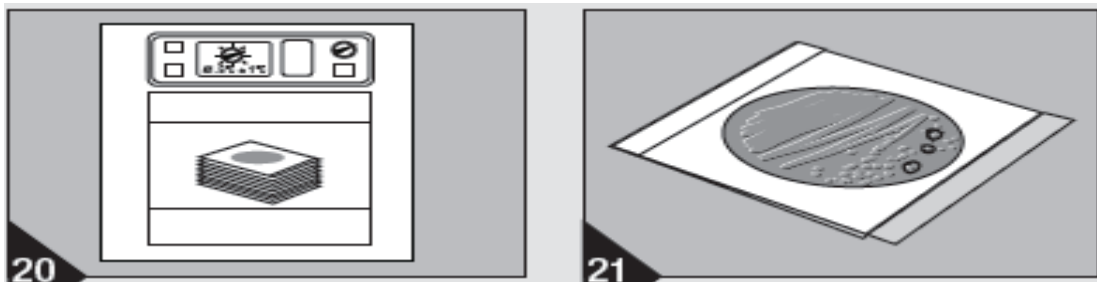


Figura 12. Confirmación Bioquímica (b) 3M (3M Petrifilm, 2013).

2.5. SALMONELLA Y LA AVICULTURA

En la avicultura el principal riesgo de *Salmonella* es cuando existe un estado sanitario deficiente en los alojamientos, y se descuidan la salud de los animales, la calidad del alimento, agua y material de cama, así como la presencia de fauna nociva y la entrada de vehículos contaminados. Cuando se introduce *Salmonella* a las granjas se propaga rápidamente a través de polvo, heces que arrastran los trabajadores dentro de la granja y contaminación del agua. Este microorganismo se establece rápidamente en las superficies de la caseta y se mantiene gracias a la formación de biocapas (biofilms) (Marin *et al.*, 2009).

Marin *et al.*, (2009) evaluó el desarrollo de biofilms a lo largo de la crianza de pollo de engorda mediante un método de fluorescencia para determinar la presencia de *Salmonella*. Se tomaron muestras de heces, polvo, superficies, tanque de agua, bebederos, basura y superficies de los camiones de transporte. El serotipo más frecuentemente aislado fue *Salmonella enteritidis* y alrededor 50% de los serotipos fueron capaces de producir biofilm. Se observó que el uso de glutaraldehído, formaldehído, y de peróxigeno al 1%

en condiciones de campo son insuficientes para la eliminación de *Salmonella*. Se ha observado que *Salmonella enteritidis*, *Salmonella seftenberg*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella braenderup* y *Salmonella mikawasima* aislados de pollo de engorda y gallinas de postura tiene la capacidad de formar biofilms muy resistentes.

La alta prevalencia de *Salmonella* en productos avícolas ha llevado a varios estudios para reducir la contaminación de los alimentos. El uso de bacterias ácido lácticas ha tenido éxito en la reducción de diversos patógenos en carne molida de res y ganado. Para evitar la transmisión deben tomarse medidas en el manejo de los animales en granja, incluyendo adecuados sistemas de cría, medidas de protección para agua y alimento, con lo que se evita su contaminación, y se logra la disposición higiénica de desperdicios y el mantenimiento de un ambiente limpio. Asimismo es importante evitar la transferencia de *Salmonella* entre los animales, ya que situaciones donde estos son sometidos a condiciones de estrés y hacinamiento, tales como el transporte o la espera en andén de las parvadas para su entrada a la planta de procesamiento, aumentan las posibilidades de transmisión de la enfermedad. Por lo que siempre será mejor minimizar estos efectos, al evitar las situaciones estrés, así como asegurando ambientes limpios (Admans y Mos, 2008).

Un factor importante por el que se ha mantenido el ciclo de infección por *Salmonella* en el alimento para animales ha sido la práctica de usar sub-productos de animales para elaborarlo, tales como pastas de carne y hueso. Por lo tanto es fundamental someter a estos productos a procesos térmicos para destruir cualquier *Salmonella* presente. Sin embargo, es importante considerar que pueden quedar sujetos a contaminación post-proceso, ya sea en la planta o en la granja, por contacto con material no-procesado, con aves, o heces de roedores u otra fauna (Admans y Mos, 2008).



Figura 13. Ave tratando de eliminar calor a través del jadeo, favorece la presentación de estrés y por lo tanto el inicio de problemas de calidad de la carne, desde el punto de vista bioquímico y microbiológico (Castañeda *et al.*, 2013).

Un factor importante por el que se ha mantenido el ciclo de infección por *Salmonella* en el alimento para animales ha sido la práctica de usar sub-productos de animales para elaborarlo, tales como pastas de carne y hueso. Por lo tanto es fundamental someter a estos productos a procesos térmicos para destruir cualquier *Salmonella* presente. Sin embargo, es importante considerar que pueden quedar sujetos a contaminación post-proceso, ya sea en la planta o en la granja, por contacto con material no-procesado, con aves, o heces de roedores u otra fauna (Admans y Mos, 2008).

2.5.1. Control de *Salmonella spp* en Carne de Pollo

Moreno y García, (2006) comparten criterios con lo especificado en el CODEX ALIMENTARIUS, sobre las medidas de control para *Salmonella* en el proceso de faenado de pollos. Donde se aprecia un mayor riesgo a contaminación de *Salmonella* dependiendo la fase del proceso.

