



DEPARTAMENTO DE POSGRADOS

MAESTRIA EN GESTION DE LA CALIDAD Y

SEGURIDAD ALIMENTARIA

**“Evaluación de la calidad microbiológica de cuyes
faenados expendidos en la ciudad de Cuenca”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN
GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA**

AUTORA: Johanna Priscila Tacuri Campoverde

DIRECTORA: Ing. María Fernanda Rosales Medina. MSc.

CUENCA – ECUADOR

2016

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado aquellas personas que nunca han dejado de confiar en mí:

A mis padres que con sus consejos y palabras de aliento me han impulsado a continuar con mis sueños y no desfallecer frente a las adversidades.

A mi esposo y a mis hijas Mariangel y Violeta mis dos princesitas, a ustedes va este logro porque es por y para ustedes que cada día quiero ser mejor.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a Dios que me acompañó a lo largo de todo este caminar, por iluminarme y guiarme en cada paso que he dado y por cada una de las bendiciones que ha derramado sobre mi vida.

A mis padres un agradecimiento sincero y lleno de amor por toda la ayuda que me han brindado en todo este proceso de crecimiento profesional y personal, gracias papitos por siempre estar ahí y nunca dejarnos solos.

A mi esposo gracias por tu apoyo, paciencia y amor, gracias por compartir mis sueños y mis metas por dejarme crecer cada día a tu lado, gracias por todo lo que hiciste para yo poder culminar con lo que al inicio fue un sueño y ahora es una realidad.

A mis suegros por la ayuda sincera y desinteresada, en especial a mi suegra la Sra. Adelaida Peralta, porque mientras yo buscaba mis sueños usted cuidaba de mi pequeña y siempre pude contar con usted, de corazón gracias.

A mis hermanos y cuñados por cada palabra de aliento y por siempre estar ahí para mí.

A mi directora la Ing. Ma. Fernanda Rosales, que más que profesora fue mi amiga incondicional y mi guía para realizar este trabajo, gracias por su ayuda desinteresada y sincera.

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo, evaluar la calidad microbiológica de los cuyes faenados que se expenden en la ciudad de Cuenca, para ello se recolectaron 70 muestras de tres criaderos. A las muestras se les determinó mesófilos aerobios y *Salmonella* spp, las muestras presuntivas para *Salmonella* spp, fueron confirmadas mediante un método inmunocromatográfico, adicionalmente se realizó la identificación de las cepas encontradas mediante pruebas bioquímicas. Se determinó que el 47.14 % de las muestras presentan una carga superior a lo establecido para aerobios mesófilos, mientras que el 41.43 % de las muestras mostraron presencia de *Salmonella* spp. Finalmente se realizó una prueba para evaluar la sobrevivencia de la bacteria al proceso de asado determinándose que la bacteria era eliminada durante este proceso al alcanzar una temperatura superior a los 72°C.

Palabras clave: *cuyes, criaderos, Salmonella, mesofilos aerobios, ensayo inmunocromatográfico, pruebas bioquímicas.*

ABSTRACT

This study aims to assess the microbiological quality of slaughtered guinea pigs that are sold in the city of Cuenca. The work was performed with 70 samples collected from three farms. Mesophilic aerobic and *Salmonella* spp were determined in the samples analyzed. The samples that were presumed for *Salmonella* spp, were confirmed by an immune chromatographic method. Further identification of strains found by biochemical tests was performed. It was determined that 47.14% of the samples show higher values than the established for mesophilic aerobic, while 41.43% of the samples showed the presence of *Salmonella* spp. Finally, a test to evaluate the survival of the bacteria to the roasting process was performed; concluding that bacteria were eliminated during this process at a temperature above 72 °C.

Keywords: *Guinea Pigs, Farms, Salmonella, Mesophilic Aerobic, Immune chromatographic Assay, Biochemical Tests.*




Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
INDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
CAPITULO 1.....	6
MATERIALES Y METODOS.....	6
1.1. Muestreo.....	6
1.2. Recolección de muestras.....	7
1.3. Desarrollo de los análisis.....	8
1.3.1 Análisis de Mesófilos Aerobios mediante el empleo de placas Compact Dry TC.....	8
1.3.2. Determinación de la presencia/ausencia de Salmonella spp.....	8
1.3.2.1 Siembra en agar verde brillante.....	8
1.3.2.2 Confirmación de Salmonella mediante el empleo del Kit Reveal 2.0 para Salmonella.....	9
1.3.3 Identificación de las bacterias encontradas mediante kit de pruebas bioquímicas.....	10
1.3.4 Estudio para determinar la resistencia de Salmonella durante el asado de los cuyes.....	11
1.3.5 Manejo Estadístico de los datos.....	12
CAPITULO II.....	13
RESULTADOS.....	13
CAPITULO III.....	18
DISCUSIÓN.....	18
CONCLUSIONES.....	21
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
ANEXOS.....	24

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requisitos microbiológicos para carcasas de cuy.....	5
Tabla 2. Determinación de las unidades de muestreo.....	7
Tabla 3. Porcentaje de cumplimiento de criterios microbiológicos.....	13
Tabla 4. Resultado del análisis de mesófilos aerobios en cuyes faenados de acuerdo al lugar de procedencia.....	14
Tabla 5. Análisis de la varianza.....	15
Tabla 6. Resultados de la determinación de presencia/ ausencia de Salmonella spp. según el lugar de procedencia.....	15
Tabla 7. Resultados de la Identificación Bioquímica.....	16
Tabla 8. Resultados de la prueba de Resistencia de la Salmonella al proceso de asado.....	17
Tabla 9. Temperaturas medias del proceso de asado.....	17

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de casos de Salmonella, por grupos de edad y sexo.....	2
Figura 2. Placa Compact Dry TC.....	8
Figura 3. Tirilla para Ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral.....	10
Figura 4. Porcentaje de cumplimiento de criterios microbiológicos.....	13
Figura 5. Análisis de Mesofilos Aerobios en cuyes faenados de acuerdo al lugar de procedencia.....	14
Figura 6. Presencia/ ausencia de Salmonella spp según el lugar de procedencia.....	16

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Enjuague de cuy faenado.....	24
Anexo 2. Técnica de análisis en Compact Dry.....	25
Anexo 3. Siembra en agar Verde Brillante.....	25
Anexo 4. Técnica de Reveal 2.0 for Salmonella.....	26
Anexo 5. Pruebas bioquímicas.....	28
Anexo 6. Tabla de Color.....	30
Anexo 7. Hoja de Resultados.....	30
Anexo 8. Prueba de resistencia de la Salmonella al proceso de asado.....	31
Anexo 9. Tablas de los resultados globales.....	32
Anexo 10. Placas con recuento de Mesofilos aerobios.....	35
Anexo 11. Resultados de la determinación de Salmonella.....	36
Anexo 12. Identificación Bioquímica de cepa aislada en el cantón Nabón.....	38
Anexo 13. Identificación Bioquímica de cepa aislada en la ciudad de Ibarra.....	39
Anexo 14. Identificación Bioquímica de cepa aislada en el cantón Cuenca.....	40

Johanna Priscila Tacuri Campoverde

TRABAJO DE GRADUACION

María Fernanda Rosales Medina

Abril, 2016

Evaluación de la calidad microbiológica de cuyes faenados expendidos en la ciudad de Cuenca.

INTRODUCCION

El cuy o *Cavia porcellus* (nombre científico) es un roedor originario de los países andinos Bolivia, Colombia, Perú y Ecuador, su producción contribuye para dar seguridad alimentaria a la población rural de escasos recursos. (FAO, 1997)

Su consumo es tradicional en nuestra región, actualmente su producción y comercialización se ha incrementado por la demanda local así como la generada por nuestros migrantes.

La población de cuyes en el Ecuador según el III Censo Agropecuario, alcanzó los 5 millones de cabezas en el año 2000, y se estimó que la tasa de crecimiento anual era del 14,29% con lo que la población en el año 2015 se calcula aproximadamente en 37 millones de cabezas.

En el Ecuador el consumo anual aproximado es de 13 millones de cabezas anuales, cuyos pesos promedios oscilan en los 2,1 kilogramos, es decir que al año se consumen 26590 toneladas de carne de cuy en nuestro país. (SIN, 2012)

El cuy es un animal muy susceptible a enfermedades altamente infecciosas como la salmonelosis.

La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria de gran difusión, que genera un problema de salud pública ya que anualmente genera millones de casos en el mundo, en su mayoría son leves pero en ciertas ocasiones puede llegar a ocasionar la muerte del individuo. El grado de gravedad depende de la condición propia del enfermo así como de la cepa involucrada.

El SIVE-ALERTA indica que hasta la semana 40 del año 2015 se registraron 2.211 casos de Salmonella en el Ecuador, de los cuales 65 casos se dieron en la provincia del Azuay y la provincia más afectada fue Manabí que presentó 836 casos.

Del total de casos el grupo de edad más afectado está comprendido entre los 20 y 49 años, y mayoritariamente de género femenino, como se indica en la figura 1.

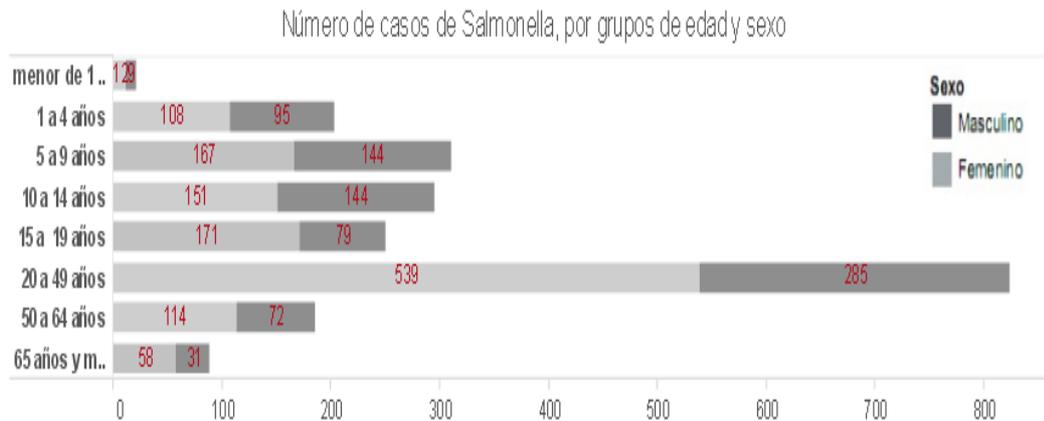


Figura No. 1. Número de casos de Salmonella, por grupos de edad y sexo.

