



**DEPARTAMENTO DE POSGRADOS  
MAESTRÍA EN GESTIÓN DE CALIDAD Y  
SEGURIDAD ALIMENTARIA**

**TEMA:**

**“DETERMINACIÓN DE *SALMONELLA SPP* EN  
MAYONESA PREPARADA EN POLLERÍAS UBICADAS  
EN EL CENTRO HISTÓRICO DE CUENCA”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
MAGÍSTER EN GESTIÓN DE CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA**

**AUTOR: BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA. JEIMMY CARINA RUIZ RAMON**

**DIRECTOR(A): MARÍA FERNANDA MORALES, MSC.**

**CUENCA, ECUADOR**

**2014**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo dedico a Dios por darme la vida y permitirme cumplir con una meta más profesionalmente, de igual manera dedico este trabajo a mis padres Jorge Ruiz y Teresa Ramón, a mis hermanas y sobrinas, por su amor, comprensión y apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis compañeros de maestría, a la Universidad del Azuay y a todos los docentes por su generosidad en compartir sus conocimiento. Mi agradecimiento a la MSc. María Fernanda Morales directora de tesis por su apoyo y por su tiempo, Magister María Fernanda Rosales, por su guía para el desarrollo de este trabajo.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en mayonesa expendidas como aderezo en los asaderos de pollos ubicadas en el centro histórico de la ciudad de Cuenca. Este estudio se realizó en dos periodos con un total de setenta y cinco muestras de veinte y cinco locales, n=15 en el primer periodo n= 60 en el segundo periodo, el análisis se efectuó en 25 gr de muestra, por el método de inmunocromatografía de flujo lateral específico para *Salmonella spp.*, los resultados fueron evaluados según los requerimientos de la norma ecuatoriana INEN 2 295, cada muestra se analizó por triplicado. Los resultados obtenidos en este estudio se presentan cualitativa y cuantitativamente, en el primer periodo se determinó ausencia de *Salmonella spp.* en todas las muestras; para corroborar estos resultados para el segundo periodo se amplió el tamaño de muestra y además se analizó condiciones de buenas prácticas de higiene en relación a los locales, personal y al envasado del producto, este segundo resultado reafirma los resultados obtenidos en el primer periodo.

## PALABRAS CLAVE

*Salmonellas spp.*, mayonesa, inmunocromatografía, INEN

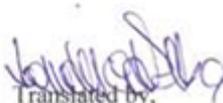
## ABSTRACT Y KEYWORDS

The aim of this study was to determine the presence or absence of *Salmonella* spp. In mayonnaise used as dressing in broiler chicken dishes sold in places located in the historic center of the city of Cuenca. This study was conducted in two periods with a total of seventy-five samples of twenty-five restaurants, n 15 in the first period, n 60 in the second period. The analysis was conducted in 25gr. Sample, by using the lateral flow immunochromatographic assay specific for *Salmonella* spp. The results were evaluated according to the 2295 regulation established by the Ecuadorian Institute of Standardization (INEN). Each sample was analyzed in triplicate. The results obtained in this study are presented qualitatively and quantitatively. In the first period absence of *Salmonella* spp was determined in all samples. For the second period, in order to corroborate these results, the sample size was expanded and also the conditions of good hygiene practices were analyzed considering the place, staff and packaging of the product. This second result confirms the result obtained in the first period.

## KEYWORDS

*Salmonella* spp, Mayonnaise, Inmunochromatography, INEN



  
Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

## INDICE DE CONTENIDOS

Contenido	Página.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
RESUMEN Y PALABRAS CLAVE .....	iv
ABSTRACT AND KEYWORDS .....	v
INDICE DE CONTENIDOS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
INTRODUCCIÓN .....	1
Salmonelosis .....	2
Patogenia .....	3
Asociación de <i>Salmonella</i> con alimentos.....	4
Mecanismos de contaminación de los huevos con <i>salmonella</i> .....	5
Principios del ensayo de kit de inmunocromatografía de flujo laminar .....	6
Características técnicas de Reveal <i>Samonella</i> .....	8
CAPÍTULO I .....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
1.1. Localización del área de estudio .....	9
1.2. Localización de los sitios de análisis de laboratorio .....	9
1.3. Metodología de muestreo .....	9
1.4. Determinación de <i>Salmonella</i> spp. por inmunocromatografía.....	10
1.5. Procedimiento .....	10
1.6. Validación de técnica de determinación de <i>Salmonella</i> spp. en mayonesa.....	11
CAPÍTULO II .....	12
RESULTADOS .....	12
2.1. valores obtenidos en el estudio.....	12
CAPITULO III .....	18
DISCUSIÓN .....	18
COCLUSIONES .....	20
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	21
REFERENCIAS ELECTRONICAS .....	23
ANEXOS .....	24
ANEXO 1. Resultados de validación del método realizado en laboratorio externo AVVE del análisis de la contra muestra de mayonesa recogida en pollerías del centro histórico de la ciudad de cuenca. ....	24

**INDICE DE FIGURAS**

<b>CONTENIDO</b>	<b>Página.</b>
Figura 1. Patogénesis de la contaminación del huevo por <i>Salmonella enteritidis</i> .....	6
Figura 2. Inmunográfico de flujo lateral .....	7
Figura 3. Resultados de determinación de <i>Salmonella spp</i> en muestras de mayonesas vendidas en pollerías del centro histórico de Cuenca en los dos periodos.....	14
Figura 4. Comparación de resultados determinación de <i>Salmonella spp</i> de muestras de mayonesas vendidas en pollerías del centro histórico de Cuenca con resultados obtenidos en las muestras validadas en el Laboratorio AVV. ....	15
Figura 5. Resultado del análisis de condiciones de higiene de locales, higiene del personal y condiciones de los envases que se vende la mayonesa en las pollerías del centro histórico de la ciudad de Cuenca para el segundo periodo de muestreo. ....	16
Figura 6. Resultado del análisis de condiciones de higiene de locales, higiene del personal y condiciones de los envases que se vende la mayonesa en las pollerías del centro histórico de la ciudad de Cuenca para el segundo periodo de muestreo.....	17

**INDICE DE TABLAS**

<b>CONTENIDO</b>	<b>Página.</b>
Tabla 1.Determinación de <i>Salmonella spp.</i> en muestras de mayonesa analizadas en el primer periodo.....	12
Tabla 2. Determinación de <i>Salmonella spp.</i> en muestras de mayonesa analizadas en el segundo periodo.....	13
Tabla 3. Comparación de resultados obtenidos vs requisitos microbiológicos para mayonesa. INEN 2295:2010 .....	14

## **“DETERMINACIÓN DE *SALMONELLA SPP* EN MAYONESAS PREPARADAS EN POLLERÍAS UBICADAS EN EL CENTRO HISTÓRICO DE CUENCA”**

### **INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen el problema de salud pública más extendido en el mundo actual (Hidalgo J, 2006). En Estados Unidos la *Salmonella* fue la segunda causa más común de las ETAs con 1.027.561 casos (11%) siendo la primera causa de hospitalizaciones y muertes (CCD, 2011). En el Ecuador, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos (ETAs) están entre las diez primeras enfermedades de notificación obligatoria, siendo la salmonelosis una de las más importantes causas de brotes; en el 2001 la cifra fue de 18.772, periodo desde el cual el número ha ido disminuyendo paulatinamente con 3.286 casos en el 2008 (MSP/EPI 2, 2008). Sin embargo son muy diversos los alimentos asociados a las ETA. Las características intrínsecas de los alimentos resultan determinantes en la contaminación y proliferación de bacterias, alimentos de alto contenido proteico, como la carne, el pescado, los huevos, la leche y derivados, son considerados de alto riesgo (INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 2004). Los huevos se pueden contaminar por transmisión vertical (transovárica), durante la postura o puede darse por los huevos contaminados en la superficie de la cáscara externa (contaminación horizontal) durante la manipulación o el almacenamiento, dicha contaminación interna puede ser el resultado de la penetración de *Salmonella* a través de la cáscara de los huevos o por la contaminación directa del contenido de los huevos antes de la ovoposición, procedente de la infección de los órganos reproductivos .