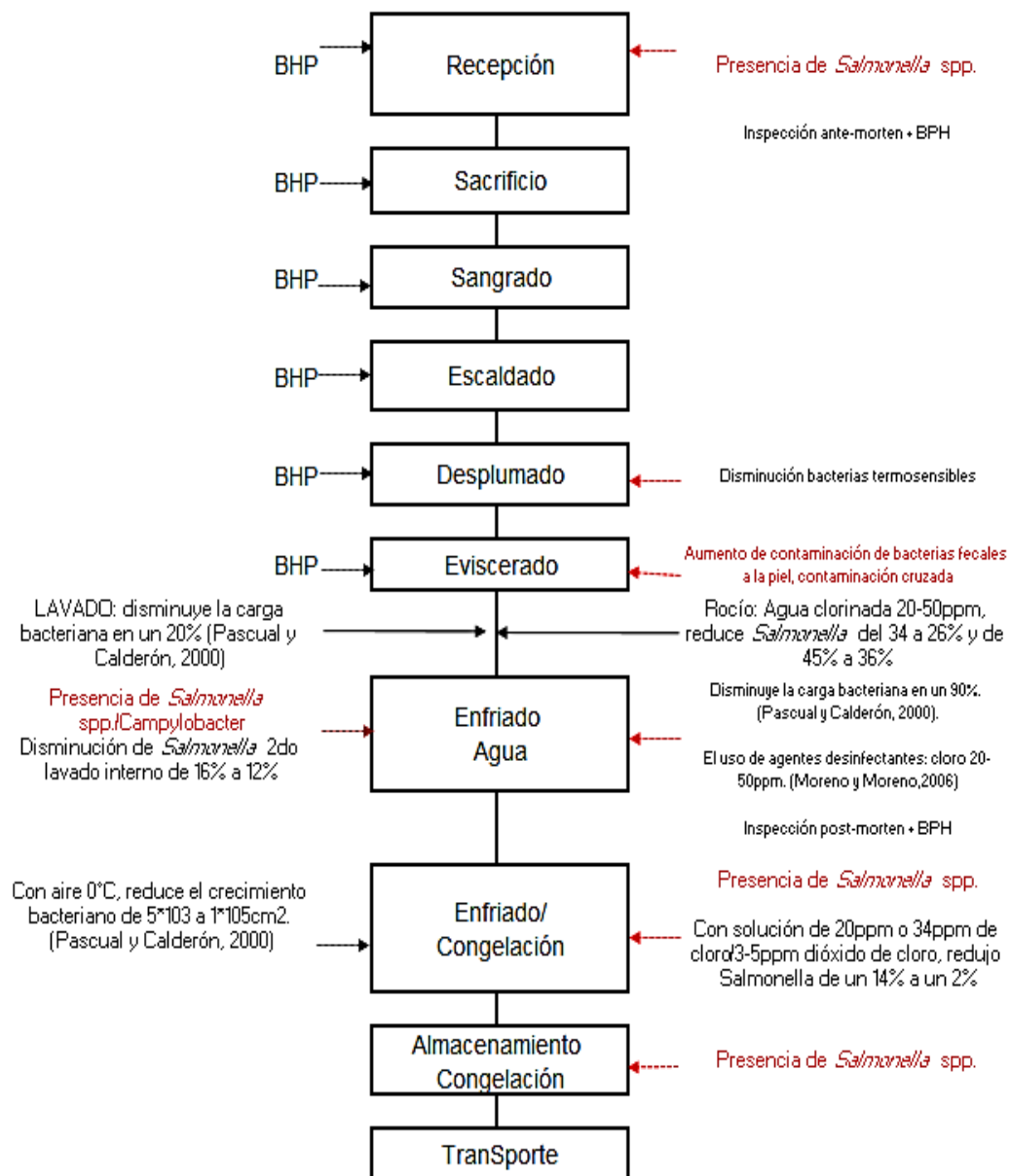


Figura 14. Diagrama del proceso de faenado de pollo (Buitrón, 2015).

Para la comercialización del pollo, como etapa final del proceso, de igual manera se detalla las áreas de mayor riesgo y las medidas posibles para disminuir la contaminación por *Salmonella* (CODEX, 2011).

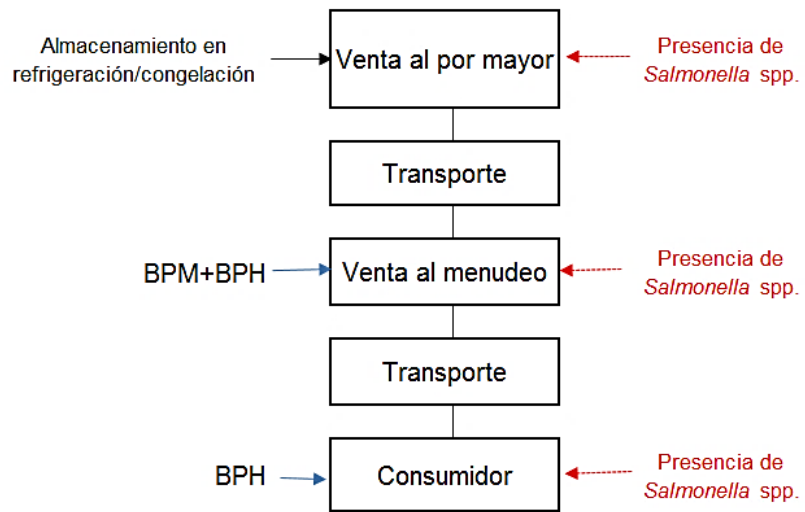


Figura 15. Proceso de comercialización del pollo (Buitrón, 2015).

Kopper *et al.*, (2009) recomiendan algunas prácticas para lograr la inocuidad de los alimentos, como en el caso de la carne de pollo.

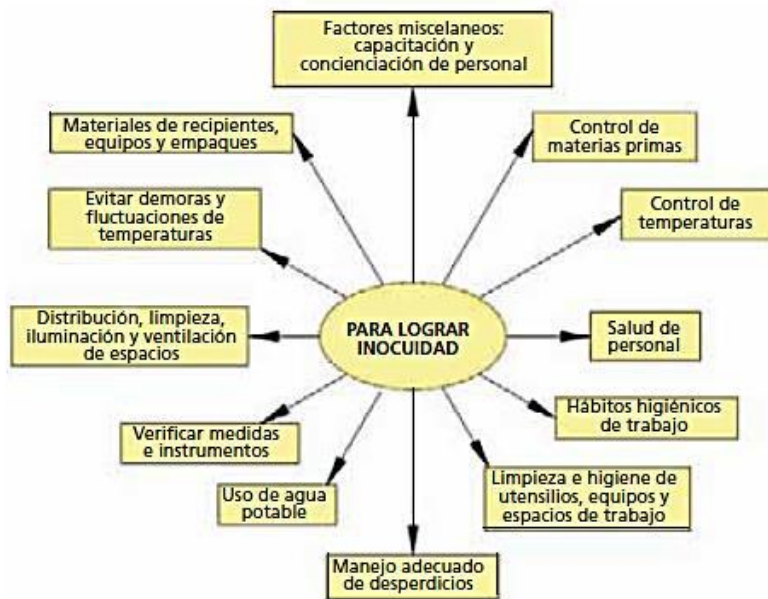


Figura 16. Prácticas de inocuidad en carne de pollo (Buitrón, 2015).

2.6. TRABAJOS SIMILARES

Palma, D. (2013) realizó la “**EVALUACIÓN FÍSICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE DE POLLO QUE SE EXPENDE EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA**” en 208 muestras. Los resultados obtenidos fueron: ausencia de *Salmonella spp*; presencia de Estafilococos Aureus (56,05%); Echerichia Coli (40,53%); Mesófilos (49,4%); Clostridium (5,35%). Además realizó un análisis físico de la carne donde obtuvo el 57,69% color rosado, apariencia normal 65,07% y el 59,61% de muestras con olor bueno.

Buitrón, D. (2015) efectuó la “**DETERMINACIÓN DE *Salmonella spp.* EN CARNE FRESCA DE POLLO COMERCIALIZADA EN MERCADOS DEL CANTÓN SANTO DOMINGO**”. En 45 establecimientos pertenecientes a dos mercados se analizaron 31 muestras de la parte superior e inferior de la canal, 15 del Mercado Municipal y 16 del Mercado Unión y Progreso. El 66% de las muestras del Mercado Municipal y el 62% de las correspondientes al Mercado Unión y Progreso.