Fuente: SIVE-ALERTA, 2015.

La salmonelosis es una zoonosis alimentaria, enfermedad transmitida de animales a los humanos, que produce una gastroenteritis ocasionada por infección de *Salmonella spp.*, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, no esporulado, produce ácido a partir de la glucosa y son móviles, con excepción de las bacterias *S. gallinarum*, *S. pullorum* y un tipo de *S. arizonae* que son inmóviles (Pascual, 2005).

La temperatura de crecimiento oscila entre los 5°C y 47°C, siendo su temperatura óptima a 37°C, su crecimiento se ve disminuido por encima de los 42°C y bajo los 10°C. Pueden desarrollarse en ambientes de pH entre 4.5 y 9.0 siendo su pH óptimo en el rango de 6.5 a 7.5. La salmonella se inactiva y muere en medios cuyo pH sea inferior a 4.1. Son resistentes a la congelación y a la deshidratación. (Pascual, 2005)

La mayoría de los serotipos de Salmonella no son resistentes al calor, generalmente son destruidos durante procesos de pasteurización. Se ha establecido como el tiempo de reducción decimal entre 1 - 10 min a 60 °C y menos de 1 min a 70 °C, y un valor z entre 4-5 °C. (Lawley, 2013)

La dosis infectante que puede ocasionar una ETA por Salmonella suele ser de 10^5 bacterias (Pascual, 2005), dependiendo de diversos factores tales como:

- El tipo de alimento.
- La cepa patógena involucrada.
- La susceptibilidad de la persona.

- El grado de virulencia del patógeno.

Los casos de Salmonelosis aumentan en el verano, y la incidencia es mayor en personas susceptibles como niños, ancianos, inmunodeprimidos.

Existen dos especies de Salmonella que pueden causar daño a los humanos:

S. entérica y *S. bongori*. (Bad Bug Book, 2012)

La Salmonella entérica se subdivide en seis subespecies:

S. entérica subsp. *entérica*

S. entérica subsp. *salamae* (II)

S. entérica subsp. *arizonae* (IIIa)

S. entérica subsp. *Diarizonae* (IIIb)

S. entérica subsp. *Houtenae* (IV)

S. entérica subsp. *índica* (VI)

La mayoría de serotipos identificados de Salmonella entérica producen daño a los humanos y otros animales de sangre caliente, mientras que presencia de *S. bongori* se asocia principalmente a animales de sangre fría (Foti, Daidone, Aleo, Pizzimenti, Giacobello & Mammina, 2009).

Es importante que se realice una identificación de la especie involucrada en el problema, ya que no todos los serotipos de Salmonella son igualmente patógenos para humanos y animales.

Un gran número de casos de Salmonelosis suelen ocasionarse debido al consumo de alimentos y derivados de origen animal como las carnes de abasto, pollo, mariscos, pescado, leche no pasteurizada, huevos no pasteurizados; también por el consumo de alimentos contaminados el momento de su preparación, por la mala manipulación e insalubridad de los ambientes.

En los animales, la Salmonella puede presentarse a través de una infección o ser portadores de la bacteria y producir su introducción tanto en otros animales como en el hombre. (Pascual, 2005)

La Salmonella provoca en los cuyes un cuadro patológico de mortalidad severa inclusive puede provocarse abortos, la vía de infección es la oral. Como fuentes para

originarse la infección pueden ser los alimentos contaminados, contagio por introducir animales sin someterlos una cuarentena previa, la presencia de roedores nocivos y aves portadoras, la insalubridad de los ambientes de crianza, inclusive se podría considerar como transportador de la enfermedad al personal encargado del cuidado de los animales. (Pascual, 2005)

Según el Boletín Científico No. 2 emitido por la Universidad Ricardo Palma (Perú, 2014) la enfermedad puede estar presente en los animales de dos maneras: crónica o aguda. La forma aguda es la que causa mayor mortalidad presentando un cuadro septicémico agudo que produce la muerte en un lapso de 24 a 48 horas, presentando decaimiento, postración, anorexia, adelgazamiento, el pelaje se vuelve áspero y erizado, inclusive pueden llegar a paralizarse los miembros posteriores, sin embargo en la mayoría de los casos los animales no presentan ningún síntoma antes de la muerte. En el caso que la enfermedad sea crónica se produce un adelgazamiento paulatino, un crecimiento del volumen abdominal y el pelaje pierde brillo.

La bacteria ocasiona daños severos a la morfología del animal, al hacer la necropsia se puede observar que el hígado se encuentra agrandado con presencia de zonas necróticas y focos purulentos, de igual manera el bazo se muestra con una tamaño mayor al normal y puntos purulentos, también afecta al tracto intestinal congestionándolo y causando hemorragias con ulceraciones y también presenta focos purulentos a manera de pequeñas perlas. (Chauca, 1997)

El incremento en la demanda de carne de cuy obliga que se ofrezca un producto inocuo, con el fin de evitar se propaguen las ETA's.

Los alimentos pueden llegar a contaminarse en cualquier etapa de su producción, afectando a quienes los consumen.

Durante el faenado es donde se produce la mayor contaminación microbiana de los cuyes, ya que es en esta etapa en la que la carne está en contacto con los pelos, el contenido gastrointestinal propio del animal así como agentes externos como los utensilios, los individuos encargados del faenado y el entorno donde se realiza la actividad.

En el Ecuador no se cuenta con normativa específica para el control microbiológico de la carne de cuy, por ello se toma como referencia la Norma Técnica Peruana 201.058.2006, que nos indica que los límites para los microorganismos en estudio son los siguientes:

Tabla No.1. Requisitos microbiológicos para carcasas de cuy

Microorganismo	Requisito
Recuento de microorganismos aerobios Mesófilos	<10 ⁶ UFC/g
Detección de Salmonella	Ausencia en 25 g.

Fuente: DIGESA, NTP No. 201.058.2006.

Objetivo general:

- Evaluar la calidad microbiológica de cuyes faenados y expendidos en la Ciudad de Cuenca.

Objetivos específicos:

- Recolectar las muestras requeridas para el presente estudio provenientes de los criaderos en estudio.
- Evaluar la carga de Mesofilos totales y Salmonella spp presentes en los cuyes faenados de acuerdo a la Norma Técnica Peruana 201.058.2006. CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. Definiciones, clasificación y requisitos de las carcasas y carne de cuy.
- Realizar un análisis de los resultados obtenidos mediante estadística descriptiva.
- Efectuar un prueba final en cuyes asados para determinar la sobrevivencia de la Salmonella spp., en este tipo de producto.

CAPITULO 1

MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se realizó en cuyes faenados provenientes de tres criaderos que abastecen a locales de expendio en la ciudad de Cuenca.

Criadero 1. Del cantón Nabón.

Criadero 2. De la ciudad de Ibarra.

Criadero 3. De la ciudad de Cuenca.

Un estudio estadístico nos permite determinar características de una población mediante la selección de algunos elementos que la conforman, es así que se debe establecer una muestra que será el subconjunto de la población en estudio. (Elorza, 2000).

Para determinar el tamaño de muestra se empleó un muestreo aleatorio simple y posteriormente se aplicó un muestreo estratificado para determinar las muestras que deben tomarse de cada criadero en estudio.

El muestreo aleatorio simple se caracteriza porque cada elemento de la población tiene la misma probabilidad de ser elegido. (Elorza, 2000).

El muestreo aleatorio estratificado se refiere a que existen poblaciones en las que pueden establecerse grupos en base a diferencias con respecto al carácter que se investiga. (Elorza, 2000).

1.1 Muestreo

Para determinar el tamaño de muestra y basándose en lo descrito por Elorza, 2000; se aplica la siguiente fórmula:

$$n = \frac{p(1-p)}{\left(\frac{E}{z}\right)^2 + \frac{p(1-p)}{N}}$$

Donde:

n= tamaño de muestra.

N= Tamaño de la población.

Z=valor correspondiente a la distribución de Gauss, $z_{\alpha=0.05} = 1.96$.

p = probabilidad, 95 %.

q = 1-p.

E = error esperado, 5 %.

La población se estableció tomando como referencia el consumo en uno de los locales de mayor expendio en el medio que bordea los 1600 cuyes mensuales.

Obteniéndose:

$$n = \frac{0.95(1-0.95)}{\left(\frac{0.05}{1.96}\right)^2 + \frac{0.95(1-0.95)}{1600}} = 70$$

El tamaño de muestra determinado fue de 70 unidades de muestreo, y posteriormente por muestreo estratificado, de acuerdo al porcentaje de compra a cada criadero se estableció el número de muestras para cada establecimiento.

Tabla No. 2. Determinación de las unidades de muestreo

Criaderos	% de consumo	unidades a muestrear
Criadero Nabón	36	25
Criadero Ibarra	44	31
Criadero Cuenca	20	14
total	100	70

1.2 Recolección de las muestras

El muestreo se llevó a cabo durante los meses de septiembre, octubre y noviembre del año 2015.

Para tomar las muestras, se realizó un enjuague de las carcasas de cuy con agua de peptona estéril y se recolectó el líquido en fundas estériles y posteriormente se colocó la muestra en el recipiente de vidrio hermético. La solución madre es considerada la dilución 10^0 , a partir de esta se realizan los análisis. Anexo 1.

Posteriormente las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad del Azuay, manteniendo una cadena de frío con la ayuda de hielo, para evitar el crecimiento bacteriano que pudiera afectar a los resultados obtenidos.

1.3 Desarrollo de los análisis

1.3.1. Análisis de Mesofilos Aerobios mediante el empleo de placas Compact Dry TC.



Figura No.2. Placa Compact Dry TC.

Fuente: Nissui.

Las Placas Compact Dry TC cuentan con la aprobación AOAC No. 010404, son unas placas cromogénicas que contienen un agar de cultivo Estándar que sirve para la determinación del Recuento total, las colonias se presentan de color rojo debido a que el medio contiene sal de tetrazolio, que es un indicador REDOX. Anexo 2.

1.3.2. Determinación de la Presencia/ausencia de Salmonella spp.

Para la determinación de Salmonella spp., se realizaron dos procedimientos:

En primera instancia se sembraron por hisopado en agar BGA, Agar verde brillante.

Las muestras que resultaron positivas en la siembra fueron analizadas con el Kit Reveal 2.0 para salmonella.

