

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO.



UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA,
MINAS, VETERINARIA Y ECOLOGÍA.

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO.

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE YERSINIA ENTEROCOLÍTICA EN LA
CARNE CRUDA DE CERDO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO EL ARENAL
DE LA CIUDAD DE CUENCA”.**

INVESTIGADOR: ÁNGEL EMANUEL FARFÁN CAJAMARCA.

DIRECTOR: Dr. MARCO ROSERO PEÑAHERRERA, Mg.

HOJA DE RESPONSABILIDAD

Todos los criterios vertidos a lo largo de este trabajo de investigación son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ángel Emanuel Farfán Cajamarca.

HOJA DE APROBACIÓN

DR. MARCO ROSERO PEÑAHERRERA Mg.

CERTIFICA:

Haber dirigido y revisado minuciosamente cada uno de los capítulos del presente trabajo de investigación titulado: **“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE YERSINIA ENTEROCOLÍTICA EN LA CARNE CRUDA DE CERDO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO EL ARENAL DE LA CIUDAD DE CUENCA”**, Realizado por el alumno Ángel Emanuel Farfán Cajamarca, y por haber cumplido los requisitos, autorizo su presentación.

Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg.

Director.

DECLARACIÓN

Yo, Ángel Emanuel Farfán Cajamarca declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

Ángel Emanuel Farfán Cajamarca

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Ángel Emanuel Farfán
Cajamarca bajo mi supervisión.

Dr. Marco Rosero Peñaherrera Mg.

Director.

DEDICATORIA

Dentro de todo el transcurso de mi vida mis padres han dedicado a dar todo de ellos para que yo pueda salir adelante con cada gota de sudor de su frente han logrado sacar a cada hijo adelante hoy dedico este trabajo de graduación a mis padres por haber hecho de mí la persona que soy ahora y siempre aunque no han sabido mucho del trabajo que hacia siempre estaban apoyándome y diciéndome “TODO ES POSIBLE DE LA MANO DE DIOS”.

De manera especial agradezco a mis dos vectores que fueron de vital importancia para lograr y verme ser algo en la vida mi Hermano Julio Farfán y María Farfán ustedes me apoyaron y me empujaron cuando me veía vencido gracias de todo corazón por todo lo que han hecho por mí su sacrificio su esfuerzo su dedicación su trabajo conmigo los amo.

A mis padres Julio Farfán Y María Cajamarca por darme siempre su ejemplo de sus vidas como un reflejo de superación y muestra de coraje para hacer los sueños posibles con cada consejo y cada palabra les agradezco por darme la vida y poder pagarles con frutos los amos mom and dad.

A mi hermano Fernando Farfán por sus oraciones y apoyo de manera especial a mi tío Carlos Farfán Mi tía Rosa Vásquez y mi Tía Zoilita Farfán gracias por estar pendiente de mí siempre sobre el avance de mi investigación los quiero mucho.

A mi querido Dr. Marco Rosero calidad de persona por ayudarme y confiar en mí y soportarme todos los días lo siento mi querido Dr. por tanta insistencia solo no me queda más que agradecerle y desearle éxitos y que Dios siempre lo cuide lo bendiga y lo proteja a lo largo de su vida usted es una persona muy sabia y siempre obtendrá lo que desee gracias y bendiciones.

A mis hermanos a mis tíos, amigos, amigas, que siempre han estado pendiente del avance de este proyecto de investigación dándome ánimos y ayudándome a enfocarme en lo que es la vida.

A mis queridos catedráticos de la Universidad Católica de Cuenca Facultad Medicina Veterinaria, Dra. Mercy Cuenca, por creer en mí y darme fuerzas y apoyarme en realizar esta investigación un agradecimiento especial a la Dra. Tatiana Barriga responsable de la área de laboratorios de la Facultad

Gracias a todos los que me apoyaron a lo largo de esta investigación por estar a mi lado siempre y aunque mi amada Hermana estaba lejos ella fue la que más pendiente estuvo de mí te amo hermanita esta tesis va dedicada a las personas que creyeron en mí y en mis capacidades va para todos ustedes con todo mi cariño.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme sabiduría para realizar este proyecto de graduación guiarme siempre con su santa palabra por el camino del bien y hacer que lo imposible sea posible con fe, gracias Padre Dios Mi hermano Jesús y Nuestra Madre Virgen María por ayudarme y poder realizar no solo mi sueño sino el de toda mi familia Gracias.

