



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia coli* O157:H7  
EN CARNE MOLIDA DE RES EN MERCADOS MUNICIPALES DE QUITO

AUTORAS

Andrea Vanessa Arrobo Benítez

Andrea Estefanía Zurita Miranda

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia coli* O157:H7 EN  
CARNE MOLIDA DE RES EN MERCADOS MUNICIPALES DE QUITO

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingenieras en Biotecnología

Profesor Guía

M. Sc Carlos Andrés Bastidas Caldes

Autoras

Andrea Vanessa Arrobo Benítez

Andrea Estefanía Zurita Miranda

Año

2017

## **DECLARACIÓN DEL DOCENTE GUIA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

---

Carlos Andrés Bastidas Caldes  
Master Universitario en Microbiología Avanzada  
C.I: 020161980-6

## **DECLARACION DEL DOCENTE CORRECTOR**

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

---

Laura Guerrero Latorre  
Doctora en Microbiología Ambiental y Biotecnología  
C.I: 175802889-6

## **DECLARACIÓN DE AUTORIA DE LAS ESTUDIANTES**

“Declaramos que este trabajo es original, de nuestra autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

---

Andrea Vanessa Arrobo Benítez

C.I: 171663115-3

---

Andrea Estefanía Zurita Miranda

C.I; 100309669-8

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mi madre por la confianza y el apoyo constante que me ha brindado a lo largo de toda mi vida, a mi padre por brindarme sus conocimientos y a mi esposo por su ayuda, paciencia y amor incondicional.

A la universidad, a los laboratorios de docencia, a mis maestros y a mi profesora correctora que con su dedicación y firmeza supo darnos los conocimientos necesarios con los que se pudo concluir el presente trabajo.

Vanessa A.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por la salud y la sabiduría en toda mi carrera universitaria. A mi familia, en especial a mis padres por brindarme el apoyo, tanto emocional como económico, durante toda mi formación profesional. A la Universidad de las Américas por toda su ayuda a lo largo de mi vida estudiantil. A mi profesora correctora por guiarnos a través del desarrollo de este proyecto con su conocimiento, paciencia y dedicación.

Andrea Z.

## **DEDICATORIA**

Es probable que en este momento sea difícil entender lo importante que eres para mí, pero quiero que sepas que eres la razón por la que me esfuerzo infatigablemente buscando ser mejor cada día, eres mi principal motivación.

Para ti Sophie Itsabella.

Vanessa A.



## **DEDICATORIA**

Este proyecto está dedicado a las personas más importantes de mi vida: A mis padres, a mi hermano Mateo y a mi hermosa Isabella. A mis padres, porque siempre me han acompañado a lo largo de mi vida de manera incondicional. A mi hermano Mateo, porque siempre ha sido un pilar fundamental en mi vida. A mi hermosa Isabella, por ser mi milagro de vida y esperanza. Dedicado a todas las personas que hicieron posible mi formación profesional.

Andrea Z.

## RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen un desafío importante para la salud pública mundial. Estimando que 1 de cada 10 personas enferman cada año y alrededor de 420.000 mueren por esta razón. Éstas son causadas por el consumo de agua o alimentos contaminados por agentes infecciosos como: hongos, virus, parásitos y bacterias. Entre las bacterias se encuentra *Escherichia coli*, que generalmente no es perjudicial para los seres humanos, sin embargo, existen serotipos patógenos como la *E. coli* O157:H7 que en el 16% de los casos provoca el síndrome hemolítico urémico (SHU) que llega a ser mortal. En la presente investigación se planteó determinar la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7, en carne de res molida, en los mercados municipales de Quito, evaluando la presencia de esta bacteria con medios de cultivo específicos, pruebas bioquímicas y un kit de tira específico para *E. coli* O157. Obteniendo como resultados de las 50 muestras tomadas, el 100% fueron positivas para presencia de enterobacterias, que son consideradas patógenas para los seres humanos; en la prueba de indol el 98% fue positiva para la presencia de *E. coli* que tiene límites en la norma NTE INEN 1346, por lo que es necesario realizar un conteo bacteriano para su posterior evaluación; en la tinción Gram en todas las muestras existió la presencia tanto de bacterias Gram Positivas como Gram Negativas y el 100% fueron positivas en la prueba de tira rápida para identificar la presencia de *E. coli* O157. Concluyendo que existió la presencia de *E. coli* O157 y sus otros tipos de H que también tienen factores de virulencia, y la posible presencia de *E. coli* O157:H7, no obstante, se recomienda realizar pruebas moleculares para su identificación bacteriana específica, sin descartar una posible contaminación cruzada por el alto contenido de resultados positivos. Otro resultado importante fue la posible presencia de *Salmonella typhimurium* en el 16% de las muestras, concluyendo que no son aptas para el consumo humano, bajo la norma NTE INEN 1346 que declara ausencia total, por lo que es recomendable mejorar el manejo de los alimentos en los mercados municipales de Quito.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, Carne de res molida, Enterobacterias.

## ABSTRACT

Foodborne diseases (ETS) are a major challenge for global public health. Estimating that 1 in 10 people get sick every year and about 420,000 die for this reason. These are caused by the consumption of water or food contaminated by infectious agents such as fungi, viruses, parasites and bacteria. Among bacteria is *Escherichia coli*, which is generally not harmful to humans, however, there are pathogenic serotypes such as *E. coli* O157: H7, which in 16% of cases causes hemolytic uremic syndrome (HUS) that can be mortal. The present investigation pretended to determine the prevalence of *Escherichia coli* O157: H7, in ground beef, in the municipal markets of Quito, evaluating the presence of this bacterium with specific culture media, biochemical tests and a specific strip kit for *E. coli* O157. Obtaining as results of the 50 samples taken, 100% were positive for the presence of enterobacteria, which are considered pathogenic for humans; In the indole test 98% was positive for the presence of *E. coli* that has limits in the norm NTE INEN 1346, reason why it is necessary to realize a bacterial count for its later evaluation; Gram staining in all samples existed the presence of both Gram Positive and Gram Negative bacteria and 100% were positive in the rapid strip test to identify the presence of *E. coli* O157. Concluding that there was presence of *E. coli* O157 and its other types of H that also have virulence factors, and the possible presence of *E. coli* O157: H7, however, it is recommended to perform molecular tests for specific bacterial identification, without discard a possible cross-contamination by the high content of positive results. Another important result was the possible presence of *Salmonella typhimurium* in 16% of the samples, concluding that they are not appropriate for human consumption, under the norm NTE INEN 1346 that declares total absence, so it is advisable to improve food handling in the municipal markets of Quito.

**Keywords:** *Escherichia coli*, Ground beef, Enterobacteria.

# Índice

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 1.     | Capítulo I. Introducción .....                     | 1  |
| 1.1.   | Introducción .....                                 | 1  |
| 1.2.   | Formulación del Problema .....                     | 3  |
| 1.3.   | Justificación .....                                | 5  |
| 1.4.   | Objetivos .....                                    | 7  |
| 1.4.1. | Objetivo General .....                             | 7  |
| 1.4.2. | Objetivos Específicos .....                        | 7  |
| 2.     | Capítulo II. Marco Teórico .....                   | 7  |
| 2.1.   | Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)..... | 7  |
| 2.1.1. | Principales etiologías alimentarias .....          | 9  |
| 2.1.2. | Incidencia de ETA a nivel mundial .....            | 11 |
| 2.1.3. | Incidencia de ETA en América Latina.....           | 12 |
| 2.1.4. | Impacto de ETA en el Ecuador.....                  | 13 |
| 2.1.   | Escherichia coli .....                             | 14 |
| 2.1.5. | Generalidades .....                                | 14 |
| 2.1.6. | Características morfológicas .....                 | 14 |
| 2.1.7. | Características bioquímicas .....                  | 18 |
| 2.1.8. | Características moleculares .....                  | 19 |
| 2.1.9. | Enfermedades y sintomatología relacionados .....   | 20 |
| 2.2.   | Serotipos de E. coli.....                          | 21 |

|          |  |    |
|----------|--|----|
| 2.3.     | Patotipos de E. coli .....   | 22 |
| 2.4.     | Escherichia coli productora de la toxina shiga .....                       | 23 |
| 2.4.1.   | Shigatoxinas.....  | 24 |
| 2.4.2.   | Patogénesis.....   | 26 |
| 2.4.3.   | E. Coli enterohemorrágica y el serotipo O157:H7 .....                      | 30 |
| 2.4.3.1. | Patogenicidad.....   | 31 |
| 2.5.     | Epidemiología.....   | 32 |
| 2.5.1.   | Reservorios de E. coli O157:H7 .....                                       | 32 |
| 2.5.2.   | Fuentes de transmisión de E. coli O157:H7 .....                            | 33 |
| 2.5.3.   | Dosis infecciosa de E. coli O157:H7 .....                                  | 34 |
| 2.6.     | E. coli O157:H7 en plantas de procesamiento de carne ...                   | 34 |
| 2.6.1.   | E. coli O157:H7 en carnes y sus productos.....                             | 35 |
| 2.6.2.   | E. coli O157:H7 en productos no cárnicos .....                             | 39 |
| 2.6.2.1. | E. coli O157:H7 en vegetales y frutas .....                                | 39 |
| 2.6.2.2. | E. coli O157:H7 en leche y sus derivados .....                             | 40 |
| 2.6.2.3. | E. coli O157:H7 en aguas.....  | 40 |
| 2.7.     | Producción y consumo de carne molida de res en el país                     | 41 |
| 2.8.     | Problemática de E. coli O157:H7 en la salud pública.....                   | 42 |
| 2.9.     | Norma NTE INEN 1346 para carne y productos cárnicos.<br>Carne molida. .... | 43 |
| 3.       | Capítulo III. Plan experimental .....                                      | 44 |
| 3.1.     | Diseño del plan experimental.....  | 44 |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 4.       | Capítulo IV. Metodología.....                         | 49 |
| 4.1.     | Procedimientos:.....                                  | 49 |
| 4.1.2.   | Población y muestra.....                              | 49 |
| 4.1.2.1. | Administración Centro.....                            | 49 |
| 4.1.2.2. | Administración Eloy Alfaro .....                      | 50 |
| 4.1.2.3. | Administración La Delicia .....                       | 51 |
| 4.1.2.4. | Administración Norte.....                             | 52 |
| 4.1.2.5. | Administración Quitumbe .....                         | 53 |
| 4.2.     | Materiales.....                                       | 53 |
| 4.2.1.   | Fundamentos de los medios de cultivo utilizados ..... | 53 |
| 4.2.1.1. | Agar Mac Conkey .....                                 | 53 |
| 4.2.1.2. | Caldo de triptona lauril sulfato (TSL) .....          | 54 |
| 4.2.1.3. | Caldo EC.....   | 54 |
| 4.2.1.4. | Agua de triptona (AT) .....                           | 55 |
| 4.2.1.5. | Reactivo de Kovacs.....                               | 55 |
| 4.2.1.6. | Agar Hierro - Triple Azúcar (TSI).....                | 56 |
| 4.2.1.7. | Tinción Gram.....                                     | 56 |
| 4.2.1.8. | Prueba de Tira para Escherichia coli O157 .....       | 56 |
| 4.3.     | Procedimientos.....                                   | 57 |
| 4.3.1.   | Recolección de la muestra .....                       | 57 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 4.3.2. | Siembra en Agar Mac Conkey y Caldo de Lauril Sulfato a simple y doble concentración ..... | 57 |
| 4.3.3. | Siembra en medio EC y en agua triptona (AT).....  | 59 |
| 4.3.4. | Prueba de Indol .....   | 60 |
| 4.3.5. | Siembra en Agar Hierro – Triple Azúcar (TSI).....   | 61 |
| 4.3.6. | Tinción Gram.....   | 62 |
| 4.3.7. | Prueba de tira para detección de E. coli O157 .....                                       | 63 |
| 4.4.   | Evaluación estadística de los resultados .....  | 64 |
| 5.     | Capítulo V. Resultados y Discusión .....  | 64 |
| 5.1.   | Siembra en agar Mac Conkey .....  | 65 |
| 5.2.   | Siembra en agar Lauril Sulfato de simple y doble concentración .....                      | 67 |
| 5.3.   | Siembra en medio EC.....  | 69 |
| 5.4.   | Prueba de indol .....   | 70 |
| 5.5.   | Agar Hierro – Triple Azúcar .....   | 72 |
| 5.6.   | Tinción GRAM .....  | 74 |
| 5.7.   | Prueba de Tira para Escherichia coli O157.....  | 75 |
| 5.8.   | Identificación global de E. coli O157:H7 de este estudio ..                               | 81 |
| 6.     | Conclusiones y recomendaciones .....  | 83 |
| 6.1.   | Conclusiones.....   | 83 |
| 6.2.   | Recomendaciones.....  | 85 |
|        | REFERENCIAS.....  | 87 |

|              |     |
|--------------|-----|
| ANEXOS ..... | 105 |
|--------------|-----|



## **1. Capítulo I. Introducción**

### **1.1. Introducción**

Las enfermedades transmitidas por alimentos fueron establecidas desde el siglo X, con la enfermedad conocida como botulismo. En el siglo XIX Luis Pasteur descubrió que las bacterias son capaces de producir la descomposición en alimentos. Y es hasta el siglo XIX donde la microbiología, alcanza un alto desarrollo y se establece el origen de las Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS). A partir de esto surgen los sistemas de calidad como las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y del Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP), pero pese a todos estos controles prevalecen las enfermedades producidas por alimentos. Debido a las diversidades socioculturales, variedad de alimentos y hábitos de producción que van desde el principio de la cadena, hasta el proceso de llegada a los consumidores, las enfermedades alimentarias siguen manifestándose debido a malas prácticas de manufactura, convirtiéndose en peligro para la salud pública (Tapia, 2016).

En los últimos años, ha aumentado la preocupación por consumir alimentos de buena calidad por parte de los consumidores, y esto ha motivado a aumentar la demanda de alimentos sanos y en buen estado. Por lo que la inocuidad alimentaria ha sido la principal herramienta para mantener la buena salud del ser humano.

Los brotes de enfermedades ocurridas por alimentos contaminados nos dan a conocer que bajo ciertas circunstancias que pueden ser muy comunes aparecen enfermedades con consecuencias graves que pueden llevar incluso a la muerte (Dobroy, 2014).

Encontramos serotipos pertenecientes a la bacteria *Escherichia coli* con la capacidad de producir fuertes toxinas como las verotoxinas, causantes de daños severos en la mucosa intestinal. Entre ellas encontramos a *E. coli* enterohemorrágica, con su serotipo principal O157:H7, detectado en Estados Unidos por casos de intoxicación con hamburguesas en el año de 1982 (Doyle, 2001).

*E. coli* O157:H7 es conocido como un patógeno cuya transmisión se da por alimentos y es de gran importancia para la salud pública, principalmente porque se encuentra involucrado con brotes de colitis hemorrágica y también como presunto causante del Síndrome Urémico Hemolítico. Su característica principal es que la cantidad de células que ocasionan la enfermedad va de 1 a 100 células, lo que hace que los métodos tradicionales microbiológicos sean necesarios para garantizar seguridad alimentaria.

*E. coli* O157:H7 se encuentra en la microbiota del tracto intestinal del ganado vacuno sano, pero en los distintos puntos del procesamiento de la carne se puede contaminar con material fecal, haciendo que la carne se contamine con esta bacteria incluso antes de salir del matadero. Cuando las personas consumen esta carne contaminada con *E. coli* O157:H7 desarrollan algunos síntomas como: diarrea leve o diarrea grave acompañada con dolores abdominales.

Entre la población sensible a ser contagiada con *E. coli* O157:H7 tenemos a los niños, personas de la tercera edad, personas con enfermedades graves como: cáncer, SIDA y personas inmunodeprimidas, aunque todos los grupos de cualquier edad pueden llegar a contagiarse (FDA, 2012).

La incidencia de casos a nivel mundial desde su primer brote en el año de 1982 ha ido incrementando en el mundo en diferentes países, pero gracias a nuevos sistemas de calidad y vigilancia se ha logrado controlar gradualmente. Debido a que *E. coli* O157:H7 es considerado un patógeno de elevada importancia para la salud pública, es necesario determinar la prevalencia de esta bacteria en la carne molida de res, y así conocer la incidencia de la misma.

## **1.2. Formulación del Problema**

Durante las últimas décadas, se han identificado numerosos patógenos los cuales son transmitidos por alimentos como es el caso de *E. coli* O157:H7, así como también nuevos métodos de propagación de los mismos (Dabroy, 2014). Los microorganismos poseen la habilidad de adaptarse a su medio ambiente y evolucionar rápidamente lo cual constituye nuevos retos microbiológicos principalmente para las personas implicadas en las industrias alimentarias (Dabroy, 2014).

En el Ecuador se ha identificado el fenotipo *E. coli* O157:H7 en materia fecal recogida (Trueba et al., 2013). Esta bacteria puede transmitirse al ser humano por alimentos contaminados con estiércol del rumiante como carne molida, los jugos y lácteos no pasteurizados, verduras y frutas constituyen otra forma de transmisión. De igual manera son numerosos los casos asociados al consumo de agua contaminada y por contaminación cruzada: equipos, manipuladores y utensilios (Rubeglio y Tesone, 2007). Los actuales estudios demuestran que en el ganado vacuno existe un alto nivel de colonización y la carne molida en especial posee un ambiente ideal que permite el crecimiento microbiano (Arroyo, 2008). Otra característica es el elevado número de bacterias presentes en su área superficial, la cual es mayor al de la carne con corte entero y la contaminación por maquinaria y utensilios no higienizados (Arroyo, 2008). En los camales en las etapas de evisceración y desollado, puede existir esta bacteria en el contenido intestinal provocando la contaminación de superficies de los

canales y vísceras, además puede existir contaminación cruzada en las maquinarias; el ambiente, el agua de escaldo y el agua utilizada en los mataderos constituyen otras fuentes de contaminación (Sánchez, et al., 2009).

Otro aspecto importante es que, en el Ecuador, la mayoría de lugares que comercializan carne molida de res, desconocen la procedencia, la calidad de las materias primas utilizadas para la elaboración y además se desconoce su manipulación durante el procesamiento (Balcázar, 2015). La calidad sanitaria no se puede asegurar durante la comercialización debido a que en la mayoría no se manejan empaques adecuados para evitar la proliferación de bacterias, y es así como se convierte en un foco de contaminación provocando enfermedades transmitidas por alimentos en los consumidores (Balcázar, 2015).

El servicio de Inspección y Seguridad de Alimentos del Departamento de Agricultura en EE. UU. (FSIS) manifiesta que la contaminación por bacterias patógenas causada por carne molida representa una gran preocupación especialmente por bacterias como *E. coli* O157:H7 ya que pueden invadir el intestino del animal y ser transmitidas en el proceso (Arroyo, 2008).

En Ecuador en el año 2015 se registró una incidencia del 17,64% en diarrea y gastroenteritis, pero de este porcentaje se desconoce si su origen infeccioso fue por *E. coli* O157:H7. La provincia del Guayas, El Oro, Chimborazo presentan el mayor número de causas de incidencia de enfermedades por presuntos agentes infecciosos (INEC, 2015). En la actualidad en Ecuador no existen datos suficientes de la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en carne molida de res (trazabilidad y control alimentario), por lo expuesto aquí es necesario realizar estudios que avalen su presencia o ausencia en los alimentos y de esta manera contribuir con datos a la salud pública.

### 1.3. Justificación

A pesar de que la *Escherichia coli* es una bacteria que habitualmente se encuentra en el sistema digestivo de los seres humanos y animales, en algunos casos son patógenas y éstas contaminan los alimentos y el agua, produciendo graves enfermedades, incluso en algunos casos la muerte (FAO, 2011). Esta bacteria es la responsable de producir enfermedades transmitidas por alimentos.

La FAO (Food and Agriculture Organization) ha promovido las buenas prácticas en los sectores de la producción de carne de ganado vacuno mediante el manual “Buenas prácticas para la industria de la carne” para ayudar a evitar infecciones, mediante el apoyo a sistemas de salud pública veterinaria, inspección de las carnes, faenamiento de animales y por último higiene en los mataderos (FAO, 2011). Inclusive la OMS propone utilizar evaluaciones científicas para controlar la presencia de *E. coli* en los alimentos, y este tipo de evaluaciones sirven para elaborar normas internacionales sobre alimentos que son reguladas por la Comisión del Codex Alimentarius, estableciendo límites permitidos para no atentar contra la salud de los consumidores (OMS, 2016, s.p).

Sin embargo, en Ecuador después del terremoto ocurrido el 16 de abril del 2016, según el quinto boletín epidemiológico emitido por el Ministerio de Salud Pública, fueron reportados graves casos de enfermedades de origen alimentario en las provincias de Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas. Se reportaron 1100 casos de personas expuestas por el consumo de agua y alimentos contaminados en estas dos provincias. En Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas el 19% y el 41% respectivamente, se diagnosticaron como enfermedades de origen alimentario (MSP, 2016).

Sin embargo, a pesar de todos estos esfuerzos por concientizar a las personas que manejan alimentos el problema sigue vigente y aumentando. Es necesario

recurrir a otro tipo de pruebas de diagnóstico, como los medios de cultivo específicos para los microorganismos que provocan enfermedades o kits rápidos específicos, para contar con información y tratar de disminuir las enfermedades de origen alimentario, al igual que mantener la higiene a lo largo de toda la cadena productiva de la carne.

En la provincia de Pichincha, existen 54 mercados registrados donde se vende carne, en la Administración Calderón (2), Administración Centro (10), Administración Chillós (6), Administración Eloy Alfaro (9), Administración La Delicia (6), Administración Norte (10), Administración Quitumbe (4), Administración Tumbaco (7), (Anexo 2). Por lo que es primordial seguir con varios lineamientos nacionales e internacionales como las Normas INEN, El Manual de las Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria de la Carne y las Normas HACCP de Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control, para mantener la higiene en los alimentos que se define como “todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad e idoneidad de los alimentos en todos los pasos de la cadena productiva del alimento” (Buenas prácticas de Manufactura para la Industria de la Carne, 2007).

Es importante en la mayoría de los casos, la prevención y el adecuado control de los riesgos en la cadena productiva, también la prevención y control de enfermedades que afectan a la salud pública. Además, el manejo de la higiene de la carne no solo se refiere al aspecto de la inocuidad, sino también ayuda a las características idóneas de la carne (Buenas prácticas de Manufactura para la Industria de la Carne, 2007). De acuerdo con las estadísticas del Sistema SIVE – ALERTA del Ministerio de Salud Pública, existen cerca de 21.000 casos de personas expuestas a contaminantes en alimentos entre los años 2014 – 2017 (Gaceta Epidemiológica Ecuador SIVE – ALERTA, 2014 – 2017, s.p), por lo que es necesario realizar un estudio para determinar la prevalencia de enterobacterias en los principales mercados municipales de Quito, principalmente *Escherichia coli* O157:H7.

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo General**

- Determinar la prevalencia de la bacteria *E. Coli* O157:H7 en carne molida de res en mercados municipales de Quito.

### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar la presencia de la bacteria *E. Coli* O157:H7 en carne molida de res mediante de la utilización de medios de cultivo específicos.
- Caracterizar la colonia de *E. Coli* O157:H7 utilizando pruebas bioquímicas específicas para identificación de enterobacterias.
- Identificar la colonia resultante como presunta *E. Coli* O157:H7 utilizando un kit de tira específico para *E. coli* O157.

## **2. Capítulo II. Marco Teórico**

### **2.1. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)**

Las enfermedades transmitidas por alimentos siguen constituyendo uno de los desafíos más importantes para la salud pública (Rivas, 2008). Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son denominadas como: el conjunto de síntomas y signos provocados por el consumo de alimentos, bebidas, especias y agua, que poseen sustancias tóxicas o agentes patógenos en cantidades que pueden dañar la salud en forma aguda o crónica (Rivas, 2008). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las ETA, como las

enfermedades provocadas por agentes infecciosos o tóxicos los cuales ingresan en el cuerpo de los consumidores por la ingesta de alimentos (Stanchi, 2007). Copes, define a las ETA como aquellas producidas por la ingestión de alimentos, los cuales actúan como vectores a manera de un agente etiológico, llegando a provocar enfermedades (Stanchi, 2007).

Las enfermedades transmitidas por alimentos son causadas por el consumo de agua y/o alimentos contaminados por agentes infecciosos como: hongos, bacterias, virus y parásitos que pueden invadir o multiplicarse en la pared intestinal hasta alcanzar aparatos o sistemas (Carrascal, 2008). Pueden además presentarse por la ingestión de toxinas presentes en los tejidos de las plantas o animales, o por productos de reacciones metabólicas, o también por sustancias químicas que se incorporan de manera accidental, entre estos patógenos tenemos: *Escherichia coli*, *Clostridium spp.*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Bacillus cereus*, además bacterias como: *Yersinia spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter spp.*, principalmente (Carrascal, 2008). Las ETA puede darse por:

- a. Infecciones causadas por alimentos: Estas son producidas por la ingesta de alimentos que contienen microorganismos patógenos vivos. Los microorganismos ingresan al organismo, donde se da la invasión y finalmente se produce la enfermedad (Stanchi, 2007).
- b. Intoxicaciones causadas por alimentos: Estas son producidas cuando las toxinas producidas por mohos o bacterias se encuentran en los alimentos ingeridos. Se desarrolla una cantidad elevada de microorganismos superior a 10<sup>5</sup> UFC/g en el alimento (Stanchi, 2007).
- c. Tox infecciones causadas por alimentos: Estas son producidas por la ingesta de alimentos que contienen microorganismos patógenos vivos. Al llegar al organismo, se da el crecimiento y la producción o liberación de toxinas (Stanchi, 2007)



### 2.1.1. Principales etiologías alimentarias

Actualmente se conocen alrededor de 250 ETA procedentes de agentes tóxicos o infecciosos. Los agentes etiológicos tóxicos pueden ser animales, plantas o hongos, sustancias de naturaleza proteica, compuestos químicos (hormonas, plaguicidas, antibióticos, metales pesados, y otros), factores que pueden adherirse de manera intencional o accidental a los productos (Rivas, 2008). Los agentes etiológicos infecciosos pueden ser: bacterias, virus o parásitos (ver tabla 1) (Rivas, 2008).

Tabla 1.

*Etiologías alimentarias.*

| <b>Etiologías</b> | <b>Organismos</b>               | <b>Síntomas/Enfermedades</b>   |
|-------------------|---------------------------------|--|
| <b>Bacterias</b>  | <i>Bacillus cereus</i>          | Vómito, diarrea, calambres abdominales, náuseas                          |
|                   | <i>Campylobacter jejuni</i>     | Diarrea con sangre, fiebre, cefaleas, mialgias, secuelas: Guillain Barre |
|                   | <i>Clostridium perfringens</i>  | Cólicos y diarreas   |
|                   | <i>Listeria monocytogenes</i>   | Diarrea y síntomas sistémicos  |
|                   | <i>Salmonella sp.</i>           | Diarrea, cólicos, fiebre, vómito   |
|                   | <i>Shigella sp.</i>             | Diarrea, fiebre, micro abscesos  |
|                   | <i>E. coli enterotoxigénica</i> | Diarrea y vómito<br>Diarrea del viajero                                  |

|              |   |   |
|--------------|---|---|
|              | <i>E. coli</i> enteroinvasiva                           | Dolor abdominal, diarrea acuosa con moco y sangre, tenesmo                        |
|              | <i>E. coli</i> 0157 enterohemorrágica                   | Diarrea y síntomas sistémicos<br>SHU  |
|              | <i>Staphylococcus aureus</i>                            | Vómito, diarrea, calambres abdominales  |
|              | <i>Yersinia enterocolítica</i>                          | Fiebre, dolor abdominal y diarrea   |
|              | <i>Clostridium botulinum</i>                            | Fatiga, odinofagia, parálisis flácida, falla respiratoria                         |
|              | <i>Vibrio cholerae</i> / cólera                         | Diarrea acuosa y profusa, vómito, dolor abdominal, deshidratación, sed, colapso   |
|              | <i>Aeromonas hydrophila</i>                             | Diarrea acuosa, dolor abdominal, náuseas, cefaleas                                |
| <b>Virus</b> | Virus Hepatitis A                                       | Diarrea, orina oscura, ictericia, síntomas similares a la gripe y dolor abdominal |
|              | Virus Hepatitis E                                       |   |
|              | Gastroenteritis viral (Calicivirus, virus tipo Norwalk) | Nauseas, vómito, diarrea, cefaleas, fiebre leve                                   |
|              | Gastroenteritis viral (Rotavirus)                       | Diarrea especialmente en bebés y niños  |
|              | Reovirus (Rotavirus)                                    | Diarrea, deshidratación en infantes   |

|                  |  |                                  |
|------------------|--|----------------------------------|
|                  | Norovirus  | Nauseas, vómito, diarrea, fiebre |
| <b>Parásitos</b> | <i>Giardia duodenalis</i>  | Giardiasis                       |
|                  | <i>Cryptosporidium parvum</i>  | Cryptosporidiosis                |
|                  | <i>Cyclospora cayetanensis</i>                                       | Ciclosporiasis                   |
|                  | <i>Toxoplasma gondii</i>   | Toxoplasma                       |
|                  | <i>Trichinella spiralis</i>  | Triquinosis                      |
|                  | <i>Taenia saginata</i> /<br><i>Taenia solium</i><br>(Gusanos planos) | Cisticercosis<br>Taeniasis       |

Adaptado de Rueda, 2014; Canizales, 2011; USDA, 2011.