1.3.2.1. Siembra en Agar verde brillante.

El agar verde brillante es un medio de enriquecimiento altamente selectivo para el aislamiento de Salmonella spp., excepto *S. typhi* y *S. paratyphi*.

Las peptonas y el extracto de levadura que contiene el medio el medio de cultivo, constituyen la fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales. La lactosa y la sacarosa son los hidratos de carbono fermentables, el rojo fenol es el indicador de pH, que vira al amarillo cuando hay producción de ácido a partir de la fermentación de azúcares, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el verde brillante actúa como agente selectivo, que inhibe la flora acompañante.

Las colonias de salmonella que crecen en el medio son transparentes, rodeadas de un halo rojo, ya que no fermentan la lactosa. Las bacterias que fermentan la lactosa se presentan de color amarillo-verdosas al producir el viraje del rojo fenol por producción de ácido. Anexo 3.

Las placas que evidencien la presencia de Salmonella spp., deberán ser analizadas empleando el kit Reveal 2.0 for Salmonella.

1.3.2.2. Confirmación de Salmonella mediante el empleo del Kit Reveal 2.0 para Salmonella.

El sistema Reveal 2.0 para Salmonella, facilita la determinación de Salmonella en muestras de alimentos, concentrados de animales y muestras ambientales, cuenta con aprobación de la AOAC número 960801.

En estudios realizados por el Instituto de Investigaciones AOAC, se pudo demostrar la efectividad del sistema en la detección de Salmonella entérica en las siguientes muestras: enjuagues de pollo en canal, pavo molido crudo, carne molida cruda, salchicha entre otros.

El sistema emplea dos medios previos a la realización del ensayo. El medio Revive, es un medio de enriquecimiento, que es el encargado de proporcionar a la bacteria los nutrientes necesarios para su recuperación en situaciones de estrés o lesión. Posterior a esta etapa se le añade un medio de enriquecimiento selectivo Rappaport Vassiliadis, que favorece el crecimiento de Salmonella a niveles que puedan ser detectados por el dispositivo de prueba de Reveal.

Luego de sembrar en los medios de enriquecimiento se debe proceder a realizar el ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral. Anexo 4.

El ensayo permite la detección inmunológica de la bacteria patógena, este sistema consiste en una membrana de nitrocelulosa en la que se encuentran inmovilizados los anticuerpos conjugados con partículas de oro coloidales específicos contra el

patógeno a determinar. Se sumerge la tirilla en el pocillo que contiene una cantidad determinada de muestra, la misma que asciende por capilaridad por la zona de reacción, y en caso de existir antígenos presentes, estos se unirán a los anticuerpos formando un complejo antígeno-anticuerpo que a continuación migra de la zona de reacción y se moviliza a través de la membrana hasta alcanzar la zona de análisis que contiene anticuerpos, el complejo formado en la zona de reacción es capturado y retenido en esta zona formando una línea visible coloreada, el resto de la muestra sigue ascendiendo hasta el final de la membrana donde se concentra en un sitio destinado a los residuos.

La zona de reacción también contiene un inmunocomplejo de control que conjuntamente con la muestra migra por la membrana hasta la zona de control donde es capturado y retenido en esta área formando una línea visible coloreada. Independientemente de la presencia o ausencia de antígenos de Salmonella, la línea de control se deberá formar para asegurar que la prueba se realizó correctamente (Neogen, 2014).

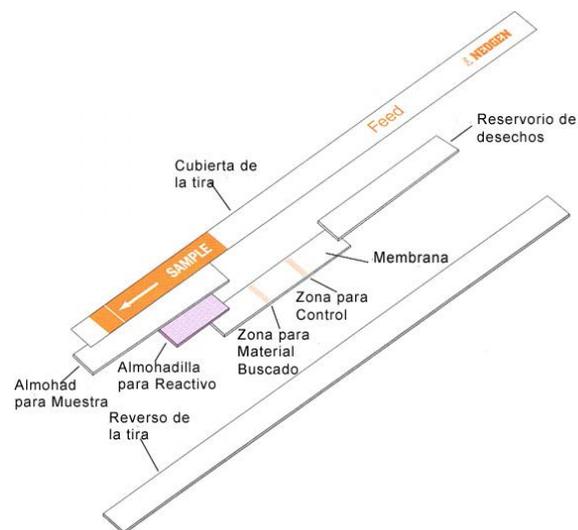


Figura No. 3. Tirilla para Ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral.

Fuente: NEOGEN

1.3.3. Identificación de las bacterias encontradas mediante kit de pruebas bioquímicas.

Complementario al estudio se realizó la identificación de las cepas encontradas en cada uno de los sitios de origen de las muestras, empleando el kit de Microgen TM Gn A + B – ID Identificación.

El sistema comprende dos tiras de micropocillos por separado (GN A y GN B). Cada tira contiene 12 sustratos bioquímicos estandarizados que han sido seleccionados en función de un análisis informático muy extenso (1) de las bases de datos publicadas para la identificación de la familia Enterobacteriaceae y los microorganismos Gram- oxidasa positivas y negativas no-exigentes más comunes. Los sustratos deshidratados en cada pocillo se reconstituyen con una suspensión salina del organismo a identificar. Si los sustratos son metabolizados por el organismo, se observará un cambio de color durante la incubación o después de la adición de reactivos específicos. La permutación de los sustratos metabolizados se puede interpretar usando el Software Microgen Identification (MID-60) para identificar el organismo analizado.

Las tiras de GN A han sido diseñadas para la identificación de fermentadores de glucosa oxidasa negativas, nitrato positivas que incluyen los géneros más comunes de la familia Enterobacteriaceae.

Las tiras GN A y GN B se utilizarán conjuntamente obteniendo un sistema con 24 sustratos para identificar bacilos Gram- (oxidasa negativas y positivas) además de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.

Las tiras de GN B han sido diseñadas para ser usadas conjuntamente con las tiras GN A y no de modo individual (Microgen, 2011). Anexo 5, 6 y 7.

Al finalizar la prueba se obtiene un perfil numérico, que se utilizará para determinar la identidad del organismo aislado.

El Perfil numérico se introduce en el Software Microgen Identification System (MID-60), que genera un informe de los cinco microorganismos más parecidos en una base de datos selectiva.

El software proporciona una identificación basada en probabilidad, en % de probabilidad y en el parecido con un análisis de la calidad de la diferenciación.

1.3.4. Estudio para determinar la resistencia de Salmonella durante el asado de los cuyes.

Para poder obtener información relevante se realizaron tres pruebas de supervivencia de Salmonella durante el proceso de asado del cuy. Anexo 8.

Cada prueba se la realizó de la siguiente manera.

1. Se contaminaron 5 canales de cuy con una suspensión bacteriana correspondiente al estándar McFarland 2 (6×10^8) de una cepa ATCC de Salmonella Enteritis.
2. Se colocó cada cuy en un palo diferente y se sometió al calor.
3. A partir de los 15 minutos de asado se procedió a tomar la temperatura y realizar el enjuague de la canal con agua peptonada estéril y se recolecto el líquido de enjuague, proceso que se realizó cada 5 minutos hasta alcanzar los 35 minutos de asado.
4. Se trasladaron las muestras al laboratorio y se realizó el análisis empleando el Kit Reveal para Salmonella spp.

1.3.5. Manejo Estadístico de los datos.

Los datos obtenidos fueron analizados empleando una estadística descriptiva, para ello se elaboraron tablas para recolectar la información proveniente de los resultados de las muestras y se realizaron gráficas para poder facilitar el análisis visual. El contaje de UFC de Mesófilos aerobios se transformó a logaritmo base 10 para realizar un análisis de la varianza ANOVA, y determinar si existen diferencias significativas entre los criaderos en análisis.

Capítulo 2

RESULTADOS

En el estudio se analizaron un total de 70 muestras provenientes del enjuague de carcasas de cuy provenientes de 3 criaderos, con la finalidad de realizar una evaluación de la calidad microbiológica de los cuyes faenados que se expendían en la ciudad de Cuenca.

Luego de realizar los análisis correspondientes se pudo determinar que de las 70 muestras en análisis las 37 muestras que representan el 52.86% cumplen con los parámetros establecidos de los microorganismos en estudio, mientras que las 33 muestras que representan 47.14 % se encuentran fuera de los parámetros. Anexo 9.

2.1 Resultados obtenidos

Al revisar los resultados obtenidos y contrastarlos con lo que indica la Norma Técnica Peruana 201.058.2006, se pudo establecer que el 52.86 % de las muestras cumplen con lo establecidos para Mesófilos aerobios y el 58.57 % con lo indicado para Salmonella spp, mientras que el 47.14 % de las muestras se encuentran fuera de parámetros en cuanto a Mesofilos aerobios y el 41.43 % con lo que respecta a Salmonella spp.

Tabla No. 3. Porcentaje de cumplimiento de criterios microbiológicos.

	CUMPLEN	NO CUMPLEN
Aerobios Mesofilos	52,86 %	47,14 %
Salmonella spp.	58,57 %	41,43 %

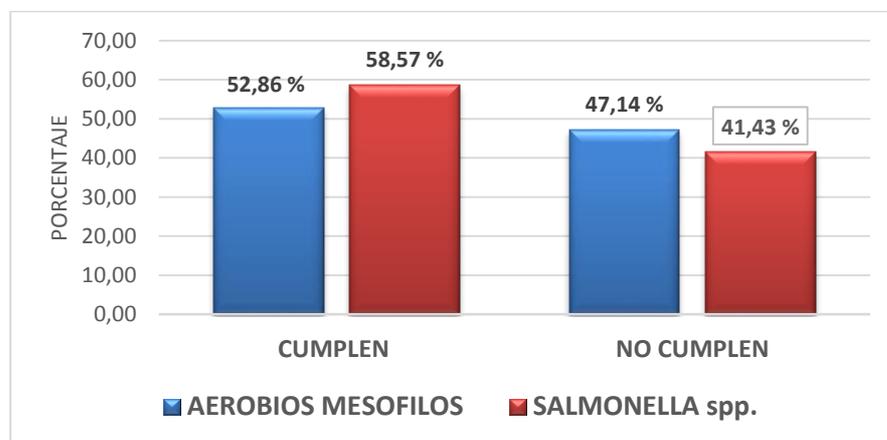


Figura No. 4. Porcentaje de cumplimiento de criterios microbiológicos.