La infección en los seres humanos se adquiere por consumo de pollo, huevo crudo o parcialmente cocido, o alimentos preparados con estos (SIVE-Alerta 2012 ) .Hay tres tipos de huevos cocidos suelen ser distinguidos: suave, medio y duro. El riesgo de contaminación microbiana es mínimo para los huevos duros, pero los huevos pasados por agua a medio y sin duda es un factor de riesgo potencial para la salmonelosis, por lo que muchos brotes son el resultado del mal uso o mal manejo de los huevos (Uribe C, 2006).

En nuestro medio, varios alimentos (ovoproductos) son preparados en base a huevos crudos, tales como: mayonesa, salsas, ensaladas, rompopo, jugos, espumilla, helados caseros, cremas para pastelería, medicina artesanal, entre otros. Igualmente se acostumbra ingerir huevos crudos o mal cocidos (Observaciones personales).

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de *Salmonella spp.* en mayonesas que se sirven como aderezos al consumir pollo asado de los locales del centro

histórico de la ciudad de Cuenca mediante análisis de pruebas rápidas de Elisa en el laboratorio de microbiología de la Ciencias Químicas de la Universidad del Azuay, con la finalidad de dar un aporte a la comunidad sobre la seguridad de los alimentos que se están consumiendo.

### **Salmonelosis**

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa del hombre causada por microorganismos como la *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, o C y *S. entérica*, Existen dos cuadros clínicos principales de infección por *Salmonella*: gastroenteritis, que es la forma más común de salmonelosis producida por un gran número de serotipos principalmente *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, y fiebre entérica que puede ser tifoidea, producida por *S. typhi*, y paratifoidea, que es una forma leve de la enfermedad producida por *S. paratyphi* A, B y C, los cuales solo afectan al humano el cual es el único reservorio conocido. En algunos casos, *Salmonella spp* puede producir bacteremia e infecciones focales localizadas como osteomielitis (Posada, 1996). Los microorganismos del género *Salmonella* son agentes etiológicos de infecciones intestinales y sistémicas, estos contaminantes secundarios de los alimentos, de origen animal y ambiental, como carne, los huevos y la leche o la contaminación secundaria de frutas y verduras que se han fertilizado o regado con desechos orgánicos. La salmonelosis humana es una de las enfermedades zoonóticas más frecuentes y de mayor impacto económico. En todos los países existe la salmonelosis, pero parece tener una mayor prevalencia en áreas de producción animal intensiva, especialmente de cerdos, de terneros y de algunos tipos de aves criadas en cautiverio (con frecuencia, los reptiles son portadores asintomáticos de *Salmonella*) (OIE, 2008). Entre los agentes más frecuentes causantes de gastroenteritis está el flagelo *Salmonella* que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, bacilos gram negativos, de 0,7-1,5 x 2-5 µm, anaerobios facultativos, no formadores de esporas, son viables en diferentes condiciones ambientales, sobreviven a la refrigeración y congelación y mueren por calentamiento (mayor a los 70 °C) Su crecimiento óptimo a temperaturas entre 35 y 37 °C, pero en general su rango de crecimiento es de 5 a 46 °C. Mueren a temperatura de pasteurización, son sensibles a un pH bajo (4.5 o menos). Las células sobreviven largos periodos en estado de congelación y deshidratación. Tiene la capacidad de multiplicarse en muchos alimentos sin afectar las cualidades que lo hacen apetecible (Miller S, 2000). La Salmonelosis, según la OMS/OPS es una enfermedad que causa millones de casos en todo el mundo cada año, dando lugar a miles de muertes. Los cálculos de costo de salmonelosis humana en Estados Unidos llegaron a los 3000 millones de dólares en el 2011 (Ray B, 2010). La *S. enteritidis*, es la serovariedad más prevalente en el mundo seguida de *S. typhimurium*. En cortos períodos, a veces un año o dos, se pueden observar cambios en la frecuencia de presentación de las diversas serovariedades (SIVE-Alerta 2012). La aparición de los síntomas es por lo general de 6 a 48 horas después del

consumo de agua o alimentos contaminados. El cuadro clínico de la salmonelosis puede incluir diarrea, cefalea, dolor abdominal, náusea, vómito, fiebre y deshidratación; la diarrea por *Salmonella* spp., puede variar en volumen e intensidad. Esta enfermedad afecta a todos los grupos de edad, con mayor incidencia en menores de cinco años, mujeres embarazadas y mayores de 60 años de edad, que son los grupos más vulnerables. En la mayoría de los casos las heces blandas son de volumen moderado y no contienen sangre ni moco. Las deposiciones de los pacientes con gastroenteritis suelen tener leucocitos polimorfonucleares neutrófilos como consecuencia de un proceso inflamatorio o invasivo, en el colon o en el intestino delgado distal; es común observar fiebre entre 38°C y 39°C y cólicos abdominales. El período de transmisibilidad dura todo el tiempo durante la evolución de la enfermedad, que es muy variable, generalmente de varios días a algunas semanas. Según las serovariedades implicadas, 1% de los adultos infectados y alrededor de 5% de los niños menores de 5 años de edad pueden excretar el microorganismo por más de un año (Pegues D et al, 2002)

### **Patogenia**

Los microorganismos ingresan por vía oral generalmente por medio de alimentos o bebidas contaminadas, la dosis promedio infectante capaz de producir una infección clínica o subclínica en humanos es de  $10^5$  a  $10^8$  *salmonellas* (pero quizá hasta menos de  $10^3$  microorganismos de *Salmonella Typhi*) (Jawetz, et al, 2005).

Después de la ingestión, la bacteria resiste el ambiente ácido del estómago y seguidamente coloniza el intestino delgado, penetra las células epiteliales y migra a la lámina propia de la región ileocecal, se multiplica en los folículos de la región linfoide presentándose hiperplasia e hipertrofia reticuloendotelial. Los polimorfonucleares neutrófilos son estimulados y la infección se limita, en el caso de enteritis, a nivel del tracto gastrointestinal. Si son serotipos productores de fiebre entérica no son retenidas a este nivel sino que migran a hígado y bazo por circulación hemática. La respuesta inflamatoria media también la liberación de prostaglandina (Murray, 1998), en donde la infección desencadena MAP cinasas, que a su vez activan a la fosfolipasa A2 (PLA2) que da como resultado la producción de ácido araquidónico (AA), que es convertido en leucotrienos D4 (LTD4) por varias enzimas, incluyendo 5-lipooxigenasas (5-LO). LTD4, directa o indirectamente activa los canales de calcio, lo que causa la entrada del catión, que trae como consecuencia rearrreglos del citoesqueleto. El aumento de calcio estimula la secreción de cloro y por lo tanto se produce diarrea, ya que el agua lo acompaña, en el caso específico de la enteritis. (Ochoa I, 2005)

### **Asociación de *Salmonella* con alimentos**

La carne, la leche, las aves de corral y los huevos son vehículos principales; pueden estar insuficientemente cocidos, permitiendo que la *salmonella* sobreviva o pueda contaminar de modo cruzado otros alimentos que son consumidos sin cocción posterior. Puede haber contaminación cruzada por contacto directo o se puede producir indirectamente por medio del material y utensilios de la cocina.