### 2.1.2. Incidencia de ETA a nivel mundial

La incidencia de enfermedades alimentarias muestra una estimación, 1 de cada 10 personas enferman cada año por consumir alimentos contaminados y alrededor de 420. 000 mueren por consecuencia de estas enfermedades. Un tercio de todas estas muertes se producen en niños menores de 5 años. Según el informe proporcionado por la OMS, la carga de enfermedades producidas por alimentos es causada por 31 agentes: virus, toxinas, parásitos, bacterias y productos químicos (OMS, 2015). Cada año alrededor de 600 personas en todo el mundo, o 1 de cada 10 enferman por consumir alimentos contaminados, de estas personas 125.000 son niños menores de 5 años (OMS, 2015).

Las enfermedades diarreicas son las causantes de la mitad de carga por enfermedades producidas por alimentos, 550 millones de personas enferman y los niños son más perceptibles a sufrir este tipo de enfermedades (OMS, 2015). La diarrea se presenta por la ingesta de alimentos como huevos y carne poco o mal cocidos, verduras y frutas mal lavadas y productos lácteos, contaminados

con: *Escherichia coli* patógena, *Campylobacter* y *Salmonella* no tifoídica. Otros factores que pueden influir en la carga mundial de ETA son: la hepatitis A, la fiebre tifoidea, *Taenia solium* (tenia) y las aflatoxinas (OMS, 2015).

La mayor carga de enfermedades transmitidas por alimentos fue observada en África, Asia Sudoriental y el Mediterráneo Oriental. Los agentes causantes de enfermedades diarreicas fueron el origen de ETA en estas regiones (OMS, 2015). *Salmonella* entérica no tifoídica presenta un problema en la salud en la mayor parte de las regiones del mundo, afectando a países con ingresos altos y bajos de igual manera. Otras enfermedades como la fiebre tifoidea, cólera transmitido por alimentos y enfermedades producidas por *E. coli* patógena son comunes en países de ingresos bajos, mientras que el agente patógeno *Campylobacter* es común en países de ingresos altos (OMS, 2015).

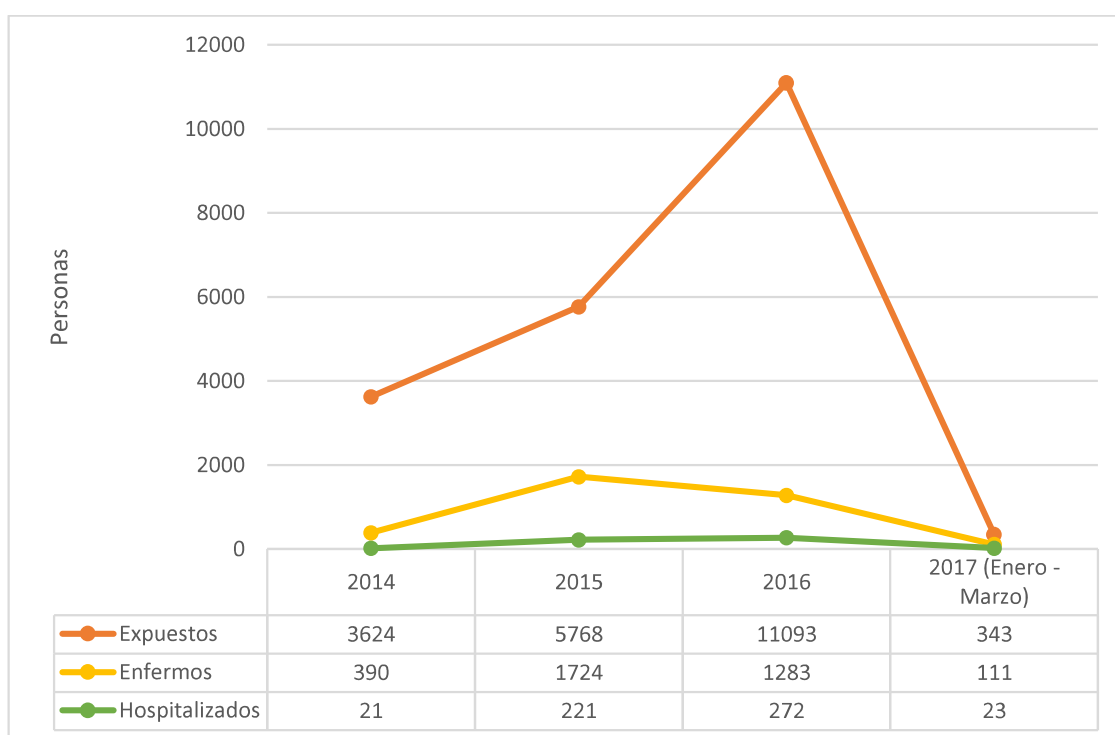
### **2.1.3. Incidencia de ETA en América Latina**

En Latinoamérica, se registra la segunda carga más baja de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), Dentro de esta se registra al menos 77 millones de personas que se enferman cada año por consumir alimentos contaminados, de este grupo 9.000 mueren al año. En América Latina las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) representan el 70% de casos por enfermedades diarreicas agudas (OMS, 2017, s. p). Donde casi el 90% de estas enfermedades son ocasionadas por: Novovirus, Toxoplasma, *Listeria*, *Salmonella* no tifoídica, *E. coli* O157, y *Clostridium perfringens*.

Entre los casos más comunes tenemos: la toxoplasmosis y la tenia del cerdo (*Taenia solium*), que son de gran preocupación en América Central y América de Sur (OMS, 2017, s. p). La causa principal de la propagación de la toxoplasmosis es la carne cruda o poco cocida, también las frutas, verduras más lavadas, que llegan a causar daños graves en la salud pública (OMS, 2017, s. p).

### 2.1.4. Impacto de ETA en el Ecuador

El Ministerio de Salud Pública mediante la Dirección de Vigilancia Epidemiológica SIVE - ALERTA lleva estadísticas semanales que se pueden observar en conla figura 1 sobre las intoxicaciones alimentarias bacterianas desde el 2014 hasta marzo del 2017, de donde se tienen que existen 20.828 personas expuestas a enfermedades de origen alimentario, de éstas 3508 personas resultaron enfermas y 537 fueron hospitalizadas por esta causa. Sin embargo, se desconocen casos específicos de enfermedades de origen alimentario causado por *Escherichia coli* (Revisar el Anexo 3). No se han registrado muertes por causa de enfermedades de origen alimentario en estos años (Gaceta Epidemiológico Ecuador SIVE – ALERTA, 2014 – 2017).



**Figura 1.** Datos del sistema SIVE – ALERTA del Ministerio de Salud Pública para las personas expuestas, enfermas y hospitalizadas por enfermedades de origen alimentario 2014 – 2017 (enero – marzo).

Tomado de la Gaceta Epidemiológica SIVE – ALERTA 2017.

## 2.1. *Escherichia coli*

### 2.1.5. Generalidades

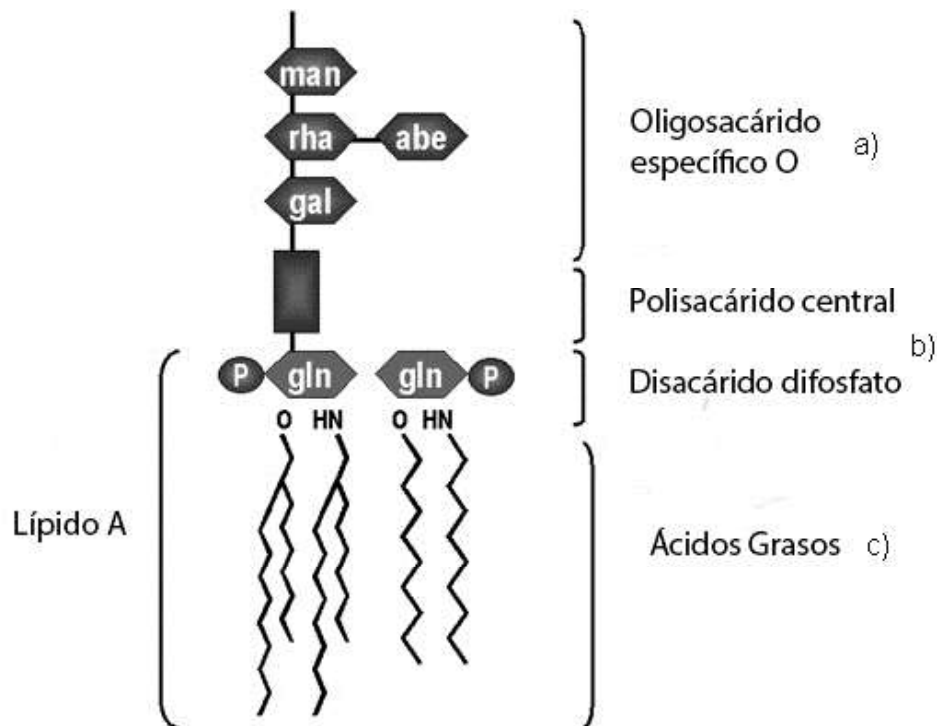
En el año de 1885, Theodor Escherich aisló de una muestra de heces a una bacteria conocida como coli, la cual después fue llamada *Escherichia coli* y es considerada como un relevante descubrimiento en la salud pública (Casellas, 2011).

*Escherichia coli* pertenece al grupo de las *Enterobacteriales*, que son llamadas comúnmente como bacterias entéricas, que a su vez forman parte del grupo de las *Gammaproteobacterias*, que son bacilos anaerobios aerotolerantes, no forman esporas y que pueden ser inmóviles o móviles por flagelos pétricos. Tienen sencillas exigencias nutricionales y fermentan azúcares (Madigan, 2015, p. 518).

### 2.1.6. Características morfológicas

*E. Coli* es una bacteria gramnegativa, el nombre se basa en la reacción a la tinción de Gram, su envoltura celular se caracteriza por una estructura multilaminar. La membrana interna consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La capa externa, consiste en un peptidoglucano delgado junto con un espacio periplásmico que contiene una elevada concentración de proteínas. La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen: lipopolisacáridos (LPS) (importante factor de virulencia), lipoproteínas (que están fijadas al peptidoglucano), proteínas porinas multiméricas (que facilitan el paso de diversas sustancias) y otras proteínas de la membrana externa que se puede observar en la Figura 2 (Puerta y Mateos, 2010).





**Figura 3.** Dominios principales de LPS.

Adaptado de: Fox, s.f.

- a) Cadenas laterales de oligosacáridos específicos O
- b) Oligosacárido fosforilado central o núcleo del polisacárido
- c) Esqueleto de lípido A

Los flagelos son filamentos proteicos, helicoidales, delgados y rígidos, con una longitud y diámetro uniforme que son los responsables de la movilidad de la bacteria. Están compuestos por subunidades de una proteína denominada flagelina (Prescott et al., 1999).

*E. coli* produce: aerobactina, enterotoxinas y toxinas asociadas. La aerobactina permite la captación de hierro desde el medio para el transporte de oxígeno y electrones, síntesis de ADN y metabolismo de peróxidos (Gyles, 1992; Blanco y



Blanco, 1993). Las enterotoxinas afectan a la actividad de los enterocitos, las verotoxinas (VT1 y VT2) también pueden lesionar los enterocitos, porque cuando la verotoxina es absorbida hacia el torrente circulatorio, provoca lesiones del tejido endotelial en determinadas ubicaciones anatómicas y factores citotóxicos necrotizantes, (CNF1 y CNF2) que pueden impedir la división celular (Gyles, 1992; Blanco y Blanco, 1993).

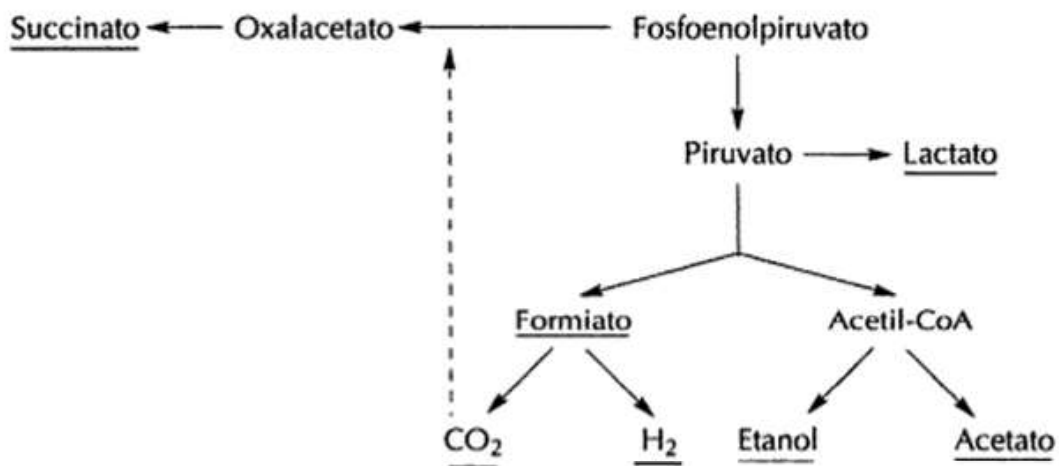
La clasificación de las cepas se basa en la diferencia de tres antígenos estructurales: antígeno O, antígeno H y antígeno K.

Los antígenos somáticos O se encuentran en la porción del polisacárido LPS que se encuentran en la envoltura celular. Estos antígenos se comparten entre diferentes géneros de enterobacterias y son estables al calor (Markey et al., 2013). El antígeno H está asociado con los flagelos de enterobacterias flageladas como *E. coli*. Los flagelos están compuestos por flagelinas, dependiendo de los tipos de flagelina son formados los diferentes determinantes antigénicos. El antígeno K se encuentra dentro de las cápsulas bacterianas. Los diversos tipos de hidratos de carbono, junto con los tipos de enlaces entre los azúcares, forman los determinantes antigénicos que definen a los antígenos capsulares (Vadillo et al., 2002).

En *E. coli* la mayoría de estructuras adherentes son fimbrias proteicas, que se unen a receptores específicos situados en las membranas de las células epiteliales. Las adhesinas fimbriales tienen una estructura general similar, en forma de filamentos heteropoliméricos (Connell et al., 1996). Entre las especies de *E. coli*, hay muchos antígenos serológicamente distintos y los serotipos específicos están asociados con enfermedades particulares. Como, por ejemplo: *E. coli* O157:H7 que causa una forma grave de colitis hemorrágica (Dobroy, 2014).

### 2.1.7. Características bioquímicas

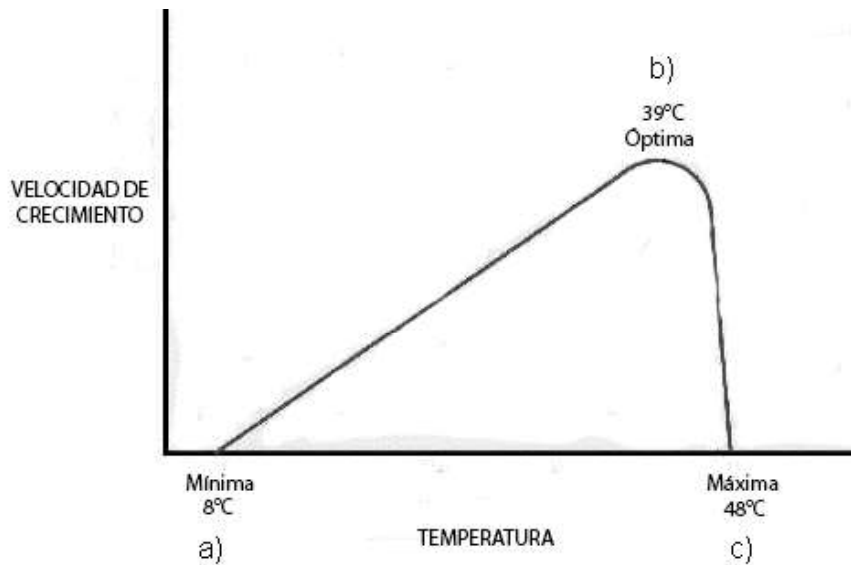
Las enterobacterias tienen una fermentación ácido – mixta que se observa en la figura 4, produce ácido acético, etanol, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y proporciones diferentes de ácido láctico o propiónico dependiendo de la especie. En esta ruta se produce ATP, además de la reoxidación del NADH<sup>+</sup>. La producción de formiato o CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>, depende de la presencia en la bacteria de una enzima denominada formiato-liasa, su actividad se detecta por la producción de grandes cantidades de gas, como consecuencia de la fermentación de azúcares (Universidad de Navarra, 2008, s.p) (Anexo 1).



**Figura 4.** Diagrama Fermentación Ácido – Mixta de las enterobacterias, incluida *E. coli*.

Adaptado de Parés et al, 2002.

*Escherichia coli* es un mesófilo típico y tiene temperaturas cardinales que están definidas en la figura 5, la temperatura óptima para la mayoría de las cepas está cerca de 39°C, la máxima es 48°C y la mínima 8°C, también produce exotoxinas (citotoxinas), toxinas AB específicamente que están formadas por las subunidades A y B. Las citotoxinas son proteínas extracelulares solubles, producidas por algunos patógenos que alteran la membrana citoplasmática provocando lisis y muerte celular (Madigan, 2015, p. 167).



**Figura 5.** Temperaturas cardinales de *Escherichia coli*.

Adaptado de Madigan, 2015, p. 167.

- a) Temperatura óptima 39°C
- b) Temperatura máxima 48°C
- c) Temperatura mínima 8°C

### 2.1.8. Características moleculares

La cepa de *E. coli* O157:H7 produce dos shigatoxinas Stx1 y Stx2 y contiene dos plásmidos pO157 y pOSAK1. La secuencia completa del cromosoma es de 5'594.477 pb de longitud. El plásmido de virulencia grande es de 92.721 pb (pO157) y un plásmido críptico de 3.306 pb (pOSAK1). Las regiones que codifican proteínas ocupan el 88.1% del cromosoma, la media de la longitud entre los ORFs es de 904 pb, el contenido de G + C de todo el cromosoma es de 50.5% molar. Dentro del cromosoma existen varios elementos genéticos móviles; 20 clases de secuencias de inserción y 18 profagos o restos de fagos. En el cromosoma existían un total de 14 loci que codifican un conjunto de genes para la biosíntesis fimbrial, las fimbrias son utilizadas por *E. coli* para adherirse

a la superficie del tejido, para establecer la infección (Hayashi, et al, 2001, pp 1-12).

### **2.1.9. Enfermedades y sintomatología relacionados**

*Escherichia coli* es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas, por lo que tiene un importante impacto en la salud pública (OMS, 2016, s.p).

Entre los síntomas de la enfermedad causada por *E. coli* productora de toxina Shiga destacan los calambres abdominales y la diarrea, que puede progresar en algunos casos a diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica). También puede haber fiebre y vómitos. El periodo de incubación varía entre tres y ocho días, con una mediana de tres a cuatro días. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de diez días, pero en un pequeño porcentaje de los casos (especialmente niños pequeños y ancianos) la infección puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal (3%-5%), como el síndrome hemolítico urémico (SHU). El SHU se caracteriza por una insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia (deficiencia de plaquetas). Pueden aparecer también complicaciones neurológicas (convulsiones, accidente cerebrovascular y coma) en el 25% de los pacientes con SHU, así como secuelas renales crónicas, generalmente leves, en aproximadamente un 50% de los supervivientes (OMS, 2016, s.p).

## 2.2. Serotipos de *E. coli*

Un serotipo se define como un grupo de microorganismos que se caracterizan por un conjunto específico de antígenos. Kauffman desarrolló un esquema de serotipificación que en la actualidad posee 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K) (Nataro y Kaper, 1998). El antígeno O es el responsable del serogrupo, el antígeno K fue determinado por pruebas de aglutinación bacteriana: una cepa bacteriana de *E. coli* aglutinable por un antisuero O, se transformó en aglutinable al calentar el medio de cultivo y así fue considerada la presencia del antígeno K. Los antígenos fimbriales proteicos al ser eliminados se los designó F (Vadillo, et al., 2002). A la combinación de los antígenos O y H se los llama "serotipo". La base para la identificación de cepas de *E. coli* O157:H7 es la serotipificación.

La importancia del serotipo O157:H7 en las enfermedades humanas nos permiten dividir a estos en dos: O157 y no O157 (Gyles, 2007). La clasificación de *E. coli* O157:H7 se da en cinco tipos que van desde el seropatotipo A hasta el seropatotipo E. Estos seropatotipos son los responsables de los brotes y las enfermedades en seres humanos (Karmali, et al., 2003).

El seropatotipo A es considerado uno de los más virulentos con los serotipos: O157:H7 y O157: NM (NM: no móvil y no posee en su estructura el antígeno H). El seropatotipo B posee los serotipos O26: H11, O103: H2, O111: NM, O121:H19 y O145: NM, causantes de brotes y enfermedades, pero en menor cantidad que el serotipo O157. El seropatotipo C posee los serotipos O91:H21 y O113:H21, implicados en casos esporádicos de Síndrome Urémico Hemolítico (Karmali, et al., 2003). Los seropatotipos D y E se han involucrado en casos de diarrea y serotipos que no han causado enfermedades en los seres humanos respectivamente. El concepto de seropatotipo nos ayuda a investigar todos los factores bacterianos que participan en la transmisión y en la enfermedad (Karmali, et al., 2003). Sin embargo, la clasificación serológica es un proceso

costoso, tedioso y solo algunos laboratorios lo manejan. En la actualidad esta clasificación se la realiza mediante la detección de genes que codifican los factores de virulencia de cada grupo. Los ensayos fenotípicos son los más utilizados (Rodríguez-Ángeles, 2002).

### 2.3. Patotipos de *E. coli*

Un patotipo se define como poblaciones de la misma especie que difieren por su capacidad patogénica. La diarrea continúa siendo un grave problema para la salud, principalmente en países en vías de desarrollo (Boschi, et al., 2008). Las cepas de *E. coli* llamadas diarrogénicas (DEC), son las responsables del 40% de diarrea en niños y son consideradas por la Organización de la Salud (OMS) como patógenos importantes (Xiaodong, et al., 2010). Su patogénesis se encuentra asociada a la virulencia según los patotipos (Xiaodong, et al., 2010). En la actualidad este grupo posee diferentes mecanismos de patogenicidad, y de acuerdo con esto se clasifican en seis patotipos. Estos presentan taxones con un rango jerárquico inferior a la subespecie, así tenemos (Rodríguez-Ángeles, 2002):

- *Escherichia coli* Enteropatógena (ECEP).
- *Escherichia coli* Enterotoxigénica (ECET).
- *Escherichia coli* Enteroinvasiva (ECEI).
- *Escherichia coli* Enteroagregativa (ECEA).
- *Escherichia coli* Entero difusa adherente (ECDA).
- *Escherichia coli* productora de shigatoxinas (STEC) o *E. coli* productora de Verotoxinas (VTEC), muy patógeno para el ser humano.
- *Escherichia coli* Enterohemorrágica (ECEH).

Cada uno de estos patotipos posee factores de virulencia específicos los cuales nos ayudan a su identificación y clasificación, así como los serotipos específicos.

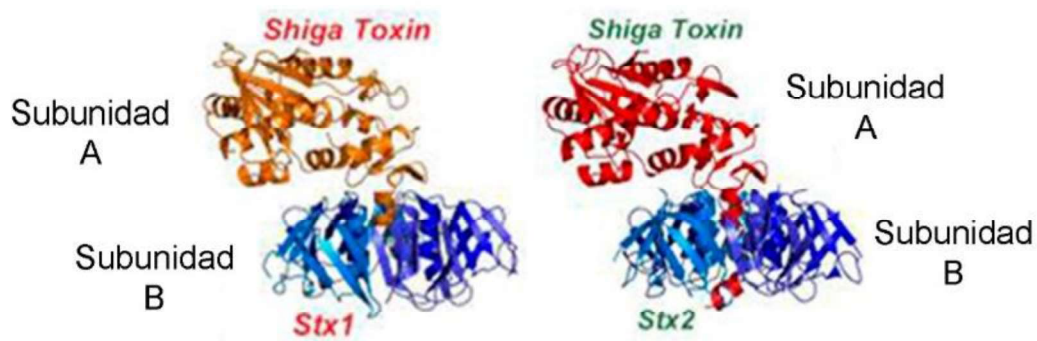
Sin embargo, las DEC no son diagnosticadas en laboratorios clínicos a excepción de *E. coli* O157:H7 (Nataro y Kaper, 1998). Como se sabe la mayoría de patógenos sigue una serie de estrategias para su infección: 1) Coloniza la mucosa, 2) Evita las defensas del huésped, 3) Se multiplica y 4) Daña al hospedero. La característica conservada de las cepas DEC es su capacidad para colonizar la superficie de la mucosa a pesar de la competencia por los nutrientes en el intestino (flora natural del intestino) y la peristalsis. La capacidad de adherencia superficial de las fimbrias es una propiedad de la mayoría de las cepas de *E. coli*, incluyendo a las no patógenas (Nataro y Kaper, 1998).

#### **2.4. *Escherichia coli* productora de la toxina shiga**

*E. coli* es el productor de la toxina Shiga y fue descrita en 1977 por Knowalchuk, el cual dio a conocer serogrupos de *E. coli*: O18, O26, O111 y O128 que fueron aisladas de niños y cerdos que presentaban diarrea y edema pulmonar respectivamente. Estas producían una toxina que se denominó verotoxina (VT) por su acción tóxica en las células Vero (células de tejidos celulares). A todas las cepas que producían VT se las denominaba *E. coli* verotoxigénicas (VTEC). Con el pasar del tiempo se logró aislar cepas que producían el efecto citotóxico en las células Hela (células de carcinoma cervicouterino). Estas células eran capaces de ser neutralizadas por un antisuero llamado antitoxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1 y fueron designadas como "Shiga" (O'Brien, et al., 1982). Consecutivamente se designó a *E. coli* como productora de la toxina shiga (Calderwood, et al., 1996).

Las *E. coli* responsables de las toxinas shiga (Stx), constituyen cepas de *E. coli* que producen una o varias toxinas de la familia Stx. Esta familia está formada por la Stx1, la cual se encuentra relacionada con el propio Stx, y Stx2, que es parecida a Stx1 a nivel de nucleótidos y aminoácidos (Gyles, 2007). Tanto las shigatoxinas Stx1 y Stx2 (ver figura 6), poseen el mismo mecanismo de patogenicidad de *E. coli* enterohemorrágica O157:H7 asociado con otros

factores de virulencia. Además, existen otros serotipos de *Escherichia coli* que no son O157, pero han sido reconocidos como productores de estas toxinas (Stx1 y Stx2) en forma separada o conjunta y se han involucrado en enfermedades diarreicas en humanos e incluso brotes de Síndrome Urémico Hemolítico (Villalobos, et al., 2008).



**Figura 6.** Estructura tridimensional de Stx1 y Stx2.

Adaptado de Ghosh y Andreana, 2014.

Las cepas de *E. coli* del serotipo O157:H7 y las variantes no móviles de *E. coli* O157: NM (NM= no móvil), son las más frecuentes en el mundo. Las cepas de *E. coli* con otros antígenos flagelares del tipo (H) son los responsables de infecciones en seres humanos. Entre los serotipos más comunes asociados a las enfermedades humanas que no son O157:H7 tenemos: O26:H11, O103:H2, O111: NM, y O113:H21, que se caracterizan por presentar diarrea con dolor abdominal y colitis hemorrágica (Johnson, et al., 1996).

### 2.4.1. Shigatoxinas

A las toxinas llamadas shiga (Stx) se les conoce como el factor crítico de virulencia en las enfermedades debido a *E. coli* productora de toxina Shiga (Gyles, 2007). La presencia del gen de la toxina 1 o 2 de Shiga (stx1 o stx2), que se adquiere típicamente por un bacteriófago lambdaoide, en un aislado de *E. coli*

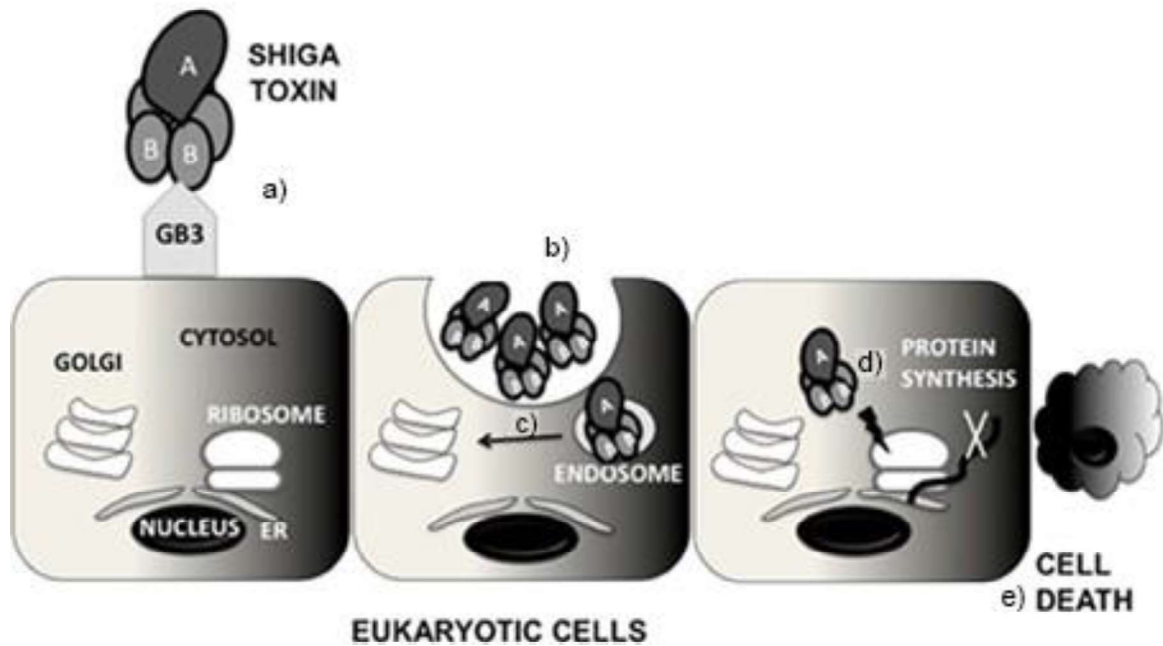


productora de toxina Shiga. Las toxinas Stx1 y Stx2 son causantes del daño endotelial vascular provocado por la colitis hemorrágica (Karmali, 1989). Existen más de 400 serotipos *E. coli* productora de la toxina Shiga identificados, pero sólo un subconjunto está correlacionado con la enfermedad en los seres humanos (Croxen, 2014) como: diarrea leve, diarrea asociada al síndrome hemolítico y colitis hemorrágica (Griffin y Tauxe, 1991). Entre los serotipos encontrados tenemos: O157:H7 y O157: NM, siendo estos los causantes de enfermedades. El serogrupo más común es O157: H7 y se considera un adulterante en la carne de origen vacuno desde 1994, por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

La shigatoxina está formada por una estructura heterohexámero A<sub>1</sub>B<sub>5</sub> de 70 kDa con 2 subunidades A y B. La subunidad A con 33 KDa constituye la parte biológica activa y la subunidad B con 7,5 KDa es aquella que se une al receptor específico globotriaosilceramida (Gb3) (Calderwood, et al., 1996). La subunidad A presenta un fragmento A1 con un sitio enzimático y un fragmento A2 unidos por un enlace disulfuro (O'Brien, et al., 1982). Pese a que su mecanismo de acción es el mismo, solo existen un 55% de coincidencia entre las subunidades A de Stx1 y Stx2 (Gyles, 2007).