2.1.1. Análisis de Mesófilos Aerobios en cuyes faenados de acuerdo al lugar de procedencia.

Se establece que el 68 % de las muestras provenientes del criadero del Cantón Nabón cumplen con lo establecido en la normativa de referencia mientras que el 32 % de las muestras se encuentran fuera de parámetros. De las muestras provenientes de la ciudad de Ibarra el 48.39 % de las muestras cumplen y el 51.61 están incumpliendo con lo estipulado, finalmente las muestras analizadas de la ciudad de Cuenca indican que el 35.71 % cumplen con lo que se indica en la normativa mientras que el 64.29% incumplen. Anexo 10.

Tabla No. 4. Resultado del análisis de mesófilos aerobios en cuyes faenados de acuerdo al lugar de procedencia

CRIADERO	% DE MUESTRAS QUE CUMPLEN	% DE MUESTRAS QUE NO CUMPLEN
NABON	68,00	32,00
IBARRA	48,39	51,61
CUENCA	35.71	64.29

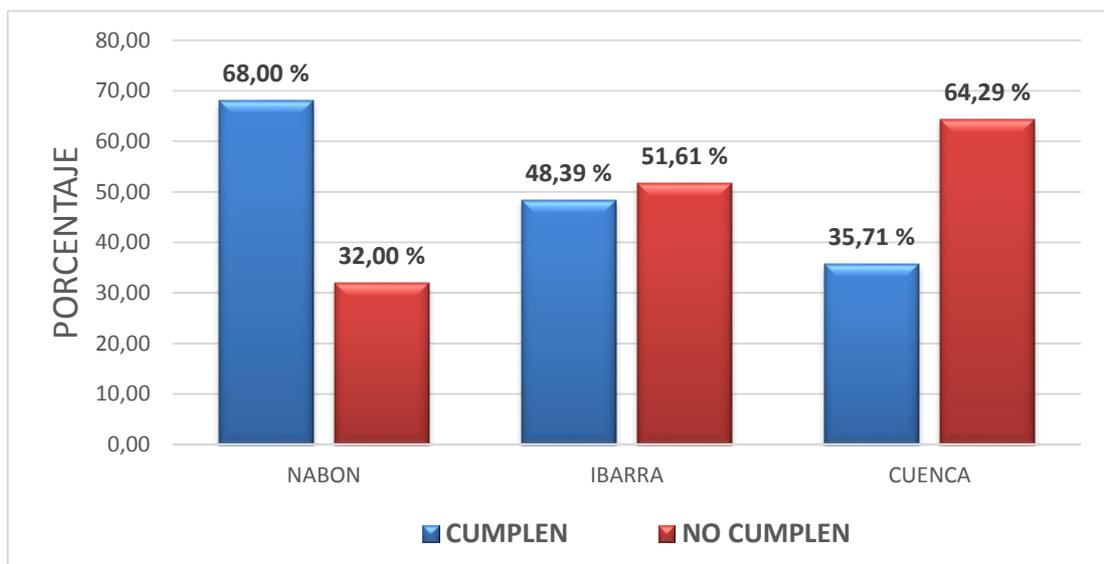


Figura No. 5. Análisis de Mesofilos Aerobios en cuyes faenados de acuerdo al lugar de procedencia

2.1.1.1. Análisis de la varianza del contaje de Mesofilos aerobios de acuerdo al lugar de procedencia.

Tabla No. 5. Análisis de la varianza.

A. la tabla de análisis de varianza generalizada				
fuerza de variación	suma de cuadrados	grados de libertad	cuadrado medio	valor F
entre muestras (tratamiento)	SCTR	c-1	SCTR / (c-1)	CMTR/CME
dentro de muestras (error)	SCE	n-c	SCE / (n - c)	
variación total	SCT	n-1		
B. Tabla de ANOVA				
fuerza de variación	suma de cuadrados	grados de libertad	cuadrado medio	valor F
entre muestras (tratamiento)	3,42	2	1,71138034	1,88
dentro de muestras (error)	60,89	67	0,90882534	
variación total	64,3	69		
Ho:	$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$			
Ha:	no todas las medias son iguales			
alfa:	0,05			
Regla de decisión:	No rechazar la Ho si $F \leq 3,15$. Rechazar la hipótesis nula si $F > 3,15$			
Conclusión:	Ya que $F=1,88 < 3,15$, no se rechaza la hipótesis nula			

Luego de realizar el análisis de la Varianza se establece que no existen diferencias significativas entre las medias de los contajes en placa, con lo que se concluye que posiblemente puede existir una relación de la contaminación en los criaderos, debido a una falta de control durante la crianza y faenamiento del animal.

2.1.2. Análisis de la Presencia / ausencia de Salmonella spp en cuyes faenados.

Anexo 11.

Tabla No. 6. Resultados de la determinación de Presencia/ Ausencia de Salmonella spp según el lugar de procedencia

CRIADERO	% MUESTRAS NEGATIVAS	% MUESTRAS POSITIVAS
NABON	64,00	36,00
IBARRA	61,29	38,71
CUENCA	42,86	57,14

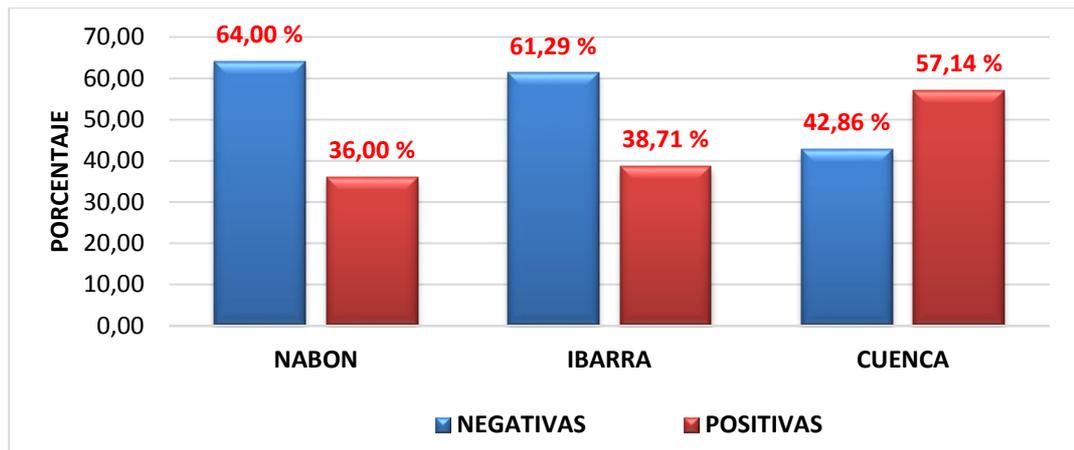


Figura No. 6. Presencia/ Ausencia de Salmonella spp según el lugar de procedencia.

2.1.3. Resultados de la Identificación Bioquímica de las cepas encontradas mediante el empleo del Sistema de pruebas rápidas Microgen.

Luego de realizar las pruebas bioquímicas y con la ayuda del software MIR Ver. 1.2 se pudo determinar que la cepa encontrada en las muestras que resultaron positivas corresponde a las siguientes bacterias:

Tabla No. 7. Resultados de la Identificación Bioquímica.

CRIADERO	MICROORGANISMO DETERMINADO	ANEXO
NABON	Salmonella Group IIIb	ANEXO N.12
IBARRA	Salmonella Group IIIb	ANEXO N.13
CUENCA	Salmonella Bongori (Group V)	ANEXO N.14

En el anexo correspondiente se encuentra la batería de la prueba bioquímica y la ficha de identificación bioquímica de cada cepa analizada.

2.1.4. Resultados de la prueba de Resistencia de la Salmonella durante el proceso de asado de los cuyes.

Se logró determinar que la Salmonella inoculada a las muestras permanecía viable a una temperatura promedio de 64.33°C, temperatura alcanzada tras 20 minutos de asado, mientras que transcurridos los 25 minutos se alcanza una temperatura promedio de 73°C y al realizar los análisis respectivos se determinó que la bacteria fue destruida por el proceso térmico.

Además se estableció que al finalizar el proceso de asado el cuy alcanza una temperatura media de 78.67°C.

Tabla No. 8. Resultados de la prueba de Resistencia de la Salmonella al proceso de asado.

	Tiempo minutos	Temperatura °C	Resultado del análisis
Prueba 1	15	58	Positivo
	20	66	Positivo
	25	74	Negativo
	30	78	Negativo
	35	79	Negativo
Prueba 2	15	56	Positivo
	20	63	Positivo
	25	73	Negativo
	30	77	Negativo
	35	78	Negativo
Prueba 3	15	55	Positivo
	20	64	Positivo
	25	72	Negativo
	30	76	Negativo
	35	79	Negativo

Tabla No. 9. Temperaturas medias del proceso de asado.

Tiempo minutos	Temperatura °C
15	56.33
20	64.33
25	73
30	77
35	78.67

DISCUSIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen un peligro significativo para la salud a nivel mundial, son causadas por la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos o sustancias tóxicas, es así que para evitar que se originen se establecen controles preventivos que garanticen la inocuidad de los alimentos a lo largo de toda la cadena productiva.

En mayo del 2000 durante la 53ª Asamblea Mundial de la Salud se aprobó la resolución que insta a la OMS y sus Estados Miembros a integrar como una de sus funciones primordiales de salud pública la inocuidad de los alimentos, con el propósito de establecer sistemas de inocuidad de los alimentos integrados y sostenibles teniendo como objetivo minimizar los riesgos para la salud a lo largo de toda la cadena alimentaria.

Según la OMS (2016), se estima que cada año las enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria o hídrica cobran la vida de 2,2 millones de personas, en su mayoría niños. La diarrea es el síntoma agudo más frecuente de las enfermedades de transmisión alimentaria; otras consecuencias graves son la insuficiencia renal y hepática, los trastornos cerebrales y neurales, la artritis reactiva, el cáncer y la muerte.

En el Ecuador pese a los controles que realiza el Ministerio de Salud, hasta el 17 de octubre del año 2015 se contabilizaron 9.395 casos de Intoxicaciones Alimentarias, de los cuales 2.211 casos corresponden a intoxicaciones ocasionadas por *Salmonella*, y de ellos 65 casos se produjeron en la provincia del Azuay (SIVE-ALERTA, 2015).

No existen estudios relacionados con la calidad microbiológica de cuyes faenados es por esto que en la presente investigación se planteó evaluar la calidad microbiológica de los cuyes faenados expendidos en la ciudad de Cuenca, analizando la carga de mesófilos aerobios presentes y la determinación de la presencia / ausencia de *Salmonella* spp en cuyes faenados.