Hatzumi *et al.*, (2013) realizaron la “**DETERMINACIÓN DE *Salmonella spp* EN CENTROS DE BENEFICIO CLANDESTINO DE POLLOS DE ENGORDE EN LIMA, PERÚ**”. En 17 centros de beneficio clandestino colectaron muestras de superficie corporal, mediante el método de enjuague, y muestras de hisopado cloacal de 170 aves. El 23,5% de las muestras de superficie corporal y el 32,4% de muestras de hisopado cloacal fueron positivas a *Salmonella spp*, sin que hubiera diferencias entre centros de beneficio donde el proceso finaliza con el desplumado o donde finaliza con el eviscerado.

Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, (2011) en su informe técnico sobre “**PREVALENCIA DE *SALMONELLA SPP.* EN CARNES FRESCAS Y SUBPRODUCTOS DE POLLO, COSTA RICA**”. Menciona que al evaluar 273 muestras de carne de pollo fresco, detectó 14,3% positivas a *Salmonella* resultando más prevalentes *Salmonella Java* 38,3%, *Salmonella Kentucky* 23,1%, *Salmonella Oranienburg* 17,9% y *Salmonella Agona* 10,3%.

Luguori y comba, (2014) efectuaron la **“DETECCIÓN DE *Salmonella* EN CARNE DE POLLO PARA CONSUMO HUMANO DE LA CIUDAD DE ROSARIO”** donde en los resultados preliminares reportan la ausencia de dicho patógeno en las 31 muestras analizadas.

Molina *et al.*, (2010) realizaron el estudio denominado **“INDICADORES DE CALIDAD SANITARIA Y FENOTIPIFICACIÓN DE *Salmonella entérica* AISLADA DE POLLO CRUDO COMERCIALIZADO EN EL ÁREA URBANA DE MÉRIDA, VENEZUELA”** donde al evaluar 45 muestras de pollo crudo aislaron el 20% de *Salmonella entérica*. Las serovariedades Heidelberg y Enteritidis fueron las más frecuentes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materiales de Campo

- 72 muestras de carne de pollo, cada una con peso de 250 g
- Registro
- Marcadores
- Esfero
- Cooler
- Mandil
- Guantes
- Fundas estériles tipo Ziploc

3.1.2. Materiales de Laboratorio

- Autoclave
- Estufa
- Balanza electrónica
- Mechero de bunsen.
- Tubos de ensayo con tapón de 10 ml
- Erlenmeyer de 1000ml
- Pipetas de 1ml
- Espátula
- Gradilla
- Guantes
- Hoja con tabla de control y registro
- Agua destilada
- Sistema 3M petrifilm Salmonella express
- Caldo Rappaport–Vassiliadis (RV-10)
- pH metro digital
- Algodón y gasas

- Micropipeta
- Bisturí

3.1.3. Materiales de Oficina

- Computadora
- Internet
- Calculadoras
- Lápiz

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Ubicación

El presente trabajo investigativo se ejecutó en la ciudad de Loja, que cuenta con las siguientes características meteorológicas:

- **Altitud:** 2160 msnm.
- **Latitud:** -04° 03.
- **Longitud:** -79° 20.
- **Temperatura promedio:** 16 – 18°C

Fuente: INAMHI: Centro de meteorología de la Argelia (2010)

3.2.2. Delimitación del Área de Estudio

El trabajo se realizó en los sitios de expendio de las principales ferias libres de cuatro parroquias urbanas del Cantón Loja, las cuales se detallan a continuación:

Cuadro 2. Delimitación de área de estudio.

FERIAS LIBRES	PARROQUIA	DÍA COMERCIALIZACIÓN
La tebaida	Punzara	Sábado
San Sebastián	San Sebastián	Domingo
Las pitas	Carigán	Jueves y Sábado
Mayorista	El Valle	Sábado y Domingo

Fuente: El autor.

3.2.3. Tamaño de la Muestra

Según Murray y Larry, (2005) para determinar el tamaño de la muestra para poblaciones desconocidas o infinitas se emplea la siguiente formula:

$$n = \frac{Za^2 \cdot p \cdot q}{i^2}$$

Donde:

n = tamaño muestral

Z = valor correspondiente a la distribución de gauss, $z\alpha = 0.05 = 1.96$ y $z\alpha = 0.01 = 2.58$

p = prevalencia esperada del parámetro a evaluar, en caso de desconocerse ($p = 0.5$)

q = $1 - p$ (si $p = 70 \%$, $q = 30 \%$)

i = error que se prevé cometer si es del 10% , $i = 0.1$

En nuestro caso se aplicó la formula tomando en cuenta un nivel de confianza del 95% por lo que $Z = 1.96$; una prevalencia estándar del 3% por lo que $p = 0.03$ por lo tanto $q = 0.97$; con un margen de error del $4\% = 0.04$; Datos con los que se obtiene un tamaño muestra $n = 70$ como mínimo. Se decidió trabajar con un número de 72 muestras para ajustarlas al número de semanas y al número de ferias libres en las cuales se recolectaron.

Cuadro 3. Tiempo de trabajo y cantidad de muestra.

Muestras por feria libre					
Semana	San Sebastián	La tebaida	Las pitas	Mayorista	Total
1	3	3	3	3	12
2	3	3	3	3	12
3	3	3	3	3	12
4	3	3	3	3	12
5	3	3	3	3	12
6	3	3	3	3	12
7	Confirmación bioquímica de presuntas positivas				
8					
	18	18	18	18	72

Fuente: El autor.

3.2.4. Variables en Estudio

- Presencia de *Salmonella spp.*
- Condiciones sanitarias de faenamiento casero (encuesta).
- Análisis físico de la carne: color, olor, apariencia y pH
- Determinación de la especie de *Salmonella* mediante pruebas bioquímicas
- Genotipificación

3.2.5. Toma de Muestras

La toma de muestras se llevó a cabo los días sábados y domingos en horarios de 09H00 a 12H00. Se realizó un muestreo aleatorio simple. Se obtuvieron muestras de pechuga, pierna y pospierna con un peso promedio de 250 g \pm 10. Posteriormente se colocaron en bolsas estériles tipo ziploc y mantenidas en refrigeración (\sim 4°C) hasta ser transportadas al laboratorio.

3.2.6. Condiciones Sanitarias de Faenamiento Casero (encuesta)

La encuesta (anexo 1) se la aplicó a cada comerciante de carne de pollo de donde se obtenían las muestras para el estudio.

3.2.7. Análisis de la Muestras

El análisis correspondiente se realizó en el “Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario” de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja.