La actividad enzimática permite la separación de una adenina del ARNr 28S de esta toxina, lo que evita la síntesis proteica. La apoptosis se da como resultado del estrés ribocitotóxico producto de la falta de la síntesis proteica (Gyles, 2007). La muerte celular programada puede presentar una variación de Stx en las células (Cherla, et al., 2003). El grupo que conforma las subunidades B se unen a los receptores glicolípidos de las superficies celulares, ayudando a la internalización de la toxina (ver figura 7).

## Mechanism of action of Shiga Toxin



**Figura 7.** Mecanismo de acción de la toxina Shiga.

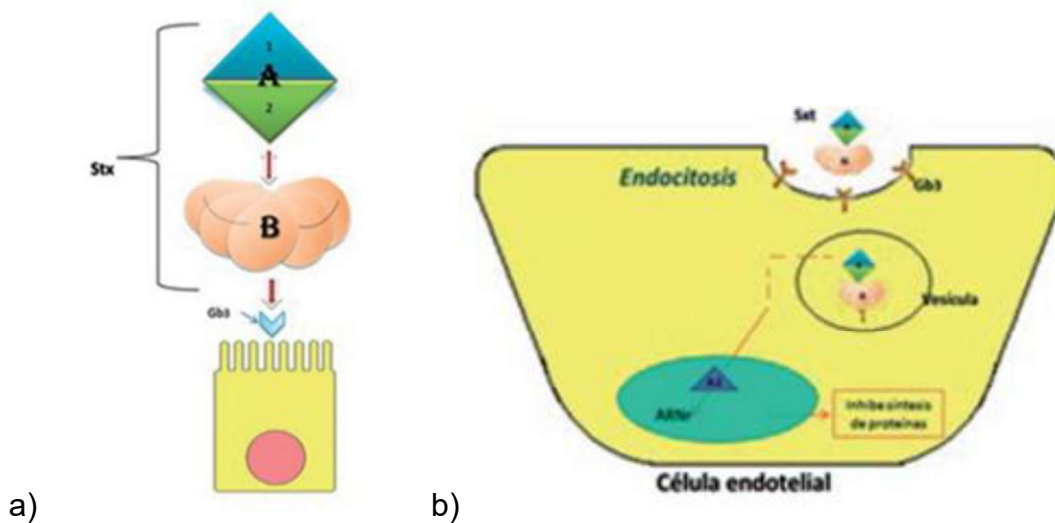
Tomado de Pacheco y Sperandio, 2012.

- La toxina Shiga es internalizada por endocitosis
- Experimenta transporte retrógrado a la red trans-Golgi (TGN)
- Después al retículo endoplásmico (ER)
- En el retículo plasmático, la toxina Shiga encuentra su objetivo, el ribosoma y lo inactiva
- Como consecuencia, la toxina Shiga inhibe la síntesis de proteínas, causando la muerte celular por apoptosis

### 2.4.2. Patogénesis

*E. coli* es una bacteria que puede formar su receptor y lo inocula en la célula blanca. Existe una unión del eritrocito con la bacteria lo que provoca la traducción de señales en el citoesqueleto de la célula en el epitelio intestinal (Nataro y Kaper, 1998).

Después de que *E. coli* O157:H7 coloniza el intestino, empieza a secretar las shigatoxinas. Todo este proceso lo realiza a través de la subunidad B, provocando la unión de la toxina Shiga con el receptor glicolípido (Gb3) presente en la superficie epitelial. Gracias a este proceso se da la entrada de la subunidad A al citoplasma por endocitosis (ver figura 8).



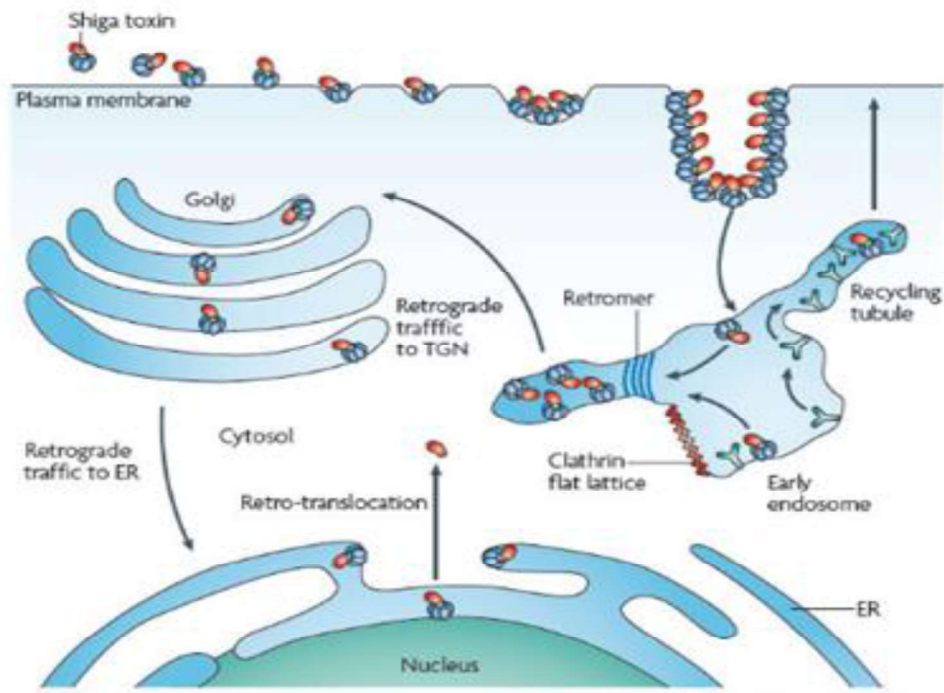
**Figura 8.** Unión de Stx a su receptor glicolípido (Gb3).

Tomado de Farfán, et al., 2016.

a) La toxina Shiga (Stx) está formada por una subunidad A que posee dos fragmentos: A1 con actividad enzimática y A2 que se une a la subunidad B, pentámero que ayuda a la unión al receptor Gb3 en la célula hospedera.

b) La toxina Shiga viaja hasta el receptor Gb3 que se une a la subunidad B de la toxina y permite la entrada a las células endoteliales por endocitosis, donde la subunidad A1 se mueve al ARNr para bloquear la síntesis de proteínas y producir la muerte celular.

La toxina Shiga en la vesícula es transportada al retículo endoplasmático y al aparato de Golgi, dando como resultado la alteración de la síntesis proteica y la muerte de las células blancas por apoptosis (<biblio>). Durante distintas etapas las shigatoxinas son translocadas al torrente sanguíneo y son llevadas por los neutrófilos a los distintos tejidos (ver figura 9) (Proulx, et al., 2001).



**Figura 9.** Esquema de como las toxinas Shiga viajan a través del sistema de membranas de la célula eucariota.

Tomado de Johannes y Winfried, 2010.

- El proceso ocurre al momento que la toxina se une a la membrana plasmática, formándose una curvatura que permite la invaginación
- Se traslada por medio del tráfico de vesículas hasta llegar a encontrarse con la maquinaria de degradación unida al retículo endoplasmático, dando lugar a la entrada al espacio citosólico (retro-translocación)

El mayor número de aspectos asociados a la diarrea sanguinolenta son atribuidos a la acción de la toxina shiga en las células endoteliales y la microangiopatía trombótica se presenta en esta enfermedad (Ray y Liu, 2001). La diarrea con sangre se presenta debido a lesiones en los vasos sanguíneos del colon (WHO, 2007).

El síndrome urémico hemolítico provoca daño en las células endoteliales, con hinchazón y desprendimiento de la membrana basal. Después se produce depósito de fibrina y plaquetas en microvasculatura renal, oclusión de capilares, reducción del flujo sanguíneo e insuficiencia renal y ruptura de glóbulos rojos. Además, se observan lesiones trombóticas en la microvasculatura del intestino, cerebro y páncreas (WHO, 2007).

El diagnóstico del síndrome urémico hemolítico se lo realiza a través de los hallazgos clínicos: pródromo de gastroenteritis (diarrea sanguinolenta provocada por el daño en los vasos del colon como consecuencia de la toxina shiga liberada), acompañada de anemia hemolítica microangiopática, fallo renal agudo y trombocitopenia, los cuales se instalan de manera brusca en pacientes sanos. Esta complicación se encuentra presente en el 10% de infecciones por *E. coli* O157:H7 (Fernández, et al., 2011) (López, 1989). Generalmente comienza 4 días después de la infección con diarrea (1 a 10 días) (ver figura 10).

La colitis por shigatoxinas puede provocar hemorragia e infarto en la mayor parte de las capas en el intestino. Las emergencias quirúrgicas que pueden presentarse son: dilatación, perforación del colon y hemorragia masiva. Además, pueden presentar compromiso neurológico como son: convulsiones o el coma, esta complicación se asocia a la severidad de esta enfermedad renal (Monteverde, 2014).



*Shigella* (Álvarez, 1999). Además, gracias a la producción de sus verotoxinas se ha logrado identificar a este microorganismo (Álvarez, 1999).

Los términos de shigatoxinas y verotoxinas son muy semejantes, el primero es más utilizado en la actualidad. Muestra la relación que existe con la familia de toxinas parecidas a la exotoxina de la bacteria *Shigella dysenteriae* tipo I (Houdouin, et al., 2004) (Bhimma, et al., 1997). El término verotoxina describe la acción patogénica de esta toxina sobre las células vero en los cultivos (Monteverde, 2014).

#### **2.4.3.1. Patogenicidad**

En las cepas aisladas de este organismo, se han encontrado mecanismos de patogenicidad como es la esfacelación y adherencia. Entre los factores asociados a la patogenicidad de *Escherichia coli* O157:H7 tenemos:

- a) La adherencia entre los enterocitos del colon, debido a la especificidad fímbrica dada por la codificación de un plásmido de virulencia (Olivet, 2008).
- b) La adherencia íntima que incluye la alteración del citoesqueleto en la célula hospedera, la cual se encuentra regulada por la proteína externa intimina. Este fenómeno es codificado por el intercambio de señales y la codificación de genes cromosomales (Olivet, 2008).
- c) Producción de citotoxinas a nivel local, dando lugar al daño celular e inhibición de la síntesis proteica. Este proceso tiene como resultado la necrosis hemorrágica en las vellosidades del intestino, además presenta baja infiltración de polimorfonucleares que provoca la diarrea con sangre. Todas estas toxinas se translocan en la mucosa hacia el torrente sanguíneo, y pueden unirse a los receptores GB3 que se encuentran en

las membranas de los glóbulos rojos, endotelio renal, sistema nervioso central y plaquetas, ocasionando daño sistémico clínicamente conocido como Síndrome urémico hemolítico (SHU), este se caracteriza por fallo renal agudo, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia (Olivet, 2008).

- d) Factores de virulencia: mecanismo de transporte de hierro, toxina EAST 1 (toxina termoestable de cepas enteroagregativa), LPS (lipopolisacárido) y enterohemolisina (Olivet, 2008).

## **2.5. Epidemiología**

### **2.5.1. Reservorios de *E. coli* O157:H7**

Los principales reservorios de *E. coli* O157:H7 son todos los rumiantes domésticos y salvajes, principalmente el ganado. La carne del ganado vacuno es la principal fuente de contaminación *E. coli* O157:H7 (Blanco, et al., 2004; Duffy, et al., 2006). Los podemos encontrar con mayor frecuencia en bovinos, caballos, ovejas, guanacos, cabras (Mercado, et al., 2004; Gyles, 2007), y en cerdos en menor frecuencia (Gyles, 2007), pollos y gaviotas (Nataro y Kaper, 1998), gatos y perros (Bentancor, et al., 2006), pavos (Lim, et al., 2010). Debido a que en el ganado bovino se asocia la mayor presencia de este patógeno y gracias a numerosas investigaciones se ha llegado a lo siguiente:

- Los animales jóvenes son los portadores de esta bacteria con mayor frecuencia que en los animales adultos (Figuroa, 2000).
- La prevalencia en excreciones fecales presenta variabilidad en grupos que resultaron positivos (Figuroa, 2000).
- La investigación sobre incidencia en el ganado presenta alta variabilidad debido a los distintos procesos utilizados en la detección (Figuroa, 2000).
- En el momento del sacrificio al ganado, las bacterias pueden



permanecer viables hasta el momento de venta de la carne (Figueroa, 2000).

El primer aislamiento de este microorganismo fue en el año de 1977 en Argentina en un ternero que presentaba colibacilosis (Mazorca, 2006). El tiempo de este patógeno en el sistema gastrointestinal es alrededor de 30 días, pero existen excepciones en las cuáles puede este organismo estar presente hasta un año o más. La mayoría del ganado sano entre 1 % y el 50% eliminan *E. coli* O157: H7 en sus heces (Elder, et al., 2000; Xiaodong, et al., 2010).

Se han encontrado alrededor de 435 serotipos de *E. coli* O157:H7 en bovinos y más de 470 serotipos en humanos (Beutin, et al., 2004). El ganado vacuno es conocido como el principal reservorio de *E. coli* O157:H7 (Gyles, 2007). También existen numerosos estudios de la prevalencia de *E. coli* O157:H7 que afirman que es el principal reservorio (Wells, et al., 1991; Chapman, et al., 1993; Beutin, et al., 2004). El lugar de colonización de *E. coli* O157 es el recto terminal (WHO, 2007; Lim, et al., 2010) por lo que es eliminado en las heces (Elder, et al., 2000). *E. coli* no es patógena para el ganado, en el ganado joven la colonización es de 2 meses menor al de la duración y portación fecal que en el ganado adulto (WHO, 2007). Se han reportado tasas de prevalencia de *E. coli* O157:H7 en animales de engorde alcanzando de 0,3 % a 19.7 %, mientras que en animales de pastoreo se ha encontrado de 0,7 a 27,3% (Hussein y Bollinger, 2005).

### **2.5.2. Fuentes de transmisión de *E. coli* O157:H7**

Entre los factores que ayudan a la propagación de *E. coli* O157:H7 tenemos el comportamiento de animales y factores ambientales que ayudan a su transmisión. Las principales vías de propagación son los alimentos contaminados como: carne molida, embutidos fermentados, productos cárnicos crudos o poco cocidos, hamburguesas, yogurt, leche no pasteurizada, quesos, lechuga, alfalfa, rábanos, jugos de manzana no pasteurizados (WHO,

2007). La contaminación de los alimentos se debe al contacto que existe con las heces del ganado bovino (Rivas, et al., 2003). Además, se puede dar contaminación fecal en agua debido a la descarga de materia fecal en canales de agua que después son consumidas sin ningún proceso o tratamiento de purificación (Chinen, et al., 2003).

### **2.5.3. Dosis infecciosa de *E. coli* O157:H7**

Se ha encontrado un número muy bajo de *E. coli* O157:H7 en alimentos y aguas contaminadas (Müller, et al., 2006). Se ha informado que un número bajo entre 10 a 100 UFC/g o UFC/ml de alimento o agua contaminada son suficientes para provocar infección y malestar en el hospedero (Feng, 2000).

### **2.6. *E. coli* O157:H7 en plantas de procesamiento de carne**

El ganado vacuno presenta preocupación en la salud alimentaria, debido a que en el proceso de eliminación de la piel es complicado evitar la propagación de bacterias a los canales (Barkocy-Gallagher, et al., 2003). Existen otros estudios en los cuales se ha visto la relación de la incidencia de este patógeno entre los cueros y los canales (Elder, et al., 2000). *E. coli* O157:H7 se caracteriza por permanecer en las superficies de los canales bovinos en el proceso de sacrificio del ganado (CCFH, 2005).

El proceso de transmisión de este patógeno a la carne puede darse por algunas formas como: al cortar la piel por medio de cuchillos, por contacto entre la superficie externa de la piel y en el desolle por medio de la carcasa, los equipos, las manos de los operadores (Gill y Landers, 2004).

Este patógeno se encuentra presente en las superficies de los canales, ya que los tejidos internos se encuentran protegidos por la contaminación que existe en el proceso de sacrificio. El enfriamiento acelerado de los canales disminuye el crecimiento de *E. coli* O157:H7 en sus superficies. Otro factor que puede ayudar a disminuir su crecimiento es la deshidratación de su superficie en el proceso de refrigeración (ICMSF, 1996). Debido a las condiciones climáticas, temporada, área geográfica, operación y diseño de la planta, ubicación de la planta puede variar la contaminación a los canales. Otro punto también es la edad del bovino, manejo, tiempo de muestreo, transporte, almacenamiento, los cuales puede afectar la prevalencia de *E. coli* O157:H7 (Elder, et al., 2000).

En un estudio realizado a varios frigoríficos en E.E.U.U. se pudo encontrar la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en el material fecal de ganado bovino antes del sacrificio, 43% de las carcasas antes del proceso de evisceración se encontraban contaminadas, 11% en los cuernos, y solo el 18% mostró contaminación después del proceso de evisceración y solo un 2% resultó positivo después de su recorte (Michanie, 2003). En un estudio realizado a varias planas de carne de ganado vacuno en el medio oeste, encontraron que la supervivencia era 10 veces mayor en piel que la parte fecal (Barkocy-Gallagher, et al., 2003).

### **2.6.1. *E. coli* O157:H7 en carnes y sus productos**

La carne de res mal cocida o poco cocida es la clave principal en los brotes de enfermedades producidas por *E. coli* O157:H7. Los productos cárnicos logran contaminarse en la matanza y en el proceso de molienda, y es así como estos patógenos son transferidos a la superficie de la carne (Lim, et al., 2010). Uno de los vehículos más peligrosos de esta transmisión son las hamburguesas de origen bovino (Michanie, 2003).

En el proceso de corte y molienda este patógeno alcanza a distribuirse por toda la carne molida, puede sobrevivir alrededor de 9 meses a una temperatura de -20°C. Es capaz de tolerar la acidez, permanece infecciosa en refrigeración durante meses en alimentos ácidos como: mayonesa, queso cheddar, salchichas, sidra de manzana.

Otra característica es su resistencia a la desecación (CFSPH, 2010). Para eliminar a *E. coli* O157:H7 se debe cocinar a la carne molida de res hasta alcanzar una temperatura mínima de 160°F o 71.1 °C (OMS, 2011). En el año de 1999 Heuvelink, et al., informaron la presencia de *E. coli* O157:H7 en muestras de carne molida de res correspondiente a 1,1% en países bajos. En Francia en el año 2002 se reportaron el 0,12% de *E. coli* O157:H7 en carne molida picada (Vernozy-Rozand, et al., 2002). La prevalencia en el ganado es del 1,1- 6,1% en Estados Unidos, 0,8-22,4% en ganado lechero de Dinamarca, 0,62% en Japón y 1% en Noruega (Stevens, et al., 2002; Grauke et al., 2002).

En una investigación realizada por Tarr, et al., en E.E.U.U. No se encontró *E. coli* O157:H7 en 1400 muestras de carne molida de res (Tarr, 1999), pero años más tarde en los estudios de Samadour se reportaron un 16,8% de *E. coli* O157:H7 (Samadour, 2002). Además, mediante PCR fue encontrado este serotipo en un 10% de muestras de carne de res en la India (Bindu y Krisnaiah, 2010), este mismo porcentaje fue detectado en carne molida en Colombia (Piedrahita et al., 2001), además en España fue encontrado un 12% de *E. coli* O157:H7 en carne vacuno de carnicerías (Mora, et al., 2003). En Paraguay fue detectado el 40% en carne cruda de hamburguesa (Copes, et al., 2009).

De igual manera fue detectado *E. coli* O157:H7 en cantidades menores en Argentina el 2,7% en carne picada fresca (Mazorca, et al., 2006) y un año después fue detectado en carne el 1,2% (Roldan, et al., 2007). Por otra parte, en Uruguay fue reportada una frecuencia de 1,8% en carne picada fresca (Varela,

et al., 2008) y en Venezuela se presentó el 3.1% en carne molida (Bravo y Villalobos de Bastardo, 2002). En Lima, en un estudio de 102 muestras de carne de bovino molida, encontraron un 22,55 % positivo para *E. coli* O157 (Mora, 2007).

Además, también se ha reportado en Argentina la presencia de *E. coli* O157:H7 en un 4.8% en salchichas frescas y en un 3,3% en embutidos secos (Chinen, et al., 2003). Mientras que en el año 2003 reportaron un 1,3% de *E. coli* O157:H7 en salchichas frescas griegas (Dontorou, et al., 2003). Y en el 2013 se reportó STEC O157 en el 12,2 % de las muestras de carne picada analizadas (Brusa, 2013). Como podemos evidenciar en todos los trabajos reportados se ha logrado identificar *E. coli* O157:H7 en distintas partes del mundo (ver tabla 2).

Tabla 2.

*Incidencia de E. coli O157:H7.*

| <b>País</b>         | <b>Año</b> | <b>% <i>E. coli</i> 0157:H7</b> | <b>Técnicas</b>                             |
|---------------------|------------|---------------------------------|---|
| <b>Países bajos</b> | 1999       | 1,1% carne molida de res        | PCR   |
| <b>Colombia</b>     | 2001       | 10% carne molida                | Antibiótico, pruebas de sensibilidad        |
| <b>Francia</b>      | 2002       | 0,12% carne molida picada       | PCR   |
| <b>E.E.U. U</b>     | 2002       | 16,8% carne molida de res       | Electroforesis de gel en campo pulsado, PCR |
| <b>Venezuela</b>    | 2002       | 3,1% carne molida               | Test de MUG, sistema ID32E,                 |

|                  |      |   |   |
|------------------|------|---|---|
|                  |      |   | prueba de DEAN y susceptibilidad microbiana                                 |
| <b>Argentina</b> | 2002 | 4,8% salchichas frescas<br>3,3% embutidos secos | Electroforesis de gel en capo pulsado, tipificación de fagos, PCR - RFLP    |
| <b>Argentina</b> | 2006 | 2,7% carne picada fresca                        | EC + novobiocina, inmunocaptura, PCR, método de Kirby – Bauer               |
| <b>Argentina</b> | 2006 | 1,3% salchichas frescas griegas                 | Electroforesis de gel en campo pulsado, tipificación de fagos, PCR - RFLP   |
| <b>Argentina</b> | 2007 | 1,2% carne picada fresca                        | Electroforesis de gel en campo pulsado, fagotipificación y genotipificación |
| <b>Lima</b>      | 2007 | 22,55% carne de bovino molida                   | PCR, electroforesis en campo pulsado, fagotipificación                      |
| <b>Paraguay</b>  | 2008 | 40% carne cruda de hamburguesa                  | EC + novobiocina,   |

|                  |      |                          |                                       |
|------------------|------|--------------------------|---------------------------------------|
|                  |      |                          | PRS-Mug y Fluorocult                  |
| <b>Uruguay</b>   | 2008 | 1,8% carne picada fresca | PCR, electroforesis en gel de agarosa |
| <b>India</b>     | 2010 | 10% carne de res         | PCR                                   |
| <b>España</b>    | 2013 | 12% carne de vacuno      | PCR, prueba de hemólisis              |
| <b>Argentina</b> | 2013 | 12,2% carne picada       | PCR                                   |

Adaptado de Samadour, 2002; Vernozy-Rozand, et al., 2002; Bindu y Krisnaiah, 2010; Piedrahita et al., 2001; Mora, et al., 2003; Copes, et al., 2009; Mazorca, et al., 2006; Roldan, et al., 2007; Varela, et al., 2008; Bravo y Villalobos de Bastardo, 2002; Mora, 2007; Chinen, et al., 2003; Dontorou, et al., 2003; Brusa, 2013.

## **2.6.2. *E. coli* O157:H7 en productos no cárnicos**

### **2.6.2.1. *E. coli* O157:H7 en vegetales y frutas**

Existen otros vehículos portadores de *E. coli* O157:H7 entre ellos tenemos a los alimentos como: jugo de manzana no pasteurizado, mayonesa, jugos de naranja (Just y Daeschel, 2003), productos verdes frescos (zanahorias, espinacas, lechugas, zanahorias, tomates) (Solomon, et al., 2002). La causa común de *E. coli* O157:H7 en los vegetales, es el uso de aguas de riego relacionadas con brotes causadas por este patógeno, principalmente se ha asociado al consumo de brotes de alfalfa, lechugas grandes, papas y brotes de rábano (Johannessen et al., 2005).

Este organismo tiene la capacidad de sobrevivir y adherirse a la superficie de cualquier tipo de fruta, hierbas culinarias, vegetales frescos. Otra característica de este patógeno es que puede internalizarse en los tejidos de las plantas como es en el caso de las lechugas, resultando no susceptible al proceso de lavado (CFSPH, 2010). Puede ser transferido a las plantas por moscas de la fruta, provocando su multiplicación en los tejidos afectados. Además *E. coli* O157:H7 puede permanecer viable por largos periodos de tiempo en productos alimenticios (CFSPH, 2010).

#### **2.6.2.2. *E. coli* O157:H7 en leche y sus derivados**

En Egipto en el año de 1994, en productos lácteos se pudo identificar a *E. coli* O157:H7 en leche no pasteurizada (OMS, 1997, s. p). Esta contaminación presente en la leche se da durante el proceso de lechería: en la recolección, procesamiento (Karmali, 1987). Los alimentos procesados como las salchichas cocidas, queso, yogurt han sido involucrados en brotes por *E. coli* O157:H7 de origen alimentario. Además, se ha logrado aislar esta bacteria a partir de sándwiches de queso (Karmali, et al., 1987), comprobando su resistencia a productos ácidos.

#### **2.6.2.3. *E. coli* O157:H7 en aguas**

La mala higiene y la falta de conciencia ambiental por parte de la población ha causado el aumento de contaminación en agua. Así tenemos malos procesos de desecho de residuos, uso de agua de ríos y represas para nadar o bañarse, los cuales son suministros de agua para el ganado (Zamxaka, et al., 2004; Phaswana-Mafuya, 2006).



La presencia de heces fecales crea una fuente de contaminación del agua, en especial si se usa fuentes de agua superficial. Las personas pueden contaminar las aguas de piscina al momento de nadar en estas aguas. Las cuencas hidrográficas pueden contaminarse por aguas residuales y causar enfermedades. Es así como el tipo y en especial el origen de las aguas de riego son los factores de riesgo de este patógeno (Zamxaka, et al., 2004).

## **2.7. Producción y consumo de carne molida de res en el país**

En el Ecuador se produce la cantidad suficiente de carne para satisfacer el consumo de sus habitantes. Cada año se producen 220 000 toneladas métricas, las cuales se obtienen de reses faenadas en camales (FNG, 2015, s. p). La Federación Nacional de Ganaderos, según la Asociación de Ganaderos del Litoral afirma que se producen alrededor de 300 millones de libras de carne. De las cuales se destina 176 0000 cabezas de ganado para la producción. Entre las provincias que lideran el consumo de carne tenemos: Manabí, del cual el 40% total de su reserva es destinado para el procesamiento de carne, seguido de Loja, Pichincha, Azuay, Chimborazo, Tungurahua, Cotopaxi y Carchi que son las provincias que más consumen carne (FNG, 2015, s. p).

Según La Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria estas provincias consumieron alrededor de 203 195 cabezas de ganado en el 2013 (INEC, 2013, s. p). Además, este estudio también reveló que en Santo Domingo de los Tsáchilas, Esmeraldas, Pichincha, Cotopaxi, Azuay y Chimborazo se consumieron 263 107 cabezas de ganado vacuno. Según los datos del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), en Ecuador la población ganadera es de 5,2 millones y de esa cifra, el 50,64% se concentra en la Sierra (INEC, 2013, s. p). De acuerdo con el Reglamento Técnico Ecuatoriano del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), se desprende un certificado de calidad para cárnicos del país, la carne molida debe estar libre de *Salmonella* y *E. coli*,

debido a su peligro para la salud humana. De igual manera debe estar libre de preservantes, aditivos, conservantes (INEN, 2015, s. p).

## **2.8. Problemática de *E. coli* O157:H7 en la salud pública**

La principal preocupación de seguridad alimentaria son las distintas plantas de procesamiento de piel del ganado vacuno, debido a que, en el proceso de eliminación de piel, es complicado evitar la transferencia de bacterias patógenas a los canales (Barkocy-Gallagher, et al., 2003).

*E. coli* O157:H7 durante el proceso de sacrificio se deposita en las superficies de los canales bovinos. Su transferencia puede ser, por medio de cuchillos al cortar la piel, contacto directo con la piel, equipos o por las manos de los transportadores (Gill y Landers, 2004). Los canales pueden contaminarse según la temporada, ubicación y diseño de la planta, área geográfica.