Al Ing. Humberto Salamea Carpio Decano de la Facultad de Ingeniería Agronómica, Medicina Veterinaria, Ecología, Minas por brindarme el apoyo y ayuda en el proceso de elaboración del proyecto de graduación en las instalaciones de la facultad y a todos los catedráticos que estuvieron dispuestos ayudar cuando más los necesitaba a todos gracias

ÍNDICE DE CONTENIDO:

Hoja de responsabilidad.....	II
Aprobación.....	III
Declaración	IV
Certificación.....	V
Dedicatoria	VI
Agradecimientos	VII
Índice de contenidos.....	VIII
Lista de figuras	XII
Lista de cuadros	XII
Lista de gráficos	XII
Lista de anexos	XIII
Resumen	XVI
Abstract.....	XVII

Introducción.....	1
Planteamiento del problema	2
Hipótesis	3
Objetivos	4

CAPÍTULO I

1. Antecedentes	5
1.1. Presentación del Paciente.....	5
1.1.1. Comentario final.....	6
1.2. Justificación	7
1.3. Marco teórico.....	8
1.3.1. Proceso de faenamiento en cerdos	8
1.3.1.1. Proceso de recepción.....	8
1.3.1.2. Proceso de corralaje y revisión veterinaria ante morten.....	8
1.3.1.3. Proceso de arreo.....	8
1.3.1.4. Proceso de noqueo.....	8
1.3.1.5. Proceso de alzado.....	8

1.3.1.6. Proceso de sangrado y degüello.....	8
1.3.1.7. Proceso de escaldado y pelado	9
1.3.1.8. Proceso de corte de patas y limpieza animal	9
1.3.1.9. Proceso de flameo	9
1.3.1.10. Proceso de limpieza.....	9
1.3.1.11. Proceso de corte de cabeza.....	9
1.3.1.12. Proceso eviscerado	9
1.3.1.13. Proceso de corte de canal.....	9
1.3.1.14. Proceso de inspección veterinaria post mortem.....	9
1.3.1.15. Proceso de higiene y desinfección	9
1.3.1.16. Proceso de pesado y oreo	9
1.4. Transporte de carne	10
1.5. Consumo de carne de cerdo.....	11
1.6. Principales contaminantes de la carne de cerdo del rastro a su consumo.....	12
1.6.1. Consumo	12
1.7. Principales bacterias encontradas en la carne de cerdo	14
1.7.1. Salmonelosis	14
1.7.2. Shigellosis	14
1.7.3. Criptosporidiosis	15
1.7.4. E Coli 157 H7.....	15
1.8. Estudio de la Yersinia enterocolitica.....	15
1.8.1. Yersinia enterocolitica	16
1.8.1.1. Introducción.....	16
1.8.1.2. Características	17
1.8.1.3. Reservorio.....	18
1.8.1.4. Condiciones de supervivencia	18
1.8.1.5. Patogenia	19
1.8.1.6. Cuadro Clínico.....	19
1.8.1.6.1. Síntomas	20
1.8.1.7. Epidemiología.....	20
1.8.1.8. Prevención	20
1.8.1.9. Asociación con alimentos.....	20
1.8.1.10. Tratamiento	21

CAPÍTULO II

2. Materiales y métodos.....	22
2.1. Materiales	22
2.1.1. Materiales de campo	22
2.1.1.1. Biológicos	22
2.1.2. Materiales de laboratorio.....	22
2.1.2.1. Biológicos.	22
2.1.2.2. Físicos	23
2.1.2.3. Químicos	23
2.2. Ubicación del ensayo	24
2.3. Metodología	25
2.3.1. Factores de estudio	25
2.3.2. Tipo de estudio y diseño general	25
2.3.2.1. Duración del experimento	25
2.3.3. Variables e indicadores	25
2.3.3.1. Variables dependientes	25
2.3.3.2. Variables independientes	25
2.3.3.3. Indicadores	25
2.3.4. Población y muestra	25
2.4. Procedimientos	26
2.4.1. Obtención y recolección de muestras	26
2.5. Técnicas	28
2.5.1 PCR látex.....	28
2.5.1.1. Resumen	28
2.5.1.2. PCR introducción	28
2.5.1.3. Método.....	29
2.5.1.4. Procedimiento de la técnica	29
2.6. Pruebas bioquímicas rápidas	30
2.6.1. Determinación mediante técnica urea	30
2.6.1.1. Definición	30
2.6.1.2. Técnica	30
2.6.1.3. Procedimiento	31
2.7. Determinación mediante técnica ácido úrico	32