3.2.7.1. Análisis físico de la carne de pollo

a) Color

Para determinar el color se procedió a retirar la piel, posteriormente se comparó cada muestra con un patrón de escala descriptiva visual de color de carne de pollo de American Meat Science Asociation 2012. Se clasifico en una escala de 1 a 5 como se muestra a continuación:

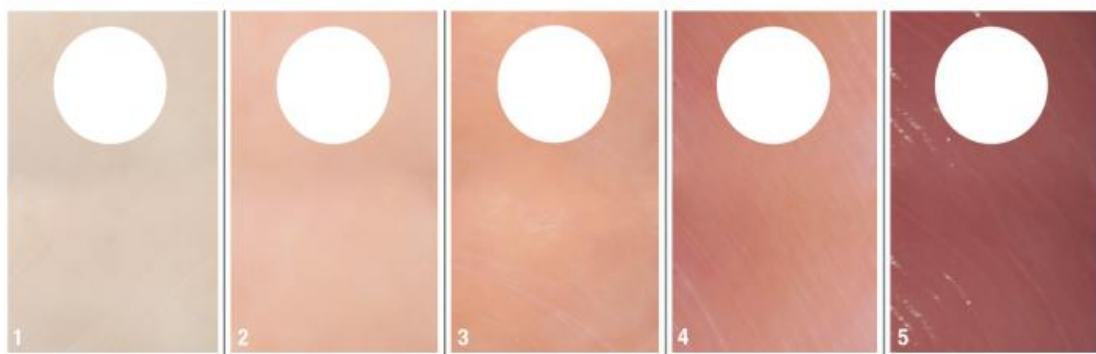


Figura 17. Patrón de escala descriptiva para evaluación visual de color en carne de pollo (American Meat Science Asociation, 2012).

b) Olor

Se evaluó tomando cada una de las muestras aun estando dentro de la funda estéril tipo ziploc, posteriormente se abrió la funda y mediante percepción olfatoria directa se clasificaba cada muestra en agradable (Sui-generis) o extraño.

c) Apariencia

Se evaluó en forma visual en cada una de las muestras, y fueron clasificadas en normal y anormal.

d) pH

Se determinó con la ayuda de un pH metro digital. La lectura de pH se realizó 1 hora pos recolección de muestras.

3.2.7.2. Determinación de *Salmonella spp*

Para la detección de salmonella se utilizó el sistema 3MTM Petrifilm™ Salmonella Express.

Procedimiento:

a) Procedimiento de Enriquecimiento

- 1) Pesar asépticamente 37g de 3M Caldo Base Salmonella y suspender en 1000 ml de agua destilada. Homogenizar el medio y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.
- 2) Pesar asépticamente 0,050mg de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella. Agregue el suplemento al 3M Enriquecimiento Base preparado anteriormente una temperatura de 41,5°C, luego homogenizar el medio.
- 3) Pesar 25g de carne y colocarla en una bolsa estéril ziploc.
- 4) Agregue 225ml de la combinación de 3M Enriquecimiento Base más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la bolsa o el contenedor de la muestra. Mezcle u homogenice durante 5 minutos.
- 5) Incube las muestras enriquecidas a 41,5° ± 1 °C durante de 18 a 24 horas.
- 6) Preparar el caldo R-V R10: pesar 26,8g de R-V R10 y suspender en 1000ml de agua destilada. Homogenizar y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.
- 7) Después de la incubación del enriquecimiento, transfiera 0,1 ml a 10 ml de R-V R10 preparado con anterioridad.
- 8) Incube el caldo R-V R10 a 41,5° ± 1°C de 8 a 24 horas.

b) Procedimiento de hidratación de placa 3M

- 9) Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2,0 ml de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.
- 10) Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire y coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa.
- 11) Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante al menos 1 hora a temperatura ambiente (20–25 °C), protegida de la luz, para que se forme el gel.

c) Inoculación, incubación e interpretación de la placa

- 12) Use un asa estéril de 10 µL y retire un volumen completo de muestra del R-V R10 y realice una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.
- 13) Baje la película superior para cerrar la Placa 3M Petrifilm SALX.
- 14) Incube las placas a 41,5°C durante 24 ± 2 horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.
- 15) En la película superior de la Placa 3M Petrifilm SALX, marque con círculos las colonias aisladas presuntivas positivas de *Salmonella* usando un marcador permanente de punta fina.

d) Confirmación Bioquímica

- 16) Tomar un Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX y permitir que llegue a temperatura ambiente. Abra el paquete para exponer la lengüeta del disco, júlela y retire el disco. Levante la película superior (con las colonias presuntivas de *Salmonella* ya marcadas) de la Placa 3M Petrifilm SALX e inserte el disco sobre el gel en forma tal que se evite atrapar burbujas de aire. Cierre la placa.

- 17) Deslice suavemente sus dedos con un movimiento de barrido a una presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación, y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.
- 18) Incube el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express (placa y disco) a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ de 4 a 5 horas.
- 19) Retire el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express de la incubadora y proceda a leer los resultados.

3.2.8. Pruebas Bioquímicas y Genotipificación

No se realizó estas variables debido a que no se evidencio la presencia de *Salmonella* en las muestras analizadas.

4. RESULTADOS

La tabulación de datos sobre las encuestas se realizó mediante el programa EXCEL 2013. En lo referente al análisis de datos de color, olor, pH, apariencia y prevalencia de *Salmonella spp* se utilizó el programa estadístico SAS University Edition 2016.

4.1. PRESENCIA DE *Salmonella spp* EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS

Realizados los análisis microbiológicos para detección de *Salmonella spp* en las 72 muestras se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuadro 4. Resultados de detección de *Salmonella spp* en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.

Procedencia (Feria libre)	Muestras analizadas	Muestras sospechosas	Muestras confirmadas bioquímicamente	Resultado definitivo
La Tebaida	18	3	0	Negativo
San Sebastián	18	5	0	Negativo
Mayorista	18	4	0	Negativo
Las Pitas	18	5	0	Negativo
Total	72	17	0	Negativo

Fuente: El autor.

El cuadro cuatro nos expresa que se encontraron en total diecisiete muestras (23,61%) sospechosas a presencia de *Salmonella spp*, de las cuales 3 pertenecen a la feria La Tebaida, 5 a San Sebastián, 4 al Mayorista y 5 a Las Pitas, muestras que fueron sometidas a prueba de confirmación bioquímica como lo indica el método 3M Petrifilm Salmonella express obteniéndose un resultado 100% negativo.

4.2. PREVALENCIA E INTERVALO DE CONFIANZA DE *Salmonella spp* EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS

Cuadro 5. Prevalencia e intervalo de confianza de *Salmonella spp* en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.

Procedencia (Feria libre)	Muestras analizadas	Positivos	Prevalencia %	Intervalo de confianza 95%
Tebaida	18	0	0	0 - 17,8
San Sebastián	18	0	0	0 - 17,8
Mayorista	18	0	0	0 - 17,8
Las Pitas	18	0	0	0 - 17,8
Total	72	0	0	0 - 4,95

Fuente: El autor

El cuadro cinco expresa la prevalencia e intervalo de confianza (IC) referente a la presencia de *Salmonella spp* en carne de pollo, donde todas las ferias libres presentan una prevalencia de 0 % e IC de 0 – 17,8% por cada 18 muestras. Así como una prevalencia de 0% e IC 0 – 4,95% para el total de las 72 muestras.