Uno de los principales causantes de enfermedades por *E. Coli* O157:H7 es la carne de res. Durante los procesos de matanza y molienda se pueden contaminar los productos cárnicos (Lim, et al., 2010). Uno de los medios más peligrosos para los brotes de enfermedades de O157:H7 son las hamburguesas de origen bovino (Michanie, 2003). En todo el proceso el patógeno se distribuye en la carne molida. El tiempo de supervivencia de la carne molida congelada es de 9 meses a -20°C. Entre otras características está su tolerancia a la acidez, supervivencia de la infección en alimentos ácidos durante meses y semanas. Además, presenta resistencia a la desecación (CFSPH, 2010).

## 2.9. Norma NTE INEN 1346 para carne y productos cárnicos. Carne molida.

En esta norma se establece los requisitos de la carne molida que proviene de animales de abasto para que sea apta para el consumo humano. Se establece requisitos como que la carne molida debe estar exenta de cualquier olor, color, sabor y consistencia anormal, no debe presentar alteraciones causadas por microorganismos y exenta de materias extrañas, el proceso de elaboración debe efectuarse aplicando Buenas Prácticas de Manufactura y mantenerse bajo cadena de frío, debe estar también exenta de conservantes, colorantes y aditivos, residuos de plaguicidas y sus metabolitos no deben superar los límites establecidos al igual que los residuos de medicamentos veterinarios y debe cumplir los requisitos microbiológicos que se registran en la tabla 3:

Tabla 3.

*Requisitos microbiológicos para la carne molida.*

|   | <b>m</b>              | <b>M</b>              |
|---|-----------------------|-----------------------|
| <b>Aerobios mesófilos ufc/g</b>           | 1,0 x 10 <sup>6</sup> | 1,0 x 10 <sup>7</sup> |
| <b><i>Escherichia coli</i> ufc/g</b>      | 1,0 x 10 <sup>1</sup> | 1,0 x 10 <sup>2</sup> |
| <b><i>Staphilococcus aureus</i> ufc/g</b> | 1,0 x 10 <sup>2</sup> | 1,0 x 10 <sup>3</sup> |
| <b><i>Escherichia coli</i> O157:H7</b>    | Ausencia / 25 g       | -                     |
| <b><i>Salmonella spp.</i> / 25g</b>       | Ausencia / 25g        | -                     |

Adaptado de: NTE INEN 1346, 2016.

Nota: m: nivel de aceptación y M: nivel de rechazo.

### 3. Capítulo III. Plan experimental

#### 3.1. Diseño del plan experimental

Para la determinación del tamaño muestral utilizamos la siguiente ecuación:

$$n = \frac{\sigma^2}{E^2 \left( \frac{Z\alpha}{2} \right)^2 + \frac{\sigma^2}{N}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

$n$  = el tamaño de la muestra.

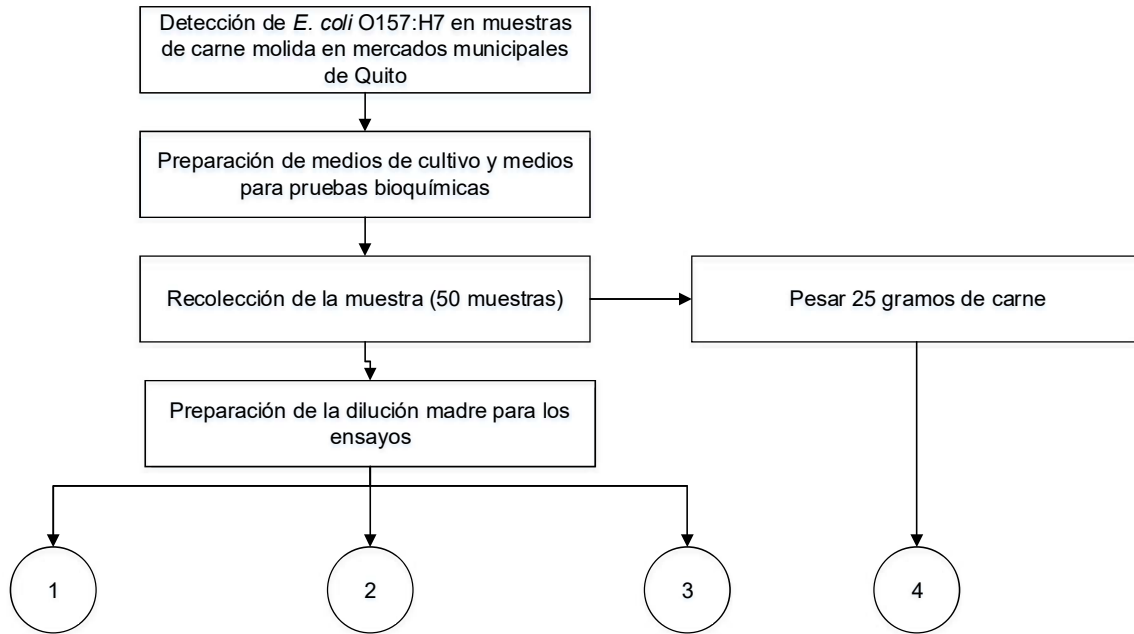
$N$  = tamaño de la población.

$\sigma$  = Desviación estándar de la población utilizando un valor constante de 0,5.

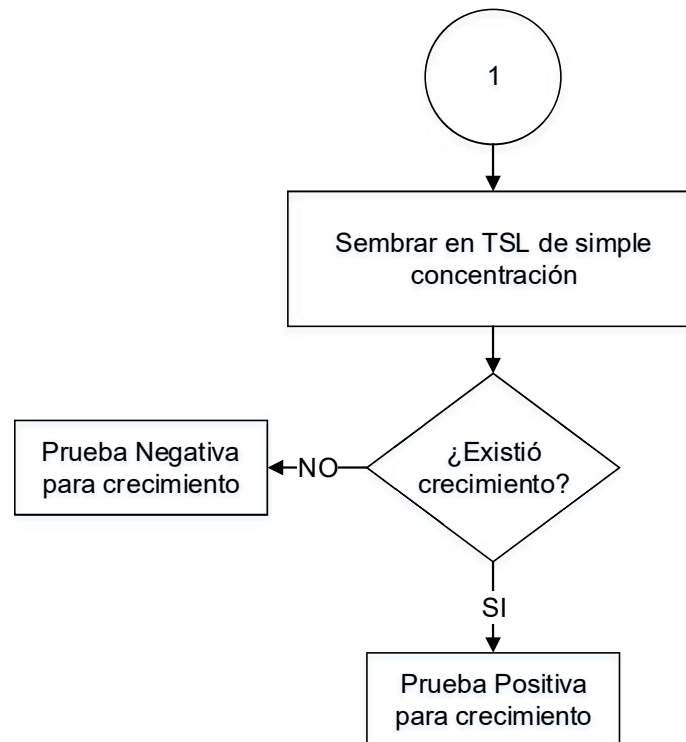
$Z\alpha$  = Valor obtenido mediante niveles de confianza del 95% de confianza que equivale a 1,96.

$E$  = Límite aceptable de error muestral que será del 5% (0,05).

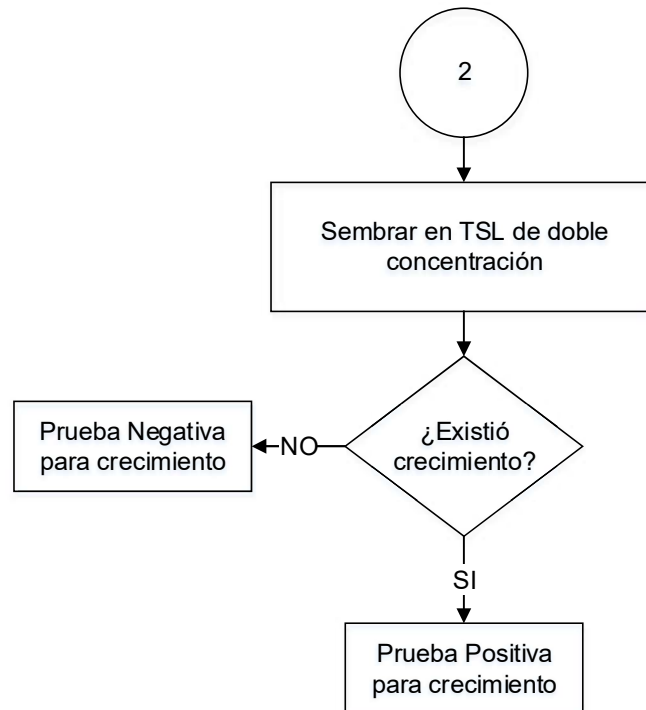
En la ciudad de Quito existen 39 mercados que fueron considerados el universo del estudio, de donde se tomaron 25 mercados y de cada uno de estos se tomaron 2 muestras, por lo que en total el tamaño muestral fue de 50, que es una cantidad representativa de mercados municipales de Quito que se citan en la población y muestras más adelante, con un 95% de nivel de confianza y un 5% de porcentaje de error.



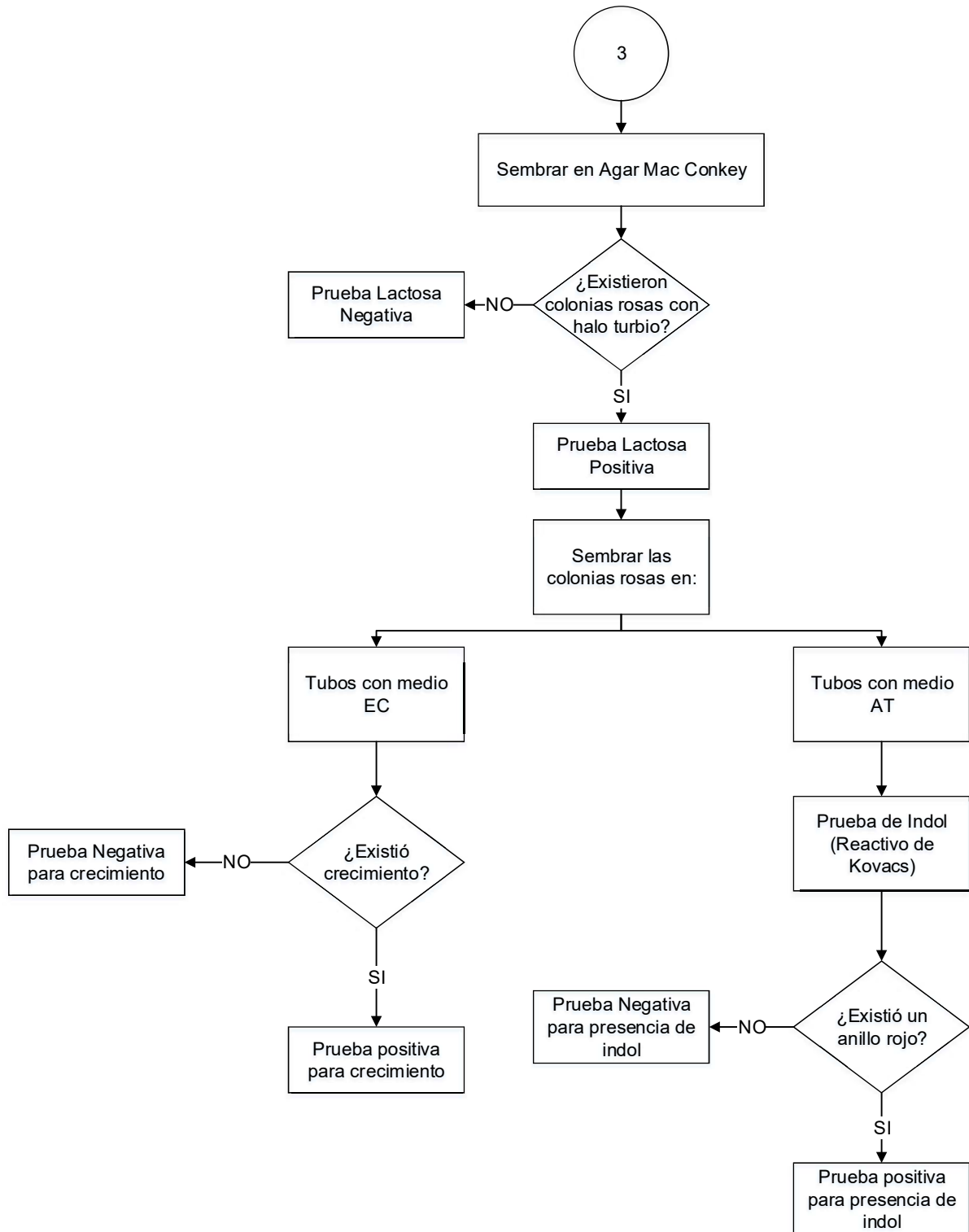
**Figura 11.** Diagrama de Flujo del procedimiento experimental general.



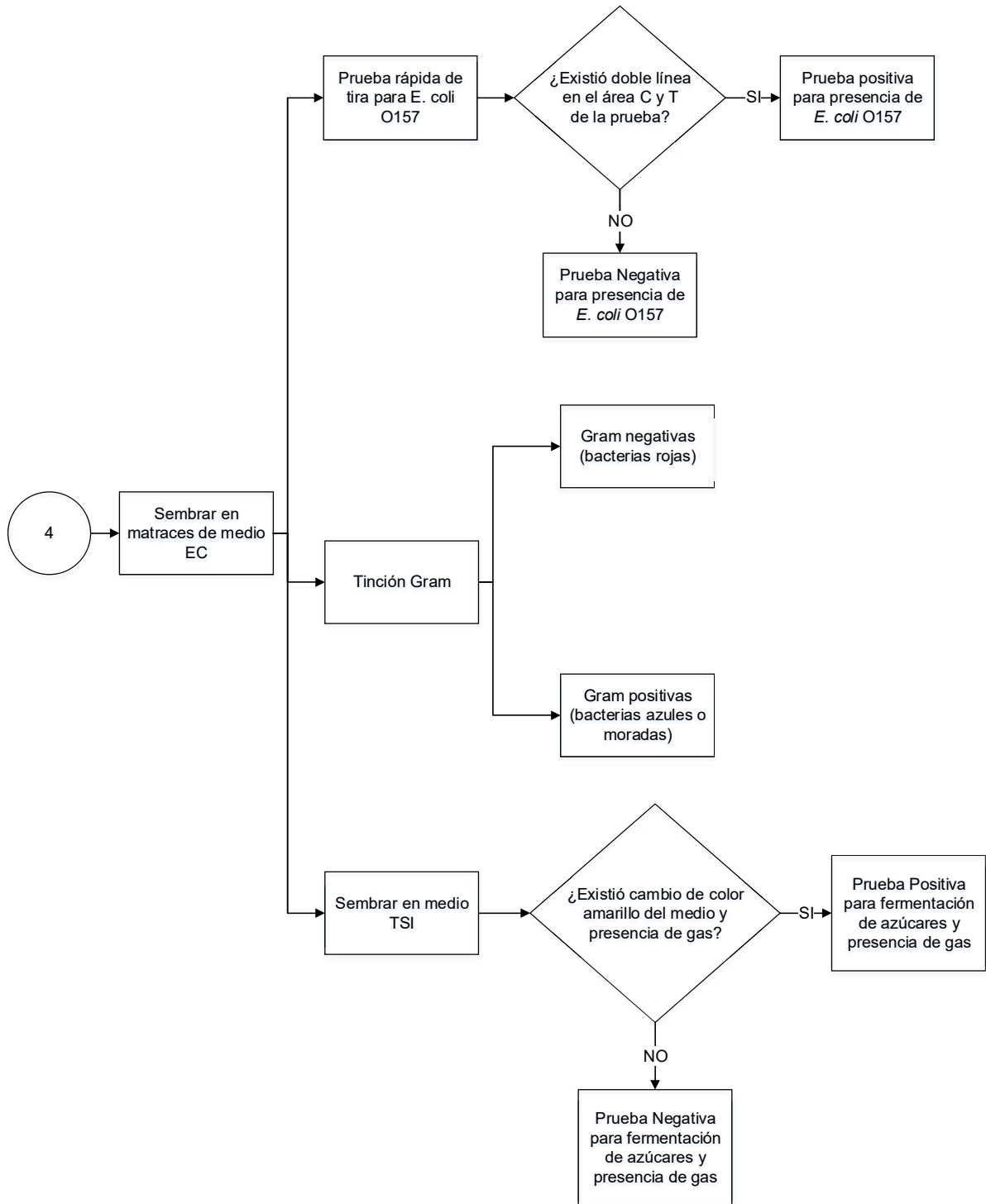
**Figura 12.** Diagrama de Flujo del procedimiento 1.



**Figura 13.** Diagrama de Flujo del procedimiento 2.



**Figura 14.** Diagrama de Flujo del procedimiento 3.



**Figura 15.** Diagrama de Flujo del procedimiento 4.



## 4. Capítulo IV. Metodología

### 4.1. Procedimientos:

#### 4.1.2. Población y muestra

Se tomaron 50 muestras de carne molida de 25 mercados municipales de Quito, dos muestras por mercado en diferentes tercenas elegidas al azar. Con el fin de realizar esta investigación, los mercados fueron ubicados en las distintas administraciones zonales de Quito, donde se realizaron los muestreos.

##### 4.1.2.1. Administración Centro



**Figura 16.** Mercados muestreados en la Administración Centro.

Adaptado de Google Maps, 2017.

Los mercados que se encuentran dentro de la Administración Centro de Quito son: Mercado América, Arenas, Central, La Floresta, San Diego, San Francisco y San Roque (ver figura 16).

#### 4.1.2.2. Administración Eloy Alfaro



**Figura 17.** Mercados muestrados de la Administración Eloy Alfaro.

Adaptado de Google Maps, 2017.

Los mercados que se encuentran dentro de la Administración Eloy Alfaro de Quito son: Mercado Chimbacalle, Chiriyacu, El Calzado, La Magdalena, Mayorista, Mena Dos, Quito Sur y Solanda (ver figura 17).

#### 4.1.2.3. Administración La Delicia



**Figura 18.** Mercados muestreados de la Administración La Delicia.

Adaptado de Google Maps, 2017.

Los mercados que se encuentran dentro de la Administración La Delicia de Quito son: Carcelén y Cotocollao (ver figura 18).

#### 4.1.2.4. Administración Norte



**Figura 19.** Mercados muestreados de la Administración Norte.

Adaptado de Google Maps, 2017.

Los mercados que se encuentran dentro de la Administración Norte de Quito son: Mercado Comité del Pueblo, Rumiñahui, Andalucía, J. F. Kennedy, Iñaquito, Santa Clara (ver figura 19).

#### 4.1.2.5. Administración Quitumbe



**Figura 20.** Mercados muestreados de la Administración Quitumbe.

Adaptado de Google Maps, 2017.

Los mercados que se encuentran dentro de la Administración Quitumbe de Quito son: Mercado Las Cuadras y Hacienda Ibarra (ver figura 20).

## 4.2. Materiales

### 4.2.1. Fundamentos de los medios de cultivo utilizados

#### 4.2.1.1. Agar Mac Conkey

Este medio se puede utilizar para examinar muestras de alimentos para organismos que provocan intoxicaciones alimentarias. Las peptonas, que tiene

el medio de cultivo, aportan los nutrientes que necesitan las bacterias para su desarrollo, el carbohidrato fermentable es la lactosa, mezcla de sales biliares, caseína, como fuentes de nitrógeno, carbono y aminoácidos. El cristal violeta, es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de las bacterias Gram positivas, junto con las sales biliares y el otro colorante es rojo neutro. Cuando se fermenta la lactosa, disminuye el pH alrededor de 6.8, lo que produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias de color rosa a rojo y la presencia de sales biliares. Mientras que los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras y no alteran la apariencia del medio (Mac Conkey Agar - Titan Biotech Ltd., s.f). (Anexo 3).

#### **4.2.1.2. Caldo de triptona lauril sulfato (TSL)**

Se utiliza para la detección y enumeración de bacterias coliformes en agua y productos alimenticios. Es un medio selectivo que es rico en nutrientes, por lo que permite el desarrollo de microorganismos que fermentan lactosa, inhibiendo el desarrollo de la flora acompañante a partir de inóculos de organismos coliformes. La triptona es la fuente de nitrógeno, aminoácidos, minerales y vitaminas, el carbohidrato fermentable es la lactosa, las sales de fosfato son el sistema buffer y el cloruro de sodio es el encargado de mantener el balance osmótico. Las bacterias lactosa-positivas metabolizan la lactosa con formación de gas, que se indica mediante el uso de tubos de Durham. (Lauril Sulphate Broth - Titan Biotech Ltd., s.f) (Anexo 3).

#### **4.2.1.3. Caldo EC**

Se utiliza para la enumeración selectiva de coliformes fecales y no fecales en agua. El medio contiene el hidrolizado enzimático de caseína, proporciona aminoácidos y nitrógeno para el crecimiento. La mezcla de sales biliares inhibe

a las bacterias gram-positivas. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio. El fosfato monopotásico y el fosfato dipotásico son los agentes tamponantes y ayudan a controlar el pH durante la fermentación de la lactosa. Las bacterias lactosa-positivas metabolizan la lactosa y producen gas (EC Broth - Titan Biotech Ltd., s.f.) (Anexo 3).

#### **4.2.1.4. Agua de triptona (AT)**

Se utiliza para la detección de la producción de indol por microorganismos. Organismos como *Escherichia coli* degradan el triptófano y producen indol. El hidrolizado enzimático de caseína, sirve como fuente de nutrientes esenciales y como fuente de triptófano, el sustrato para la reacción indol. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio (Tryptone water - Titan Biotech Ltd, s.f.). (Anexo 3).

#### **4.2.1.5. Reactivo de Kovacs**

La prueba de indol es un ensayo cualitativo, utilizado para diferenciar microorganismos basado en la capacidad para separar indol, a partir de L-triptófano. Por lo que es necesario el crecimiento previo del microorganismo en medios de cultivo con alto contenido de L-triptófano (Agua Triptona). Las enzimas triptofanasas oxidan el triptófano para formar tres metabolitos: indol, metil indol y ácido indolacético. Al agregar el reactivo al medio de cultivo, el indol generado se combina con el grupo aldehído del p-dimetilamino benzaldehído del reactivo incorporado y se forma un anillo de color rojo (Laboratorios LOBA Chemie, s.f.) (Anexo 3).

#### 4.2.1.6. Agar Hierro - Triple Azúcar (TSI)

Se utiliza para la confirmación de bacilos entéricos gram negativos sobre la base de la fermentación de dextrosa, lactosa y sacarosa y la producción de H<sub>2</sub>S. Es un medio de cultivo que contiene extracto de carne y pluripeptona, que son los que aportan nutrientes adecuados para el desarrollo de microorganismos. Los carbohidratos fermentables son la lactosa, sacarosa y dextrosa, el tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio es la fuente de iones Fe<sup>3+</sup>, los cuales al combinarse con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, haciendo que el medio se torne de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Cuando se fermentan las azúcares y se producen ácidos se detecta por medio del viraje del color del medio a amarillo. O cuando el tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno, el que reacciona luego con una sal de hierro, proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro (Triple Sugar Iron Agar - Titan Biotech Ltd., s.f.). (Anexo 3 y 4).

#### 4.2.1.7. Tinción Gram

Después del proceso de coloración las células gramnegativas son rojas o rosadas, mientras que las grampositivas permanecen azules o moradas.

#### 4.2.1.8. Prueba de Tira para *Escherichia coli* O157

El kit de prueba de tira de *E. coli* O157 de MaxSignal®, está diseñado para detectar antígenos de *E. coli* O157 en muestras de alimentos contaminados. La prueba de tira específica es una prueba de flujo lateral cualitativo rápido, que se basa en el uso de anticuerpos específicos de *E. coli* O157. Una reacción entre la muestra positiva enriquecida y el anticuerpo conjugado con partículas



coloreadas forma un complejo que migra a lo largo de la membrana. Si *E. coli* O157 está presente en la muestra, dos líneas rojas se formarán en la ventana del casete de prueba. En la ausencia de *E. coli* O157, sólo se formará una línea roja en la línea de control (C) (*E. coli* O157 Strip Test Kit - MaxSignal®, s.f.) (Anexo 5).

### **4.3. Procedimientos**

En total se tomaron 50 muestras de los 25 mercados del Distrito Metropolitano de Quito y se realizaron siete pruebas diferentes: (Agar Mac Conkey, Agar Lauril Sulfato de simple y doble concentración, Medio EC, Prueba de indol, Medio Hierro – Triple Azúcar, Prueba de Tira para *Escherichia coli* O157, Tinción GRAM). Utilizando el procedimiento por Allaert et al, (2002).

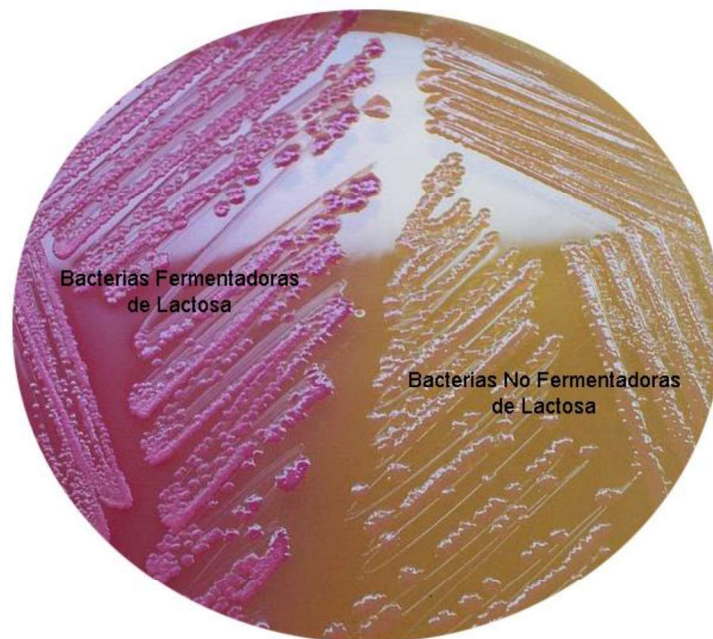
#### **4.3.1. Recolección de la muestra**

Se almacenó en bolsas plásticas herméticas estériles para evitar contaminación externa y se mantuvieron en refrigeración hasta el procesamiento posterior.

#### **4.3.2. Siembra en Agar Mac Conkey y Caldo de Lauril Sulfato a simple y doble concentración**

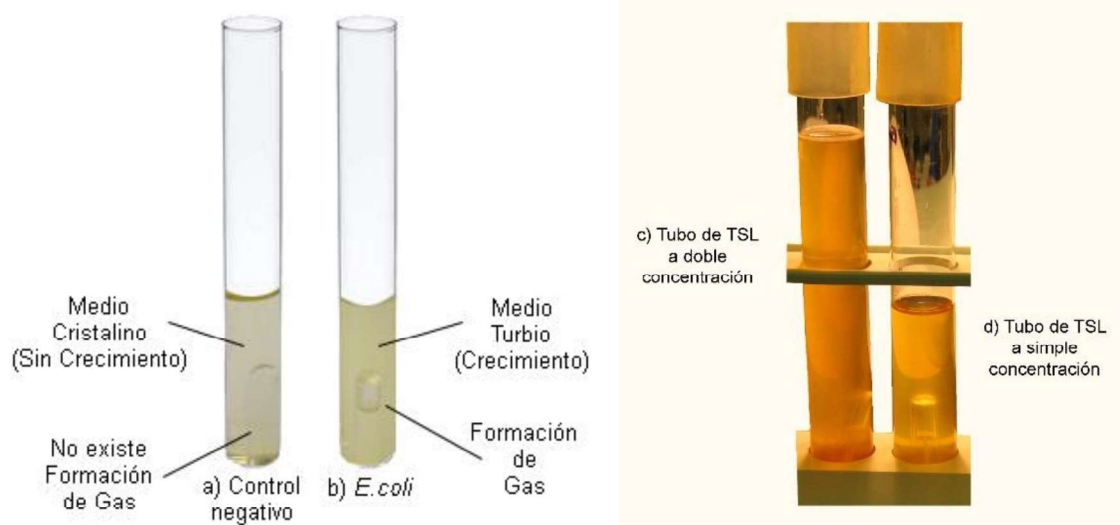
Se tomó 25 gramos de carne molida de cada muestra y se colocó en 250 mL de agua destilada en un vaso de precipitación, se homogenizó durante 1 minuto con una varilla de agitación. Posteriormente se colocó 1 mL de la dilución madre, con una micropipeta de 1000 µl con puntas descartables, en cajas Petri que contenían Agar Mac Conkey TM Media® y con un asa de vidrio se dispersó la muestra utilizando el procedimiento de los Laboratorios Titan Biotech Ltd (s.f.). Ver Figura 21. Adicionalmente, se colocó 1 mL de la dilución madre, con una micropipeta de 1000 µl con puntas descartables, en los tubos con tapa rosca de

130 x 16 mm, que contenían 9 mL del caldo lauril sulfato TM Media® a simple concentración y 10 mL en los tubos con tapa rosca a doble concentración. Ambos se dejaron incubar durante 24 horas a 37°C dentro de una incubadora, siguiendo el procedimiento de Allaert et al, (2002). Ver Figura 22.



**Figura 21.** Agar Mac Conkey, donde se observan enterobacterias fermentadoras de lactosa y no fermentadoras de lactosa.

Adaptado de Mondragón, 2014.