Los portadores humanos generalmente son menos importantes que los animales en la transmisión de la salmonelosis. Puede haber transmisión humana si las manos contaminadas fecalmente de un manipulador de alimentos tocan un alimento que posteriormente es consumido sin la cocción adecuada, con frecuencia después de un tiempo intermedio durante el cual tiene lugar el crecimiento microbiano. (Adams M y Moss M, 2005)

### **Mecanismos de contaminación de los huevos con *salmonella***

Se admite generalmente que el huevo de gallina es estéril en el momento de la puesta, salvo que la contaminación se de transovárica o después de la puesta y el acceso más corriente de los microorganismos al interior de los huevos es a través de las grietas de la cáscara, a través de los poros que atraviesan la cáscara. La penetración se facilita por la humedad incorporada a los poros por efectos capilares. La clara de los huevos contiene una serie de agentes antimicrobianos que limitan el crecimiento de los microorganismos invasores con tal que los niveles de contaminación sean bajos.

La conalbumina (ovotransferrina) es quizá el agente antimicrobiano más eficaz, actuando lo mismo frente a bacterias Gram positivas que Gram negativas, actuando como agente quelante, ligando el hierro que es esencial para el crecimiento de este microorganismo. Sin embargo, la yema es una buena fuente de nutrientes y no contiene agentes inhibidores, por lo tanto cuando está implicada la yema los microorganismos invasores crecen rápidamente. (Forsythe S y Hayes P, 2006)

Según Gantois la patogenia de la contaminación de los huevos por *Salmonella enteritidis* se puede dar de diferentes maneras que se describen a continuación en los literales.

(a) La *Salmonella* ingresa por vía oral y entra en el tracto intestinal de la gallina. Las bacterias colonizan el lumen intestinal donde son capaces de invadir las células epiteliales intestinales (colonización intestinal).

Consecuentemente las células inmunes, específicamente los macrófagos, son atraídos al sitio de la invasión y encierran la bacteria *Salmonella*. Esto permite a las bacterias sobrevivir y multiplicarse en el medio intracelular del macrófago. Estos macrófagos infectados emigran a los órganos internos, tales como los órganos reproductivos (diseminación sistémica). Además de la diseminación sistémica, las bacterias también pueden acceder al oviducto a través de la infección ascendente de la cloaca.

(b) Una vía posible de contaminación de los huevos es por la penetración de *Salmonella* a través de la cáscara del huevo y de sus membranas después de la contaminación de la cáscara exterior. La contaminación superficial puede ser el resultado de una infección de la cloaca o de la contaminación fecal (Messens *et al*, 2005; De Reu *et al*, 2006).

(c) Otra ruta posible es por la contaminación directa de la yema de huevo, la membrana de la yema, la clara de huevo, las membranas de la cáscara y la cáscara de los huevos con una infección originada en ovario, infundíbulo, magnum, istmo y la glándula de la cáscara, respectivamente.

(d) La *Salmonella* alojada en la albúmina y en la membrana vitelina es capaz de sobrevivir y crecer en el medioambiente antibacteriano. También es capaz de migrar y penetrar en la membrana vitelina con el fin de llegar a la yema donde crece ampliamente (Gantois, *et al*. 2009)

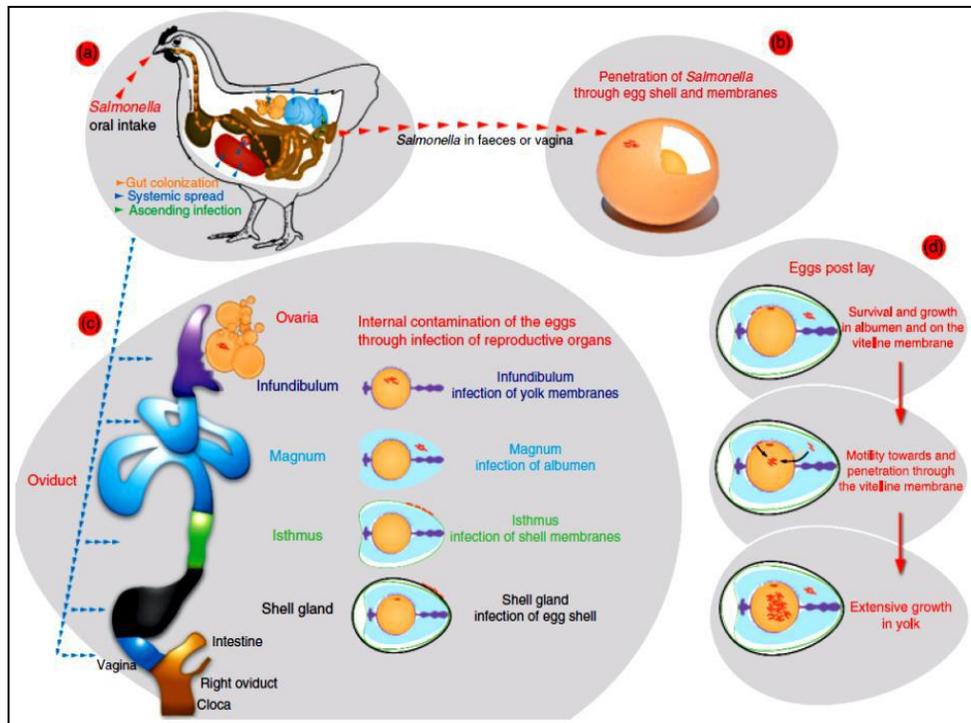


Fig 1. Patogénesis de la contaminación del huevo por *Salmonella enteritidis*.

Fuente: Gantois, *et al.* 2009

### Principios del ensayo de Kit de inmunocromatografía de flujo lateral

El sistema Reveal 2.0 para *Salmonella*, es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral que combina un clásico inmuno ensayo tipo “sandwich”.

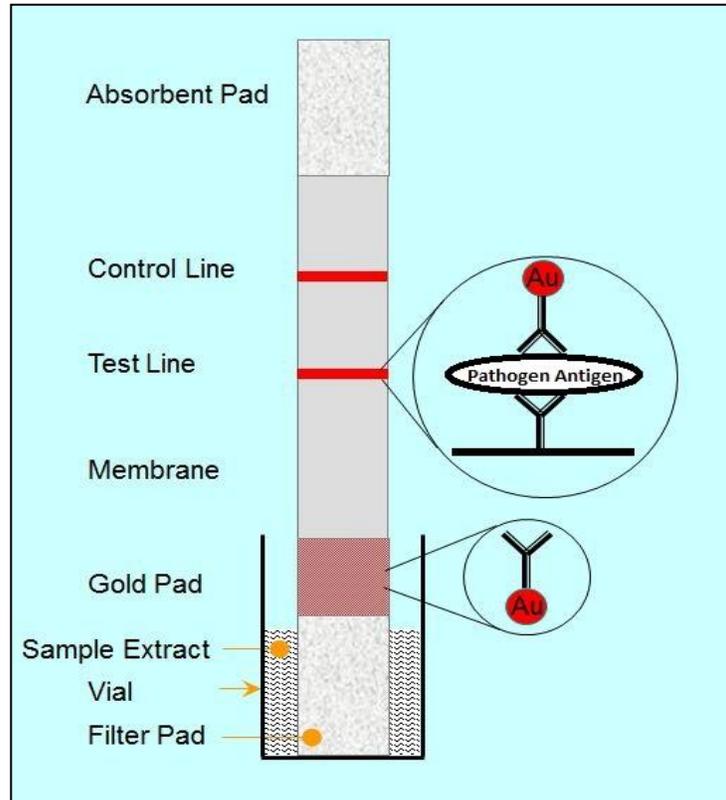


Fig 2: Inmunocromatografo de flujo lateral Neogen Corporation, 2005.