4.3. CONDICIONES SANITARIAS DE FAENAMIENTO CASERO

Se realizaron un total de setenta y dos encuestas, divididas en 18 para cada una de las ferias libres (La Tebaida, San Sebastián, Mayorista y Las Pitas) donde se obtuvieron los siguientes resultados.

4.3.1. Uso de Indumentaria Adecuada para Faenamiento de las Aves

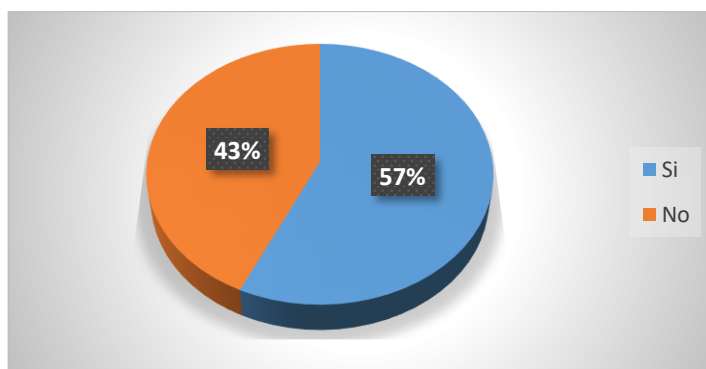


Figura 18. Uso de indumentaria adecuada para faenamiento de aves que se comercializan en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja (El autor).

El 57% de los encuestados afirma que si usa indumentaria adecuada para el faenamiento de las aves; mientras que el 43% restante no utiliza la indumentaria básica para el efecto.

4.3.2. Desinfección de Utensilios de Faenamiento

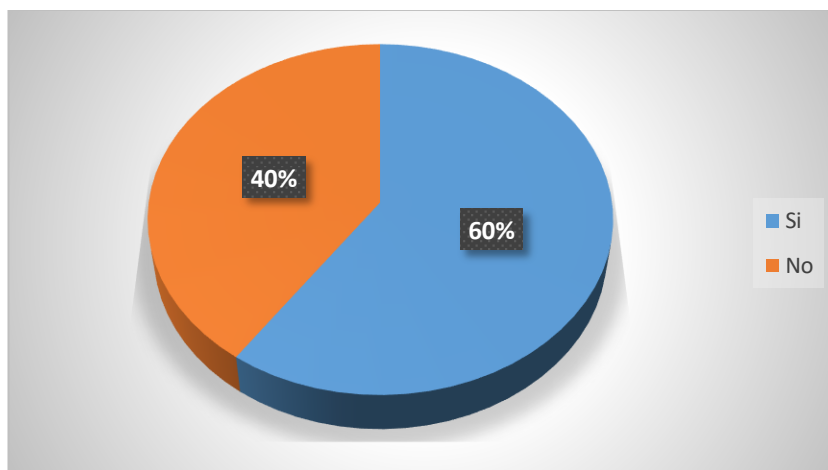


Figura 19. Desinfección de utensilios de faenamiento de aves comercializadas en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja. (El autor).

En la figura 19 se observa que 60% de los comerciantes si realiza desinfección de utensilios; mientras que el 40% restante nunca realiza una adecuada desinfección de dichos utensilios.

4.3.3. Recipientes para Almacenamiento de Carne en los Puntos de Venta

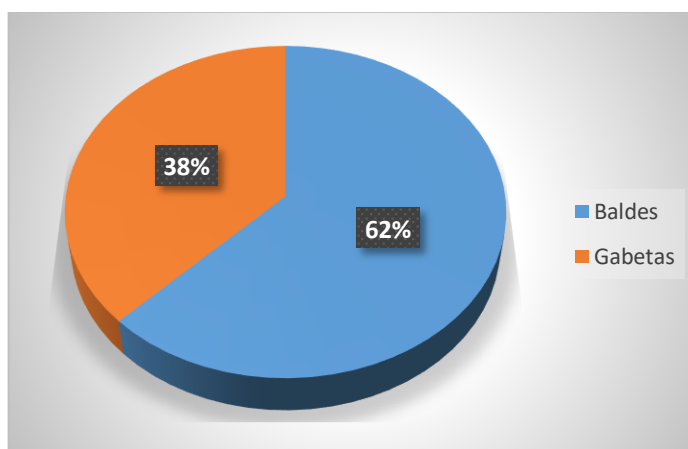


Figura 20. Recipientes para almacenamiento de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja. (El autor).

En la figura veinte se observa que el 62% de comerciantes almacena la carne de pollo simplemente en baldes plásticos y el 38% restante lo realiza en gavetas plásticas.

4.3.4. Aplicación de Cadena Frio Durante Transporte de la Carne Hasta los Puntos de Venta

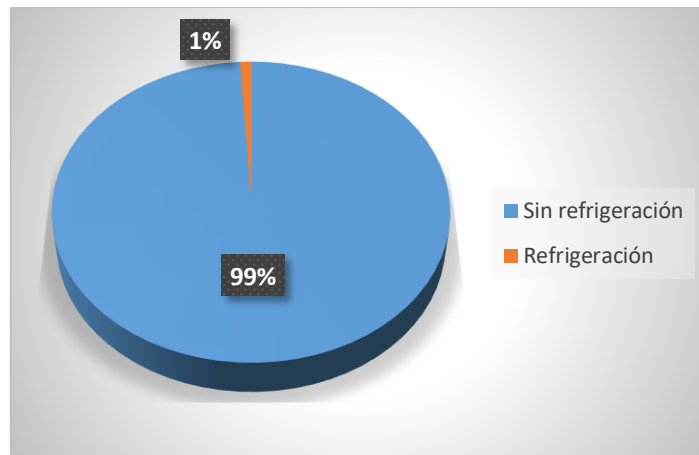


Figura 21. Aplicación de cadena frío durante transporte de la carne hasta los puntos de venta en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja (El autor).

Con respecto a la aplicación de cadena de frío durante el transporte de la carne hasta los puntos de venta, el 99% de los comerciantes transportan la misma sin refrigeración; y el 1% lo hace mediante refrigeración.

4.4. ANÁLISIS FÍSICO DE LA CARNE DE POLLO

4.4.1. Color

Se clasificó en escala de 1 a 5, de acuerdo a la Escala Visual de Color en Carne de Pollo de (American Meat Science Association 2012). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuadro 6. Promedio de color de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.

Procedencia (Feria libre)	Muestras analizadas	Color (Escala 1 – 5)
Mayorista	18	2,72
La Tebaida	18	2,67
Las Pitas	18	2,61
San Sebastián	18	2,67
Total	72	
P-valor	0,98	

Fuente: El autor.