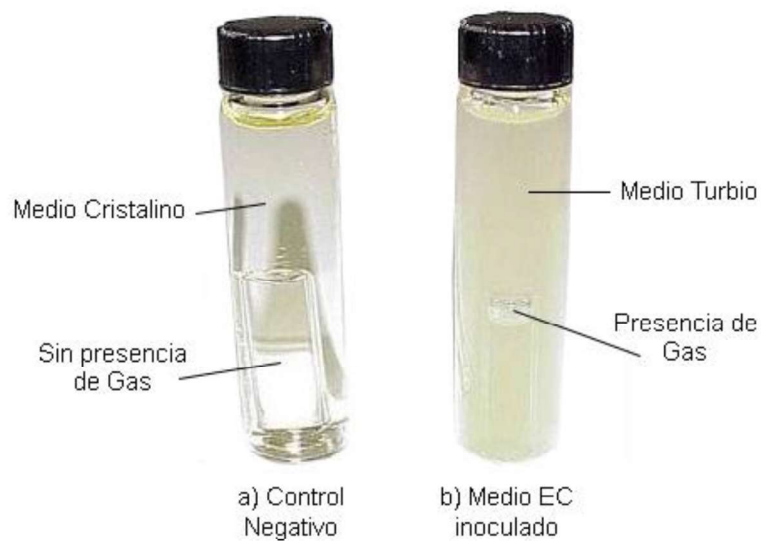


**Figura 22.** Medio Lauril Sulfato. a) Control negativo y b) Crecimiento de *E. coli* c) Tubo de TSL a doble concentración d) Tubo de TSL a simple concentración.

Adaptado de HIMEDIA, 2012.

#### 4.3.3. Siembra en medio EC y en agua triptona (AT)

Se tomó 25 gramos de carne molida de cada muestra y se colocó en matraces de 500 mL, que contenían 250 mL de medio EC TM Media®, se homogenizó durante un minuto con una varilla de agitación de vidrio. Se dejó incubar durante 24 horas a 37°C, siguiendo el procedimiento del manual del kit rápido de tira *E. coli* O157 de MaxSignal®. De las colonias resultantes en las cajas Petri anteriormente mencionadas, se tomaron las colonias de color rosa con un asa de metal estéril y se disolvió en los caldos EC y AT Merck® colocados en tubos con tapa rosca, se dejó incubar por 24 horas a 37°C en una incubadora, siguiendo el procedimiento de los Laboratorios Titan Biotech Ltd (s.f.). Ver figura 23.



**Figura 23.** Medio EC. a) Control negativo y b) Medio EC inoculado.

Adaptado de MICROBIOLOGY LAB MANUAL, 2008.

#### 4.3.4. Prueba de Indol

Se añadió 0,5 mL de reactivo de Kovacs (LOBA CHEMIE Laboratory®) en cada tubo de tapa rosca de agua triptona, después de 24 horas de inocular, se agitó el tubo para que el reactivo entre en contacto con el reactivo y se dejó actuar durante un máximo de 1 minuto, siguiendo el procedimiento de los Laboratorios LOBA CHEMIE (s.f.). Ver Figura 24.



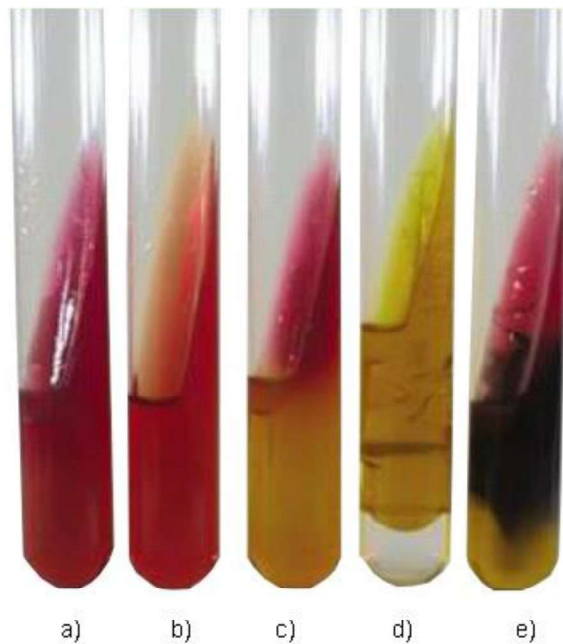
**Figura 24.** Prueba de Indol. a) Prueba de Indol Negativa y b) Prueba de Indol Positiva.

Adaptado de Rodríguez, 2012.

#### **4.3.5. Siembra en Agar Hierro – Triple Azúcar (TSI)**

Según el procedimiento de los Laboratorios Titan Biotech Ltd. (s.f.), se tomó colonias de color rosa del agar Mac Conkey TM Media® con un asa recta, y se sembró en tubos con tapa rosca con pico de flauta que contenían Agar TSI TM Media®, primero con una punción hasta el fondo del tubo y una estría en el pico de flauta al final. Ver Figura 25.

- a) Rojo/Rojo (No se fermentan las azúcares)  
 b) Control Negativo  
 c) Rojo/Amarillo (Fermentación de Glucosa pero Lactosa y Sucrosa no se fermentan.  
 d) Amarillo/Amarillo (Fermentación de Glucosa, Lactosa y/o Sucrosa se fermentan  
 e) Presencia de H<sub>2</sub>S

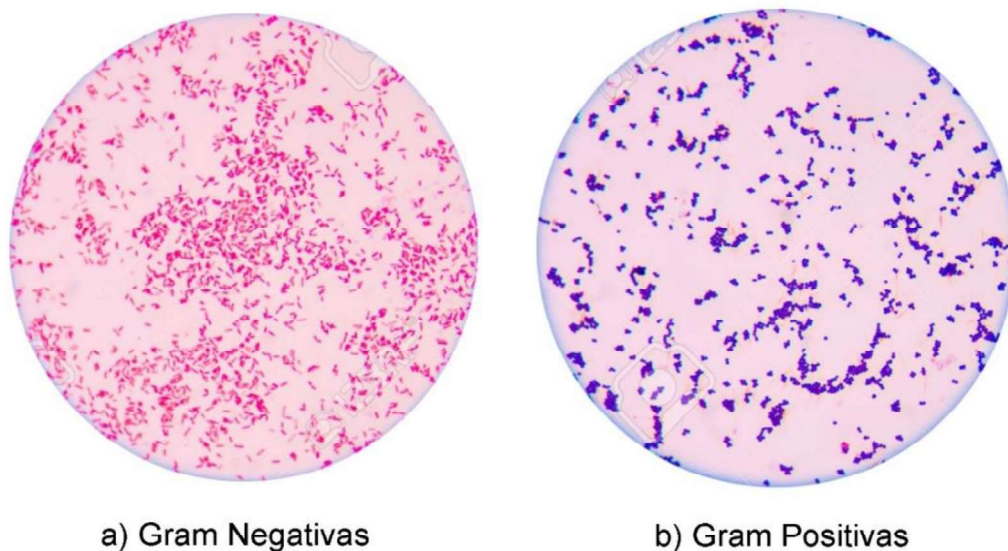


**Figura 25.** Agar TSI. a) Rojo/Rojo, b) Control Negativo, c) Rojo/Amarillo, d) Amarillo/Amarillo, e) Presencia de H<sub>2</sub>S.

Adaptado de Salena, 2016.

#### 4.3.6. Tinción Gram

Se colocó la muestra líquida del caldo EC TM Media® incubado anteriormente en los portaobjetos, utilizando una micropipeta de 10 µl con puntas descartables, según el protocolo establecido por Gram en 1884, que se utiliza hasta la actualidad, se extendió en el portaobjetos y se dejó secar al aire libre, se cubrió con cristal violeta durante un minuto, se retiró el exceso con una piseta de agua destilada, después se cubrió con lugol durante un minuto, se retiró el exceso con una piseta de agua destilada, se decoloró con alcohol – acetona por unos segundos y se lavó con agua destilada, se cubrió con safranina durante 30 segundos y nuevamente se lavó con agua destilada, se dejó secar al aire libre para posteriormente observar en un microscopio óptico. Ver Figura 26.



**Figura 26.** Tinción Gram. a) Bacterias Gram negativas y b) Bacterias Gram positivas.

Adaptado de Chirawan, 2017.

#### 4.3.7. Prueba de tira para detección de *E. coli* O157

Según el procedimiento del manual del kit rápido de tira *E. coli* O157 de MaxSignal® (s.f.), se tomó 3 mL de cultivo de enriquecimiento de caldo EC (TM Media®) de los matraces anteriormente indicados y se colocó en tubos resistentes al calor con tapa rosca, de 130 x 16 mm y se sometió a 100°C durante 15 minutos, para reducir el riesgo de contaminación cuando se manejan bacterias vivas potencialmente peligrosas y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se retiró la bolsa protectora de la prueba de tira y se colocó en una superficie plana, con una micropipeta se añadió 100 µl de muestra fría en el depósito de muestras de la tira de prueba, y se dejó incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Ver Figura 27. Se utilizó tres controles: Control positivo (incluido en el kit) previamente enriquecido en medio EC durante 24 horas, control negativo utilizando la cepa ATCC25922 y el control blanco donde solo se colocó medio EC sin inocular.



**Figura 27.** Prueba de Tira para *E. coli* O157. a) Prueba positiva para *E. coli* O157 y b) Prueba negativa para *E. coli* O157.

#### 4.4. Evaluación estadística de los resultados

Los resultados obtenidos en esta investigación son netamente cualitativos, se puede registrar resultados de ausencia o presencia y obtener porcentajes globales de cada una de las siete pruebas utilizadas (Agar Mac Conkey, Caldo Lauril Sulfato, Agar Hierro – Triple Azúcar, Caldo EC, Prueba de Indol, Tinción Gram, Prueba de tira rápida para *E. coli* O157).

### 5. Capítulo V. Resultados y Discusión

Los resultados de este estudio fueron cualitativos donde se obtuvieron pruebas tanto positivas como negativas (Prueba de Indol y prueba de kit rápido para presencia de *E. coli* O157:H7), pruebas donde observó la morfología de colonia para determinar la presencia o ausencia de bacterias de interés (Mac Conkey, Tinción Gram), y finalmente pruebas donde solo se observó crecimiento y

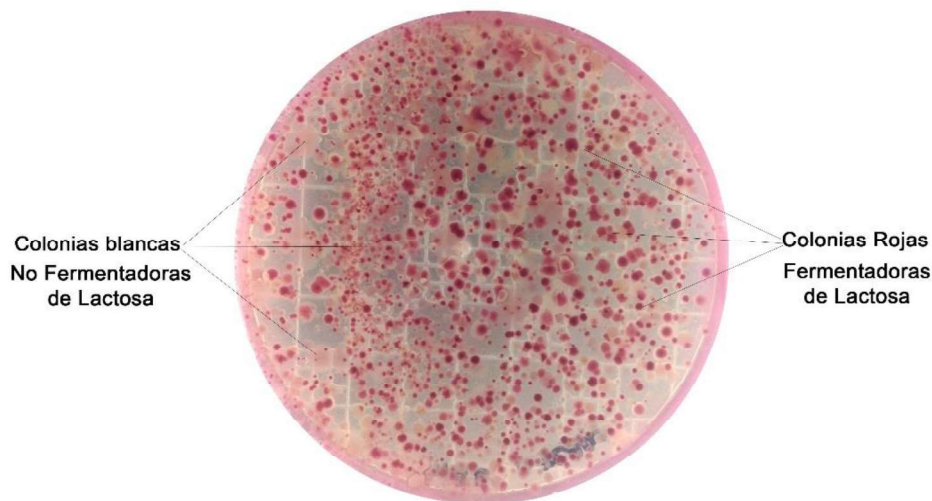


presencia de gas (Agar TSI, Medio TSL, Medio EC) de donde se obtuvieron diferentes datos, los que se detallan a continuación:

### 5.1. Siembra en agar Mac Conkey

Se reporta que en las 50 muestras (100%) existió la presencia de enterobacterias con diferentes morfologías que se observan en la figura 28, donde posiblemente existan especies tales como:

- *Escherichia coli* (Rojas con halo turbio)
- *Klebsiella pneumoniae* (Rosadas mucosas)
- *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi* (Incoloras y transparentes)
- *Shigella flexneri* (Incoloras y transparentes)
- *Proteus mirabilis* (Incoloras y transparentes)
- *Enterococcus faecalis* (Diminutas, incoloras y opacas) (Anexo 6)



**Figura 28.** Agar Mac Conkey, donde se observan enterobacterias fermentadoras de lactosa y no fermentadoras de lactosa.

Al comparar nuestro estudio con el realizado por Pachón (2009) en el cual utiliza un medio de cultivo selectivo como es el agar Mac Conkey, se logró observar colonias lactosa positiva (*Escherichia coli*), las cuales aparecen rojas con halos turbios, y además se logró diferenciar colonias lactosa negativas (*Salmonella spp.*) incoloras, por lo que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación. En el estudio realizado por Tsoraeva y sus colaboradores (2008), las muestras fueron analizadas según el método de siembra directa por estriado utilizando el medio de cultivo agar Mac Conkey, las colonias rojas con precipitado fueron consideradas como *E. coli*, en general y además se identificaron bacterias enteropatógenas como: *Salmonella typhi* y *Shigella flex*, por lo que este estudio concuerda con la selección de colonias por diferentes características morfológicas empleadas. Murray en su estudio (2003, p .22) utiliza agar Mac Conkey, donde crecieron todos los organismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y además varios bacilos gram negativos, como pudo observarse de igual manera en este estudio.

Pero por otro lado tenemos la alta incidencia en este estudio de microorganismos patógenos como es el género *Enterobacteriaceae*. Estos ingresan a nuestro cuerpo por la ingestión de carnes en vías de descomposición que causan intoxicación alimentaria (Mossel, 2003). Numerosos estudios avalan la incidencia de este género principalmente en carne molida de res así tenemos: Según el manual de Microbiología de alimentos, todos los animales transportan cantidades elevadas de microorganismos. (Manual de Microbiología, 2007). Además, se han encontrado bacterias en la superficie de la carne las cuales no proceden del intestino como: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta* y ciertas *Lactobacillaceae* y *Enterobacteriaceae* (Mossel, 2003). En la investigación realizada por Doyle, en la superficie de la carne bovina se encontraron enterobacterias como: *E. coli*, *Listeria*, *Shigella*, *Salmonella* (Doyle, 1987). Espinales en su estudio a la carne vacuna comprobó la presencia de *E. coli* en un 80%, pero ausencia total de *Salmonella* afirmando que en los alimentos es altamente indeseable encontrar estos microorganismos patógenos (Espinales, 2012). Madruga encontró valores de 2,1 a 5,0 LOG NMP/g de

enterobacterias, coliformes fecales, *E. coli* presentes en carne precocinada (Madruga, 2006, p, 34). Galvan en su estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida, reportó la presencia de enterobacterias, levaduras y hongos, concluyendo que la carne expedida posee gran cantidad de enterobacterias las cuales son responsables de muchas toxiinfecciones (Galvan, 2011). Moura afirma que no se debe pasar por alto la elevada presencia de enterobacterias en los alimentos, debido a que representan un viable problema para la salud pública. (Moura, 2006). Como podemos observar estas investigaciones concuerda con los organismos encontrados en este estudio y a la vez afirma el daño a la salud.

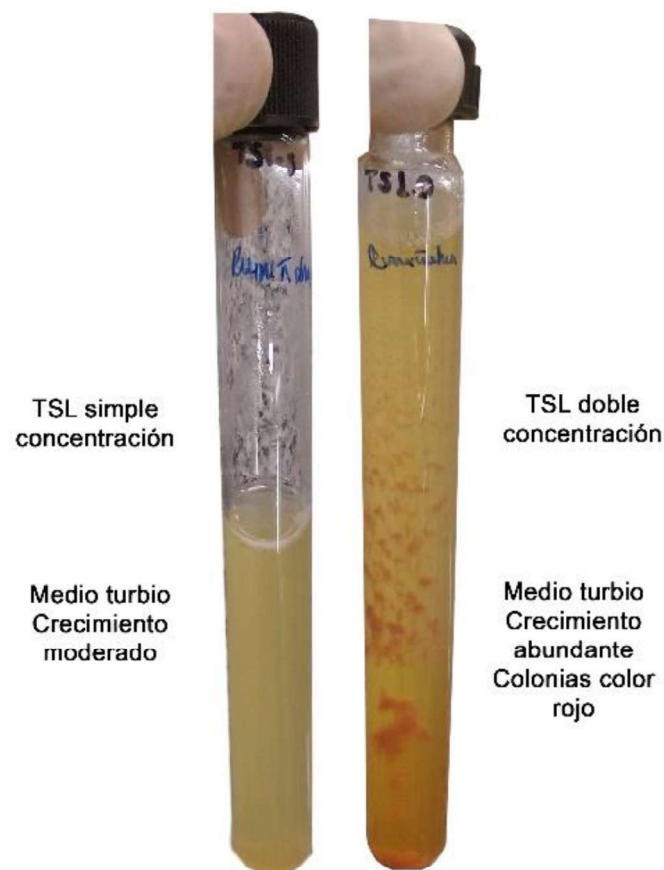
## **5.2. Siembra en agar Lauril Sulfato de simple y doble concentración**

Se reporta que en 50 muestras (100%) que se incubaron en agar lauril sulfato de simple concentración existió crecimiento moderado con presencia de colonias de color blanco y medio turbio que se puede observar en la figura 29.

También se reporta que 50 muestras (100%) que se incubaron en agar lauril sulfato de doble concentración existió crecimiento exuberante de color rojo y medio turbio.

Donde posiblemente existan especies tales como:

- *Enterobacter aerogenes*
- *Escherichia coli*
- *Salmonella typhimurium* (Anexo 6)



**Figura 29.** Medio Lauril Sulfato a simple y doble concentración.

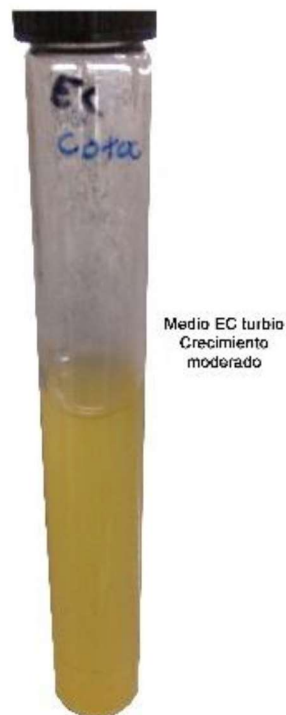
Los resultados obtenidos presentan crecimiento bacteriano y desplazamiento de la tapa del tubo, al igual que en la investigación de Tabla et al. (2016) incluía la utilización del medio lauril sulfato y tubos de Durham para detectar la presencia de gas, aunque también se puede detectar por el desplazamiento de la tapa del tubo de ensayo. En la investigación de Akhigbe et al. (2014) y Takaki et al. (2016) utilizaron el medio lauril sulfato como medio de enriquecimiento para enterobacterias, para análisis posteriores, debido a la utilización del medio TSL de doble concentración se puede observar colonias de color rojo intenso, donde es muy probable que se encuentre *E. coli*, porque el caldo lauril sulfato se utiliza como un medio nutritivo para hacer recuentos de bacterias con el método del número más probable.

### 5.3. Siembra en medio EC

Se reporta que en las 50 muestras (100%) que se incubaron en caldo EC existió crecimiento moderado con presencia de colonias de color blanco y medio turbio que se observa en la figura 30.

Donde posiblemente existan especies tales como:

- *Klebsiella pneumoniae*
- *Bacillus subtilis*
- *Escherichia coli* (Anexo 6)



**Figura 30.** Medio EC inoculado

Al comparar nuestro estudio con el realizado por Jure y sus colaboradores (2015), donde emplea el medio EC como medio de enriquecimiento para carnes y embutidos, se pudo observar crecimiento bacteriano moderado con la presencia de *E. coli*, concordando con los resultados obtenidos. En el estudio realizado por Roldán y sus colaboradores (2007), de igual manera utiliza como medio de enriquecimiento para carnes y leche al caldo EC, donde se observó crecimiento bacteriano acompañado de gas. Titan (2016) en su estudio realizado utiliza al caldo EC para la enumeración selectiva de coliformes fecales y no fecales, identificando a bacterias productoras de gas como: *E. coli*, y la no productora de gas como: *Bacillus subtilis*, lo que de igual manera se presencié en esta investigación.

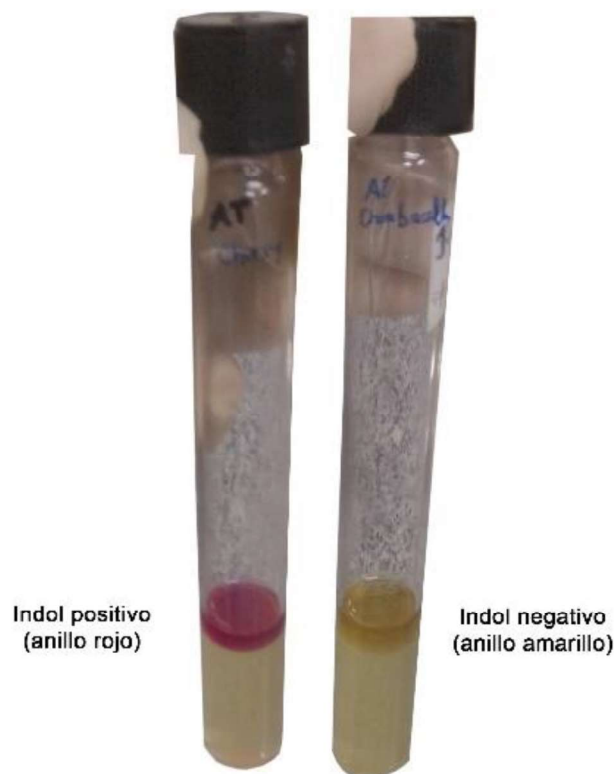
#### **5.4. Prueba de indol**

Se reporta que en las 49 de las 50 muestras (98%) que se incubaron en caldo de Agua triptona, después de incubar y al revelar con reactivo de Kovacs existió un anillo rojo que significa un resultado positivo como se observa en la figura 31.

También se reporta que en 1 de las 50 muestras (2%) que se incubó en caldo de Agua Triptona, después de incubar y al revelar con reactivo de Kovacs existió un anillo amarillo que significa un resultado negativo.

Donde posiblemente existan especies tales como:

- *Escherichia coli* (Anexo 6)



**Figura 31.** Prueba de Indol.

En la investigación de Mirza (2015) coincide con los resultados obtenidos, donde señala que *E. coli* produce indol, que reacciona con el reactivo de Kovacs dando un compuesto rojo brillante, insoluble en agua, sobre la superficie del medio. De igual manera en esta investigación (Mirza, 2015), existió un resultado negativo. A pesar de que en las demás pruebas el resultado fue positivo para la presencia de *E. coli*, existió un resultado negativo, por lo que es posible que sea debido a que se tomó colonias blancas del medio TSI para realizar la prueba, además en la investigación de Hassan et al. (2016) menciona que rara vez existen resultados negativos cuando existe *E. coli* en la muestra analizada. En el libro de MacFaddin de Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica (2003) indica que la prueba de indol se debe realizar con colonias puras, que es posible que una mezcla de colonias indol positivos e indol negativo puede provocar falsos positivos débiles o cuando existe la presencia de

ciertas cepas de *Proteus vulgaris*, *Providencia* o *Aeromonas* pueden dar un resultado falso negativo.

### 5.5. Agar Hierro – Triple Azúcar

Los 50 tubos de hierro – triple azúcar incubados (100%) presentaron color amarillo que significa que fermentan azúcares y presencia de gas como se observa en la figura 32.

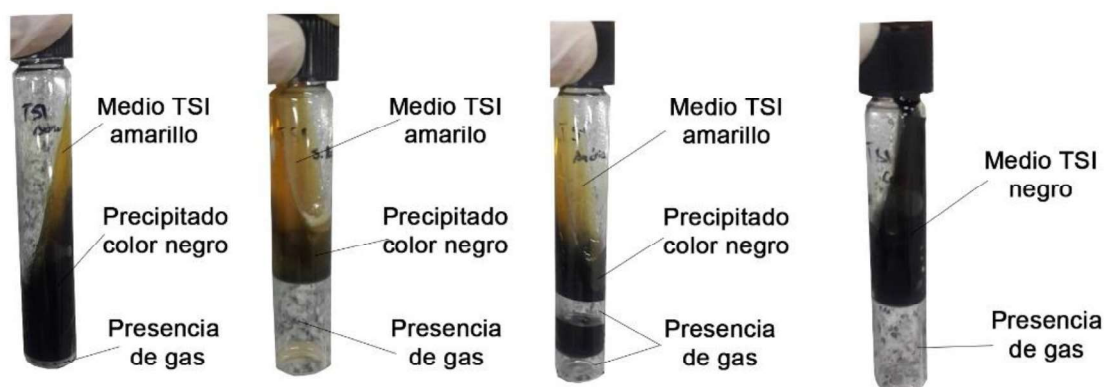
También se reporta que en 12 de las 50 muestras (24%) que se incubaron en agar hierro – triple azúcar, existió la presencia de colonias blancas con un precipitado de color negro y presencia de gas.

Se reportan que en 8 de las 50 muestras (16%) que se incubaron en agar hierro – triple azúcar, existió el ennegrecimiento total del tubo dando como resultado a una posible presencia de *Salmonella typhimurium*.

Donde posiblemente existan especies tales como:

- *Escherichia coli* (fondo amarillo, pico amarillo)
- *Salmonella typhimurium* (fondo negro, pico negro)
- *Proteus mirabilis* (fondo negro, pico amarillo) (Anexo 6)





**Figura 32.** Agar TSI.

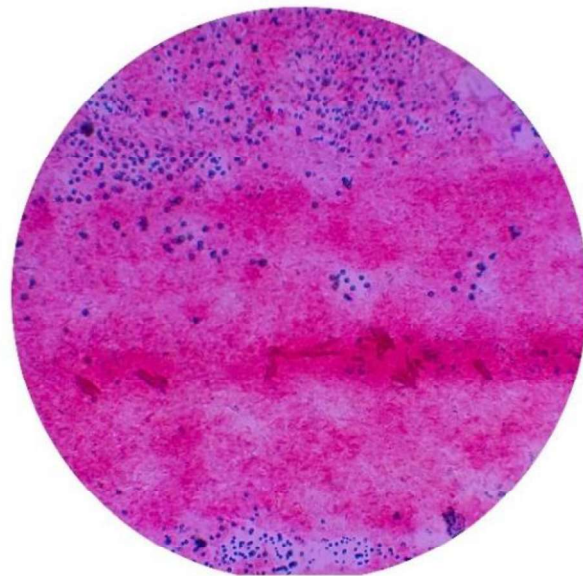
Los resultados obtenidos coinciden con los resultados que se obtuvieron en la investigación de Razzaq et al. (2016), donde se realizó una prueba equivalente sobre colonias rosadas de *E. coli*, donde se observó el color amarillo del medio que indicaba la fermentación de azúcares. En la investigación de Mirza (2015), donde utiliza la misma técnica con tubos con inclinación y tope para detectar cambios de coloración del medio por la fermentación de azúcares y precipitados de ácido sulfhídrico. En la investigación de Johnson (1966), utilizaron varios métodos para la identificación de *Salmonella*, entre ellos el medio TSI, donde llegaron a la conclusión de que el precipitado de color negro (presencia de ácido sulfhídrico), se debía a la presencia de esta bacteria. En el apartado de resultados en el manual del medio TSI (TM Media®), que fue utilizado en esta investigación, también indica que la presencia de ácido sulfhídrico y la presencia de gas, puede deberse a la presencia de *Salmonella typhimurium* o *Proteus vulgaris*. De cualquier manera, según la norma NT INEN 1346 en 25 gramos de muestra debe estar ausente, por lo que un porcentaje de las muestras no son aptas para consumo humano, como ya fue mencionado anteriormente, y se encuentran accesibles para la compra en mercados municipales de Quito.

## 5.6. Tinción GRAM

Se reporta que en las 50 muestras (100%) que se tinturaron mediante la técnica de Tinción GRAM, existió la presencia de células azules o moradas y rojas, donde se observaron células Gram positivas y Gram negativas como se observa en la figura 33.

Donde posiblemente existan especies tales como:

- *Escherichia coli* (Gram negativa)
- *Bacillus subtilis* (Gram positiva) (Anexo 6)



Gram positivas (color púrpura)  
Gram negativas (color rosado)

**Figura 33.** Tinción Gram. Bacterias Gram negativas (color rojo o rosado) y bacterias Gram positivas (color púrpura o azul).

Al comparar nuestro estudio con el realizado por Ortiz (2013), se realizaron pruebas confirmatorias para coliformes (*E. coli*) como es la tinción Gram, determinando la presencia de Bacilos Gram Negativos, concordando con los resultados de esta investigación. Titan (2016) en su estudio de la enumeración selectiva de coliformes fecales y no fecal, identifica bacterias como: *E. coli* (Bacilos Gram Negativos) y *Bacillus subtilis* (Bacilos Gram Positivos), resultando estos dos organismos debido a que su medio de enriquecimiento fue EC, lo que de igual manera se presencié en los resultados de tinción Gram obtenidos.

### 5.7. Prueba de Tira para *Escherichia coli* O157

Se reporta que de las 50 muestras en las 50 (100%) que se sometieron a la prueba de tira de diagnóstico presuntivo para *Escherichia coli* O157, existieron resultados positivos con la presencia de una segunda línea rosa como se puede observar en la figura 34.



Positiva (Doble línea en C y T)  
Negativo (Únicamente línea en C)

**Figura 34.** Prueba de Tira para *E. coli* O157.

En este caso se puede tomar la prueba como positiva, por las especificaciones que se encuentran en el manual del kit rápido de tira *E. coli* O157 de MaxSignal® (2011), sin embargo, por investigaciones anteriores en otros países no se ha encontrado una incidencia tan alta de *E. coli* O157 reportado hasta el momento.