En un estudio realizado en la Universidad Politécnica Salesiana de la ciudad de CUENCA, se logró determinar que de 118 muestras de cuyes analizadas en el Cantón Saraguro el 24.58% correspondían a una *Salmonella* *tiphymurium*, de las cuales la mayor prevalencia de la bacteria existía en las muestras provenientes de sistemas de crianza familiar (44.83%) y en menor proporción las muestras provenientes de sistema comercial (Guamán, 2014).

De igual manera en la facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Perú, 2010) se evaluó la frecuencia de lesiones anatomopatológicas en cobayos con diagnóstico bacteriológico de *Salmonella* spp, donde se determinó que de 254 muestras recolectadas entre los años 2001 al 2007, las 81 muestras resultaron positivas para *Salmonella*.

Los estudios mencionados corroboran con la presente investigación, en la cual se ha podido analizar animales provenientes de diferentes criaderos ubicados en la ciudad Ibarra, cantón Nabón y cantón Cuenca en la provincia del Azuay, en los cuales se logró determinar que de las 70 muestras analizadas el 41.43 % resultaron positivas para *Salmonella*.

Al evaluar los resultados globales se establece que el 47,14% se encuentran fuera de los parámetros establecidos para aerobios Mesófilos. Adicionalmente al realizar el análisis de la varianza no se logra determinar diferencias significativas entre los criaderos en análisis por lo que supone que la contaminación generada podría tener fuentes similares.

De acuerdo al lugar de procedencia se determina que el 64,29% de las muestras provenientes del criadero de la ciudad de Cuenca se encuentran sobre el límite de aerobios Mesófilos y el 57,14 % de las muestras resultaron positivas para *Salmonella*.

Las muestras que provenían del criadero de la ciudad de Ibarra presentaron *Salmonella* en un 38,71%, y el 51,61% de la totalidad de las muestras se encontraban fuera de lo establecido en la normativa.

De las muestras originarias del cantón Nabón el 32 % se encontraban fuera de los límites establecidos para aerobios Mesófilos y el 36 % resultaron positivas para *Salmonella*.

Dados los resultados mencionados se determina que el criadero de la Ciudad de Cuenca es el lugar con mayores inconvenientes encontrados ya que presentan el mayor porcentaje de desviaciones en referencia a lo indicado en la normativa, esto se puede deber a que es un criadero que lleva un año en el mercado, que no posee mucha experiencia; se pudo constatar que el faenamiento se lo realiza artesanalmente, no existe un lugar destinado únicamente para este fin, durante la época de muestreo existió devastamiento de animales por lo que ingresaron al galpón animales provenientes de otros criaderos sin ser sometidos a una cuarentena previa lo que

podría incurrir en la inserción de plagas que originan la presencia de patógenos en los cuyes.

En cuanto a las muestras provenientes de Ibarra se puede establecer que existe un porcentaje significativo de desviaciones que pueden ocasionarse debido a la forma de manipulación del animal durante el traslado desde dicha ciudad hasta el local de expendio, en vista que los animales llegan congelados en cartones sin mantener la cadena de frío durante el transporte y sin una protección externa adecuada.

Mientras que las muestras que provienen del Cantón Nabón son las que menor porcentaje de desviaciones presenta esto podemos adjudicarle a que son una asociación cuya actividad es la de recolectar animales de los miembros de su comunidad pertenecientes a la asociación y que cumplan con los requerimientos del cliente, posteriormente cuentan con un espacio destinado al faenamiento de los animales, los mismos que son sacrificados y trasladados al local de expendio el mismo día y en un recipiente hermético con bolsas de hielo para mantener un temperatura baja durante el transporte, manteniendo una adecuada conservación del animal hasta llegar a su destino.

Finalmente, al realizar las pruebas de supervivencia del patógeno en estudio se pudo determinar que la bacteria no resistía el proceso de asado, ya que al analizar las muestras recolectadas durante las pruebas resultaron positivas para Salmonella las muestras recolectadas durante los primeros 20 minutos de asado alcanzando un temperatura media de 64.33°C en este tiempo y que luego de transcurridos 25 minutos se alcanzaba una temperatura media de 73°C y al analizar las muestras los resultados fueron negativos.

Se debe indicar que realizar el asado del animal regularmente toma de 30 a 40 minutos dependiendo de la contextura del mismo y el momento de servirlo la temperatura promedio es 78.67°C, lo que nos garantiza que en caso de existir la bacteria de Salmonella esta será destruida durante el proceso de asado.

Si bien es cierto y se ha logrado demostrar que la bacteria es eliminada al someterla al proceso de asado queda en duda el daño que pudiera ocasionar el consumo de un animal enfermo por los daños colaterales que causa la bacteria en el huésped.

CONCLUSIONES

Los hallazgos encontrados evidencian una falta de control durante toda la etapa de productiva, supuesto que se demuestra por los porcentajes de muestras con cargas de mesófilos aerobios superiores a las permitidas y la presencia de patógenos en estos animales, específicamente Salmonelas del genero Enteritis, identificadas en las muestras analizadas.

Durante el proceso de asado, en caso de estar presente la Salmonella, se logra la destrucción térmica de la bacteria patógena siempre que se alcance una temperatura superior a los 73 °C, temperatura a la cual se logró demostrar que la bacteria ya no se mantenía viable en las muestras.

Sin embargo, el hecho de haber determinado la existencia de Salmonella en un número significativo de las muestras analizadas obliga los propietarios de locales destinados al expendio de estos animales a efectuar un mejor control de las actividades que se realicen en los ambientes donde se encuentran los animales faenados para evitar una posible contaminación cruzada a otros productos.

De igual manera se debe controlar la cadena de frio para evitar el incremento de la flora bacteriana presente en los animales, disminuyendo la vida útil del producto.

Finalmente se recomienda exigir a los proveedores realizar un mejor control durante la crianza, faenamamiento y distribución de los animales para minimizar la prevalencia de la Salmonella en los cuyes y disminuir la carga microbiana con la que llega el animal al local de expendio.

Entre las recomendaciones podemos citar las siguientes

Someter a cuarentena a todo animal que provenga de otro criadero y aquellos que se sospeche esté infectados.

Eliminar todo animal enfermo.

Realizar una limpieza y desinfección continua de los ambientes de crianza.

Realizar un adecuado control de plagas dentro del lugar destinado a la crianza como del entorno.

Mantener un control adecuado del personal involucrado en la crianza de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bad Bug Book, 2012. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. FDA. Second Edition.

Bolaños, Ernesto. 2012. Muestra y Muestreo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Escuela Superior de Tizayuca. México. Páginas: 5,6 y 7.

Carrillo, L., Alfredo, E. 2009. El cuy, su cría y explotación: actividades productivas. Argentina: El Cid Editor/ apuntes. Página: 10.

Chauca, Lilia, 1997. Producción de Cuyes (*Cavia Porcellus*). Instituto Nacional de Investigación Agraria. Perú.

DIGESA, Norma Técnica Peruana 201.058.2006. CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. Definiciones, clasificación y requisitos de las carcasas y carne de cuy.

Elorza, Haroldo. 2000. Estadística para las ciencias sociales y del comportamiento. México. Oxford. Páginas: 297- 309.

FAO, 1997. Producción de cuyes (*Cavia Porcellus*). Estudio FAO Producción y Sanidad Animal 138. Recuperado el 11 de enero de 2016 de <http://www.fao.org/docrep/w6562s/w6562s00.htm#TopOfPage>

Foti, M., Daidone, A., Aleo, A., Pizzimenti, A., Giacobello, C., & Mammina, C., 2009. *Salmonella bongori* 48:z35:in Migratory Birds, Italy. Emerging infectious diseases. Centers for disease. Control and Prevention. Recuperado el 14 de enero del 2016 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2681106/>

González, Silvia, Cecchini, Diego. Enfermedades Bacterianas Transmitidas por Alimentos. Salmonellosis no tífica. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por los alimentos.

Guamán, Marco, 2014. DETERMINACIÓN DEL GÉNERO Y ESPECIE DE *Salmonella* EN CUYES MESTIZOS EN DIFERENTES SISTEMAS DE CRIANZA EN LA COMUNIDAD DE OÑA C APA C DEL CANTÓN SARAGURO. (Tesis de Pregrado) Universidad Politécnica Salesiana. Sede Cuenca. Recuperado el 8 de enero del 2016 de: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6351/1/UPS-CT002914.pdf>

Lawley, R., Curtis, L. y Davis, J., 2012. The Food Safety Hazard Guidebook. Gran Bretaña: RSC Publishing. Página: 86

Lawley, Richard, 2013. Salmonella. Food Safety Watch. The Science of safe food. Recuperado el 11 de enero del 2016 de: <http://www.foodsafetywatch.org/factsheets/salmonella/>

Madigan, M; Martinko, J; Parker, J. 2008. Biología de los Microorganismos. Editorial Pearson Educación S.A. España. Página: 377.

Merchán, Paola. 2013. LA SALMONELOSIS EN LOS CUYES. Publicado en diario El Mercurio. Fecha de publicación: 15/09/2015.
Microgen, 2011. Microgen™ GnA+ B-ID system. Microgen Bioproducts.

Morales, Marlon, 2014. Boletín Científico No.2 Laboratorio de Microbiología. Universidad Ricardo Palma. Recuperado el 12 de enero del 2016 de: http://www.urp.edu.pe/pdf/biologia/boletin%2014.11.2014_1.pdf

Neogen, 2014. Reveal 2.0 for Salmonella. Neogen Corporation.

OMS, 2016. Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Inocuidad de los Alimentos. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 11 de enero del 2016 de www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/es/

Pascual, M., Calderón, V. y Pascual. (2000). Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. España: Días de Santos.

Pascual, María, 2015. Enfermedades de origen alimentario, Su Prevención. España: Ediciones Díaz de Santos. Páginas: 24 -32.

Rodríguez, Ernesto. 2005. Metodología de la Investigación. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México. Páginas: 83-86.

SIN, 2012. Sistema Integrado de Consultas de Clasificaciones y Nomenclaturas (SIN). Ficha Técnica de los Alimentos. Carne de Cuy. CPC 21129.09. Recuperado el 14/12/2015 de:

SIVE-ALERTA, 2015. Gaceta Epidemiológica No. 40. Subsecretaría de Vigilancia de la Salud Pública. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Recuperado el 8/01/2016 de: <http://instituciones.msp.gob.ec/images/Documentos/gaceta/Gaceta%20SE%2040.pdf>

WHA 53.15, 2000. 53ª Asamblea Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos. Recuperado el 9 de enero del 2016 de: http://www.paho.org/panaftosa/images/stories/FOS/WHA53.15_sp.pdf?ua=1

ANEXOS

Anexo 1

Enjuague de cuy faenado.