El sistema está formado por un conjunto de medios de cultivo selectivos predosificados estériles (para realizar el enriquecimiento selectivo de la muestra) y una tira inmunocromatográfica en el que se realiza la detección inmunológica del patógeno. Una porción de la muestra es dispensada en la tira de detección. La muestra fluye a través de una membrana que contiene anticuerpos específicos contra el patógeno a analizar. Los anticuerpos están marcados con oro coloidal. Si el patógeno está presente, sus antígenos se unirán con los anticuerpos marcados con oro. El complejo antígeno-anticuerpo sale de la zona de reactivos y viaja a través de la membrana. La membrana contiene una zona de anticuerpos anti patógeno, los cuales capturan el complejo y muestra una línea visible con un color.

En la zona de reactivos, está presente al mismo tiempo, un *inmunocomplejo de control* que migra conjuntamente con la muestra dispensada. Cuando este complejo control alcanza la "zona de reacción", se forma una segunda línea coloreada que indica que el procedimiento se ha realizado correctamente. (Neogen, 2005)

#### **Características técnicas de Reveal *Salmonella***

Reveal *Salmonella* detecta más del 98 % de las especies responsables de infecciones alimentarias por *Salmonella* incluyendo *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis* y *Salmonella enteritidis*.

- Límite de detección: 1-5 CFU/25 g de muestra
- Sensibilidad  $10^5$  UFC

Especificidad  $\geq 99\%$

- Tiempo de ejecución: Enriquecimiento: 20 horas

Test: 20 minutos

- Conservación : tira de Inmunocromatográficos : 2-8 °C

Medios de cultivo : temperatura ambiente

- Presentación : Kit 20 test

Validaciones

El kit Reveal *Salmonella* ha sido validado por :

*AOAC-RI Certified and Performance Tested*" - Licencia número : 9803

*AFNOR – Certificado*

*El método es utilizado por el Ministerio de Agricultura de USA (USDA (FSIS))*

## CAPITULO I

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1.1. Localización del área de estudio.

Para el estudio se delimitó al área que corresponde al centro histórico de la ciudad de Cuenca donde existen 25 lugares que sirven platos con pollo asado y con aderezos entre éstos la mayonesa. Este sector fue escogido por ser considerado como un lugar turístico importante de la ciudad.

#### 1.2. Localización de los sitios de análisis de laboratorio.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología de la Universidad del Azuay. Este laboratorio con más de 10 años de experiencia, presta servicios internos y externos, realizando análisis exclusivamente de alimentos, cuenta con equipos y profesionales muy capacitados, los cuales nos guiaron para realizar los análisis de las muestras de mayonesa.

#### 1.3. Metodología de muestreo

De veinte y cinco locales se analizó un total de 75 muestras en dos periodos, de cada local se tomó tres muestras en diferentes días. En el primer periodo se analizó 15 muestras y para el segundo periodo 60 muestras, esto se efectuó con la finalidad de ampliar el análisis estadístico. La recolección de las muestras se hizo en horas de la tarde y estas fueron transportadas adecuadamente, debido a los resultados obtenidos para el primer periodo ausencia de *Salmonella spp* en el segundo periodo para corroborar estos resultados, al momento de tomar las muestras se llenó un check list que en este se consideró variables cualitativas que pueden ser importante en la contaminación del producto(mayonesa), tales como el uso de condiciones del envase primario, condiciones de higiene del local y uso de uniformes (cofias, delantales, guantes, mascarillas).

#### 1.4. Determinación de *Salmonella spp* por inmunocromatografía.

Las muestras recolectadas de las pollerías que fueron analizadas en el laboratorio, para determinar la presencia de *Salmonella spp* en mayonesas, para la determinación se utilizó en kit

Reveal 2.0 for *Salmonella*, En los cuales se realizó el estudio de las muestras colectadas y se procedió según el instructivo del kit.

### 1.5. Procedimiento

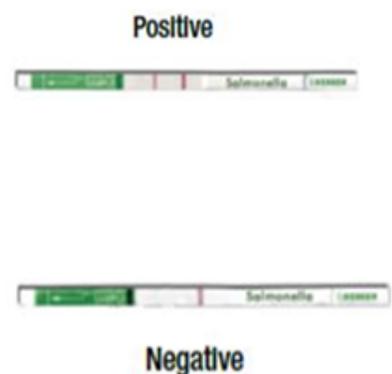
- 1  Rehidratar con 200 ml de agua estéril, el contenido de un vial de medio REVIVE®, utilizando una de las bolsas de cultivo
- 2  Añadir 25 gramos de la muestra de mayonesa a la bolsa conteniendo el medio Revive rehidratado. Incube a 37 °C durante 2-4 horas.
- 3  Rehidratar con 200 ml de agua estéril, el contenido de un vial de medio selectivo SC o RV, utilizando una de las bolsas de cultivo estériles suministrada. 37° C durante 2-4 horas.
- 4  Añadir el contenido de la segunda bolsa (medio selectivo) a la primera bolsa (medio Revive). Incube a 43°C durante 16 horas RV) o 18 horas (SC).
- 5  Extraer una porción del líquido de la bolsa y dispensar 8 gotas en pocillo. Incubar 20 min. a temperatura ambiente.

6



Insertar la tira en el pocillo. Transcurridos 15 minutos desde que se dispensó la muestra se realiza la lectura de resultados, observando el número de líneas de color rojo que aparecen en dicha ventana.

7



#### INTERPRETACION DE RESULTADO

##### Resultado Positivo

Aparecen dos líneas de color en la ventana de reacción

##### Resultado Negativo

Solo aparece la línea de control en la ventana de reacción

#### 1.6. Validación de la técnica de determinación de *Salmonella spp* en Mayonesa.

Con el objetivo de verificar los datos y comprobar el método de análisis usado para la elaboración del estudio, se analizó una contra muestra, el análisis se hizo de una muestra de mayonesa la que se envió a analizar en un laboratorio externo acreditado "Laboratorios AVVE"-Guayaquil, el método utilizado MME MO6(AOAC 18 th 967-26), método tradicional de determinación de *salmonella* en huevos. Anexo2

## CAPÍTULO II

### RESULTADOS

#### 2.1. Valores obtenidos en el estudio

De Las 75 muestras de mayonesa colectadas para los dos periodos en los asaderos de pollo ubicados en el centro histórico de Cuenca, no hubo aislamientos bacterianos para *Salmonella spp* (tabla1 y 2), los resultados negativos posiblemente pueden obedecer a causas como: 1) debido a que no se puede comprar por separado la muestra de mayonesa y se recolecto solo lo que se entrega al comprar el pollo asado 2) posiblemente elevada rotación de este producto.