En el estudio realizado por Meichtri se afirma que los bovinos constituyen el principal reservorio de *E. coli* productor de toxina Shiga O157 y no-O157, y los alimentos de origen cárnico son la fuente de infección más importante para el ser humano (Meichtri, 2004). Su prevalencia en el ganado es del 1,1- 6,1% en Estados Unidos, 0,8-22,4% en ganado lechero de Dinamarca, 0,62% en Japón y 1% en Noruega (Stevens, et al., 2002; Grauke et al., 2002). En la investigación realizada en Tucumán en carne picada y en embutidos, se identificó aislamientos de *E. coli* no toxigénica y *E. coli* O157 reportando el 0,46 % (Jure, et. al, p .6). El porcentaje de aislamientos en productos cárnicos de *E. coli* O157 no se considera estable. Por ejemplo, en Latinoamérica tenemos: En Lima, en un estudio de 102 muestras de carne de bovino molida, encontraron un 22,55 % positivo para *E. coli* O157 (Mora, 2007). En Uruguay reportaron el 1,8 % *E. coli* O157 en carne picada fresca (Varela, 2008). Argentina, en el 2013 reportó *E. coli* O157 en el 12,2 % de las muestras de carne picada analizadas (Brusa, 2013).

En el estudio realizado por Jure, et. al., desde el 2004 hasta 2013 fueron utilizados 169 muestras de carne picada, 35 embutidos y 216 esponjados de media res. Se identificaron 13 aislamientos de *E. coli* O157; 6 de ellos fueron O157:H7 productores de toxina Shiga; los 7 aislamientos de *E. coli* O157 no toxigénicos fueron O157: NT, O157: NM, O157: ND y O157:H16. Los procedimientos utilizados incluyeron: enriquecimiento, tamizaje (se utilizó el kit comercial RapidChek® *E. coli* O157 Test Kit), siembra, medios selectivos diferenciales, y caracterización molecular.

En nuestra investigación de igual manera se utilizó este kit para la identificación de *E. coli* O157, en las muestras de carne de res molida, reportando más del 98% positivo. De estos resultados no se asegura que sea *E. coli* O157:H7, debido a que no se pudo comprobar la presencia de los genes de los marcadores de virulencia necesarios para causar enfermedades severas en el ser humano (Roldán, 2007).

En otras investigaciones como la de Rump, et. al., (2014) de igual manera identificaron la presencia de *E. coli* O157:H7 y de otras H, pero se centraron en averiguar los factores de virulencia que confirmaran que la presencia de *E. coli* O157:H7. Sin embargo, en los resultados obtenidos, existía la presencia de otras bacterias pertenecientes al serogrupo O157 y no O157 como: O157: H1, O157: H2, O157: H11, O157: H42 y O157: H43; siendo llamados una potencial colección de aislados O157 históricos, dando una mejor comprensión de la diversidad de este gran serogrupo con diferentes potencialidades patógenas; que, aunque carecen de genes para la producción de toxina Shiga, llevaron varios factores de virulencia (iha, terD y hlyA). Muchos de estos serogrupos no han sido anteriormente reportados o analizados por su potencial patogénico, pero son capaces de fermentar sorbitol que es menos común en cepas de *E. coli* O157:H7.

Según el Manual de la OIE existen kits disponibles para O157, O26, O91, O103, O111, O128, O145 y H7, los cuales incluyen incorporación de organismos, controles positivos y negativos. Estos han demostrado que el antisuero O157 produce reacciones cruzadas con otros organismos, por lo que se debe confirmar colonias sospechosas de VTEC como *E. coli* O157:H7 (Manual OIE, 2004). Los resultados obtenidos nos muestran la posibilidad de reacciones cruzadas y debido a esto la diversidad de *E. coli* O157 no tóxicos.

En un apartado publicado por el Institute for International Cooperation in Animal Biologics y The Center for Food Security & Public Health de la Universidad Estatal Iowa, en el 2009, donde se señala que la *E. coli* O157: H- está estrechamente relacionada con la *E. coli* O157:H7, no es solo la versión inmóvil de este organismo, sino que tiene una combinación característica de virulencia y de rasgos fenotípicos. Raramente se ha aislado la *E. coli* O157: H de ganado bovino o de caballos, y no se encontró en más de 1.800 muestras fecales obtenidas de bovinos, ovejas, cabras y venados en Alemania y la República Checa. Pero existió un brote de origen alimentario en salchichas, y el contacto

con una vaca y caballo infectados fueron las fuentes probables de infección en otro brote. Por lo que concluyeron que es posible que los humanos sean reservorios de este organismo. Lo que nos da a entender que posiblemente también existiera la presencia de este organismo dentro de nuestras muestras con una posible contaminación cruzada.

Debido a que las muestras de carne molida salieron positivas en su mayoría con la prueba rápida, donde se consideran como sospechosas de tener *E. coli* O157:H7, se debería llevar a más estudios posteriores tales como ELISA, PCR, aglutinación, ensayo de inmunotransferencia o células Vero, debido a que esta prueba es una prueba de diagnóstico presuntivo, como anteriormente se mencionó, donde se demuestra la presencia del antígeno somático O157, pero no la presencia del antígeno flagelar H7.

Es difícil determinar la prevalencia de la *E. coli* O157:H7 en seres humanos, debido a que en muchos casos de diarrea no presentan complicaciones, dado que la mayoría de casos de colitis hemorrágica son autolimitantes y se resuelven en aproximadamente en una semana, y posiblemente no se les realicen pruebas para la detección de estos organismos. De igual manera, el síndrome hemolítico se produce en 16% de los pacientes con este padecimiento, y es más frecuente en niños, ancianos y en personas inmunodeprimidas. Se han encontrado serotipos de *E. coli* que producen sintomatología similar como las que se pueden observar en las tablas 4 y 5.

Tabla 4.

Serotipos y serogrupos más comunes de *Escherichia coli* causante de diarrea.

| SEROTIPOS Y SEROGRUPOS MÁS COMUNES DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> CAUSANTE DE DIARREA |           |            |          |          |         |           |            |          |
|---|-----------|------------|----------|----------|---------|-----------|------------|----------|
| ETEC  | EIEC      | EPEC       | EAEC     | STEC     |         |           |            |          |
| O6:H-   | O28ac:H-  | O18        | O3:H2    | O1:MN    | O23:H7  | O85:H10   | O117:H7    | O165:H-  |
| O6:H16  | O29:H-    | O26:H-     | O15:H18  | O1:H1    | O23:H16 | O85:H23   | O117:H7:K1 | O165:H10 |
| O8:H-   | O112ac:H- | O26:H11    | O44:H18  | O1:H2    | O25:H-  | O86:H10   | O117:H14   | O165:H19 |
| O11:H27   | O124:H-   | O55:H-     | O77:H18  | O1:H20   | O25:H11 | O88:H-    | O117:H19   | O165:H25 |
| O15:H11   | O124:H7   | O55:H6     | O86:H-   | O1:HNT   | O26:H-  | O91:H-    | O118:H16   | O166:H15 |
| O20:H-  | O124:H30  | O55:H7     | O111:H21 | O2:H1    | O26:H2  | O91:H10   | O118:H30   | O166:H28 |
| O25:H-  | O135:H-   | O86:H-     | O127:H2  | O2:H2:K1 | O26:H8  | O91:H14   | O119:H-    | O168:H-  |
| O27:H-  | O143:H-   | O86:H34    | ONT:H10  | O2:H6    | O26:H11 | O91:H21   | O119:H5    | O169:H-  |
| O27:H7  | O144:H-   | O111:H-    |          | O2:H7    | O26:H21 | O98:H-    | O120:H19   | O171:H2  |
| O27:H20   | O152:H-   | O111ab:H2  |          | O2:H27   | O26:H32 | O98:H-    | O121:H-    | O172:H-  |
| O80   | O167:H5   | O119:H6    |          | O4:H40   | O27:H-  | O98:H8    | O121:H8    | OX3:H2   |
| O85:H7  |           | O125ac:H21 |          | O5:H-    | O39:H4  | 103:H-    | O126:H-    | ONT:H21  |
| O114:H21  |           | O126:H-    |          | O5:H16   | O39:H8  | O103:H2   | O126:H2    | ONT:H25  |
| O115:H21  |           | O126:H2    |          | O6:H-    | O45:H-  | O103:H4   | O126:H8    | ONT:H28  |
| O126:H9   |           | O126:H27   |          | O6:H1    | O45:H2  | O103:H6   | O126:H21   | ONT:H47  |
| O128ac:H27  |           | O127:H21   |          | O6:H29   | O45:H7  | O103:H25  | O126:H27   | OR:H-    |
| O139  |           | O128ab:H2  |          | O8:H-    | O50:H-  | O104:H7   | O128:H12   | OR:H20   |
| O148:H28  |           | O128:H12   |          | O8:H14   | O55:H-  | O109:H2   | O137:H41   | OR:H21   |
| O149:H4   |           | O142:H6    |          | O8:H21   | O55:H6  | O110:H-   | O141:H-    |          |
| O149:H10  |           | O158:H23   |          | O9ab:H-  | O55:H7  | O110:H19  | O144:H-    |          |
| O153:H45  |           |            |          | O11:H49  | O55:H10 | O111ab:H- | O145:H-    |          |
| O158:H-   |           |            |          | O14:H-   | O65:H7  | O111:H2   | O145:H16   |          |
| O159:H4   |           |            |          | O15:H-   | O60:H-  | O111:H7   | O145:H25   |          |
| O159:H20  |           |            |          | O15:H27  | O65:H16 | O111ab:H8 | O145:H28   |          |
| O166:H27  |           |            |          | O16:H-   | O70:H11 | O111:H34  | O146:H-    |          |
| O167:H5   |           |            |          | O16:H6   | O73:H34 | O111:HNT  | O146:H21   |          |
| O169:H41  |           |            |          | O17:H18  | O75:H-  | O112:H21  | O146:H28   |          |
| O173:H-   |           |            |          | O18:H-   | O75:H5  | O113:H2   | O150:H10   |          |
|   |           |            |          | O18:H7   | O76:H19 | O113:H4   | O153:H2    |          |
|   |           |            |          | O20:H7   | O79:H7  | O113:H53  | O153:H25   |          |
|   |           |            |          | O21:H5   | O80:H-  | O114:H4   | O154:H-    |          |
|   |           |            |          | O22:H-   | O82:H-  | O114:H48  | O157:H-    |          |
|   |           |            |          | O22:H1   | O82:H8  | O115:H18  | O157:H7    |          |
|   |           |            |          | O22:H8   | O83:H1  | O116:H19  | O161:H-    |          |
|   |           |            |          | O22:H40  | O84:H2  | O117:H-   | O163:H19   |          |

ETEC *E. coli* enterotoxigenica  
EIEC *E. coli* enteroinvasiva  
NT: no tipificable. EPEC *E. coli* enteropatógena

EAEC *E. coli* enteroagregativa  
R: rugosa  
STEC *E. coli* productora de toxina shiga

Tomado de Rodríguez, G., 2002.

Tabla 5.

Características de los grupos de *Escherichia coli*.

| Características de los grupos de <i>Escherichia coli</i> |   |                      |
|--|---|----------------------|
| Grupo  | Serogrupos y serotipos más comunes  | Síntomas clínicos    |
| <b>ETEC</b>  | O8:H9, O15:H11, O20:H-,<br>O25:H-, O27:H7, O78:H12,<br>O148:H28, O159:H20 | Diarrea aguda acuosa |

|                                  |  |   |
|----------------------------------|--|---|
| <b>EHEC</b>                      | O157:H7, O26:H11, O103:H2,<br>O113:H21, O119, O128, O145 | SHU, CH, diarrea sin sangre,<br>dolor abdominal, fiebre, vómito                       |
| <b>EIEC</b>                      | O28:H, O112ac:H-, O144:H-,<br>O152:H-, O164:H-, O167:H-  | Diarrea con moco y sangre o<br>diarrea acuosa, también<br>presenta cuadro disentérico |
| <b>EPEC</b>                      | O55, O86, O142, O111:H-,<br>O127                         | Diarrea aguda, dolor abdominal,<br>vómito, fiebre baja                                |
| <b>EAEC</b>                      | O44:H18  | Diarrea líquida, verde con moco,<br>sin sangre, diarrea persistente<br>hasta 20 días  |
| <b>DAEC</b>                      | O126:H27   | Diarrea acuosa sin sangre   |
| <b>Otros<br/>grupos<br/>O157</b> | O157:H-  | SHU, Diarrea acuosa   |
|                                  | O157:H19, O157:H43,<br>O157:H45                          | Diarrea acuosa  |

Adaptado de: Rodríguez, G., 2002 y Schmidt, H., et.al., 1999.

La casa comercial Bioo Scientific asegura que existe la posibilidad de que haya existido una contaminación de otras bacterias presentes en las muestras, que puede causar un resultado falso positivo debido al fondo causado por éstas. También es una posibilidad, que no se debe descartar del todo, encontrar una prevalencia tan grande de *E. coli* O157, donde podría existir la presencia de *E. coli* O157:H7.

Al comparar todos estos estudios frente al nuestro, podemos concluir que el porcentaje puede presentar variedad; de ahí nuestros resultados, además más del 98% positivo para *E. coli* O157 reportado, no nos asegura que sea *E. coli* O157:H7, sino que exista la posibilidad de una gran diversidad de *E. coli* O157 circulantes (Jure, et. al, p .6), que no causan daño a la salud como se esperaría

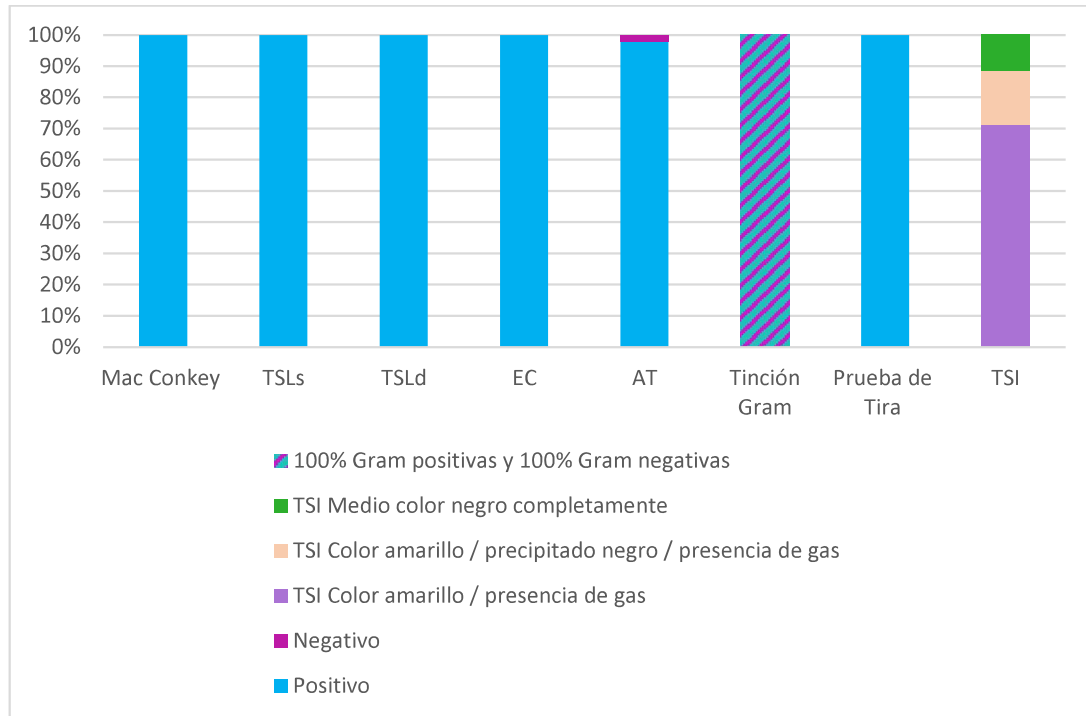


de una *E. coli* productora de toxina Shiga (Manual OIE, 2004), y debido a esto no existe alta incidencia o muerte por *E. coli* O157:H7 en Ecuador.

### 5.8. Identificación global de *E. coli* O157:H7 de este estudio

Los resultados se pueden resumir de la siguiente manera:

- Agar Mac Conkey (100% presencia de enterobacterias)
- Agar Lauril Sulfato de simple concentración (100% de crecimiento)
- Agar Lauril Sulfato de doble concentración (100% de crecimiento)
- Caldo EC (100% de crecimiento)
- Agua Triptona (98% anillo rojo, 2% anillo amarillo)
- Agar Hierro – Triple Azúcar (100% medio color amarillo)
- Agar Hierro – Triple Azúcar (24% medio color amarillo, precipitado negro y presencia de gas)
- Agar Hierro – Triple Azúcar (16% medio negro)
- Tinción GRAM (100% de bacterias azules o moradas y rojas)
- Prueba de tira para *Escherichia coli* O157:H7 (98% positivo con segunda línea tenue y 2% positivo con segunda línea intensa) (ver figura 35).



**Figura 35.** Identificación global de *E. coli* O157:H7 de este estudio.

## 6. Conclusiones y recomendaciones

### 6.1. Conclusiones

Los resultados positivos de todos los análisis microbiológicos y pruebas bioquímicas, a partir de las muestras de carne molida de res obtenida en los mercados municipales de Quito, indican la presencia de enterobacterias, las cuales son consideradas como organismos patógenos para los seres humanos.

En las muestras de carne molida se encontró indicios de la presencia de enterobacterias como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, que representan un grave problema para la salud pública.

Entre las enterobacterias encontradas utilizando el agar hierro – triple azúcar se encontró precipitados de color negro (presencia de ácido sulfhídrico), dando como posibilidad la presencia de *Salmonella typhimurium* y *Proteus vulgaris*, obteniendo como resultado la presencia en 16% de las muestras.

En la norma NT INEN 1346 indica que, por cada 25 gramos de muestra de carne molida, que fue analizada en este estudio, debe existir una ausencia total para la presencia de *Salmonella*, por lo que se concluye que el 16% de las muestras obtenidas en los mercados municipales de Quito, no es apta para el consumo humano.

Otra de las enterobacterias que se encontraron en esta investigación fue *E. coli*, dando como resultado 100% de pruebas positivas, en todas las pruebas microbiológicas y bioquímicas, el cual es considerado no viable según la

normativa NTE INEN 1346, no posee correlación con los datos de epidemiología ambiental y clínica del Ecuador, pudiendo haberse dado por contaminación o por reacciones cruzadas.

Con la prueba de diagnóstico rápido presuntivo de identificación de *E. coli* O157 se obtuvo un 100% de pruebas positivas, por lo que es posible que existiera diversidad de géneros O157, a los cuales no se les puede restar importancia porque también tienen factores de virulencia peligrosos para los seres humanos.

Debido a que la prueba de tira rápida no es específica para la *E. coli* O157:H7, también es probable que existiera una contaminación cruzada que arrojara falsos positivos, sin desconsiderar la probable presencia de *Escherichia coli* O157:H7 por lo que es preciso realizar pruebas moleculares específicas para confirmar estos resultados.

En esta investigación, se ha utilizado una de las ramas más importantes de la Biotecnología, como es: la Microbiología. Se ha encontrado, resultados que generaron alerta de Salud Pública en los mercados del Distrito Metropolitano de Quito. Nos hemos centrado en la bacteria *E. coli*, como principal microorganismo patógeno productor de enfermedades de origen alimentario, sin embargo, se reportó presencia de más enterobacterias, como *Salmonella*. *E. coli* O157:H7, por su patogenicidad, su simplicidad de crecimiento y su propagación se convirtió en una de las bacterias mayormente estudiadas, aunque no existen muchos estudios de O157 con otros antígenos H, se sabe que también son bacterias patógenas, debido a que puede producir shigatoxinas, que llegan a ser muy peligrosas al ingerirse por los seres humanos. El enfoque de esta investigación fue determinar la prevalencia de *E. coli* O157 en carne molida de res, con el fin de aportar información importante, la cual puede ser utilizada para investigaciones posteriores que arrojen resultados más específicos. Con esta investigación buscamos ser el punto de partida, como un posible vínculo o ayuda

para resolver un cierto problema de salud pública, mediante la utilización de la Biotecnología.

## 6.2. Recomendaciones

De acuerdo con los resultados obtenidos de presencia de enterobacterias en todas las muestras de carne molida, se recomienda mejorar el manejo de los alimentos en los mercados municipales de Quito para evitar la contaminación.

Es importante realizar un conteo bacteriano de *E. coli* para evaluar la presencia de estas bacterias, utilizando otros métodos que arrojen resultados más específicos, y correlacionarlo con la normativa NTE INEN 1346 para saber si las carnes son aptas para el consumo humano.

El resultado de la presencia de Salmonella en el 16% de las muestras y *E. coli* O157 en el 100% de las muestras de carne molida de los mercados municipales de Quito es preocupante. Dado que en las normas INEN está especificada la ausencia total en 25 gramos de muestra, por lo que las carnes no serían aptas para consumo humano, y se recomienda utilizar métodos de detección de cepas potencialmente patógenas para obtener resultados detallados.

Es importante realizar estudios posteriores para identificar a otras bacterias, que posiblemente se encontraron en los resultados de esta investigación, utilizando pruebas específicas para: *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*; que provocan enfermedades de origen alimentario y se convierten en un problema grave de salud pública.

La utilización de la tira reactiva que una prueba de diagnóstico presuntivo resultó positiva para el 100% de las muestras de carne molida, por lo que es necesario tener una prueba confirmatoria para los diferentes tipos de *E. coli* O157 que podrían existir en las muestras, dado que esta prueba no es específica para la *E. coli* O157:H7, sin embargo, ésta podría estar presente.

La carne molida contaminada se encuentra de una manera muy accesible para las personas en los mercados municipales de Quito, por lo que representa el riesgo de contraer enfermedades de origen alimentario, y ésta podría no ser apta para el consumo humano, es recomendable pensar en estudios y regulaciones para la venta de carne en Quito.

A partir de esta investigación también se recomienda realizar estudios de prevalencia en diferentes puntos de la cadena productiva de la carne, desde la crianza del animal hasta el consumidor, con el objetivo de encontrar posibles focos de contaminación de enterobacterias.

## REFERENCIAS

- Akhigbe, L., Ouki, S., Saroj, D. (2014). *Silver-modified clinoptilolite for the removal of Escherichia coli and heavy metals from aqueous solutions. Environ Sci Pollut Res.* DOI 10.1007/s11356-014-2888-6. Recuperado el 23 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24756684>
- Álvarez, M. (1999). Prevalencia de *E. coli* O157:H7 en el Hospital General de Enfermedad común del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. Guatemala. Recuperado el 8 de mayo de 2017 de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_1958.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_1958.pdf).
- Anónimo. (2008). Pruebas Bioquímicas. Recuperado el 26 de Febrero de 2017 de:  
<http://www.iib.unsam.edu.ar/php/docencia/licenciatura/biotecnologia/2008/MicroBiol/Pruebas%20Bioquimicas.pdf>  
<https://biotaetscientia.wordpress.com/2011/06/15/pruebas-microbiologicas-para-e-coli/>.
- Arroyo, N. (2008). Avalúo Microbiológico de Peligros y Comparación de la Carne Molida de Venta al Detal de Procesadores Locales de Puerto Rico y los Importados de Estados Unidos. Puerto Rico. (Tesis de Maestría). Recuperado el 16 de abril de 2017 de: <http://bovinosparacarne.uprm.edu/publication/arroyollantin%5B1%5D.pdf>
- Balcázar, R. (2015). PLAN DE EXPORTACIÓN DE CARNE MOLIDA PARA LA ASOCIACIÓN 24 DE MAYO PROVINCIA DE EL ORO. Ecuador. Recuperado el 22 de marzo de 2017 de: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/4038/1/TTUACE-2015-CI-CD00004.pdf>.
- Barkocy-Gallagher, A., Arthur, T., Rivera-Betancourt, M., Nou, X., Shackelford, S., Wheeler, T., Koohmaraie, M. (2003). *Seasonal prevalence of shiga toxin-producing Escherichia coli, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and Salmonella in commercial beef processing plants.* Recuperado el 5 de marzo de 2017 de: [http://www.uniscience.co.kr/data/trds/sensi\\_papers/ID/513.pdf](http://www.uniscience.co.kr/data/trds/sensi_papers/ID/513.pdf).

- Bentancor, A., Agostini, A., Rumi, M., De Gregorio, O. (2006). Factores de riesgo de infección por cepas de *Escherichia coli* shigatoxigénicas en gatos y perros. Argentina. Recuperado el 2 de marzo de 2017 de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/invet/v10n1/v10n1a01.pdf>.
- Beutin, L., Krause, G., Zimmermann, S., Kaulfuss, S., Gleier, K. (2004). *Characterization of Shiga toxin producing Escherichia coli strains isolated from human patients in Germany over a 3- year period. J Clin Microbiol.* Recuperado el 4 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15004060>.
- Bhimma, R., Rollins, NC. Coovadia, HM., Adhikari, M. (1997). *Post-dysenteric hemolytic uremic syndrome in children during an epidemic of Shigella dysentery in Kwazulu, Natal. Pediatr Nephrol.* Recuperado el 27 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9323280>.
- Bindu, Ch y Krishnaiah, N. (2010). *Detection of Escherichia coli O157:H7 prevalence in foods of animal origin by cultural methods and PCR technique. Veterinary World.* Recuperado el 4 de mayo de 2017 de: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.3/January/Detection%20of%20Escherichia%20coli%20O157%20H7%20prevalence%20in%20foods%20of%20animal%20origin%20by%20cultural%20methods%20and%20PCR%20technique.pdf>.
- BIOO SCIENTIFIC, MAX SIGNAL (2011). *E. coli O157 Strip Test Kit Manual.* Recuperado el 1 de febrero de 2017 de: [http://www.nordicbiosite.com/sites/default/files/fields/product\\_insert/file/73718\\_228-1062-01-02\\_maxsignal\\_e.\\_coli\\_o157\\_strip\\_test\\_kit\\_manual.pdf](http://www.nordicbiosite.com/sites/default/files/fields/product_insert/file/73718_228-1062-01-02_maxsignal_e._coli_o157_strip_test_kit_manual.pdf).
- Blanco, J., Blanco, M., Alonso, M., Mora, A., Dahbi, G., Bernardez, G., Blanco, J. (2004). *Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verotoxin) producing Escherichia coli isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-  $\xi$ ).* *J Clin Microbiol.* Recuperado el 23 de abril de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC344521/>



- Blanco, J., Blanco., M. (1993). *Escherichia coli* enterotoxigénicos, necrotoxigénicos y verotoxigenicas de origen humano y bovino: patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico. Recuperado e 7 de abril de 2017 de: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57271997000500002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271997000500002).
- Boschi-Pinto, C., Velebit, L., Shibuya, K. (2008). *Estimating child mortality due to diarrhea in developing countries. Bull World Health Organ*. Recuperado el 17 de enero de 2017 de: <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/9/07-050054.pdf>
- Bravo, V. y Villalobos de B. (2002). *Escherichia coli* enterohemorrágica en síndrome. *Pediatr Nephrol*. Recuperado el 6 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11605791>.
- Brusa, V., et al. (2013). *Shiga toxin-producing Escherichia coli in beef retail markets from Argentina. Front Cell Infect Microbiol*. Recuperado el 6 de julio de 2017 de: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2012.00171/full>.
- Calderwood, S., Acheson, D., Keusch, G., Barrett, T., Griffin, P., Strockbin, N. (1996). *Proposed new nomenclature for SLT (VT) family*. Recuperado el 7 de abril de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3421821/>.
- Canizalez, R. (2011). *Eta Virus*. Recuperado el 12 de julio de 2017 de: <https://es.slideshare.net/RonaldAsensio/eta-virus-9331244>.
- Carrascal, A. (2008). Estimación de la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en Colombia en la década 1996-2006. Recuperado el 5 de julio de 2017 de: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis134.pdf>.

- Casellas, J. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: Consecuencias para la infectología. Recuperado el 12 de abril de 2017 de <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v30n6/a04v30n6.pdf>.
- Center for food security and public health. (2010) Enfermedades emergentes y exóticas de los animales. USA: Creasey Printing. Recuperado el 22 de febrero de 2017 de: [https://books.google.com.ec/books/about/Enfermedades\\_Emergentes\\_y\\_Ex%C3%B3ticas\\_de\\_l.html?id=s1R6wsyeT4IC&printsec=frontcover&source=kp\\_read\\_button&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books/about/Enfermedades_Emergentes_y_Ex%C3%B3ticas_de_l.html?id=s1R6wsyeT4IC&printsec=frontcover&source=kp_read_button&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).
- Chapman, P., Siddons, C., Wright, D. (1993). *Cattle as a possible source of verocytotoxin producing Escherichia coli O157 infections in man*. Recuperado el 4 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2271261/pdf/epidinfec0042-0028.pdf>.
- Cherla, R., Lee, S., Tesh., V. (2003). *Shiga toxins and apoptosis. FEMS Microbiol Lett*. Recuperado el 6 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14638419>.
- Chinen, I., Otero, J., Miliwebsky, E., Roldan, M., Baschkier, A., Chillemi, G., Noboli, C., Frizzo, L., Rivas, M. (2003). *Isolation and characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 from calves in Argentina*. Argentina. Recuperado el 5 de mayo de 2017 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528802001923>.
- Chirawan, S. (2017). Tinción de Gram, también llamado método de Gram es un método de diferenciar especies bacterianas en dos grandes grupos (Grampositivas y Gramnegativas). Recuperado el 1 de julio de 2017 de: [https://es.123rf.com/photo\\_42949031\\_tinci-n-de-gram-tambi-n-llamado-m-todo-de-gram-es-un-m-todo-de-diferenciar-especies-bacterianas-en-d.html](https://es.123rf.com/photo_42949031_tinci-n-de-gram-tambi-n-llamado-m-todo-de-gram-es-un-m-todo-de-diferenciar-especies-bacterianas-en-d.html).
- Codex Committee on Food Hygiene. (2005). *Discussion paper on guidelines for the application of general principles of food hygiene to the risk based control of enterohaemorrhagic Escherichia coli in ground beef and*

- fermented sausages*. Argentina. Recuperado el 11 de enero de 2017 de: [http://www.bmpa.uk.com/\\_attachments/510\\_S4.pdf](http://www.bmpa.uk.com/_attachments/510_S4.pdf).
- Connell, I., Agace, W., Klemm, P., Schembri, M., Marild, S., Svanborg, C. (1996). *Type 1 fimbrial expression enhances Escherichia coli virulence for the urinary tract*. USA. *Proc Natl Acad*. Recuperado el 10 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC38514/>.
- Copes, J., Pellicer, K., Del Hoyo, G. (2009). Primer aislamiento de *E. coli* O157:H7 a partir de hamburguesas en Paraguay. *Analecta Veterinaria*. Recuperado el 12 de enero de 2017 de: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11231/Documento\\_completo\\_\\_pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11231/Documento_completo__pdf?sequence=1).
- Croxen, M. y Finlay, B. (2010). *Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity*. *Nature Reviews Microbiology*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19966814>.
- Dabroy, C. (2014). DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli* O157:H7 EN CARNE MOLIDA DE RES ESTÁNDAR EXPENDIDA EN CARNICERÍAS DEL MERCADO CENTRAL DEL MUNICIPIO DE MIXCO, GUATEMALA. (Tesis de pregrado). Recuperado el 21 de febrero de 2017 de: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/1639/1/Tesis%20Med%20Vet%20CeIso%20Horacio%20Dabroy%20Palomo.pdf>.
- Dontorou, C., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Economou, V., Apostolou, I., Zakkas, G. (2003). *Isolation of Escherichia coli O157:H7 from foods in Greece*. *Int J Microbiol*. Recuperado el 17 de marzo de 2017 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502003136>.
- Doyle, M. (2001). *Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras*. España: Acribia. 1ra edición. Recuperado el 3 de marzo de 2017 de: <https://www.casadellibro.com/libro-microbiologia-de-los-alimentos-fundamentos-y-fronteras/9788420009339/746478>.
- Duffy, G., Cummins, E., Nally, P., O'brien, S., Butler, F. (2006). *A review of quantitative microbial risk assessment in the management of Escherichia coli O157:H7 on beef*. Recuperado el 8 de abril de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22062718>.