Anexo 2

TECNICA DE ANALISIS EN COMPACT DRY

Procedimiento

1. Se realizan diluciones del orden de 10^1 a 10^5 , transfiriendo 1 ml de la solución madre a un tubo que contiene 9 ml de agua peptonada estéril, y así sucesivamente hasta obtener la dilución 10^5 .
2. Colocar la placa TC en una superficie lisa y plana.
3. Identificar las placas con el número de muestra y dilución que le corresponda.
4. Destapar la tapa de la placa e inocular 1 ml de la dilución.
5. Cerrar la placa y colocarla con la tapa hacia abajo.
6. Incubar la placa a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por un tiempo de 48 ± 3 horas.
7. Transcurrido el tiempo de incubación, revisar las placas y realizar el recuento de los microorganismos.

Anexo 3

Siembra en agar Verde Brillante

Procedimiento

1. Preparar placas de agar BGA.
2. Humedecer un hisopo en la solución madre de cada muestra.
3. Sembrar sobre la placa.
4. Incubar las placas a una temperatura entre los 35 y 37°C , por un lapso de 24 a 48 horas.
5. Retirar las placas de la incubadora y observar los resultados.

Anexo 4

Técnica de Reveal 2.0 for Salmonella.

Procedimiento.

1. Medir 200 ml de agua destilada estéril temperada a $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ en el vaso de plástico y añadir el contenido del frasco Revive, homogenizar.
2. Colocar la solución en una funda estéril.



3. Pesar 25 gramos de muestra. (Solución madre proveniente del enjuague de las carcasas de cuy)
4. Añadir la muestra a la funda con la mezcla anterior.



5. Cerrar la funda, e identificar cada muestra.
6. Incubar a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 4 horas.
7. Transcurrido el tiempo, rehidratar el contenido del frasco 2X RV, medio selectivo de enriquecimiento, con 200 ml de agua destilada estéril temperada a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$.
8. Añadir el 2X RV a la funda que contiene la muestra.
9. Incubar a $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 16 a 24 horas.
10. Transcurrido el tiempo, transferir 200 μl o 8 gotas del líquido de la funda que contiene la muestra a los pocillos de muestra REVEAL.



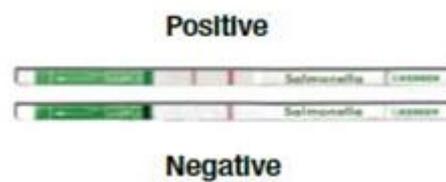
11. Colocar las tirillas indicadoras dentro de los pocillos con muestra como se indica en la siguiente figura.



12. Luego de 15 minutos revisar los resultados.

Interpretación de los resultados

En caso de observarse marcadas la zona de reacción y la zona de control se considera positiva la prueba, caso contrario cuando se observe marcada únicamente la zona de control se considera negativa.



Interpretación de los resultados

Anexo 5

Pruebas bioquímicas

Procedimiento

Inoculación e incubación

1. Inicialmente se deberá realizar un test de oxidasa y determinar si el microorganismo en análisis es oxidasa positiva o negativa.
2. Realizar una emulsión del microorganismo a determinar, para ello se deberá tomar una colonia de un cultivo de 18 – 24 horas y colocarlo en una 5 ml de solución salina estéril al 0.85%. Mezclar bien.
3. Colocar la tira sobre una superficie plana y retirar cuidadosamente la lámina adhesiva que sella los pocillos. Reservar la lámina.
4. Con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril, colocar 3-4 gotas de la emulsión a cada pocillo. Tanto la tira Gn A como Gn B.
5. Después de la inoculación, cubrir los pocillos 1,2,3 y 9 de la tira GN A y pocillos 20 y 24 de la tira GN B con 3-4 gotas de aceite mineral. Estos pocillos están marcados con un círculo Negro alrededor para facilitar su identificación.
6. Sellar la parte superior de las tiras con la lámina adhesiva.
7. Incubar las tiras a 35-37°C por un lapso de 18 a 24 horas.

Lectura y adición de reactivos

Tira GN A

1. Quitar la cinta adhesiva y anotar todas las reacciones positivas con la ayuda de la tabla de color. Anotar los resultados en la hoja de resultados proporcionada.
2. Agregar los reactivos apropiados a los siguientes micropocillos:
 - a) Añadir 2 gotas de reactivo Kovac's al pocillo 8 y transcurrido 60 segundos leer y anotar el resultado. Formación de color rojo indica un resultado positivo.
 - b) Añadir 1 gota del reactivo VP I y 1 gota del reactivo VP II al pocillo 10 y luego de 15-30 minutos observar y anotar los resultados. La formación de un color rosa / rojo indica un resultado positivo.

- c) Añadir 1 gota del reactivo TDA al pocillo 12 y luego de 60 segundos observar.
La formación de un color rojo cereza indica un resultado positivo.

3. Anotar estos resultados adicionales en la hoja de resultados proporcionada.

Tira GN B

1. Retirar la lámina adhesiva y anotar todas las reacciones positivas con la ayuda de la tabla de color. Anotar los resultados en la hoja de resultados proporcionada.

2. Leer los pocillos específicos según se indica:

El pocillo 13 de gelatina se debe leer tras 18-24 horas para Enterobacteriaceae. Si se observan partículas negras a través del pocillo es indicativo de un resultado positivo de licuefacción de la gelatina.

El pocillo de la arginina se interpreta tras 24 horas de incubación al analizar Enterobacteriaceae:

Amarillo = Negativo

Verde/Azul = Positivo

Identificación

En la hoja de resultados de Microgen GN-ID A+B, los substratos se han organizado en tripletes (sets de 3 reacciones) y se ha asignado un valor numérico a cada substrato (1, 2 o 4). La suma de las reacciones positivas para cada triplete da lugar a un

Único dígito, el Perfil numérico, que se utilizará para determinar la identidad del organismo aislado.

El Perfil numérico se introduce en el Software Microgen Identification System (MID-60), que genera un informe de los cinco microorganismos más parecidos en una base de datos selectiva.

Anexo 6

Tabla de color

Colour chart/Farbtafel/Tableau 'de couleurs

Microgen™ GN A ID

WELL/NAPFCHEN /GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	7
Reaction	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	O.N.P.G.	Indole	Urease	V.P.	Citrate	T.D.A.	Nitrate
Negative													
Positive													

Microgen™ GN B ID

WELL/NAPFCHEN /GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	12
Reaction	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine 24hrs	Arginine 48hrs
Negative													
Positive													

CAUTION: Keep out of direct sunlight. Due to luminous discoloration and paper ageing, the colours on this chart will change.

These colours are provided as general guide to the range of test colours.

Legend:

- Appropriate reagents to be added prior to reading.
- Overlaid with sterile mineral oil.
- Not overlaid with oil for oxidase positive organism.

Microgen Bioproducts Limited, 1 Admiralty Way, Camberley Surrey GU15 3DT UK

Edition: 2004 - 12

Anexo 7

Hoja de resultados

MICROGEN GN-ID A+B PANEL REPORT FORM

Lab. No. 3341

Specimen Type: CHEESE SANDWICH
Date: 28TH JANUARY 2002



Well Number	GN A wells												GN B wells														
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA	Gelatine	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
Result				+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6	7			6			0			0			7			6			0				

Profile No: 67600760

Final Identification: E. coli

Anexo 8

Prueba de resistencia de la Salmonella al proceso de asado



Anexo 9

Tablas de los resultados globales

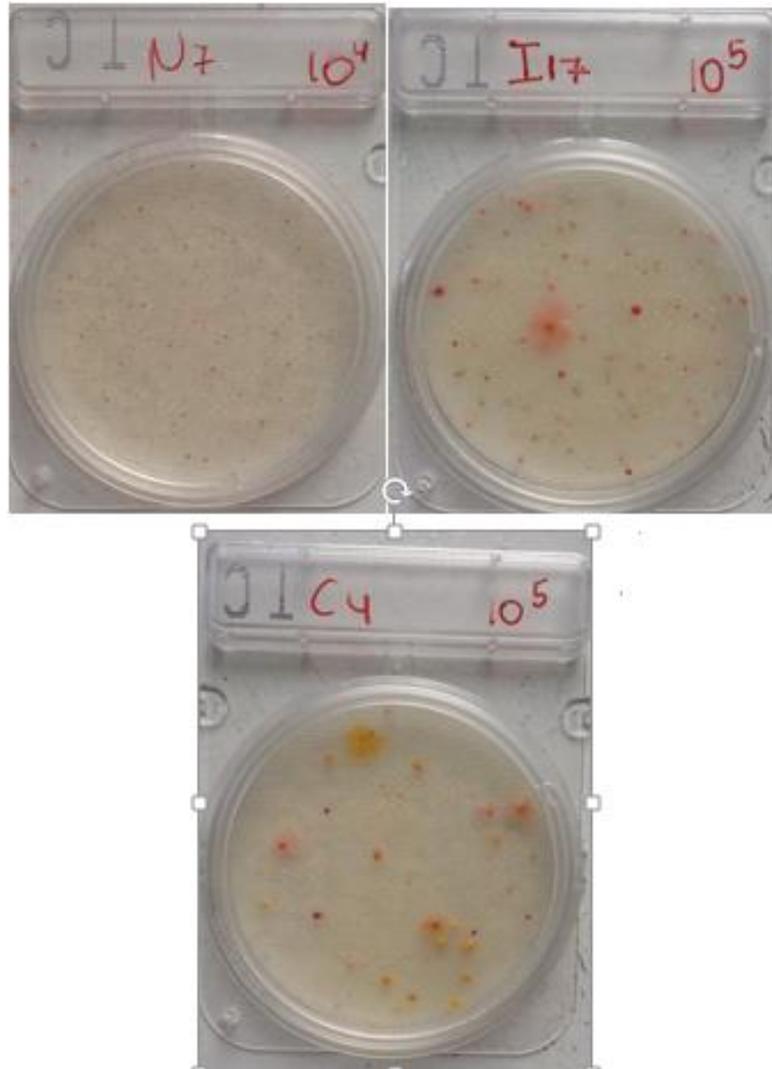
MUESTRA	CRIADERO	FECHA	ANALISIS DE MESOFILOS AEROBIOS		DETERMINACION DE SALMONELLA SPP.	
			CONTAJE DE MESOFILOS TOTALES	LOG 10	RESULTADO EN VERDE BRILLANTE	RESULTADO EN REVEAL
1	NABON	29/09/2015	17*10 ⁴	5,30	NEGATIVO	-
2	NABON	29/09/2015	23*10 ⁴	5,30	NEGATIVO	-
3	NABON	29/09/2015	<u>37*10⁶</u>	<u>7,60</u>	POSITIVO	POSITIVO
4	NABON	29/09/2015	<u>73*10⁵</u>	<u>6,85</u>	POSITIVO	POSITIVO
5	NABON	29/09/2015	11*10 ⁴	5,00	NEGATIVO	-
6	NABON	29/09/2015	8*10 ⁴	4,90	NEGATIVO	-
7	NABON	29/09/2015	<u>31*10⁵</u>	<u>6,48</u>	POSITIVO	NEGATIVO
8	NABON	13/10/2015	<u>69*10⁵</u>	<u>6,85</u>	POSITIVO	POSITIVO
9	NABON	13/10/2015	32*10 ⁴	5,48	NEGATIVO	-
10	NABON	13/10/2015	13*10 ⁴	5,00	NEGATIVO	-
11	NABON	13/10/2015	<u>21*10⁶</u>	<u>7,30</u>	POSITIVO	POSITIVO
12	NABON	13/10/2015	73*10 ⁴	5,85	NEGATIVO	-
13	NABON	13/10/2015	57*10 ⁴	5,78	POSITIVO	POSITIVO
14	NABON	13/10/2015	84*10 ⁴	5,90	POSITIVO	POSITIVO
15	NABON	13/10/2015	61*10 ⁴	5,78	NEGATIVO	-
16	NABON	13/10/2015	31*10 ⁴	5,48	POSITIVO	POSITIVO
17	NABON	27/10/2015	11*10 ⁴	5,00	NEGATIVO	-
18	NABON	27/10/2015	7*10 ⁴	4,85	NEGATIVO	-
19	NABON	27/10/2015	23*10 ⁴	5,30	NEGATIVO	-
20	NABON	27/10/2015	<u>58*10⁵</u>	<u>6,78</u>	POSITIVO	POSITIVO
21	NABON	27/10/2015	<u>52*10⁵</u>	<u>6,70</u>	POSITIVO	POSITIVO
22	NABON	27/10/2015	89*10 ³	4,95	NEGATIVO	-
23	NABON	27/10/2015	65*10 ³	4,85	NEGATIVO	-
24	NABON	27/10/2015	49*10 ³	4,70	NEGATIVO	-
25	NABON	27/10/2015	<u>81*10⁵</u>	<u>6,90</u>	POSITIVO	NEGATIVO
Muestras fuera de parámetros			8	MEDIA 5,8	11	9