**Tabla 1. Determinación de *Salmonella spp.* en muestras de mayonesa analizadas en el primer periodo.**

Pollería	Numero de muestras	Presencia o Ausencia de <i>Salmonella</i> en 25 gr muestra
Pollería 1	3	Ausencia
Pollería 2	3	Ausencia
Pollería 3	3	Ausencia
Pollería 4	3	Ausencia
Pollería 5	3	Ausencia

*Elaborado por: Jeimmy Ruiz*

**Tabla 2. Determinación de *Salmonella spp.* en muestras de mayonesa analizadas en el segundo periodo.**

<b>Pollería</b>	<b>Numero de muestras</b>	<b>Presencia o Ausencia de <i>Salmonella</i> en 25 gr muestra</b>
Pollería 6	3	Ausencia
Pollería 7	3	Ausencia
Pollería 8	3	Ausencia
Pollería 9	3	Ausencia
Pollería 10	3	Ausencia
Pollería 11	3	Ausencia
Pollería 12	3	Ausencia
Pollería 13	3	Ausencia
Pollería 14	3	Ausencia
Pollería 15	3	Ausencia
Pollería 16	3	Ausencia
Pollería 17	3	Ausencia
Pollería 18	3	Ausencia
Pollería 19	3	Ausencia
Pollería 20	3	Ausencia
Pollería 21	3	Ausencia
Pollería 22	3	Ausencia
Pollería 23	3	Ausencia
Pollería 24	3	Ausencia
Pollería 25	3	Ausencia

*Elaborado por: Jeimmy Ruiz*

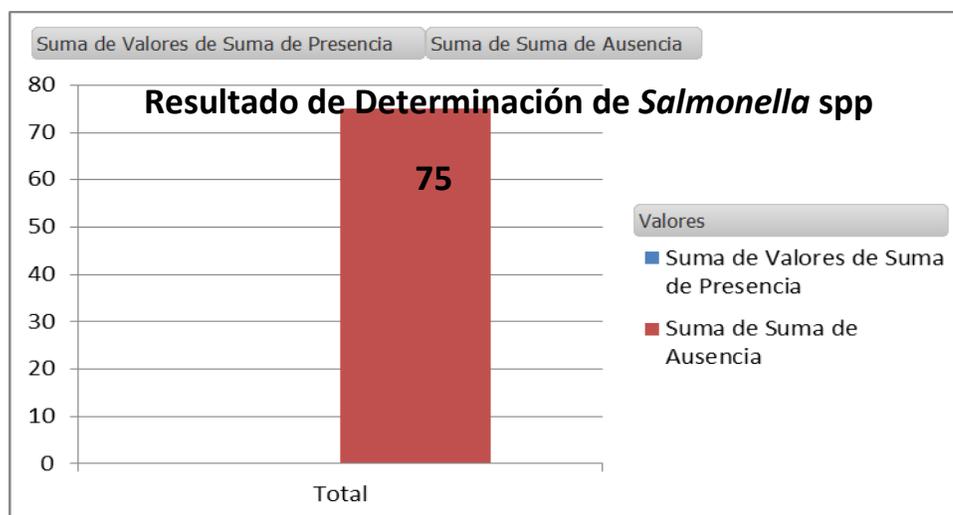
**Tabla 3. Comparación de resultados obtenidos vs los requisitos microbiológicos para mayonesa. INEN 2295:2010**

Muestras analizadas según periodos	Resultados <i>Salmonella spp</i>	Requisitos para mayonesa de <i>Salmonella spp</i>																																										
1° periodo 15	Ausencia	<table border="1"> <thead> <tr> <th>REQUISITOS</th> <th>n</th> <th>m</th> <th>M</th> <th>c</th> <th>MÉTODO DE ENSAYO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recuento de microorganismos mesófilos ufc/g</td> <td>5</td> <td><math>1,0 \times 10^4</math></td> <td><math>5,0 \times 10^4</math></td> <td>2</td> <td>NTE INEN 1529-5</td> </tr> <tr> <td>Coliformes NMP/g</td> <td>5</td> <td>&lt;3</td> <td>--</td> <td>0</td> <td>NTE INEN 1529-6</td> </tr> <tr> <td><i>Escherichia coli</i> NMP/g</td> <td>5</td> <td>&lt;3</td> <td>--</td> <td>0</td> <td>NTE INEN 1529-8</td> </tr> <tr> <td><i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g</td> <td>5</td> <td><math>&lt; 1,0 \times 10^2</math></td> <td>--</td> <td>0</td> <td>NTE INEN 1529-14</td> </tr> <tr> <td>Recuento de mohos y levaduras ufc/g</td> <td>5</td> <td><math>2,0 \times 10^1</math></td> <td><math>5,0 \times 10^1</math></td> <td>1</td> <td>NTE INEN 1529-10</td> </tr> <tr> <td><i>Salmonella</i>/25 g</td> <td>5</td> <td>ausencia</td> <td>ausencia</td> <td>0</td> <td>NTE INEN 1529-15</td> </tr> </tbody> </table>	REQUISITOS	n	m	M	c	MÉTODO DE ENSAYO	Recuento de microorganismos mesófilos ufc/g	5	$1,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	2	NTE INEN 1529-5	Coliformes NMP/g	5	<3	--	0	NTE INEN 1529-6	<i>Escherichia coli</i> NMP/g	5	<3	--	0	NTE INEN 1529-8	<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g	5	$< 1,0 \times 10^2$	--	0	NTE INEN 1529-14	Recuento de mohos y levaduras ufc/g	5	$2,0 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$	1	NTE INEN 1529-10	<i>Salmonella</i> /25 g	5	ausencia	ausencia	0	NTE INEN 1529-15
REQUISITOS	n	m	M	c	MÉTODO DE ENSAYO																																							
Recuento de microorganismos mesófilos ufc/g	5	$1,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	2	NTE INEN 1529-5																																							
Coliformes NMP/g	5	<3	--	0	NTE INEN 1529-6																																							
<i>Escherichia coli</i> NMP/g	5	<3	--	0	NTE INEN 1529-8																																							
<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g	5	$< 1,0 \times 10^2$	--	0	NTE INEN 1529-14																																							
Recuento de mohos y levaduras ufc/g	5	$2,0 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$	1	NTE INEN 1529-10																																							
<i>Salmonella</i> /25 g	5	ausencia	ausencia	0	NTE INEN 1529-15																																							
2 ° periodo 60	Ausencia																																											

Fuente: INEN

De acuerdo a la norma INEN 2295:2010 las muestras analizadas se encuentran dentro de los requisitos para *Salmonella spp* el cual es ausencia.