El cuadro seis expresa los valores promedio de color en carne de pollo, donde la feria libre Las Pitas presenta el valor más bajo 2,61. La Tebaida y San Sebastián con 2,67. Mientras que el promedio más elevado 2,72 corresponde a la feria libre Mayorista. De igual manera el promedio general de color es 2,67 (rosado intenso). Así mismo el P-valor obtenido 0,98 expresa que no existe diferencia significativa de color por entre las ferias libres.

4.4.2. Olor

El olor de cada muestra se evaluó por percepción olfatoria directa y fue clasificado en agradable o extraño.

Cuadro 7. Olor de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.

Procedencia (Feria libre)	Muestras analizadas	Agradable (Sui-generis)		Extraño	
		Valor	Porcentaje %	Valor	Porcentaje %
Mayorista	18	18	100	0	0,00
La Tebaida	18	18	100	0	0,00
Las Pitas	18	18	100	0	0,00
San Sebastián	18	16	88,9	2	11,1
Total	72	70	97,22	2	2,78
P-valor			1,00		

Fuente: El autor.

El cuadro siete hace referencia al olor de la carne pollo, donde solo la feria libre de San Sebastián presenta dos muestras (11,1%) con olor extraño, mientras que las demás ferias libres presentan en su totalidad un olor agradable. El P-valor estadístico afirma que no hay diferencia significativa.

4.4.3. Apariencia

Se evaluó en forma visual directa en cada una de las muestras, y fueron clasificadas normal y anormal.

Cuadro 8. Apariencia de carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.

Procedencia (Feria libre)	Muestras analizadas	Normal		Anormal	
		Valor	Porcentaje %	Valor	Porcentaje %
Mayorista	18	18	100,0	0	0,00
La Tebaida	18	15	83,3	3	16,7
Las Pitas	18	18	100,0	0	0,00
San Sebastián	18	16	88,9	2	11,1
Total	72	67	93,06	5	6,94
P-valor			0,97		

Fuente: El autor.

El cuadro ocho nos muestra la apariencia de carne de pollo, donde la feria libre El Mayorista y las Pitas presentan en su totalidad una apariencia normal en las muestras analizadas, mientras que la Tebaida presenta tres muestras (16,7%) y San Sebastián dos (11,1%) con apariencia anormal.

4.4.4. pH

Se evaluó con pH metro digital. La lectura se ejecutó una hora pos recolección de las muestras.

Cuadro 9. Valores promedio de pH en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón Loja.

Procedencia (Feria libre)	Muestras analizadas	pH Media
Mayorista	18	5,95
La Tebaida	18	5,99
Las Pitas	18	6,00
San Sebastián	18	6,00
Total	72	
Promedio general de pH		5,98
P-valor	0,93	

Fuente: El autor.

El cuadro nueve expresa los valores promedio de pH, donde la feria libre El Mayorista presenta el promedio más bajo 5,95. La Tebaida con 5,99. Mientras que el promedio más elevado 6,00 corresponde a las ferias libres San Sebastián y las Pitas. Así mismo el pH general de la carne de pollo es 5,98. De igual forma el P-valor expresa que no existe diferencias significativas de pH entre las ferias libres.

5. DISCUSIÓN

5.1. PRESENCIA DE *Salmonella spp.*

Pese a que se llevó a cabo un protocolo microbiológico que favorece el desarrollo selectivo de *Salmonella spp* a partir de muestras de alimentos, en la presente investigación no se evidenció su presencia en las muestras analizadas, coincidiendo con resultados obtenidos por Palma, (2013) quien realizó la “Evaluación física y microbiológica de la carne de pollo que se expende en los mercados de la Ciudad de Loja, Ecuador”, de igual manera Luguori y Comba, (2014) en su trabajo “Detección de *Salmonella* en carne de pollo para consumo humano de la Ciudad de Rosario, Argentina” afirman la ausencia de dicho patógeno.

Sin embargo otros estudios similares como el de Buitrón, (2015) denominado “Determinación de *salmonella spp* en carne fresca de pollo comercializada en mercados del cantón Santo Domingo, Ecuador”, afirma la presencia de *Salmonella spp* en un 62% de las muestras analizadas.

Noreldy Molina *et al.*, (2010) en su trabajo “Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella entérica* aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela” aislaron el 20% de *Salmonella entérica* en las muestras analizadas, donde las serovariedades *heidelberg* y *enteritidis* fueron las más frecuentes.

Así mismo el Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, (2011) en su informe técnico sobre “Prevalencia de *salmonella spp*, en carnes frescas y subproductos de pollo” al evaluar 273 muestras detectó 14,3% positivas a *Salmonella*. Resultados que difieren completamente a los obtenidos en la presente investigación.

5.2. CONDICIONES SANITARIAS DE FAENAMIENTO CASERO

De acuerdo a la información obtenida por medio de la encuesta se evidencia que no se está efectuando BPM (buenas prácticas de manufactura) por parte de los comerciantes. En efecto el 43% no usa equipo básico de faenamiento (botas, guantes, mandil); 40% no realiza esterilización de utensilios (cuchillos, bandejas, ollas); 99% transporta la carne hasta los sitios de venta sin refrigeración y el 62% utiliza baldes plásticos para almacenamiento de la carne.

Sin duda los resultados antes mencionados hacen que las condiciones sanitarias de faenamiento casero aplicadas sean deficientes, coincidiendo con trabajos similares como el de Buitrón, (2015) quién determinó que el 74% de los comerciantes no cumplen con las condiciones sanitarias de faenamiento.

5.3. ANALISIS FÍSICO DE LA CARNE POLLO

5.3.1. Color, Olor y Apariencia

El color promedio 2,67 (rosa intenso) obtenido en la presente investigación es agradable a la vista del consumidor final, sin embargo difiere con resultados reportados por Soler Sanchis *et al.*, (2011) en su trabajo “Caracterización del color y relación con el pH de pechuga de pollo durante el procesado de las canales en matadero. Valencia, España” quien obtiene un color promedio de 1,23 (blanco amarillento) en 600 muestras analizadas.

El 97,22% de canales con olor agradable (*sui-generis*) conseguido en este estudio, es superior al reportado por Palma, (2013) quien obtiene el 59,01% en su investigación.

El 93,06% de canales con apariencia normal en la presente investigación, es superior a los resultados reportados por Mazariegos, (2004) quien obtiene un 60% en su trabajo denominado “Análisis microbiológico de la carne de pollo en mercados de la zona 12 de Guatemala” y Palma, (2013) quien reporta un 73,07% en su estudio.

5.3.2. pH

El promedio pH 5,98 está dentro del rango referencial ($> 5,5$ y $\leq 7,0$) estipulado en la norma de calidad NTE INEN 2346:2010. Además es superior al valor obtenido por Palma, (2013) quien obtuvo un promedio de 5,89 en su trabajo investigativo.