2.7.1. Definición	32
2.7.1.1 Técnica	32
2.7.1.2. Procedimiento	32
2.8.Determinacion mediante técnica creatinina.....	33
2.8.1. Definición	33
2.8.2. Técnica	34
2.8.3. Procedimiento	34
2.9. Determinación técnica agar MacConkey	34
2.9.1. Definición	34
2.9.1.1. Técnica	35
2.9.1.2. Siembra	35
2.9.1.3. Incubación	35
2.9.1.4. Procedimiento	35
2.10 Análisis Estadístico	36
2.10.1. Estadística descriptiva	36
2.10.2. Formula ji cuadrada	36
2.10.3. Formulas desarrolladas.....	36
2.10.4. Fórmula para grados de libertad	36

CAPÍTULO III

3. Resultados	37
3.1. Resultados PCR Látex.....	37
3.2. Resultados urea	38
3.3. Resultados creatinina	39
3.4. Resultados ácido úrico.....	41
3.5. Formulas estadísticas y procedimiento de diseño	43
3.5.1. Calculo ji cuadrada	43
3.5.2. Grados de libertad	43

CAPÍTULO IV

4. Conclusiones	45
-----------------------	----

CAPÍTULO V

5. Recomendaciones	47
--------------------------	----

Bibliografía.....	48
-------------------	----

LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Colonia de Yersinia enterocolitica creciendo en agar XLD	15
Figura 2. Representación gráfica de los valores X2 calculado	44

LISTA DE GRAFICOS.

Grafico 1. Ubicación del ensayo.....	24
Grafico 2. Ubicación del laboratorio	24
Grafico 3. Niveles y porcentajes positivos y negativos mediante determinación con la prueba PCR Látex	37
Grafico 4. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de urea en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex	39
Grafico 5. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex	40
Grafico 6. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex	42

LISTA DE CUADROS,

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de Yersinia enterocolitica	16
Cuadro 2. Condiciones de crecimiento de Yersinia enterocolitica.....	19
Cuadro 3. Cuadro clínico del paciente.....	19
Cuadro 4. Cálculo para determinar el tamaño de la muestra	26
Cuadro 5. Técnica urea.....	31
Cuadro 6. Técnica ácido úrico	32
Cuadro 7. Técnica Creatinina.....	34
Cuadro 8. Técnica Agar MacConkey	35
Cuadro 9. Resultados obtenidos de la prueba PCR Látex	37
Cuadro 10. Niveles de intervalos y porcentajes respectivos a partir de los valores de urea en carne cruda de cerdo determinados mediante la prueba PCR Látex	38
Cuadro 11. Niveles y rangos de urea	38

Cuadro 12. Niveles y rangos de creatinina.....	39
Cuadro 13. Niveles de intervalos y porcentajes respectivos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdo determinados mediante la prueba PCR Látex.....	40
Cuadro 14. Niveles y rangos de ácido úrico	41
Cuadro 15. Niveles de intervalos y porcentajes respectivos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdo determinados mediante la prueba PCR Látex.....	41
Cuadro 16. Muestreo de la carne cruda de cerdo que se expende en el mercado el Arenal de la ciudad de cuenca de acuerdo al lugar de venta	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Recursos	50
Anexo 2. Tablas de Resultados y tabulaciones	
Cuadro 17. Tabla de resultados	51
Cuadro 18. Tabla estadística de tabulación de datos	53
Cuadro 19. Numero de intervalos y porcentaje de urea	54
Cuadro 20. Numero de intervalos y porcentaje de creatinina.....	54
Cuadro 21. Numero de intervalos y porcentaje de ácido úrico.....	54
Anexo 3. Presupuesto	
Cuadro 22. Presupuesto invertido.....	55
Anexo 4. Fotografías de investigación	
Figura 3. Compra de la muestra carne en el mercado el Arenal	56
Figura 4. Etiquetado de la muestra para su identificación	56
Figura 5. Cooler para mantenimiento y transporte de muestra	57
Figura 6. Almacenamiento hermético de la muestras.....	57
Figura 7. Transporte al laboratorio de las muestras	58
Figura 8. Mantenimiento de las muestras en refrigeración para no romper la cadena de frio	58
Figura 9. Pesado de la muestra	59
Figura 10. Pesado en gr de la muestra	59
Figura 11. Corte de la muestras.....	60
Figura 12. Preparación para la obtención de suero	60