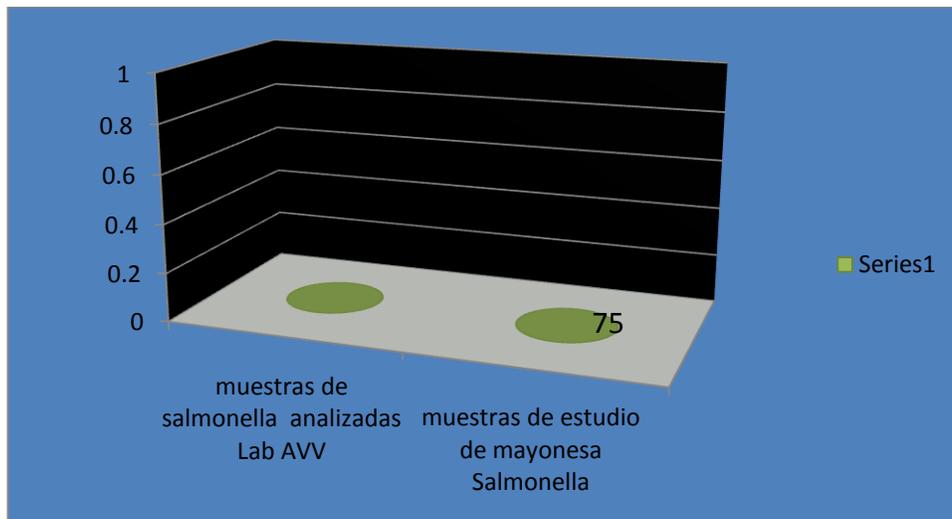
**Fig 3: Resultados de determinación de *Salmonella spp* en muestras de mayonesas vendidas en pollerías del centro histórico de Cuenca en los dos periodos**



En la figura 3 se evidencia que de los veinte y cinco locales ubicados en el centro histórico de la ciudad de Cuenca, mediante 75 muestras analizadas, los resultados fueron ausencia para

*Salmonella spp*, lo que se determina en este estudio que la población está ingiriendo productos que no causarían problemas de salud que se le atribuya a este microorganismo.

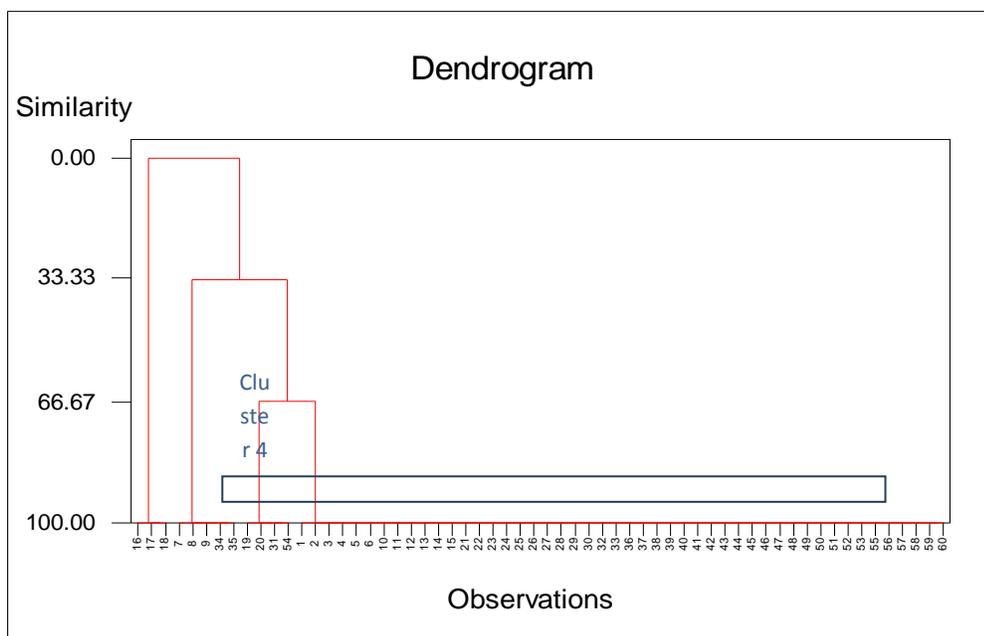
**Fig 4: Comparación de resultados determinación de *Salmonella spp* de muestras de mayonesas vendidas en pollerías del centro histórico de Cuenca con resultados obtenidos en las muestras validadas en el Laboratorio AVV**



En la figura 4 se observa que tanto las muestras analizadas de los diferentes locales del centro histórico de la ciudad de Cuenca y la contramuestra enviada al laboratorio AVV de la ciudad de Guayaquil concuerdan con los resultados obtenidos, lo que se evidencia la confianza del estudio.

**Figura 5 : Resultado del análisis de condiciones de higiene de locales, higiene del personal y condiciones de los envases que se vende la mayonesa en las pollerías del centro histórico de la ciudad de Cuenca para el segundo periodo de muestreo.**

Del análisis de uso de guantes y uso de mascarilla en los locales el resultado es un constante ya que en todos los locales se observó que no se usa estos implementos.



**Fuente:** Análisis de Datos

**Autor:** Jeimmy Ruiz.

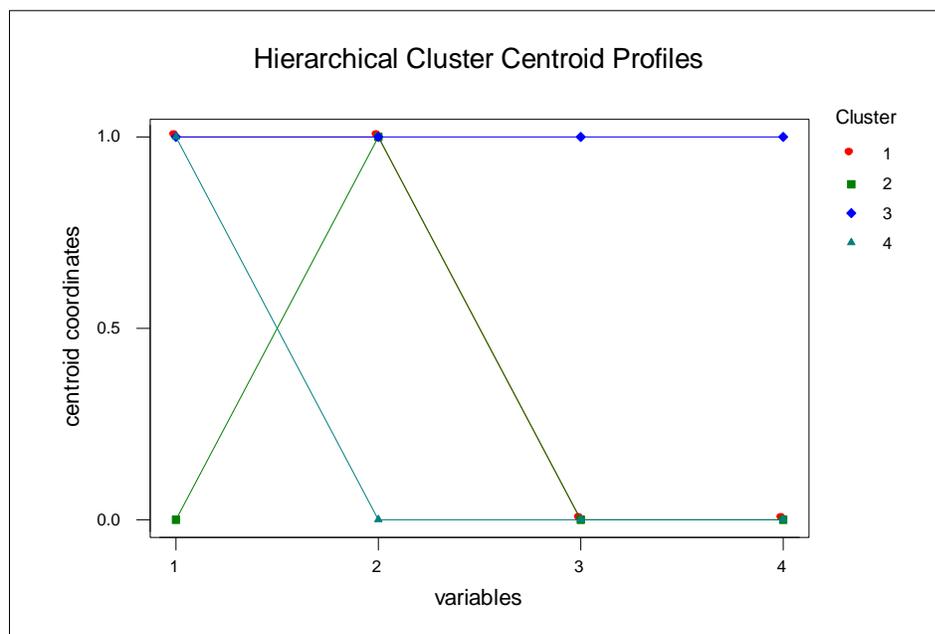
En la figura 5 se observa cuatro cluster en el primero que corresponde el 64% del total de las muestras en las que se encuentra buenas condiciones de los envases, buenas condiciones de higiene de los locales, sin embargo no se cumplen con la Buenas practicas de higiene ya que el personal que manipula los alimentos, no tiene la vestimenta adecuada (cofias, uniformes) que garantizan la buena manipulación de este producto y que eviten contaminación cruzada por estas condiciones. A pesar de estas condiciones no se observó en los resultados la presencia de *Salmonella* spp.

En el cluster 2 que corresponde al 6,6%; hay buenas condiciones de higiene del local; sin embargo los envases en los que se dispensa la mayonesa no son de buenas condiciones y se observa que el personal no usa uniformes.

Dentro del cluster 3 están el 5,33% de muestras que cumple con buenas condiciones de higiene en locales, personal y buena calidad de envases en la que se dispensa el producto.

En el cluster 4 que corresponde al 4% cumple las condiciones del envases, mientras que las condiciones de higiene del local y uso uniformes adecuados no se observo.