6. CONCLUSIONES

- No se evidenció la presencia de *Salmonella spp* en carne de pollo comercializado en ferias libres de cuatro Parroquias urbanas del Cantón de Loja
- Las condiciones sanitarias de faenamiento casero son deficientes, sin embargo no se aisló *Salmonella spp* en las muestras analizadas.
- De acuerdo al patrón para evaluación visual de color de carne de pollo de American Meat Science Association, (2012) el color promedio con mayor predominio es 2,67 (rosado intenso).
- Las canales analizadas presentan olor agradable (sui-generis) y apariencia normal.
- El promedio de pH 5,98 está dentro del rango referencial estipulado en la norma de calidad NTE INEN 2346:2010.

7. RECOMENDACIONES

- Ampliar el campo de estudio hacia todas las Parroquias del Cantón Loja.
- Controlar periódicamente las condiciones sanitarias de faenamiento y comercialización de carne pollo en ferias libres por parte del municipio a través del departamento de higiene y abastos.
- Mejorar las condiciones sanitarias de faenamiento por parte de los comerciantes aplicando medidas como: uso de equipo básico de faenamiento, esterilizar utensilios, utilizar recipientes de acero inoxidable, transportar y mantener las canales en refrigeración durante su comercialización para evitar proliferación bacteriana y no disminuya la calidad del producto.
- Promover talleres de inocuidad alimentaria y BPM (Buenas Prácticas de Manufactura), por parte de las autoridades competentes dirigido a los productores que expenden carne de pollo.

8. BIBLIOGRAFÍA

Admans, R. M., y Mos, M. O. (2008). *Food microbiology* (Tercera ed.). Guildford NK.

Agron, P. G., L, W. R., Kinde, H., Sawyer, S. J., Hayes, D. C., Wollard, J., y Andersen, G. L. (2001). Identification by subtractive hybridization of sequences specific for *Salmonella enterica* serovar enteritidis. En *Applied and Environmental Microbiology* 67 (págs. 4984-4991).

AMSA . (2012). *Meat color measurement guidelines (American Meat Association)*. USA.

Barceló, M., Robano, A., y Cortabarría, M. (2006). *Recepción de canales de aves y cortes con hueso. Dirección Nacional de Sanidad de las Fuerzas Armadas, Unidad Centralizada de Adquisición de Alimentos, Dirección General de Servicios Ganaderos*.

Beutlich, J., John, S., Malorny, B., Hauser , E., Huhn, S., Schroeter, A., .Guerra, B. (2011). Antimicrobial resistance and virulence determinants in European *Salmonella* genomic island 1-positive *Salmonella enterica* isolates from different origins. En *Applied and Environmental Microbiology* 77 (págs. 5655-5664).

Buitrón Marín, D. (2015). *Determinación de la presencia de Salmonella spp en carne fresca de pollo comercializada en mercados del Catón Santo Domingo*. Tesis de ingeniería de alimentos: Universidad de la Habana. Santo Domingo-Ecuador.

Caffer, M. I., y Terragno, R. (2001). *Manual de procedimientos para la caracterización de Salmonella*. Ministerio de Salud Subsecretaría de Investigación y Tecnología. Buenos Aires, Argentina. Catañeda Serrano, M. d., Braña Varela, D., Cortéz, C. R., y Martínez Valdez, W. (2013). *Calidad Microbiológica de la carne de pollo*. Querétaro.

Chacana, C., y Terzolo , H. (2003). Revisión sobre Pullorosis y Tifosis aviar. *Revista de Medicina Veterinaria*, 84, 14-20.

CODEX ALIMENTARIUS. (2011). *Directrices para el control de Campylobacter y Salmonella en la carne de pollo.*

Dickel, E., Santos, L., Valle, S., y Dileta, C. (2005). *Infecciones por Salmonella en los mataderos de aves de corral con tecnología totalmente automatizada, semi automatizada.* Recuperado el 17 de 01 de 2016, de <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?!sisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=410746&indexSearch=ID>

Eberle, K. N., y Kiess, A. S. (2012). *Phenotypic and genotypic methods for typing Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in poultry.* *Poult. Sci.* 91.

Edwards, P. R., y Ewin, W. H. (1986). Differentiation of Enterobacteriaceae by biochemical reaction. En I. Elsevier Science Publishing Co, *Identification of the Enterobacteriaceae* (págs. 47-72). New York, N.Y.

Entis, P. (2002). *Food Microbiology.* Washington DC, USA: Food Processors Institute.

FAO, (2014). Food Outlook, Biannual Report on Global Food Markets. FAO. Recuperado el 30 de 11 de 2015, de <http://www.fao.org/docrep/019/i3473e/i3473e.pdf>

FAO/OMS Food and Agriculture Organization of the United Nations, Organización Mundial de la Salud. (2003). Documento de debate sobre estrategias Salmonella spp en aves de corral. *Comisión de codex alimentarius*, (pág. 20). Orlando, EEUU.

Fredrikcs, D. N., y Relman, D. A. (1999). Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of infectious diseases. En *Clinical Infectious Diseases* 29 (págs. 175-486).

Fuentes, y Moreno. (2011). Perfil de riesgo Salmonella spp (no tifoideas) en pollo entero y en piezas. Bogotá, Bogotá:, Colombia. Recuperado el 29 de 11 de 2015

Fundación Grupo Eroski. (2001). Lacarne De Pollo. Diario del consumidor (Carnes, huevos y derivados). Recuperado el 13 de 03 de 2016, de http://www.consumer.es/web/es/nutricion/aprender_a_comer_bien/gui

Galan, J. E., Ginocchio, C., y Costeas, P. (1992). Molecular and functional characterization of the Salmonella invasion gene invA: homology of InvA to members of a new protein family. En *Journal of Bacteriology* 174 (págs. 338-4349).

Gilsetas, A., Mazón, A., Marín, C., y Urtiaga, M. (2002). Salmonelosis no tifoidea en un área de salud de Navarra, España. *Rev esp Salud pública*(1), 8.

Gimferrer, N. (2014). *Eroski Consumer*. Recuperado el 17 de 01 de 2016, de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2013/02/04/215614.php>

Gonzales, A. B. (1996). *Lactose-fermenting Salmonella*. *Journal of Bacteriology*.

Hatzumi Zambrano , F., L, J. L., Vilca , M. L., y Daphne Ramos, D. (2013). Determinación de Salmonella spp En centros de beneficio clandestino de pollos de engorde en Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú*, 24(3), 337-345.

Jasson, V., Jacxsens, L., Luning, P., Rajhovic, A., & Uyttendaele, M. (2010). Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. En *Food Microbiology* 27 (págs. 10-730).

Keklik , N. M., Demirci, A., y Puri, V. M. (2010). *Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed Ultraviolet light*. *Poult.Sci*.89:.

Kopper, G., Calderón, G., Schneider, G., Dominguez, W., y Consultores FAO. (2009). *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura*.

Lampel, K. A. (2012). *Bad bug book, Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook*. USA.