Figura 13. Frascos estériles para depósito de carne procesada.....	61
Figura 14. Frascos estériles llenados de muestras previamente etiquetadas para su identificación	61
Figura 15. Almacenamiento de muestras procesadas previas a ser Analizadas.....	61
Figura 16. Almacenamiento en refrigeración a menos 2 grados Centígrados.....	62
Figura 17. Tubos de ensayo para depositar sobrenadante	62
Figura 18. Llenado de tubos	63
Figura 19. Sobrenadante llenado en los tubos de ensayo	63
Figura 20. Llenado de los tubos de ensayo con muestras carne procesada	64
Figura 21. Llenado de la centrifuga con las muestras	64
Figura 22. Centrifuga con muestras 2000rpm por 20 minutos.....	65
Figura 23. Obtención de suero puro	65
Figura 24. Llenado de tubo de ensayo con suero con suero puro obtenido de la centrifuga de muestra carne cruda.....	66
Figura 25. Sueros listos para ser analizados	66
Figura 26. Plantilla resultados PCR Látex	67
Figura 27. Reactivo PCR Látex	67
Figura 28. Micro pipeta de puntas desechables de 3 a 50 landas	68
Figura 29. Toma de muestra para depositar en la plantilla PCR Látex	68
Figura 30. Realización de la técnica, homogenizar 2 minutos	69
Figura 31. Resultados primeras muestras	69
Figura 32. Resultados PCR Látex.....	70
Figura 33. Resultados PCR Látex positivos	70
Figura 34. Reactivos pruebas químicas	71
Figura 35. Reactivo urea.....	71
Figura 36. Reactivo creatinina	71
Figura 37. Reactivo ácido úrico	72
Figura 38. Tubos de 3ml para espectrofotómetro medición urea creatinina ácido úrico	72
Figura 39. Incubadora con muestras	72
Figura 40. Espectrofotómetro para medición de urea creatinina y ácido úrico	73

Figura 41. Medición y lectura de resultados de urea creatinina y ácido úrico	73
Figura 42. Siembra de agar MacConkey	74
Figura 43. Mantenimiento en estufa a 37 grados centígrados en 48 horas para la formación de colonias	74
Figura 44. Resultados de agar MacConkey colonias estreptococos negativo para Yersinia enterocolitica.....	74

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca provincia del Azuay con el objeto de determinar la presencia de *Yersinia enterocolitica* en la carne cruda de cerdo que es expendida en dicho mercado, se recolectaron 75 muestras de carne cruda de cerdo de los locales interiores y exteriores, estas muestras fueron procesadas en el laboratorio de la Universidad Católica de Cuenca facultad de Medicina Veterinaria para obtener suero y ser analizadas con la determinación PCR látex, de dichas muestras 72 resultaron negativas y 3 positivas, siguiendo lo propuesto se determinó en pruebas bioquímicas rápidas con análisis de urea, creatinina y ácido úrico tales análisis nos dieron como resultado rangos normales en las 72 muestras y rangos alterados dentro de las 3 que fueron positivas también en PCR, con la prueba complementaria agar MacConkey se procedió a sembrar las 3 muestras problema dando como resultado negativo para *Yersinia enterocolitica* y observando colonias de *Streptococo spp*

El análisis estadístico de ji cuadrada fue determinante al momento de obtener resultados