# DE MUESTRA	CRIADERO	FECHA	ANALISIS DE MESOFILOS AEROBIOS		DETERMINACION DE SALMONELLA SPP.		
			CONTAJE DE MESOFILOS TOTALES	LOG 10	RESULTADO EN VERDE BRILLANTE	RESULTADO EN REVEAL	
1	IBARRA	29/09/2015	41*10 ⁴	5,60	NEGATIVO	-	
2	IBARRA	29/09/2015	51*10 ⁴	5,70	NEGATIVO	-	
3	IBARRA	29/09/2015	<u>49*10⁶</u>	<u>7,70</u>	POSITIVO	POSITIVO	
4	IBARRA	29/09/2015	<u>63*10⁵</u>	<u>6,78</u>	NEGATIVO	-	
5	IBARRA	29/09/2015	52*10 ³	4,70	NEGATIVO	-	
6	IBARRA	29/09/2015	<u>76*10⁵</u>	<u>6,90</u>	POSITIVO	POSITIVO	
7	IBARRA	29/09/2015	22*10 ⁴	5,30	NEGATIVO	-	
8	IBARRA	13/10/2015	<u>46*10⁵</u>	<u>6,70</u>	POSITIVO	POSITIVO	
9	IBARRA	13/10/2015	79*10 ³	4,90	NEGATIVO	-	
10	IBARRA	13/10/2015	11*10 ⁴	5,00	NEGATIVO	-	
11	IBARRA	13/10/2015	<u>53*10⁶</u>	<u>7,70</u>	POSITIVO	NEGATIVO	
12	IBARRA	13/10/2015	<u>84*10⁵</u>	<u>6,90</u>	POSITIVO	POSITIVO	
13	IBARRA	13/10/2015	27*10 ³	4,48	NEGATIVO	-	
14	IBARRA	13/10/2015	56*10 ³	4,78	NEGATIVO	-	
15	IBARRA	27/10/2015	<u>91*10⁶</u>	<u>7,95</u>	POSITIVO	POSITIVO	
16	IBARRA	27/10/2015	<u>33*10⁵</u>	<u>6,48</u>	POSITIVO	NEGATIVO	
17	IBARRA	27/10/2015	<u>64*10⁵</u>	<u>6,78</u>	POSITIVO	POSITIVO	
18	IBARRA	27/10/2015	23*10 ³	4,30	NEGATIVO	-	
19	IBARRA	27/10/2015	<u>85*10⁵</u>	<u>6,95</u>	POSITIVO	POSITIVO	
20	IBARRA	27/10/2015	<u>58*10⁵</u>	<u>6,78</u>	POSITIVO	POSITIVO	
21	IBARRA	27/10/2015	42*10 ⁴	5,60	NEGATIVO	-	
22	IBARRA	27/10/2015	<u>76*10⁵</u>	<u>6,85</u>	POSITIVO	POSITIVO	
23	IBARRA	11/11/2015	88*10 ⁴	5,95	NEGATIVO	-	
24	IBARRA	11/11/2015	75*10 ³	4,90	NEGATIVO	-	
25	IBARRA	11/11/2015	<u>92*10⁵</u>	<u>6,95</u>	POSITIVO	POSITIVO	
26	IBARRA	11/11/2015	<u>58*10⁵</u>	<u>6,78</u>	POSITIVO	POSITIVO	
27	IBARRA	11/11/2015	42*10 ⁴	5,60	NEGATIVO	-	
28	IBARRA	11/11/2015	62*10 ³	4,78	NEGATIVO	-	
29	IBARRA	11/11/2015	42*10 ⁴	5,60	NEGATIVO	-	
30	IBARRA	11/11/2015	<u>69*10⁵</u>	<u>6,85</u>	POSITIVO	POSITIVO	
31	IBARRA	11/11/2015	<u>84*10⁵</u>	<u>6,90</u>	POSITIVO	-	
	Muestras fuera de parámetros		16	MEDIA	6,1	15	12

# DE MUESTRA	CRIADERO	FECHA	ANALISIS DE MESOFILOS AEROBIOS		DETERMINACION DE SALMONELLA SPP.		
			CONTAJE DE MESOFILOS TOTALES	LOG 10	RESULTADO EN VERDE BRILLANTE	RESULTADO EN REVEAL	
1	CUENCA	27/10/2015	33*10 ⁴	5,48	NEGATIVO	-	
2	CUENCA	27/10/2015	<u>64*10⁶</u>	<u>7,78</u>	POSITIVO	POSITIVO	
3	CUENCA	27/10/2015	<u>84*10⁵</u>	<u>6,90</u>	POSITIVO	POSITIVO	
4	CUENCA	27/10/2015	<u>62*10⁶</u>	<u>7,78</u>	POSITIVO	POSITIVO	
5	CUENCA	27/10/2015	56*10 ³	4,78	NEGATIVO	-	
6	CUENCA	27/10/2015	<u>63*10⁵</u>	<u>6,78</u>	NEGATIVO	-	
7	CUENCA	27/10/2015	<u>43*10⁶</u>	<u>6,60</u>	POSITIVO	POSITIVO	
8	CUENCA	27/10/2015	<u>26*10⁵</u>	<u>6,48</u>	POSITIVO	POSITIVO	
9	CUENCA	27/10/2015	<u>41*10⁶</u>	<u>6,60</u>	POSITIVO	POSITIVO	
10	CUENCA	11/11/2015	32*10 ⁴	5,48	NEGATIVO	-	
11	CUENCA	11/11/2015	<u>31*10⁵</u>	<u>6,48</u>	POSITIVO	POSITIVO	
12	CUENCA	11/11/2015	89*10 ⁴	5,95	POSITIVO	NEGATIVO	
13	CUENCA	11/11/2015	<u>82*10⁵</u>	<u>6,90</u>	POSITIVO	POSITIVO	
14	CUENCA	11/11/2015	43*10 ⁴	5,60	NEGATIVO	-	
Muestras fuera de parámetros			9	MEDIA	6,4	9	8

Anexo 10

Placas con recuento de Mesofilos aerobios.



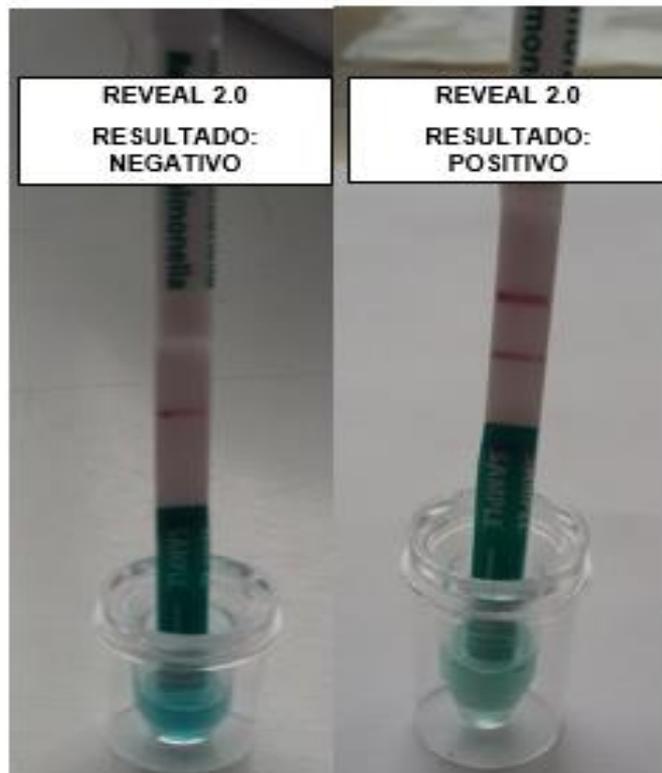
Anexo 11

Resultados de la Determinación de Salmonella

Siembra en agar verde brillante.