Liguori, E. A., y Comba, E. R. (2014). *Detección de Salmonella en carne de pollo para consumo humano de la ciudad de Rosario*. XV Jornadas de

Divulgación Técnico-Científicas 2014 – II Jornada Latinoamericana. Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario.

Lujan, M., y Blas, G. (2007). *Salmonella*. En: *Microbiología veterinaria* (Primera ed.). Buenos Aires: Intermedica.

Mac Fadding, J. F. (1980). *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.

Marin, C. A., Hernandez, A., y Lainez, M. (2009). *Biofilm development capacity of Salmonella strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants*.

Matía, P., Cabrerizo, L., Rubio, M., Charro, A., Cepero, R., y Barragán, I. (2006). *La carne de Pollo en la alimentación saludable*. Hospital Clínico San Carlos, Universidad de Zaragoza, Asociación Española de Ciencia Avícola. España.

Mazariegos, O. (2004). *Análisis microbiológico de la carne de pollo en mercados de la zona 12 de Guatemala*.

Merk. (2005). *Microbiology Manual* (12 th ed.).

Ministerio de Agricultura y Ganadería, (2011). Prevalencia de *Salmonella* spp, en carnes frescas y subproductos de pollo. Costa Rica, septiembre a noviembre del 2009. Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud. Informe técnico. Costa Rica:s.e., 2011.

Molbac, K., Olsen, J. E., y Wegener, H. C. (2006). *Salmonella* infections. En H. P. Rieman, & D. O. Cliver, *Foodborne Infections and Intoxications* (págs. 57-155). España: Eds.

Moreno García, B. (2006). *Higiene e inspección de carnes*. Díaz de Santos. Recuperado el 13 de 02 de 2016, de https://books.google.com.ec/books/about/Higiene_e_inspecci%C3%B3n_de_carnes_I.html?id=aOuMC7Dm59kC&hl=en

MSP. (2008). *Tasa de Incidencia Anual de Salmonellosis por año y según región Ecuador 1998 a 2008*. Ministerio de Salud Pública, Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica (SIVE).

Murray , L., y Larry , J. (2005). *Estadística* (Tercera ed.). México: Graw-hill/Schaum.

National Institutes of Health; United States Department of Health and Human Services; U.S. federal government. (7 de Diciembre de 2005). *Wikimedia Conomns*. Recuperado el 15 de 03 de 2017, de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SalmonellaNIAID.jpg?uselang=es#filehistory>

NTE INEN 1217. (2006). *Carne y Productos Cárnicos. Definiciones*. Ecuador

Noreldy Molina; Beatriz Millán y María Araque. (2010). Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella enterica* aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela. Asociación Colombiana De Infectología. *Revista Infectio* 14(3): 174-185

OIE. (2005). *Instrucciones Técnicas para la determinación de Salmonella spp móviles según método tradicional OIE*. Gobierno de Chile. Ministerio de agricultura.

OIE. (2008). Salmonelosis. Recuperado el 29 de 11 de 2015, de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.09.09.%20Salmonelosis.pdf

Palma, D. M. (2013). *Evaluación física y microbiológica de la carne que se ecxpende en los mercados de Loja*. Loja. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Nacional de Loja. Loja-Ecuador.

Petrifilm, 3. (2013). *Sistema Salmonella Sxpress. Indicaciones del Producto*.

Rahn, K., De Grandis, S. A., Clarke , R. C., McEwer, S. A., Galan, J. E., Ginocchio, C., Gyles, C. L. (1992). Amplification of an invA gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain Reactions as a specific method

of detection of Salmonella. En *Molecular and Cellular Probes* 6 (págs. 271-279).

Ray, B. (2010). *Fundamentos de microbiología de los alimentos* (4 ed.). Mc Graw - Hill.

Soler Sanchis, M.; Mateo S Otero; E. Safón García; P. Soler Romero, C y Garcés Narro. (2011). (Caracterización del color y relación con el pH de pechuga de pollo durante el procesado de las canales en matadero. Xlviii Simposio Científico De Avicultura. Valencia, España.

Sonali, M., Laudelina, F., & Tejedor , R. (2014). *Modelo preventivo para la gestión de riesgos del par Salmonella spp/carne de ave importada. La habana. Cuba.*

Soria, M. C. (2013). *Salmonela y aflatotinas en granjas de gallinas ponedoras y comerciales.*Tesis Doctoral: Departamento de ciencias biológicas. Facultad de Ciencias exactas. Univeridad Nacional de La Plata

Stanchi, O. (2007). *Microbiología veterinaria* (Primera ed.). Buenos Aires: Intermedica.

Tate, C. R., Miller, R. G., Mallinson, T. E., y Douglass, L. W. (1990). The isolation of Salmonella from poultry environmental samples by several enrichment procedures using plating media with and without novobiocin. En *Poultry Science* 69 (págs. 721-726).

Van der Zee, H. (2003). Media for the isolation of Salmonella spp. En J. E. L. Corry, G. D. W. Curtis, & R. M. Buird , *Handbook of culture media for food microbiology* (págs. 195-210). The Netherlands, Amsterdan : Elsevier Science BV.

Waltman, D. W., y Gast , R. C. (2008). *Salmonellosis. A laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, Sth.* Athers Georgia, USA: American Association of Avian Pathologist.

Yuño. M, M. I., Terzolo , H. R., Fernandez, H. D., Malena , R. C., & Altuna , M. E. (1995). Evaluación de medios de cultivo selectivos para el aislamiento de

Salmonella en producción avícola. *Revista Argentina de Microbiología*, 27, 57-60.

9. ANEXOS

Anexo 1. Encuesta

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARIA Y RECURSOS NATURALES
RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Fecha: Muestra #:.....

Buenos días estimado (a) comerciante; la presente encuesta se realiza con el único fin de recopilar datos necesarios para la realización del trabajo de investigación titulado: "Determinación de la presencia de *Salmonella spp* en carne de pollo comercializado en ferias libres del Cantón Loja". Por lo que solicito su participación, desde ya agradezco su valiosa colaboración al dignarse responder las siguientes preguntas:

Feria libre:

1. Al faenar sus aves utiliza:

Guantes Botas Mascarilla

Otros:.....

2. ¿Desinfecta los utensilios con que faena sus aves?

Si con que:.....

3. No ¿En qué tipo de recipientes transporta la carne

Baldes Gavetas Otros

4. ¿Transporta la carne en refrigeración hasta la feria libre?

Si

No



Anexo 2. Feria libre San Sebastián.



Anexo 3. Análisis físico de muestras.



Anexo 4. Pesado de caldo base Salmonella.



Anexo 5. Preparación de caldo base.



Anexo 6. Autoclavado de medios.



Anexo 7. Incubación de muestras (Preenriquecimiento).



Anexo 8. Preparación de placas petrifilm.



Anexo 9. Observación y marcaje de colonias presuntas sospechosas a *Salmonella* spp.