Palabras clave: Determinar, análisis, recolectar, PCR Látex,

ABSTRACT

This research was conducted in the market the beach of the city of Cuenca Azuay province in order to determine the presence of *Yersinia enterocolitica* in raw pork which is expended in that market, 75 samples of raw pork were collected of interior and exterior rooms, these samples were processed in the laboratory of the Catholic University of basin faculty of Veterinary Medicine to obtain serum and analyzed with latex pcr determination in these samples 72 were negative and 3 positive, following the proposal is were determined in rapid biochemical tests with analysis of creatinine urea and uric acid such analysis we revealed normal ranges in 72 samples and ranges altered within 3 which were also positive in PCR, the complementary test agar MacConkey proceeded to sow the 3 samples problem giving as negative for *Yersinia enterocolitica* and observing colonies of *Streptococci spp*

The chi-square statistical analysis was determining when getting results

Keywords: Identify, analyze, collect, PCR Látex

INTRODUCCIÓN

El parasitismo es la relación entre dos organismos de distinta especie con el cual un parásito vive dentro o en el hospedador lo que puede lastimarlo, el parásito depende metabólicamente del hospedador así la asimilación de nutrientes no sea la adecuada, dando como resultado un rendimiento inapropiado de la producción.

En la actualidad muchos de los parásitos en los animales domésticos originan enfermedades y pérdidas económicas importantes en condiciones de explotación intensiva y extensiva a pesar de las medidas higiénicas y profilácticas que se adopten, cuando estas fallan en las explotaciones crean de forma continua el peligro de una proliferación epidémica de un parásito determinado.

En la parasitosis los animales clínicamente no muestran ningún signo externo de la enfermedad, sin embargo la población parasitaria puede estar lesionando al mismo (D, 2010)

Todos los animales (incluidos los seres humanos) tienen bacterias en su piel y su tracto gastrointestinal, a pesar de que las bacterias pueden no siempre hacer daño al animal en sí, muchas tienen el potencial de causar enfermedades en los humanos.

Durante la matanza y procesamiento, el músculo normalmente estéril (carne) se puede contaminar con bacterias de la piel o intestinos del animal, así como de los trabajadores, los equipos o el medio ambiente.

Una granja porcina típica puede contener más de 2,000 cerdos; mantener los animales encerrados en este tipo de condiciones y alimentarlos con bajos niveles de antibióticos puede propiciar el desarrollo y propagación de las bacterias resistentes a los antibióticos que luego pueden ser transferidas a los humanos, el género Yersinia comprende tres especies patógenas para el ser humano:

- Yersinia enterocolitica, relacionada con la gastroenteritis; Yersiniosis

El reservorio animal principal para Yersinia enterocolitica que causa enfermedad humana son los cerdos y los productos elaborados con carne de cerdo o las vísceras encontrándose en ellos los tipos patógenos de Yersinia enterocolitica. Al no ser una bacteria demasiado exigente y soportar bien las temperaturas bajas, tiene una gran aptitud para invadir la mayoría de productos alimenticios, sobrevivir y multiplicarse en ellos incluso a temperaturas de refrigeración, la escasa recuperación de Yersinia enterocolitica en los productos alimenticios y en materias primas puede tener diversas causas.

Entre ellas se encuentra el nivel de flora acompañante en el producto, la cantidad de Yersinia patógenas y no patógenas presentes en la muestra, la pérdida de factores de virulencia durante las etapas de enriquecimiento y aislamiento; y por último, el método de recuperación, el cual puede permitir el crecimiento de un serotipo de Yersinia enterocolitica patógena en especial pero no para otros serotipos patógenos.

Es por esto que se escogió una técnica de biología molecular como es el PCR Látex que permita detectar fácilmente la *Yersinia enterocolítica* de serotipos patógenos.

Esto hace que indudablemente la presencia de *Yersinia enterocolítica* tenga una prevalencia subestimada tanto en alimentos como en especímenes clínicos.

Las condiciones de faenamiento de este producto permiten la contaminación cruzada convirtiéndose en un vehículo sospechoso de *Yersinia enterocolítica* y uno de los alimentos blanco para este estudio. (Reports, 2013)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La contaminación de la carne cruda de cerdo que se expende en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca, es de gran riesgo para la salud humana, provocando problemas gastrointestinales y envenenamiento gástrico afectando a los seres humanos, especialmente aquellos individuos vulnerables como niños y adultos mayores, aquellos individuos inmunodeprimidos, los cuales se encuentran expuestos a presentar patologías originadas por la contaminación parasitaria en cuestión.