- Elder, R., Keen, J., Siragusa, G. (2000). *Correlation of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 prevalence in feces, hides and carcasses of beef cattle during processing*. Recuperado el 3 de abril de 2017 de: <http://www.pnas.org/content/97/7/2999.full.pdf>.
- Farfán, A., et al. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Universidad de Santander-UDES. Bucaramanga, Colombia. Recuperado el 23 de marzo de 2017 de: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182016000400009#f2](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009#f2).
- FDA. (2012). *Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. Recuperado el 11 de Marzo de 2017 de: <https://www.fda.gov/downloads/food/foodsafety/foodborneillness/foodborneillnessfoodbornepathogensnaturaltoxins/badbugbook/ucm297627.pdf>.
- Feng, P. (2000). *Escherichia coli serotype O157:H7: novel vehicles of infection and emergence of phenotypic variants*. *Emerg. Infect. Dis.* Recuperado el 9 de mayo de 2017 de: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/1/2/pdfs/95-0202.pdf>.
- Fernández-Brando, R., Betancor, L., Mejías, M., et al. (2011). Actualización en el tratamiento del síndrome urémico hemolítico endémico. Patogénesis y tratamiento de la complicación sistémica más grave de las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Medicina (Buenos Aires)*. Recuperado el 6 de mayo de 2017 de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802011000600019](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802011000600019).
- Figueroa, N. (2000). Frecuencia de *Escherichia coli* en carne molida O157:H7 en carne que se expende en ventas callejeras aledañas al mercado terminal, ubicada en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala. Guatemala. Recuperado el 4 de febrero de 2017 de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2043.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2043.pdf).
- Fox, A. (s.f). BACTERIOLOGÍA - CAPÍTULO CUATRO PARED CELULAR, ESPORAS Y BIOSÍNTESIS DE MACROMOLÉCULAS. México.

- Recuperado el 9 de marzo de 2017 de:  
<http://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter4.htm>.
- Ghosh, S., Andreana, P. (2014) *Synthesis of an Aminoxy Derivative of the Trisaccharide Globotriose Gb3. Journal of Carbohydrate Chemistry.*  
Recuperado el 28 de marzo de 2017 de:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25382930>
- Gill, C. y Landers, C. (2004). *Proximate sources of bacteria on boneless loins prepared from routinely processed and detained carcasses at a pork packing plant.* Recuperado el 8 de febrero de 2017 de:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504002624>.
- Grauke, L., Kudva, I., Yoon, J., Hunt, C., W, Williams., Hovde, C. (2002). *Gastrointestinal tract location of Escherichia coli O157:H7 in ruminants. Appl. Environ. Microbiol.* Recuperado el 5 de julio de 2017 de:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC127545/>.
- Griffin, P. y Tauxe, R. (1991). *The epidemiology of infections caused by Escherichia coli O157: H7, other enterohemorrhagic E. coli and the associated hemolytic uremic syndrome.* Recuperado el 19 de marzo de 2017 de:  
<https://academic.oup.com/epirev/article-abstract/13/1/60/445696/The-Epidemiology-of-Infections-Caused-by?redirectedFrom=PDF>.
- Google Maps. (2017). Mapa del Distrito Metropolitano de Quito.
- Guadalupe, A. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. Recuperado el 3 de julio de 2017 de:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342002000500011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011)
- Gyles, CL. (2007). *Shiga toxin-producing Escherichia coli: An overview. Journal of Animal Science.* Recuperado el 24 de mayo de 2017 de:  
[https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/85/13\\_suppl/0850045](https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/85/13_suppl/0850045)
- Hassan, D., Ibrahim, G., Ibrahim, D. (2016). *A novel single tube method for biochemical identification of Escherichia coli. Life Science Journal.* Recuperado el 23 de mayo de 2017 de:

[http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life130816/02\\_30100ljsj130816\\_8\\_12.pdf](http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life130816/02_30100ljsj130816_8_12.pdf)

Hayashi, T., Makino, K., Ohnishi, M., Kurokawa, K., Ishii, K., Yokoyama, K., Han, C., Ohtsubo, E., Nakayama, K., Murata, T., Tanaka, M., Tobe, T., Iida, T., Takami, H., Honda, T., Sasakawa, C., International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1996). *intestinally pathogenic Escherichia coli*. In *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of microbial pathogens*, Gaythersburg, MD: Aspen Publishers.

HIMEDIA. (2012). *Lauryl Sulphate Broth (Lauryl Tryptose Broth)*. Recuperado el 1 de julio de 2017 de: <http://www.himedialabs.com/intl/en/products/Microbiology/Dehydrated-Culture-Media-General-Animal-based-Media-Bacterial/Lauryl-Sulphate-Broth-Lauryl-Tryptose-Broth-M080>.

Houdouin, V., Doit, C., Mariani, P., et al. (2004). *A pediatric cluster of Shigella dysenteriae serotype 1 diarrhea with hemolytic uremic syndrome in 2 families from France*. *Clin Infect Dis*. Recuperado el 17 de marzo de 2017 de: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/383474>.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

Hussein, H. y Bollinger, L. (2005). *Prevalence of Shiga toxin-producing Escherichia coli in beef*. *J Food Prot*. Recuperado el 5 de mayo el 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16245735>

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2015). NTE INEN 1346. Carne y Productos Cárnicos, Carne molida. Requisitos. Recuperado el 17 de junio de 2017 de: [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/08/nte\\_inen\\_1346.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/08/nte_inen_1346.pdf)

International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1996). *intestinally pathogenic Escherichia coli*. In *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of microbial pathogens*, Gaythersburg, MD: Aspen Publishers. Recuperado el 4 de mayo de 2017 de: <http://www.icmsf.org/pdf/icmsf2.pdf>.

- Johannessen, G., Bengtsson, G., Heier, B., Bredholt, S., Wasteson, Y., Rorvik, L. (2005). *Potential uptake of Escherichia coli O157:H7 from organic manure into crisphead lettuce. Applied and Environmental Microbiology*. Recuperado el 23 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1087526/>.
- Johnson, J., Kunz, L., Barron, W., Ewing, W. (1966). *Biochemical Differentiation of the Enterobacteriaceae with the Aid of Lysine - Iron - Agar. Applied Microbiology*. Recuperado el 17 de junio de 2017 de: <http://aem.asm.org/content/14/2/212.short>.
- Johnson, R., Clarke, R., Wilson, J., Read, S., Rahn, K., Renwick S. (1996). *Growing concerns and recent outbreaks involving non-O157:H7 serotypes of verotoxigenic Escherichia coli. J Food Prot.* Recuperado el 17 de enero de 2017 de: <http://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-59.10.1112>.
- Jure, M. (2012). Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157 en productos cárnicos bovinos y medias reses en la provincia de Tucumán. Recuperado el 3 de Febrero de 2017 de: [http://ac.els-cdn.com/S0325754115000486/1-s2.0-S0325754115000486-main.pdf?\\_tid=2aef7cf0-3f73-11e7a5f60000aacb35f&acdnat=1495515133\\_2c4248a94a591d8f806df770dd05393](http://ac.els-cdn.com/S0325754115000486/1-s2.0-S0325754115000486-main.pdf?_tid=2aef7cf0-3f73-11e7a5f60000aacb35f&acdnat=1495515133_2c4248a94a591d8f806df770dd05393).
- Just, J., y Daeschel, M. (2003). *Antimicrobial effects of wine on E. coli O157:H7 and Salmonella typhimurium in a model stomach system. Journal of Food Science*. Recuperado el 23 de marzo de 2017 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502003136>.
- Karmali, M. (1989). *Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli*. Recuperado el 7 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358098/>.
- Lim, J., Yoon, J., Hovde, C. (2010). Review: *A Brief Overview of Escherichia coli O157:H7 and Its Plasmid O157*. Recuperado el 15 de enero de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20134227>.

- López, E., Díaz, M., Grinstein, S., et al. (1989). *Hemolytic uremic syndrome and diarrhea in Argentine children: the role of Shiga-like toxins. J Infect Dis.* Recuperado el 4 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2668430>.
- Lydia, V., et al. (2015). *Genomic Diversity and Virulence Profiles of Historical Escherichia coli O157 Strains Isolated from Clinical and Environmental Sources.* Recuperado el 6 de julio de 2017 de: <http://aem.asm.org/content/81/2/569.full>
- MacFaddin. (2000). Pruebas Bioquímicas para la identificación de las bacterias de importancia clínica. Montevideo: Editorial Médica Panamericana S.A. 3era Edición.
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., Stahl, D. (2015). Brock. Biología de los microorganismos. Madrid: Editorial Pearson.
- Manual de la OIE sobre animales terrestres. (2004). *Escherichia coli verocitotoxigénica.* Recuperado el 6 de julio de 2017 de: <http://www.oie.int/doc/ged/d6509.pdf>
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology.* Canadá: Mosby Ltd. 2da edición.
- Mazorca, M., Marucci, P., Sica, M., Álvarez, E. (2006). Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología.* Recuperado el 11 de marzo de 2017 de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412006000100011](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412006000100011).
- Meichtri, L., Miliwebsky, E., Gioffré, A., Chinen, I., Baschkier, A., Chillemi, G. (2004). *Shiga toxin-producing Escherichia coli in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. Int J Food Microbiol.* Recuperado el 3 de julio de 2017 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001734?via%3Dihub>.
- Mercado, E., Rodríguez, S., Elizondo, A., Marcoppido, G., Parreño, V. (2004). *Isolation of shiga toxin-producing Escherichia Coli from a South American*



*camelid (Lama Guanicoe) with diarrhea*. Recuperado el 4 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15472347>.

Michanie, S. (2003). *Escherichia coli* O157:H7, la bacteria que dispara el HACCP en la industria de la carne. Recuperado el 9 de Mayo de 2017 de:

[http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/44-escherichia\\_coli.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/44-escherichia_coli.pdf).

Microbioenergética. (2014). Bacterias Gram positivas y Gram negativas. Recuperado el 19 de Enero de 2017 de: <http://microbioenergetica.squarespace.com/bacteriologa/2014/7/21/bacterias-gram-positivas>.

MICROBIOLOGY LAB MANUAL. (2008). *Coliform Testing*. Recuperado el 29 de junio de 2017 de: <http://biologyonline.us/Microbiology/Fall%2008%20White%20Earth/Micro%20Lab%20Manual/Lab%205/10.htm>.

Ministerio de Salud Pública (2016). Quinto Boletín Epidemiológico, Terremoto de Ecuador. Recuperado el 1 de Febrero del 2016 de: [http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2016/04/5\\_Boletin-vigilancia-epidemiol%C3%B3gica-en-la-zonas-afectadas-27-04-2016.pdf](http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2016/04/5_Boletin-vigilancia-epidemiol%C3%B3gica-en-la-zonas-afectadas-27-04-2016.pdf).

Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación Argentina (2011). Análisis Microbiológico de los Alimentos. *Metodología Analítica Oficial Microorganismos Patógenos*.1. Recuperado el 1 de febrero de 2017 de: [http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_vol\\_i.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_i.pdf).

Mirza, N. (2015). *Immune response to Shiga toxin producing Escherichia coli: Detection of antibodies against outer membrane proteins of the bacteria in healthy population of Bangladesh*. (Tesis de Maestría). BRAC University. Recuperado el 23 de mayo de 2017 de: <http://123.49.46.157/handle/10361/4161>.

Mondragón, M. (2014). Centro de Estudios Técnicos Industriales y de Servicio Num 57 "Ignacio Allende" MODULO 2 SUBMODULO 1" TECNICAS



gubernamental de Chiquimula. Guatemala. Recuperado el 22 de marzo de 2017 de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2722.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2722.pdf).

Olson, K. (2004). *Poisoning & Drug Overdose*. EE. UU.: Mc GrawHill. 4ta edición.

OMS. (2015). ESTIMACIONES DE LA OMS SOBRE LA CARGA MUNDIAL DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA. Recuperado el 1 de julio de 2017 de: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200047/1/WHO\\_FOS\\_15.02\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200047/1/WHO_FOS_15.02_spa.pdf).

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2011). *Prevención de la E. coli en los alimentos*. Recuperado el 1 de febrero de 2017 de: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agns/pdf/Preventing\\_Ecoli\\_es.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf).

Organización Mundial de la Salud (2016). Centro de Prensa “E. coli”. Recuperado el 1 de febrero de 2017 de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>.

Organización Mundial de la Salud. (2011). *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). *Informe técnico. Nota descriptiva N°125*.

Parés, R. y Juárez, A. (1997). *Bioquímica de los Microorganismos*. España: Reverté, S. A. 2da edición.

Phaswana-Mafuya, N. (2006). *Health aspects of sanitation among Eastern Cape (EC) rural communities*. South Africa. *Curationis*. Recuperado el 13 de febrero de 2017 de: <http://www.curationis.org.za/index.php/curationis/article/viewFile/1072/1007>.

Piedrahita, D., Márquez, T., Mattar, S. (2001). Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en poblaciones porcinas, canal bovina y productos cárnicos en el Departamento de Córdoba. MVZ-Córdoba. Recuperado el 8 de febrero de 2017 de: <http://www.redalyc.org/pdf/693/69360207.pdf>.

Prescott, J., Harley, D., Klein, A. (1999). *Microbiología*. España: Mc GrawHill. S.A. 4ta edición. Recuperado el 23 de marzo de 2017 de: <https://es.slideshare.net/boscanandrade/libro-lansing-prescott>.

Productos cárnicos comercializados en el mercado municipal de Cumaná. Venezuela. Revista Microbiológica. Recuperado el 4 de marzo de 2017 de: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562002000200004](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562002000200004).

Proulx, F., Seidman, E G., Karpman, D. (2001). *Pathogenesis of Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome. Pediatrics Research*. Recuperado el 7 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11477199>.

Razzaq, A., Shamsi, S., Nawaz, A., Ali, A., Malik, K. (2016). *Identification of Shiga toxin producing E. coli from raw Meat*. Pure and Applied Biology. Recuperado el 23 de mayo de 2017 de: <http://search.proquest.com/openview/002b12e425346af0e00103e491a46a8b/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1936340>.

Razzaq, A., Shamsi, S., Nawaz, A., Ali, A., Malik, K. (2016). *Occurrence of Shiga toxin producing E. coli from raw milk*. Pure and Applied Biology. Recuperado el 23 de Mayo de 2017 de: <http://search.proquest.com/openview/e0e8ecb46936b22b393a7aac861dc0fa/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1936340>.

Riley, L., Remis, R., Helgerson, S., McGee, H., Wells, J., Davis, B., Hebert, R., Olcott, E., Johnson, L., Hargrett, N., Blake, P., Cohen, M. (1983). *Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype*. Recuperado el 3 de febrero de 2017 de: <http://www.marlerblog.com/uploads/image/nejm198303243081203.pdf>.

Rivas, M., Caletti, M., Chinen, I. (2003). *Home-prepared hamburger and sporadic hemolytic uremic syndrome, Argentina*. Recuperado el 6 de marzo de 2017 de: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/9/9/pdfs/02-0563.pdf>.

- Rodríguez, E. (2012). Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio. Recuperado el 30 de junio de 2017 de: <http://microbiologiabioanalisis.blogspot.com/2012/06/prueba-de-indol-fundamento-evalua-la.html>.
- Rodríguez–Ángeles, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Recuperado el 3 de mayo de 2017 de: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342002000500011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011).
- Roldán, M., et al. (2007). Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. Argentina. Recuperado el 18 de enero de 2017 de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v39n2/v39n2a12.pdf>
- Roldán, M., et al. (2007). Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. Argentina. Recuperado el 18 de enero de 2017 de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v39n2/v39n2a12.pdf>.
- Roldán, ML., Chinen, I., Otero, JL. (2007). Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. Revista Argentina de Microbiología. Recuperado el 22 de marzo de 2017 de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-)
- Ruboglio, E., Tesone, S. (2007). *Escherichia coli* O157 H7: presencia en alimentos no cárnicos. Argentina. Recuperado el 23 de enero de 2017 de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/aap/v105n3/v105n3a01.pdf>.
- Rueda, E. (2014). Fichas Enfermedad de Transmisión Alimentaria (ETA). Recuperado el 12 de julio de 2017 de: <https://es.slideshare.net/Albamarina7/fichas-eta>.
- Salena. (2016). *Microbiology unknown lab*. Recuperado el 1 de julio de 2017 de: <http://www.slideserve.com/salena/microbiology-unknown-lab>.
- Samadour, M., Stewart, J., Steingart, K., Addy, C., Louderback, J., McGinn, M., Ellington, J., Newman, T. (2004). *Laboratory investigation of an E. coli O157:H7 outbreak associated with swimming in battle Ground Lake*,

- Vancouver, Washington. *J Environ Health*. Recuperado el 22 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12049000>.
- Sánchez, J., et al. (2009). Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de Porcino (Fundamentos de Seguridad Alimentaria). España. Recuperado el 4 de marzo de 2017 de: <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479789220.pdf>.
- Sandvig, K., Grimmer, S., Lauvrak, SU. Torgersen, ML., Skretting, G., Van Deurs, B., Iversen, G. (2002). *Pathways followed by ricin and shiga toxin into cells. Histochem. Cell Biol.* Recuperado el 23 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11935289>.
- Schmidt, H., et al. (1999). *Escherichia coli O157:H7 and O157:H2 Strains That Do Not Produce Shiga Toxin: Phenotypic and Genetic Characterization of Isolates Associated with Diarrhea and Hemolytic-Uremic Syndrome.* Recuperado el 4 de julio de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10523540>
- Solomon, E., Yaron, S., Matthews, K. (2002). *Transmission of Escherichia coli O157:H7 from Contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue and Its Subsequent Internalization. App Environ Microbiol.* Recuperado el 5 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11772650>.
- Stevens, M., Van Diemen, P., Dziva, F., Jones, P., Wallis, T. (2002). *Options for the control of enterohaemorrhagic Escherichia coli in ruminants. Microbiology.* Recuperado el 2 de julio de 2017 de: [https://www.researchgate.net/publication/10991800\\_Options\\_for\\_the\\_control\\_of\\_enterhaemorrhagic\\_Escherichia\\_coli\\_in\\_ruminants](https://www.researchgate.net/publication/10991800_Options_for_the_control_of_enterhaemorrhagic_Escherichia_coli_in_ruminants).
- Tabla, R., Gómez, A., Simancas, A., Rebollo, J., Molina, F., Roa, I. (2016). *Enterobacteriaceae species during manufacturing and ripening of semi-hard and soft raw ewe's milk cheese: Gas production capacity. Small Ruminant Research,* <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.smallrumres.2016.11.008>. Recuperado el 23 de mayo de 2017 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448816303170>.

- Takaki, S., Duprez, J., Fakih, L., Korsak, N., Thiry, D., Mainil, J. (2016). *Identification of virulotypes and serotypes of enteropathogenic (EPEC) and Shigatoxigenic (STEC) Escherichia coli from healthy cattle at slaughterhouses in Wallonia*. University of Liege. Recuperado el 23 de mayo de 2017 de: <http://orbi.ulg.ac.be/handle/2268/201688>
- Tapia, F. (2016). Determinación de *Escherichia Coli* O157:H7 (EHEC) en la carne molida que se vende en el mercado el Arenal de la ciudad de Cuenca. Recuperado el 5 de marzo de 2017 de: <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/6315>.
- Tarr, P., Tran, T., Wilson, R. (1999). *Escherichia coli* O157:H7 in retail ground beef in Seattle: results of a one-year prospective study. *J Food Prot.* Recuperado el 28 de mayo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10030631>.
- TM. (s.f). *Medium*. Recuperado el 20 de mayo de 2017 de: <http://titanmedia.in/simple-product-name-search?combine>
- Trueba, G., Garces, V., Colman, R., et al. (2013). *Escherichia coli* O157:H7 in Ecuador animal reservoirs, yet no human disease. Recuperado el 3 de febrero de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23473224>.
- USDA. (2011). Parásitos y las Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Recuperado el 12 de julio de 2017 de: [https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/aa9f4a55-2e6f-45a3-8953-d9e986bde1b9/Parasites\\_Food\\_Safety\\_SP.pdf?MOD=AJPERES](https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/aa9f4a55-2e6f-45a3-8953-d9e986bde1b9/Parasites_Food_Safety_SP.pdf?MOD=AJPERES).
- Vadillo, S., Piriz, S., Mateos, E. (2002). Manual de Microbiología Veterinaria: España: Mc GrawHill. S.A. 1ra edición.
- Varela, G., Chinen, I., Gadea, P., Miliwebsky, E., Mota, M., González, S., González, G., Gugliada, M., Carbonari, C., Algorta, G., Bernadá, M., Sabelli, R., Pardo, L., Rivas, M., Schelotto, F. (2008). Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina shiga a partir de casos clínicos y de alimentos en Uruguay. *Revista Argentina de Microbiología*. Recuperado el 11 de marzo de 2017 de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412008000200005](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412008000200005).

- Vernozy-Rozand, C., Ray-Gueniot, S., Ragot, C., Bavai, C., Mazuy, C., Montet, MP. (2002). *Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in industrial mince beef. Letters in Applied Microbiology*. Recuperado el 18 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12081541>.
- Villalobos, L., Martínez, R., Blanco, A., Maldonado, A., Bastardo, J. (2008). Detección molecular de *Escherichia coli* productor de Shiga toxina (Stx1) y rotavirus en heces de niños con diarrea. *Invest Clin*. Recuperado el 17 de marzo de 2017 de: <http://www.scielo.org.ve/pdf/ic/v49n3/art10.pdf>.
- Wells, J., Shipman, L., Greene, K. (1991). *Isolation of Escherichia coli serotype O157:H7 and other Shiga-like toxin-producing E. coli from dairy cattle*. Recuperado el 23 de marzo de 2017 de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2056066>.
- WHO. (2007). Manual de procedimientos. Diagnóstico y caracterización de *E. coli* O157 productor de toxina shiga a partir de especímenes clínicos. Departamento de bacteriología. Instituto nacional de enfermedades infecciosas. Recuperado el 3 de Marzo de 2017 de: <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=NmZogH4P%2Bmk%3D&tabid=120&mid=460&language=es-ES>.
- Xiaodong, X., Jianghong, M., McDermott, PF., Ayers, S., Blickenstaff, K., Tran, TT., Abbott, J., Zheng, J., y Zhao, S. (2010). *Presence and Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli and Other Potentially Diarrheagenic E. coli Strains in Retail Meats. American Society for Microbiology*. Recuperado el 17 de marzo de 2017 de: <http://aem.asm.org/content/76/6/1709.full>.
- Zamxaka, M., Pironcheva, G., Muyima, NYO. (2004). *Microbiological and physicochemical assessment of the quality of domestic water sources in selected rural communities of the Eastern Cape Province, South Africa. Journal Home*. Recuperado el 7 de marzo de 2017 de: <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479789220.pdf>.



## **ANEXOS**

### 11.1. Anexo 1

Tabla 6.

*Pruebas bioquímicas que confirman la presencia de Escherichia coli.*

| <b>Pruebas Bioquímicas</b> | <b>Resultados</b>  |
|----------------------------|--|
| Prueba de Oxidasa          | Reacción Negativa  |
| Prueba de Catalasa         | Reacción Positiva  |
| Motilidad                  | Bacterias Móviles  |
| Prueba de Indol            | Reacción Positiva (Anillo rojo)  |
| Rojo de Metilo             | Reacción Positiva (Viraje del medio, rojo)   |
| Voges Proskauer            | Reacción negativa  |
| Prueba de citrato          | Reacción negativa (sin cambio de color del medio)                                      |
| Agar TSI                   | Pico / Fondo son ácidos, Positivo en producción de gas y negativo en ácido sulfhídrico |
| Agar Salmonella - Shigella | Presenta colonias rosadas  |
| Agar Tergitol 7            | Presenta colonias amarillas  |
| Agar MacConkey             | Presenta colonias rosadas  |

|  |   |
|--|---|
| Agar Eosina - Azul de metileno (EMB) de Levine       | Presenta colonias que varían del púrpura a verde metálico |
| Prueba de orto-nitrofenil-B-galactopiranosido (ONPG) | Resultado positivo  |
| Prueba de gelatinasa                                 | Resultado negativo  |
| Prueba de fenilalanina desaminasa                    | Resultado negativo  |
| Prueba de Ureasa                                     | Resultado negativo  |
| Utilización de malonato                              | Resultado positivo  |
| Prueba de reducción de nitratos                      | Resultado negativo  |

Tomado de Instituto de Investigaciones Biotecnológicas – Universidad de San Martín, s.f.

## 11.2. Anexo 2

Tabla 7.

*Resultados de las estadísticas del sistema SIVE – ALERTA del Ministerio de Salud Pública entre los años (2014 - 2017) de personas expuestas, enfermas y hospitalizadas por enfermedades de origen alimentario.*

| <b>Año</b>                  | <b>Expuestos</b> | <b>Enfermos</b> | <b>Hospitalizados</b> |
|-----------------------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| <b>2014</b>                 | 3624             | 390             | 21                    |
| <b>2015</b>                 | 5768             | 1724            | 221                   |
| <b>2016</b>                 | 11093            | 1283            | 272                   |
| <b>2017 (Enero - Marzo)</b> | 343              | 111             | 23                    |
| <b>TOTAL</b>                | 20828            | 3508            | 537                   |

Tomado de Gaceta Epidemiológico Ecuador SIVE – ALERTA, 2014 – 2017.

### 11.3. Anexo 3

#### Contenido de los medios de cultivo utilizados

Tabla 8.

*Contenido del agar Mac Conkey*

| <b>Contenido del medio de cultivo</b> | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Peptona                               | 17.0 g          |
| Pluripeptona                          | 3.0 g           |
| Lactosa                               | 10.0 g          |
| Mezcla de sales biliares              | 1.5 g           |
| Cloruro de sodio                      | 5.0 g           |
| Agar                                  | 13.5 g          |
| Rojo Neutro                           | 0.03 g          |
| Cristal Violeta                       | 0.001 g         |

Tomado de Mac Conkey Agar - Titan Biotech Ltd., s.f.

Tabla 9.

*Contenido del caldo de triptona lauril sulfato*

| <b>Contenido del medio de cultivo</b> | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Triptona                              | 20.0 g          |
| Lactosa                               | 5.00 g          |
| Fosfato dipotásico                    | 2.75 g          |
| Fosfato monopotásico                  | 2.75 g          |
| Cloruro sódico                        | 5.00 g          |
| Lauril sulfato sódico                 | 0.10 g          |

Tomado de Lauryl Sulphate Broth - Titan Biotech Ltd., s.f.

Tabla 10.

*Contenido del caldo EC*

| <b>Contenido del medio de cultivo</b> | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Peptona pancreática de carne          | 20.0 g          |
| Lactosa                               | 5.00 g          |
| Mezcla de sales biliares              | 1.50 g          |

|                      |        |
|----------------------|--------|
| Cloruro sódico       | 5.00 g |
| Fosfato disódico     | 4.00 g |
| Fosfato monopotásico | 1.50 g |

Tomado de EC Broth - Titan Biotech Ltd., s.f.

Tabla 11.

*Contenido del agua de triptona*

| <b>Contenido del medio de cultivo</b> | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Peptona de caseína                    | 10.0 g          |
| Cloruro sódico                        | 5.00 g          |

Tomado de Tryptone Water - Titan Biotech Ltd., s.f.

Tabla 12.

*Contenido para la preparación de reactivo de Kovacs*

| <b>Contenido del medio de cultivo</b> | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Ácido 4 - dimetilamino - benzaldehído | 5.00 g          |
| Alcohol Isoamílico                    | 75.00 mL        |
| Ácido Clorhídrico 1,18 - 1,19 d       | 25.00 mL        |

Tomado de Kovacs reagents for indole - Laboratory LOBA CHEMIE, s.f.

Tabla 13.