**Fig 5.1: Resultado del análisis de condiciones de higiene de locales, higiene del personal y condiciones de los envases que se vende la mayonesa en las pollerías del centro histórico de la ciudad de Cuenca para el segundo periodo de muestreo.**



**Fuente:** Análisis de Datos SPSS  
**Autor:** Jeimmy Ruiz

En figura 5.1: Se observa que en el cluster 1 de igual manera que en la dendrogram existen buenas condiciones para la variable uno y variable dos (condiciones de higiene el personal y local) , cluster 2 cumplen con buenas condiciones de de higiene de los locales , cluster 3 cumple con las cuatro variables (buenas condiciones de higienen de locales, buenos envases , uso de uniformes adecuados) cluster 4 unicamente cumple con buenas condicones de los envases en los que se dispensa el producto. Pese a que son variables que posiblemente pueden influir en las condiciones para el crecimiento de *Salmonella spp* no existió la presencia de la bacteria.

## CAPÍTULO III

### DISCUSIÓN

La investigación demostró la ausencia de *Salmonella* spp. en mayonesas expendidas en asaderos de pollos ubicadas en el centro histórico de la ciudad de Cuenca. Según un estudio realizado por Bayhan A, et. al en la Región Ankara capital de Turquía, en el 2009, obtuvieron como resultado, que *Salmonella* spp. no se encontró en muestras de mayonesa, datos que concuerdan con nuestros resultados . En 2011, en 27 estados miembros presentaron información sobre la presencia de zoonosis, agentes zoonóticos y brotes de origen alimentario a la Comisión Europea y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. De este informe la mayoría de las investigaciones que se llevaron a cabo en muestras de huevos y sus derivados se reportó la presencia de *Salmonella* del 0,1%. (Pérez C, 2008) que es un porcentaje bajo. Por lo tanto el resultado de ausencia de *Salmonella* spp en mayonesas vendidas como aderezo en los locales del centro histórico de la Ciudad de Cuenca no se aleja de los resultados obtenidos. Sin embargo sabiendo que el producto investigado tiene principal componente el huevo, se debe extender el estudio a la materia prima ya que hay estudios que demuestran que podría haber contaminación. Porrero C, 2006 en su estudio señala que según el informe de la European Food Safety Authority (EFSA) donde pone de manifiesto que la probabilidad de que un huevo contenga salmonelas depende, entre otros factores, de la prevalencia de salmonelas en cada manada productiva y de la frecuencia con la que las gallinas infectadas pongan huevos contaminados. Bichler et al., 1996 muestran que, tras un pico elevado de huevos infectados durante la primera semana (que alcanza valores del 40%), el nivel desciende drásticamente en las siguientes semanas hasta valores de 1 a 3% que se mantienen al menos durante siete semanas.

Según una tesis realizada en la Universidad Central de Quito menciona que en el Ecuador hay escasos estudios de salmonelosis y ninguno ha sido orientado a la detección de *Salmonella* en huevos (Laboratorio de Alimentos de la Unidad Municipal de Salud Centro, 2012, Dirección Provincial de Salud de Pichincha, 2012; MSP, 2012; Vasco, 2012). Motivo el que se decidió realizar este estudio además impulsado en un reporte de prensa donde se indica que en el año 2011, la pollería Los Kaníbales en la ciudad de Cuenca, ubicada en la Avenida de las Américas, sector Feria Libre, fue clausurada por la Dirección Provincial de Salud, debido a que presentó 16 casos de intoxicación por la ingesta de alimentos (*Suquisupa a, 2011*), al parecer en mal estado, pero no se evidenció la presencia de bacterias porque no se hizo los análisis pertinentes que determinen la causa de la intoxicación. Cabe anotar que en este estudio no se realizó un muestreo en diferentes sitios y por lo tanto esto no puede inferir para todos los locales que se encuentran en la ciudad. Este trabajo se convierte en el punto de partida para

realizar más estudios para profundizar el tema, no solo en la determinación de *salmonella* sino también de otros agentes que causan problemas de gastroenteritis que pueden afectar a la salud del consumidor. Un estudio realizado por Leyla V et, al 1996 indica que en 330 muestras de cáscara de huevo solamente 2 (0,6 %) presentaron *Salmonella*, sin embargo en cuanto a la determinación de Enterobacterias totales, se aislaron Enterobacterias en 58 (17,6 %) los géneros predominantes fueron Enterobacter sp y *Escherichia coli*.

## CONCLUSIONES

- No se evidenció la presencia de *Salmonella* spp. en mayonesas expendidas en pollerías del centro histórico de Cuenca de los veinte y cinco lugares y de las 75 muestras analizadas. Sin embargo no se descarta la posibilidad de la existencia de otros microorganismos que puedan afectar a la salud del consumidor.
- El método de inmunogromatografía para determinación de *Salmonella* en alimentos tiene alta sensibilidad, por lo que es muy útil para la industria alimenticia por la disminución de tiempos comparados con los métodos tradicionales.
- La técnica usada es confiable ya que al validar una muestra en un laboratorio externo certificado se demostró que se obtuvieron los mismos resultados.
- Se recomienda para futuros estudios ampliar el muestreo desde la materia prima, que en el caso de la mayonesa es el huevo, ya que esta es la principal fuente de contaminación con *Salmonella*.
- Se recomienda ampliar el número de muestras de mayonesa para futuros estudios, realizar en otros sectores de la ciudad y en diferentes periodos.
- Se pueden realizar estudios en mayonesa para E.coli y S aureus debido a que son patógenos que deben ser controlados y que probablemente puedan presentes en este tipo de productos y pueden causar enfermedades.
- Para el segundo periodo se consideró la inclusión de datos como las condiciones de higiene de los locales, uso adecuado de uniformes y buenas condiciones de los envases en los que se dispensa el producto, no todos los lugares cumplen con estas buenas prácticas de higiene, esto puede influir en el crecimiento de patógenos que afecta a la inocuidad del alimento y a la salud del consumidor.
- Se debería realizar por parte de las autoridades sanitarias capacitaciones constantes en higiene y manipulación de alimentos para evitar brotes por este patógeno y evitar contaminaciones futuras.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bayhan A, Kaynak O, Buket E, *A Research of Salmonella spp. in egg and egg products and survival of salmonella in different temperatures*, *Turk J. Pharm. Sci.* 6 (3), 147-154, 2009.

Castillo V, Valdés E, Despaigne E, Pérez O, Determinación De *Salmonella* y enterobacterias totales en huevos frescos de gallina, *Revista Cubana Aliment Nutr* 1996;10(2)

CDC (2011). *CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States*. National Center for Emerging & Zoonotic Infectious Diseases Division of Foodborne Waterborne, and Environmental Diseases. Febrero 2011.

CODEX. Alimentarium 08/31/8. Mayo del 2008. Enmiendas a las normas y a los textos afines del CODEX.

Darwin KH, Miller VL. *Molecular basis of the interaction of Salmonella with the intestinal mucosa*. *Mol Microbiol Rev* 1999; 12: 405-28.

Figuroa I, Rodríguez A, Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp, *revisa de latinoamerica de microbiología*, Vol. 47, No. 1, 2005, pp. 25 - 42

Gantois et. al *Mechanisms of egg contamination by Salmonella Enteritidis*. Review article. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey T & Immerseel F. Federation of European Microbiological Societies. *FEMS Microbiol.* 2009. Rev 33. 718–738.

INEN, (2010). Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 2 295:2010. Mayonesa y Requisitos. Primera revisión. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito-Ecuador.