Este riesgo epidemiológico tiene que ser evaluado, corregido y monitorizado por las autoridades de Salud Pública, así como también por otros agentes involucrados en la salud de la población como los médicos veterinarios, las empresas de rastro, el municipio, etc.

HIPOTESIS

Las condiciones higiénico-sanitarias de comercialización de la carne cruda de cerdo que se expende al menudeo en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca, influirían directamente sobre la inocuidad bacteriológica de la misma.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la presencia de *Yersinia Enterocolitica* en la carne cruda de cerdo que se expende en el mercado el Arenal de la ciudad de Cuenca.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Estandarizar la metodología de PCR Látex para la detección de *Yersinia enterocolitica* patógena.
- Establecer datos de referencia de la presencia de *Yersinia enterocolitica* patógena en la carne cruda de cerdo.

CAPITULO I

1. ANTECEDENTES

Yersinia enterocolitica pertenece a una familia de bacterias en forma de varilla. Otras especies de bacterias en esta familia incluyen Yersinia pseudotuberculosis, que causa una enfermedad similar a la Yersinia enterocolitica y Yersinia pestis, que causa la peste, sólo unas pocas cepas de Yersinia enterocolitica causan enfermedades en los seres humanos. El reservorio importante de animales para las cepas de Yersinia enterocolitica que causan enfermedad humana es cerdos, pero otras cepas también se encuentran en muchos otros animales, incluyendo roedores, conejos, ovejas, ganado vacuno, caballos, perros, y gatos.

Yersinia enterocolitica es un cocobacilo Gram negativo de la familia de las enterobacterias con amplia distribución mundial cuyo reservorio natural es una gran variedad de animales, principalmente el cerdo.

La transmisión a los humanos se realiza comúnmente a través de la vía fecal-oral por la ingestión de comida, agua y leche, o ambas, contaminadas. Yersinia enterocolitica coloniza el tubo gastrointestinal y causa, ocasionalmente, una enterocolitis hemorrágica.

Su aislamiento se realiza habitualmente dentro de un cuadro gastrointestinal (enterocolitis, adenitis mesentérica e ileítis terminal) y rara vez produce trastornos extra-intestinales.

Se presenta el caso de una paciente con enterocolitis hemorrágica causada por Yersinia enterocolitica.

1.1. PRESENTACIÓN DEL PACIENTE

Paciente de dos años de edad con antecedentes de salud anterior que acude a consulta al Hospital Pediátrico “Baca Ortiz” presenta un cuadro diarreico agudo (cuatro días de evolución) acompañado de dolor abdominal tipo cólico sin fiebre, las diarreas eran semilíquidas y acompañadas de abundante sangre y flemas, en el examen físico sólo encontramos como dato de interés un dolor difuso durante la palpación del abdomen, sin signos de deshidratación, se indican coprocultivo y medidas generales útiles en casos de diarreas.

Al laboratorio del Hospital llega una muestra de heces fecales frescas semilíquidas y teñidas con sangre del paciente en recipiente estéril, se procede a su revisión y siembra inmediata en medios de cultivos habituales; en días posteriores se procede al aislamiento y a la identificación de un microorganismo infrecuente en nuestro país como causa de diarreas: Yersinia enterocolitica.

El aislamiento se realizó en Agar MacConkey y Agar SS de los que se picaron colonias pequeñas, lactosa negativa, éstas se pasaron a medio de Agar hierro Kligler y las reacciones obtenidas fueron: fermentación de la glucosa y no de lactosa (Kligler rojo y amarillo) sin gas y sin H₂S (sulfuro de hidrógeno), prueba de la oxidasa negativa, luego se procede a realizar otras pruebas bioquímicas para su identificación y aparece, de forma característica, una prueba de movilidad negativa a 37 grados centígrados y positiva a temperatura ambiente con urea positiva y Agar Fenil Alanina negativo, además se realizó prueba de enriquecimiento en frío en la que el microorganismo creció sin dificultad a 4 grados centígrados.

Al paciente se le prescribió tratamiento con ácido nalidíxico y se logró una rápida y completa recuperación.