*Contenido para la preparación del agar TSI*

| <b>Contenido del medio de cultivo</b> | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Extracto de carne                     | 3.00 g          |
| Pluripeptona                          | 20.0 g          |
| Cloruro de sodio                      | 5.00 g          |
| Lactosa                               | 10.0 g          |
| Sacarosa                              | 10.0 g          |
| Glucosa                               | 1.00 g          |
| Sulfato de hierro y amonio            | 0.20 g          |
| Tiosulfato de sodio                   | 0.20 g          |
| Rojo de fenol                         | 0.025 g         |
| Agar                                  | 13.00 g         |

Tomado de Triple Sugar Iron Agar - Titan Biotech Ltd., s.f.



## 11.4. Anexo 4

### Análisis Resultados en Agar TSI

- a) **Pico alcalino / fondo ácido (pico rojo / fondo amarillo):** el microorganismo solamente fermenta la glucosa.
- b) **Pico ácido / fondo ácido (pico amarillo / fondo amarillo):** el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.
- c) **Pico alcalino / fondo alcalino (pico rojo / fondo rojo):** el microorganismo es no fermentador de azúcares.
- d) La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.
- e) El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

Tabla 14.

*Tabla para resultados del medio TSI*

| Microorganismo                   | Pico/Fondo | Producción de gas | Producción de ácido sulfhídrico |
|----------------------------------|------------|-------------------|---------------------------------|
| <i>E. coli</i> ATCC 25922        | A/A        | +                 | -                               |
| <i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 | A/A        | +                 | -                               |
| <i>P. mirabilis</i> ATCC 43071   | K/A        | +                 | +                               |
| <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 | K/A        | -                 | +                               |

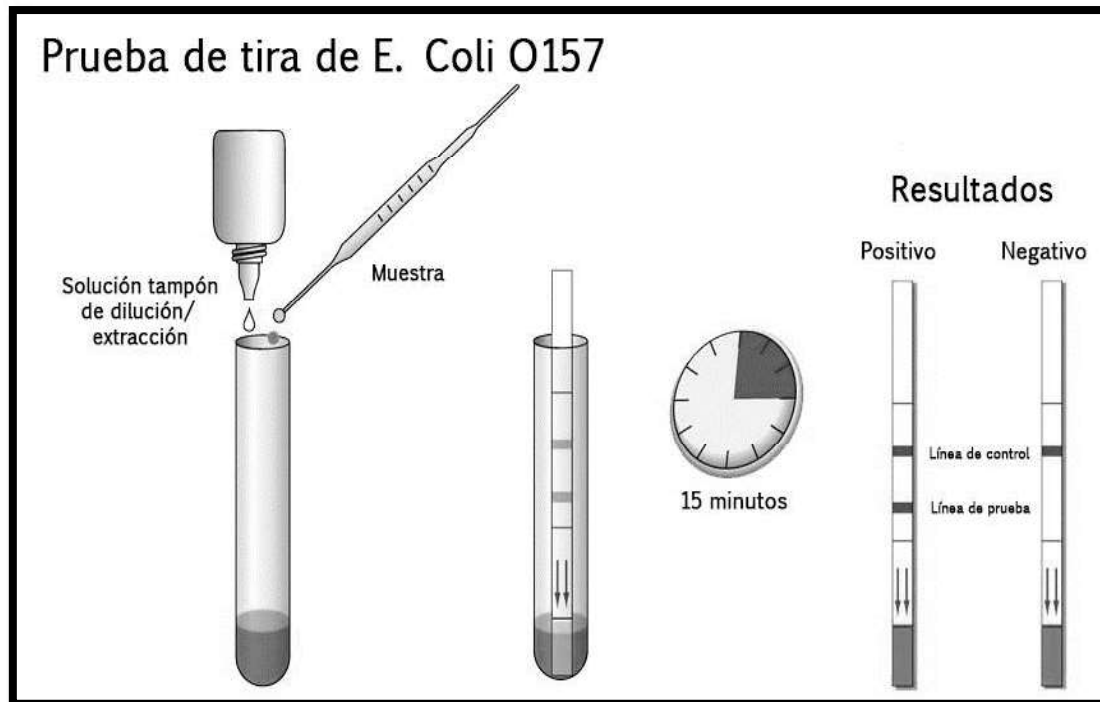
|                                     |     |   |   |
|-------------------------------------|-----|---|---|
| <i>S. enteritidis</i> ATCC<br>13076 | K/A | + | + |
| <i>S. flexneri</i> ATCC 12022       | K/A | - | - |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC<br>27853  | K/K | - | - |

A: ácido, K: alcalino

(Triple Sugar Iron Agar - Titan Biotech Ltd., s.f., pp. 1-2)

## 11.5. Anexo 5

### Interpretación de resultados prueba de tira



**Figura 36.** Diagrama explicativo para la prueba de tira de *E. Coli* O157:H7.

Tomado del manual de kit de prueba rápida para *E. coli* O157 de MaxSignal®.

### Resultados negativos

La prueba es negativa si sólo aparece una línea de color en el área de la línea de control (C).

### Resultados positivos

La prueba es positiva si aparecen dos líneas de color. Aparecerá una línea de color en la zona de la línea de prueba (T) y otra en el área de la línea de control (C).

Nota:

- Una línea coloreada con cualquier intensidad en el área de la línea de prueba debe ser considerada positiva.
- Las líneas de color pueden ser más claras o más oscuras que las demás.
- Un resultado altamente positivo puede producir una línea roja intensa en la zona de la línea de prueba y una línea débil en el área de la línea de control. Esto todavía se consideraría un resultado positivo.

### **Resultados no válidos**

La prueba no es válida si no aparece ninguna línea de color en el área de la línea de control incluso si aparece una línea de color en el área de la línea de prueba. Si no aparece ninguna línea de color en la zona de control, se debe agregar una mezcla adicional de muestra y esperar 4 minutos más. Si todavía no aparece una línea coloreada en la zona de control, la prueba no es válida y debe repetirse utilizando otro dispositivo.

Nota importante: Las líneas de color que aparecen después de 20 minutos no son diagnósticas y deben ser ignoradas.

## Precauciones

Ha sido demostrado que los aislados de *E. coli* O157:H7 son infecciosos a dosis muy bajas (menos de 50 bacterias). Es necesario tener un cuidado extremo en el manejo de muestras, medios enriquecidos y tiras reactivas usadas. Todos los residuos biológicos peligrosos se deben eliminar de manera adecuada. Descontaminar todos los dispositivos utilizados en la prueba con blanqueador o autoclave (*E. coli* O157 Strip Test Kit - MaxSignal®, s.f., pp. 3-6).

### 11.6. Anexo 6

Resultados de las siete pruebas realizadas para la identificación de *Escherichia coli* en carne molida de res de 25 mercados municipales de Quito.

Tabla 15.

*Resultados en Agar Mac Conkey*

| Zona             | Mercado           | Resultados      |   |
|------------------|-------------------|-----------------|---|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | Medio EC        |   |
|                  | Control Positivo  | E. coli O157:H7 |   |
|                  | Control Negativo  | E. coli         |   |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And          | Colonias rojas con halo turbio, rosadas mucosas, incoloras, transparentes, diminutas incoloras y opacas |
|                  |                   | M2-And          |   |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt          |   |
|                  |                   | M2-Cmt          |   |
|                  | Iñaquito          | M1-Iñq          |   |
|                  |                   | M2-Iñq          |   |
|                  | J. F. Kennedy     | M1-Jfk          |   |
|                  |                   | M2-Jfk          |   |
|                  | Rumiñahui         | M1-Rmñ          |   |
|                  |                   | M2-Rmñ          |   |
|                  | Santa Clara       | M1-Scl          |   |

|                    |                 |        |   |
|--------------------|-----------------|--------|---|
|                    |                 | M2-Scl |   |
| <b>La Delicia</b>  | Carcelén        | M1-Crc | Colonias rojas con halo turbio, rosadas mucosas, incoloras, transparentes, diminutas incoloras y opacas |
|                    |                 | M2-Crc |   |
|                    | Cotocollao      | M1-Ctc |   |
|                    |                 | M2-Ctc |   |
| <b>Quitumbe</b>    | Hacienda Ibarra | M1-Hci | Colonias rojas con halo turbio, rosadas mucosas, incoloras, transparentes, diminutas incoloras y opacas |
|                    |                 | M2-Hci |   |
|                    | Las Cuadras     | M1-Lcd |   |
|                    |                 | M2-Lcd |   |
| <b>Eloy Alfaro</b> | Calzado         | M1-Clz | Colonias rojas con halo turbio, rosadas mucosas, incoloras, transparentes, diminutas incoloras y opacas |
|                    |                 | M2-Clz |   |
|                    | Chimbacalle     | M1-Cmb |   |
|                    |                 | M2-Cmb |   |
|                    | Chiriyacu       | M1-Cry |   |
|                    |                 | M2-Cry |   |
|                    | Magdalena       | M1-Mgd |   |
|                    |                 | M2-Mgd |   |
|                    | Mayorista       | M1-Myr |   |
|                    |                 | M2-Myr |   |
|                    | Mena Dos        | M1-Mnd |   |
|                    |                 | M2-Mnd |   |

|               |               |        |   |  |
|---------------|---------------|--------|---|--|
|               | Quito Sur     | M1-Qts |   |  |
|               |               | M2-Qts |   |  |
|               | Solanda       | M1-Sld |   |  |
|               |               | M2-Sld |   |  |
| <b>Centro</b> | Arenas        | M1-Arn | Colonias rojas con halo turbio, rosadas mucosas, incoloras, transparentes, diminutas incoloras y opacas |  |
|               |               | M2-Arn |   |  |
|               | América       | M1-Amr |   |  |
|               |               | M2-Amr |   |  |
|               | Central       | M1-Cnt |   |  |
|               |               | M2-Cnt |   |  |
|               | Floresta      | M1-Frt |   |  |
|               |               | M2-Frt |   |  |
|               | San Diego     | M1-Sdg |   |  |
|               |               | M2-Sdg |   |  |
|               | San Francisco | M1-Sfc |   |  |
|               |               | M2-Sfc |   |  |
|               | San Juan      | M1-Sjn |   |  |
|               |               | M2-Sjn |   |  |
| San Roque     | M1-Srq        |        |   |  |
|               | M2-Srq        |        |   |  |



Tabla 16.

*Resultados en Medio Lauril Sulfato en simple y doble concentración.*

| Zona             | Mercado           | TSL simple   | TSL doble  |  |
|------------------|-------------------|--|--|--|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | -  | -  |  |
|                  | Control Positivo  | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas | Crecimiento exuberante color blanco y presencia de gas |  |
|                  | Control Negativo  | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas | Crecimiento exuberante color blanco y presencia de gas |  |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And   | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas   | Crecimiento exuberante color rojo y presencia de gas |
|                  |                   | M2-And   |  |  |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt   |  |  |
|                  |                   | M2-Cmt   |  |  |
|                  | Iñaquito          | M1-Iñq   |  |  |
|                  |                   | M2-Iñq   |  |  |
|                  | J. F. Kennedy     | M1-Jfk   |  |  |
|                  |                   | M2-Jfk   |  |  |

|                    |                    |        |  |  |
|--------------------|--------------------|--------|--|--|
|                    | Rumiñahui          | M1-Rmñ |  |  |
|                    |                    | M2-Rmñ |  |  |
|                    | Santa Clara        | M1-Scl |  |  |
|                    |                    | M2-Scl |  |  |
| <b>La Delicia</b>  | Carcelén           | M1-Crc | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas | Crecimiento exuberante color rojo y presencia de gas |
|                    |                    | M2-Crc |  |  |
|                    | Cotocollao         | M1-Ctc |  |  |
|                    |                    | M2-Ctc |  |  |
| <b>Quitumbe</b>    | Hacienda Ibarra M6 | M1-Hci | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas | Crecimiento exuberante color rojo y presencia de gas |
|                    |                    | M2-Hci |  |  |
|                    | Las Cuadras M5     | M1-Lcd |  |  |
|                    |                    | M2-Lcd |  |  |
| <b>Eloy Alfaro</b> | Calzado            | M1-Clz | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas | Crecimiento exuberante color rojo y presencia de gas |
|                    |                    | M2-Clz |  |  |
|                    | Chimbacalle        | M1-Cmb |  |  |
|                    |                    | M2-Cmb |  |  |
|                    | Chiriyacu          | M1-Cry |  |  |
|                    |                    | M2-Cry |  |  |
|                    | Magdalena          | M1-Mgd |  |  |
|                    |                    | M2-Mgd |  |  |
|                    | Mayorista          | M1-Myr |  |  |

|               |               |        |  |  |
|---------------|---------------|--------|--|--|
|               |               | M2-Myr |  |  |
|               | Mena Dos      | M1-Mnd |  |  |
|               |               | M2-Mnd |  |  |
|               | Quito Sur     | M1-Qts |  |  |
|               |               | M2-Qts |  |  |
|               | Solanda       | M1-Sld |  |  |
|               |               | M2-Sld |  |  |
| <b>Centro</b> | Arenas        | M1-Arn | Crecimiento moderado color blanco y presencia de gas | Crecimiento exuberante color rojo y presencia de gas |
|               |               | M2-Arn |  |  |
|               | América       | M1-Amr |  |  |
|               |               | M2-Amr |  |  |
|               | Central       | M1-Cnt |  |  |
|               |               | M2-Cnt |  |  |
|               | Floresta      | M1-Frt |  |  |
|               |               | M2-Frt |  |  |
|               | San Diego     | M1-Sdg |  |  |
|               |               | M2-Sdg |  |  |
|               | San Francisco | M1-Sfc |  |  |
|               |               | M2-Sfc |  |  |
|               | San Juan      | M1-Sjn |  |  |
|               |               | M2-Sjn |  |  |

|  |           |        |  |
|--|-----------|--------|--|
|  | San Roque | M1-Srq |  |
|  |           | M2-Srq |  |

Tabla 17.

*Resultados en Medio EC*

| Zona             | Mercado           | Medio EC                           |                                    |
|------------------|-------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | -                                  |                                    |
|                  | Control Positivo  | Crecimiento moderado, medio turbio |                                    |
|                  | Control Negativo  | Crecimiento moderado, medio turbio |                                    |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And                             | Crecimiento moderado, medio turbio |
|                  |                   | M2-And                             |                                    |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt                             |                                    |
|                  |                   | M2-Cmt                             |                                    |
|                  | Iñaquito          | M1-Iñq                             |                                    |
|                  |                   | M2-Iñq                             |                                    |
|                  | J. F. Kennedy     | M1-Jfk                             |                                    |
|                  |                   | M2-Jfk                             |                                    |
|                  | Rumiñahui         | M1-Rmñ                             |                                    |
|                  |                   | M2-Rmñ                             |                                    |

|                    |                    |        |                                    |
|--------------------|--------------------|--------|------------------------------------|
|                    | Santa Clara        | M1-Scl |                                    |
|                    |                    | M2-Scl |                                    |
| <b>La Delicia</b>  | Carcelén           | M1-Crc | Crecimiento moderado, medio turbio |
|                    |                    | M2-Crc |                                    |
|                    | Cotocollao         | M1-Ctc |                                    |
|                    |                    | M2-Ctc |                                    |
| <b>Quitumbe</b>    | Hacienda Ibarra M6 | M1-Hci | Crecimiento moderado, medio turbio |
|                    |                    | M2-Hci |                                    |
|                    | Las Cuadras M5     | M1-Lcd |                                    |
|                    |                    | M2-Lcd |                                    |
| <b>Eloy Alfaro</b> | Calzado            | M1-Clz | Crecimiento moderado, medio turbio |
|                    |                    | M2-Clz |                                    |
|                    | Chimbacalle        | M1-Cmb |                                    |
|                    |                    | M2-Cmb |                                    |
|                    | Chiriyacu          | M1-Cry |                                    |
|                    |                    | M2-Cry |                                    |
|                    | Magdalena          | M1-Mgd |                                    |
|                    |                    | M2-Mgd |                                    |
|                    | Mayorista          | M1-Myr |                                    |
|                    |                    | M2-Myr |                                    |
|                    | Mena Dos           | M1-Mnd |                                    |

|               |               |        |                                    |
|---------------|---------------|--------|------------------------------------|
|               |               | M2-Mnd |                                    |
|               | Quito Sur     | M1-Qts |                                    |
|               |               | M2-Qts |                                    |
|               | Solanda       | M1-Sld |                                    |
|               |               | M2-Sld |                                    |
| <b>Centro</b> | Arenas        | M1-Arn | Crecimiento moderado, medio turbio |
|               |               | M2-Arn |                                    |
|               | América       | M1-Amr |                                    |
|               |               | M2-Amr |                                    |
|               | Central       | M1-Cnt |                                    |
|               |               | M2-Cnt |                                    |
|               | Floresta      | M1-Frt |                                    |
|               |               | M2-Frt |                                    |
|               | San Diego     | M1-Sdg |                                    |
|               |               | M2-Sdg |                                    |
|               | San Francisco | M1-Sfc |                                    |
|               |               | M2-Sfc |                                    |
|               | San Juan      | M1-Sjn |                                    |
|               |               | M2-Sjn |                                    |
|               | San Roque     | M1-Srq |                                    |
|               |               | M2-Srq |                                    |

Tabla 18.

*Resultados de la Prueba de Indol*

| Zona             | Mercado           | Prueba de Indol |          |
|------------------|-------------------|-----------------|----------|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | -               |          |
|                  | Control Positivo  | Positivo        |          |
|                  | Control Negativo  | Positivo        |          |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And          | Positivo |
|                  |                   | M2-And          |          |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt          | Positivo |
|                  |                   | M2-Cmt          |          |
|                  | Iñaquito          | M1-Iñq          | Positivo |
|                  |                   | M2-Iñq          |          |
|                  | J. F. Kennedy     | M1-Jfk          | Positivo |
|                  |                   | M2-Jfk          |          |
|                  | Rumiñahui         | M1-Rmñ          | Positivo |
|                  |                   | M2-Rmñ          |          |
|                  | Santa Clara       | M1-Scl          | Positivo |

|                    |                    |        |          |
|--------------------|--------------------|--------|----------|
|                    |                    | M2-Sci |          |
| <b>La Delicia</b>  | Carcelén           | M1-Crc | Positivo |
|                    |                    | M2-Crc |          |
|                    | Cotocollao         | M1-Ctc | Positivo |
|                    |                    | M2-Ctc |          |
| <b>Quitumbe</b>    | Hacienda Ibarra M6 | M1-Hci | Positivo |
|                    |                    | M2-Hci |          |
|                    | Las Cuadras M5     | M1-Lcd | Positivo |
|                    |                    | M2-Lcd |          |
| <b>Eloy Alfaro</b> | Calzado            | M1-Clz | Positivo |
|                    |                    | M2-Clz |          |
|                    | Chimbacalle        | M1-Cmb | Negativo |
|                    |                    | M2-Cmb |          |
|                    | Chiriyacu          | M1-Cry | Positivo |
|                    |                    | M2-Cry |          |
|                    | Magdalena          | M1-Mgd | Positivo |
|                    |                    | M2-Mgd |          |
|                    | Mayorista          | M1-Myr | Positivo |
|                    |                    | M2-Myr |          |
|                    | Mena Dos           | M1-Mnd | Positivo |
|                    |                    | M2-Mnd |          |



|               |               |        |          |
|---------------|---------------|--------|----------|
|               | Quito Sur     | M1-Qts | Positivo |
|               |               | M2-Qts |          |
|               | Solanda       | M1-Sld | Positivo |
|               |               | M2-Sld |          |
| <b>Centro</b> | Arenas        | M1-Arn | Positivo |
|               |               | M2-Arn |          |
|               | América       | M1-Amr | Positivo |
|               |               | M2-Amr |          |
|               | Central       | M1-Cnt | Positivo |
|               |               | M2-Cnt |          |
|               | Floresta      | M1-Frt | Positivo |
|               |               | M2-Frt |          |
|               | San Diego     | M1-Sdg | Positivo |
|               |               | M2-Sdg |          |
|               | San Francisco | M1-Sfc | Positivo |
|               |               | M2-Sfc |          |
|               | San Juan      | M1-Sjn | Positivo |
|               |               | M2-Sjn |          |
|               | San Roque     | M1-Srq | Positivo |
|               |               | M2-Srq |          |

Tabla 19.

## Resultados en Agar TSI

| Zona             | Mercado           | TSI    |                                   |
|------------------|-------------------|--------|-----------------------------------|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | -      |                                   |
|                  | Control Positivo  | -      |                                   |
|                  | Control Negativo  | -      |                                   |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|                  |                   | M2-And | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|                  |                   | M2-Cmt | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|                  | Iñaquito          | M1-Iñq | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                  |                   | M2-Iñq | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                  | J. F. Kennedy     | M1-Jfk | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|                  |                   | M2-Jfk | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|                  | Rumiñahui         | M1-Rmñ | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |

|                        |                    |        |                                   |
|------------------------|--------------------|--------|-----------------------------------|
|                        |                    | M2-Rmñ | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                        | Santa Clara        | M1-ScI | Pico negro / fondo<br>negro       |
|                        |                    | M2-ScI | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
| <b>La Delicia</b>      | Carcelén           | M1-Crc | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                        |                    | M2-Crc | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                        | Cotocollao         | M1-Ctc | Pico negro / fondo<br>negro       |
|                        |                    | M2-Ctc | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
| <b>Quitumbe</b>        | Hacienda Ibarra M6 | M1-Hci | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|                        |                    | M2-Hci | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|                        | Las Cuadras M5     | M1-Lcd | Pico negro / fondo<br>negro       |
|                        |                    | M2-Lcd | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
| <b>Eloy<br/>Alfaro</b> | Calzado            | M1-Clz | Pico amarillo /<br>fondo negro    |

|             |  |        |                                   |
|-------------|--|--------|-----------------------------------|
|             |  | M2-Clz | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
| Chimbacalle |  | M1-Cmb | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|             |  | M2-Cmb | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
| Chiriyacu   |  | M1-Cry | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|             |  | M2-Cry | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
| Magdalena   |  | M1-Mgd | Pico negro / fondo<br>negro       |
|             |  | M2-Mgd | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
| Mayorista   |  | M1-Myr | Pico amarillo /<br>fondo negro    |
|             |  | M2-Myr | Pico negro / fondo<br>negro       |
| Mena Dos    |  | M1-Mnd | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|             |  | M2-Mnd | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
| Quito Sur   |  | M1-Qts | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |

|               |           |        |                                   |
|---------------|-----------|--------|-----------------------------------|
|               |           | M2-Qts | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               | Solanda   | M1-Sld | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               |           | M2-Sld | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
| <b>Centro</b> | Arenas    | M1-Arn | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               |           | M2-Arn | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               | América   | M1-Amr | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               |           | M2-Amr | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               | Central   | M1-Cnt | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               |           | M2-Cnt | Pico negro / fondo<br>negro       |
|               | Floresta  | M1-Frt | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               |           | M2-Frt | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|               | San Diego | M1-Sdg | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |

|  |               |        |                                   |
|--|---------------|--------|-----------------------------------|
|  |               | M2-Sdg | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|  | San Francisco | M1-Sfc | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|  |               | M2-Sfc | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|  | San Juan      | M1-Sjn | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|  |               | M2-Sjn | Pico amarillo /<br>fondo amarillo |
|  | San Roque     | M1-Srq | Pico negro / fondo<br>negro       |
|  |               | M2-Srq | Pico negro / fondo<br>negro       |

Tabla 20.

*Resultados Tinción GRAM*

| Zona             | Mercado           | Tinción GRAM |  |
|------------------|-------------------|--------------|--|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | -            |  |
|                  | Control Positivo  | -            |  |
|                  | Control Negativo  | -            |  |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And       | Colonias<br>azules o<br>moradas y<br>rojas |
|                  |                   | M2-And       |  |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt       |  |

|                    |                    |          |  |        |  |
|--------------------|--------------------|----------|--|--------|--|
|                    | Iñaquito           | M2-Cmt   |  |        |  |
|                    |                    | M1-Iñq   |  |        |  |
|                    | J. F. Kennedy      | M2-Iñq   |  |        |  |
|                    |                    | M1-Jfk   |  |        |  |
|                    | Rumiñahui          | M2-Jfk   |  |        |  |
|                    |                    | M1-Rmñ   |  |        |  |
|                    | Santa Clara        | M2-Rmñ   |  |        |  |
|                    |                    | M1-Scl   |  |        |  |
|                    |                    | M2-Scl   |  |        |  |
|                    |                    |          |  |        |  |
|                    | <b>La Delicia</b>  | Carcelén |  | M1-Crc | Colonias<br>azules o<br>moradas y<br>rojas |
|                    |                    |          |  | M2-Crc |  |
| Cotocollao         |                    | M1-Ctc   |  |        |  |
|                    |                    | M2-Ctc   |  |        |  |
| <b>Quitumbe</b>    | Hacienda Ibarra M6 | M1-Hci   | Colonias<br>azules o<br>moradas y<br>rojas |        |  |
|                    |                    | M2-Hci   |  |        |  |
|                    | Las Cuadras M5     | M1-Lcd   |  |        |  |
|                    |                    | M2-Lcd   |  |        |  |
| <b>Eloy Alfaro</b> | Calzado            | M1-Clz   | Colonias<br>azules o<br>moradas y<br>rojas |        |  |
|                    |                    | M2-Clz   |  |        |  |
|                    | Chimbacalle        | M1-Cmb   |  |        |  |
|                    |                    | M2-Cmb   |  |        |  |

|           |               |        |  |        |  |
|-----------|---------------|--------|--|--------|--|
|           | Chiriyacu     | M1-Cry |  |        |  |
|           |               | M2-Cry |  |        |  |
|           | Magdalena     | M1-Mgd |  |        |  |
|           |               | M2-Mgd |  |        |  |
|           | Mayorista     | M1-Myr |  |        |  |
|           |               | M2-Myr |  |        |  |
|           | Mena Dos      | M1-Mnd |  |        |  |
|           |               | M2-Mnd |  |        |  |
|           | Quito Sur     | M1-Qts |  |        |  |
|           |               | M2-Qts |  |        |  |
|           | Solanda       | M1-Sld |  |        |  |
|           |               | M2-Sld |  |        |  |
|           | <b>Centro</b> | Arenas |  | M1-Arn | Colonias<br>azules o<br>moradas y<br>rojas |
|           |               |        |  | M2-Arn |  |
| América   |               | M1-Amr |  |        |  |
|           |               | M2-Amr |  |        |  |
| Central   |               | M1-Cnt |  |        |  |
|           |               | M2-Cnt |  |        |  |
| Floresta  |               | M1-Frt |  |        |  |
|           |               | M2-Frt |  |        |  |
| San Diego |               | M1-Sdg |  |        |  |



|               |        |
|---------------|--------|
|               | M2-Sdg |
| San Francisco | M1-Sfc |
|               | M2-Sfc |
| San Juan      | M1-Sjn |
|               | M2-Sjn |
| San Roque     | M1-Srq |
|               | M2-Srq |

Tabla 21.

*Resultados de la Prueba de Tira para E. coli O157:H7*

| Zona             | Mercado           | Prueba de Tira |                       |
|------------------|-------------------|----------------|-----------------------|
| <b>Controles</b> | Control Blanco    | -              |                       |
|                  | Control Positivo  | Positivo       |                       |
|                  | Control Negativo  | Negativo       |                       |
| <b>Norte</b>     | Andalucía         | M1-And         | Levemente<br>positivo |
|                  |                   | M2-And         |                       |
|                  | Comité del Pueblo | M1-Cmt         | Levemente<br>positivo |
|                  |                   | M2-Cmt         |                       |
|                  | Iñaquito          | M1-Iñq         | Levemente<br>positivo |
|                  |                   | M2-Iñq         |                       |
|                  | J. F. Kennedy     | M1-Jfk         |                       |

|                    |                    |        |                    |
|--------------------|--------------------|--------|--------------------|
|                    |                    | M2-Jfk | Levemente positivo |
|                    | Rumiñahui          | M1-Rmñ | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Rmñ |                    |
|                    | Santa Clara        | M1-Sci | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Sci |                    |
| <b>La Delicia</b>  | Carcelén           | M1-Crc | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Crc |                    |
|                    | Cotocollao         | M1-Ctc | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Ctc |                    |
| <b>Quitumbe</b>    | Hacienda Ibarra M6 | M1-Hci | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Hci |                    |
|                    | Las Cuadras M5     | M1-Lcd | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Lcd |                    |
| <b>Eloy Alfaro</b> | Calzado            | M1-Clz | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Clz |                    |
|                    | Chimbacalle        | M1-Cmb | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Cmb |                    |
|                    | Chiriyacu          | M1-Cry | Levemente positivo |
|                    |                    | M2-Cry |                    |
|                    | Magdalena          | M1-Mgd |                    |

|               |               |        |                      |
|---------------|---------------|--------|----------------------|
|               |               | M2-Mgd | Levemente positivo   |
|               | Mayorista     | M1-Myr | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Myr |                      |
|               | Mena Dos      | M1-Mnd | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Mnd |                      |
|               | Quito Sur     | M1-Qts | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Qts |                      |
|               | Solanda       | M1-Sld | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Sld |                      |
| <b>Centro</b> | Arenas        | M1-Arn | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Arn |                      |
|               | América       | M1-Amr | Fuertemente Positivo |
|               |               | M2-Amr |                      |
|               | Central       | M1-Cnt | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Cnt |                      |
|               | Floresta      | M1-Frt | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Frt |                      |
|               | San Diego     | M1-Sdg | Levemente positivo   |
|               |               | M2-Sdg |                      |
|               | San Francisco | M1-Sfc |                      |

|  |           |        |                    |
|--|-----------|--------|--------------------|
|  |           | M2-Sfc | Levemente positivo |
|  | San Juan  | M1-Sjn | Levemente positivo |
|  |           | M2-Sjn |                    |
|  | San Roque | M1-Srq | Levemente positivo |
|  |           | M2-Srq |                    |