Miller SI, Pegues DA. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds.) *Mandell, Douglas, Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 2344-2363.

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Salmonella*. In: *Michael Braun Ed. Medical Microbiology*. 3a ed. St Louis: Mosby Inc; 1998. p. 237-39.

Pegues DA, Ohl ME, Miller SI. *Salmonella*, including *Salmonella typhi*. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerran RL (eds.). *Infections of the gastrointestinal tract*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 669-697.

Pérez C, Sánchez M, Henao S, Estandarización y evaluación de dos pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa para el diagnóstico de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* en huevos. 2008. *Arch Med*. 235-242.

Posada B. Salmonellosis. En: Restrepo A, Robledo J, Bedoya VI, Restrepo M, Botero D, Leiderman E, et al, editores. *Fundamentos de medicina. Enfermedades infecciosas*. 5a ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB editores; 1996. p. 427- 30

Porrero C, Garcia M, Cubillo I, Rivero E, et, al, Salmonellosis y huevos, Grupo de Investigación Vigilancia Sanitaria Veterinaria (Visavet), departamento de Sanidad animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid, 2005

Ray, B. *Fundamentos de microbiología de los alimentos* / Bibek Ray, Arun Bhunia. 4º ed. México: McGraw-Hill. 2010. Cap. 25. pp. 202-207.

*The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013*. European Food Safety Authority (EFSA) Journal, 11(4):3129

Timoney, J., Shivaprasad, H., Baker, R. y Rowe, B. (1989) *Egg transmission after infection of hens with Salmonella Enteritidis phage type 4*. *Vet Rec* 125: 600–601.

Uribe C, Salmonellosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colombia medical* 2006.

#### REFERENCIAS ELECTRONICAS.

Armando Suquisupa . Agosto 2011, La pollería Los Kaníbales, ubicada en la Avenida de las Américas, sector Feria Libre, fue clausurada ayer por la Dirección Provincial de Salud, debido a que en las últimas horas se presentó 16 casos de intoxicación por la ingesta de alimentos, al parecer en mal estado. EL TIEMPO, <http://www.eltiempo.com.ec/noticias-cuenca/76443-16-intoxicados-por-ingesta-de-alimentos>

ERS/USDA (2011). Data Foodborne Illness Cost Calculator. Recuperado el 03 de junio del 2012. Disponible en: <http://webarchives.cdlib.org/sw1rf5mh0k/http://www.ers.usda.gov/Data/FoodborneIllness>

Hidalgo, J.R. (2005). *Estados Unidos introduce nuevos mecanismos sanitarios y de control para prevenir toxoinfecciones alimentarias evitables*. Consumer EROSKI, Disponible en: URL:<http://www.consumaseguridad.com/normativalegal/2005/08/29/19785.php>. [Consultado el 22 de diciembre de 2012].

INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. (2004). *Bacteria Associated with Foodborne Diseases*. Scientific Status Summary, Disponible en: URL: <http://members.ift.org/NR/rdonlyres/3DEA7A91-DF48-42CE-B195-06B01C14E273/0/bacteria.pdf>. [Consultado el 22 de diciembre de 2012].

MSP (2012). Gaceta Epidemiológica Ecuador SIVE-Alerta 2012. Gaceta N° 1 SEMANAS EPIDEMIOLÓGICAS 1 – 8. Disponible en: <http://issuu.com/mspecuador/docs/gacetaepidemiologica/1>

Neogen Corporation, 2005. Neogen, Reveal and GENE-TRAK are registered trademarks and GeneQuence and ISO-GRID are trademarks of Neogen Corporation, Lansing, MI 48912. 800/234-5333 (USA /Canada) [foodsafety@neogen.com](mailto:foodsafety@neogen.com) • [www.neogen.com](http://www.neogen.com)

ANEXOS

ANEXO 1:

Resultados de validación del método realizado en laboratorio externo AVVE del análisis de la contra muestra de mayonesa recogida en pollerías del centro histórico de la ciudad de Cuenca.



### INFORME DE ENSAYOS

Fecha de Informe:	26/Abr/2013	Orden:	3290	N° de Informe:	2189-13	Página:	1/1
-------------------	-------------	--------	------	----------------	---------	---------	-----

<b>INFORMACION DEL CLIENTE:</b>							
Nombre:	JIMMY HUIZ						
Dirección:	CALAPAGOS Y ESMERALDAS 200. PISO						
Teléfono:	0994507107	Fax:	---	E-Mail:			

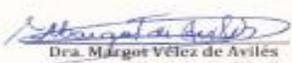
<b>DATOS DE LA MUESTRA:</b>							
Tipo de Muestra: Grasas y Aceites Comestibles							
Nombre: MAYONESA							
Descripción: Mayonesa							
Lote:		Fecha de Efab.:		Fecha de Expi.:			
Comarido: Declarado: --		Encontrado: 4 de 30 ml aprox.		Condición: Normales, cónicamente plástica		Forma de conservación: Helado a 4°C	
Fecha de Recepción: 19/Abr/2013		Cód. de Laboratorio: GA-C-17-19-04-13		Muestras: Realizado por el cliente			

<b>ANÁLISIS QUÍMICO</b>							
<b>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>							
Fecha de Análisis:		19/Abr/13		Libro / Pagina B. 37-5.3b:		147/1723	
Condiciones Ambientales:				Temperatura: 18°C - 25°C		Humedad relativa: 40% - 55%	
Parámetros		Unidad		Resultados		**Requisitos Método de Referencia	
Salmonella spp		/25g		No Detectado		No Detectado MME M06 (AOAC 10th 967-26)	

\*\*Requisito Microbiológico establecido según Norma DIN 2295:2010 para Mayonesa

<b>CONCLUSIÓN</b>							
La muestra analizada CUMPLE con el requisito Microbiológico establecido según Norma DIN 2295:2010 para Mayonesa.							

<b>OBSERVACIONES</b>							
Se podrán solicitar modificaciones de documentos hasta 6 meses después de su emisión. Estos resultados corresponden exclusivamente a la muestra analizada. La contra muestra se almacenó en el laboratorio por 3 Meses. Prohibida su reproducción total o parcial, sin previa autorización de LABORATORIOS AVVE S.A. Las observaciones y apuntes no se encuentran dentro del Alcance de Acreditación. Los registros generados por el análisis de la(s) muestra(s) son válidos a los efectos del laboratorio por 5 años. VÁLIDA SOLO EL ORIGINAL							



**Dra. Margot Vélez de Avilés**  
Gerente Técnico & Calidad

Dirección Laboratorio Metró. Parque Industrial Calles 1, Calle Ato, Ambato, Loja, Huancabamba,  
 Calle De las Américas, Loja 6 A, Pto. 11, Loja y Loja,  
 P.O. Box: 15043/210026, Teléfono: Parque Calles 1, 21026/112102025, ext. 238 GR. - 0984 507 107

Dirección Sucursal Laboratorio de Microbiología: Parque Industrial Calles 1, Local D 44,  
 Km 11.5/2 - Loja, Ecuador  
 Teléfono Sucursal: 0984 2100888 ext. 101, Teléfono Parque Calles 1, 21026/112102025

Email: [labave@ave.com.ec](mailto:labave@ave.com.ec) [info@ave.com.ec](mailto:info@ave.com.ec)  
[www.laboratoriosave.com](http://www.laboratoriosave.com)  
[www.ave.com.ec](http://www.ave.com.ec)