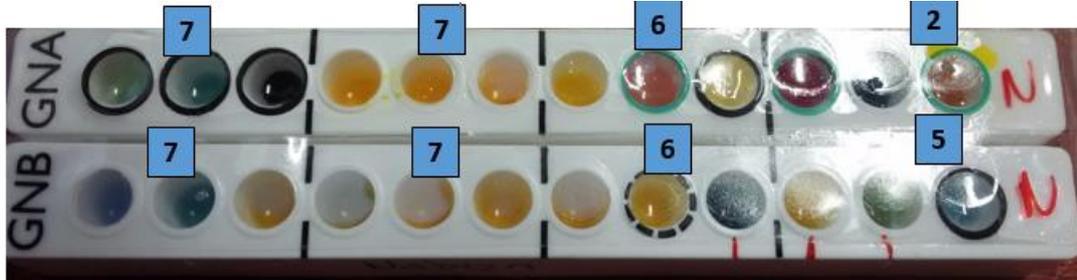
Confirmación en Reveal 2.0 for Salmonella



Anexo 12

Identificación Bioquímica de cepa aislada en el cantón Nabón

Batería de prueba



Microgen ID

Microgen GNA+ B Oxidase Negative

Specimen Details

Lab Ref.: Microbiologia Date: 26/11/2015
 Name: cuy
 Specimen Type:
 Source (ward/location): Nabón

Results Entry

Octal Code: 77627765

+ LYS Lysine Decarboxylase	+ ORN Ornithine Decarboxylase	+ H2S H2S Production
+ GLU Acid from Glucose	+ MAN Acid from Mannitol	+ XYL Acid from Xylose
+ ONP ONPG	+ IND Indole	- UR Urea Hydrolysis
- VP Voges Proskauer	+ CIT Citrate Utilization	- TDA Tryptophan Decarminase
+ GEL Gelatin Liquefaction	+ MAL Malonate Utilization	+ INO Acid from Inositol
+ SOR Acid from Sorbitol	+ RHA Acid from Rhamnose	+ SUC Acid from Sucrose
+ LAC Acid from Lactose	+ ARA Acid from Arabinose	- ADO Acid from Adonitol
+ RAF Acid from Raffinose	- SAL Acid from Salicin	+ ARG Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	Salmonella Group IIIb	<i>S.odorifera</i> biogp 1	<i>Salmonella</i> Group II	<i>Salmonella</i> Group IIIa	<i>E.coli</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	69.1%	25.8%	3.49%	1.34%	0.16%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	GEL (0,1%)	H2S (0,1%)	RAF (0,1%)	GEL (0,1%)	GEL (0,1%)
Test 2	INO (0,1%)	MAL (0,1%)	SUC (1%)	INO (0,1%)	MAL (0,1%)
Test 3	RAF (1%)	ARG (0,1%)	LAC (1%)	IND (1%)	H2S (1%)
Additional Tests					
DNase (25C)	2%	99,9%	0,1%	2%	0,1%
Acid from Dulcitol	1%	0,1%	90%	0,1%	60%
Tartrate (Jordans)	20%	99,9%	50%	5%	95%
Acid from Melibiose	95%	99,9%	8%	95%	75%
Mucate	30%	5%	96%	90%	95%
Additional Comments	46		46	46	

46 Salmonella cannot be fully identified using biochemistry alone. Perform Polyvalent 'O' and 'H' slide agglutination to confirm, and serotype

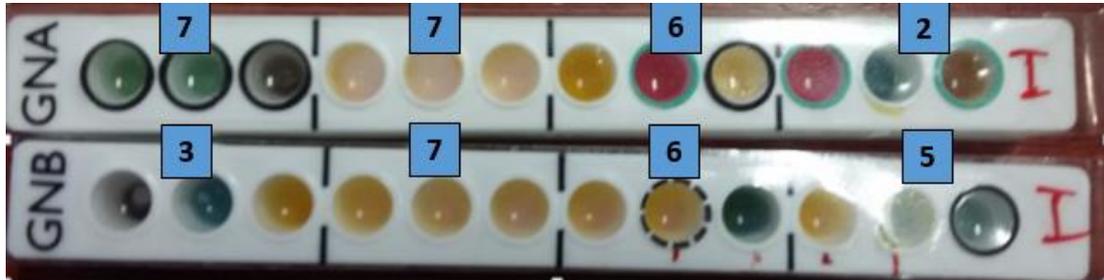
Identification Comments

Unacceptable Identification of Salmonella Group IIIb
 The strain is not typical (multiple tests are against), and it is moderately well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Anexo 13

Identificación Bioquímica de cepa aislada en el ciudad de Ibarra.

Batería de prueba



Microgen ID

Microgen GNA+ B Oxidase Negative

Specimen Details

Lab Ref.: Microbiologia Date: 26/11/2015
 Name: cuy
 Specimen Type:
 Source (ward/location): IBARRA

Results Entry

Occul Code: 77623765

+ LYS Lysine Decarboxylase	+ ORN Ornithine Decarboxylase	+ H2S H2S Production
+ GLU Acid from Glucose	+ MAN Acid from Mannitol	+ XYL Acid from Xylose
+ ONP ONPG	+ IND Indole	- UR Urea Hydrolysis
- VP Voges Proskauer	+ CIT Citrate Utilization	- TDA Tryptophan Deaminase
- GEL Gelatin Liquefaction	+ MAL Malonate Utilization	+ INO Acid from Inositol
+ SOR Acid from Sorbitol	+ RHA Acid from Rhamnose	+ SUC Acid from Sucrose
+ LAC Acid from Lactose	+ ARA Acid from Arabinose	- ADO Acid from Adonitol
+ RAF Acid from Raffinose	- SAL Acid from Salicin	+ ARG Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

Select ID Choice	Salmonella Group IIIa	Salmonella Group IIIa	Salmonella Group II	E.coli	C.youngae
Yes	Yes	No	No	No	No
Probability	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	97.52%	1.89%	0.24%	0.22%	0.08%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Tests against					
Test 1	IND (8.1%)	IND (0.1%)	RAF (0.1%)	MAL (0.1%)	LYS (0.1%)
Test 2	RAF (1%)	IND (1%)	SUC (1%)	H2S (1%)	ORN (5%)
Test 3	IND (2%)	SUC (1%)	LAC (1%)	CIT (1%)	MAL (5%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
KCN Inhibition	1%	1%	0.1%	3%	95%
Acid from Dulcitol	1%	0.1%	90%	60%	85%
Tartrate (Jordan's)	20%	5%	50%	95%	99.9%
Acid from Melibiose	95%	95%	8%	75%	10%
Mucate	30%	90%	98%	95%	99.9%
Additional Comments	46	46	46		

46 Salmonella cannot be fully identified using biochemistry alone. Perform Polyvalent 'O' and 'H' slide agglutination to confirm, and serotype

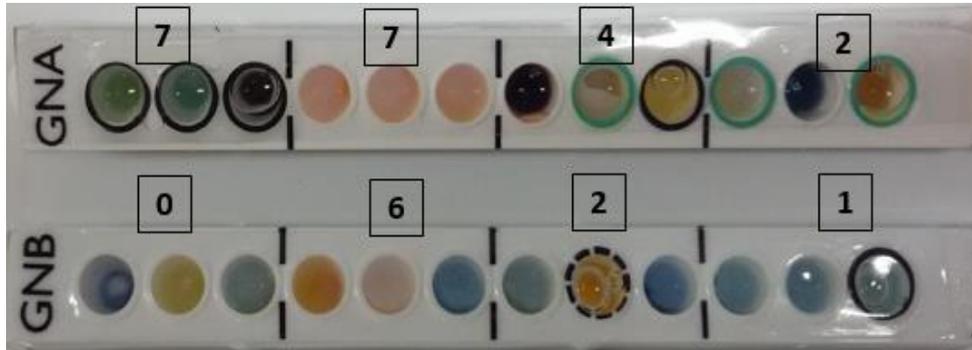
Identification Comments

Acceptable Identification of Salmonella Group IIIb
 The strain is not typical (multiple tests are against), although it is highly separated from other suggested identification choices.
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Anexo 14

Identificación Bioquímica de cepa aislada en el cantón Cuenca

Batería de prueba



Microgen ID

Microgen GNA+ B Oxidase Negative

Specimen Details

Lab Ref.: Microbiologia Date: 25/11/2015
 Name: Cuy
 Specimen Type:
 Source (ward/location): Ricaurte

Results Entry

Octal Code: 77420621

+ LYS Lysine Decarboxylase	+ ORN Ornithine Decarboxylase	+ H2S H2S Production
+ GLU Acid from Glucose	+ MAN Acid from Mannitol	+ XYL Acid from Xylose
+ ONP ONPG	- IND Indole	- UR Urea Hydrolysis
- VP Voges Proskauer	+ CIT Citrate Utilization	- TDA Tryptophan Deaminase
- GEL Gelatin Liquefaction	+ MAL Malonate Utilization	- INO Acid from Inositol
+ SOR Acid from Sorbitol	+ RHA Acid from Rhamnose	- SUC Acid from Sucrose
- LAC Acid from Lactose	+ ARA Acid from Arabinose	- ADO Acid from Adonitol
- RAF Acid from Raffinose	- SAL Acid from Salicin	+ ARG Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>S. bongori</i> (Group V)	<i>T. guamensis</i>	<i>Salmonella</i> Group IIIa	<i>Salmonella enterica</i> (Group I)	<i>Salmonella</i> Group II
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/1	1/4	1/38	1/158	1/177
Percent Probability	71.54%	23.89%	2.82%	0.67%	0.6%
Likelihood	100%	100%	5.26%	2.04%	0.93%
Human Isolate	Yes	No	Yes	Yes	Yes
Tests against			MAL (95%)	ONP (2%)	MAL (95%) ONP (15%)
Test 1					
Test 2					
Test 3					
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Acid from Dulcitol	94%	0.1%	0.1%	96%	90%
Acid from Melibiase	94%	0.1%	95%	95%	8%
Acid from Cellulose	0.1%	99.9%	1%	5%	0.1%
Turtrate (Jordans)	0.1%	50%	5%	90%	50%
Additional Comments	46	53	46	46	46

46 Salmonella cannot be fully identified using biochemistry alone. Perform Polyvalent 'O' and 'H' slide agglutination to confirm, and serotype
 53 Previously Enteric Group 90. J. Clin. Microbiol. (1991) 29: 1480-1485

Identification Comments

Good identification of *Salmonella bongori* (Group V)
 The strain is very typical and is well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.