1.1.2. Comentario final

La infección es más frecuente adquirida por el consumo de alimentos contaminados, especialmente los productos de carne de cerdo crudas o poco cocidas, la preparación de los intestinos de cerdo crudas como el chorizo puede ser particularmente riesgoso, los bebés pueden ser infectados si sus cuidadores manejan chorizos crudos y luego no limpian adecuadamente sus manos antes de tocar al bebé o los juguetes del bebé, botellas o chupetes beber leche no pasteurizada o agua contaminada no tratada también puede transmitir la infección.

De vez en cuando la infección por Yersinia enterocolitica se produce después del contacto con animales infectados, en raras ocasiones puede ser transmitida como un resultado de la bacteria pasa de las heces o dedos sucios de una persona a la boca de otra persona.

Esto puede suceder cuando los hábitos de higiene y lavado de manos básicas son inadecuados, en raras ocasiones, el microorganismo se transmite a través de sangre contaminada durante una transfusión.

Infecciones Yersinia enterocolitica generalmente se diagnostican mediante la detección del organismo en las heces, muchos laboratorios no realizan pruebas de rutina para Yersinia enterocolitica, por lo que es importante notificar al personal de laboratorio cuando se sospeche la infección por esta bacteria por lo que las pruebas especiales se pueden hacer. El organismo también puede ser recuperado de otros sitios, incluyendo la garganta, ganglios linfáticos, líquido articular, orina, bilis, y la sangre.

Si bien el hallazgo de Yersinia enterocolitica como causa de diarrea en niños es común en otros países como EEUU, Canadá y Europa, resulta extremadamente infrecuente en el nuestro, a pesar de realizar su búsqueda activa en varios trabajos, como en el que se investigó la presencia de Yersinia enterocolitica en las heces de 1.300 niños menores de cinco años con enfermedad diarreica aguda y no se obtuvo su aislamiento en ninguno de ellos.

En el Laboratorio de Microbiología del Hospital Pediátrico Baca Ortiz de Quito se ha logrado el aislamiento e identificación, en cuatro ocasiones, de Yersinia enterocolítica procedente de niños con diarrea aguda, los dos últimos con intervalos de tiempos cortos entre ellos, esto nos sugiere que, aunque infrecuente, este microorganismo circula y quizás pueda pasar inadvertido, por lo que se recomienda poner más atención a los agentes aislados de heces que tengan un Agar hierro Kligler (rojo y amarillo) sin gas, sin H₂S y urea positiva. Se debe recordar que algunas de estas cepas son urea positiva, pero débiles y darán positivas después de 24 ó 48 horas.

En la literatura se informa a Yersinia enterocolítica como un patógeno invasivo entérico que tiene como manifestación más frecuente la diarrea aguda, con deposiciones sanguinolentas y con presencia de leucocitos demostrados en análisis de laboratorio, fiebre y dolor abdominal que cursa sin complicaciones y es mucho más frecuente en lactantes y niños pequeños

Se invoca a un mecanismo entero invasivo en la producción de la diarrea por Yersinia enterocolítica, aunque algunas cepas son también productoras de entero toxinas, la infección suele ser auto limitada, con curación en un período de una a tres semanas, aunque la excreción fecal del microorganismo se extiende un poco más.

Como la infección es auto limitada y cursa hacia la curación espontánea, se recomienda sólo el tratamiento sintomático y se reserva la antibioterapia para los casos más graves y complicados. (Dra. R. I. Bermúdez et.al., 2008)

1.2. JUSTIFICACIÓN

La escasa información sobre la presencia de Yersinia enterocolítica en los productos alimenticios en nuestro medio: nos insita a realizar experimentos para confirmar o descartar la presencia de esta bacteria muy patógena mediante los siguientes parámetros.

- El nivel de flora acompañante en el producto.
- La presencia de Yersinia enterocolítica patógena y no patógena presentes en la muestra.
- El método de recuperación, el cual puede permitir el crecimiento de un serotipo de Yersinia enterocolítica patógena en especial, pero no para otros serotipos patógenos. Es por esto que se escogió una técnica de biología molecular como es el PCR Látex que permita detectar fácilmente la Yersinia enterocolítica de serotipos patógenos.

Esto hace que indudablemente la presencia de Yersinia enterocolítica tenga una prevalencia subestimada tanto en alimentos como en especímenes clínicos.

1.3. MARCO TEÓRICO

1.3.1. Proceso de faenamiento en cerdos

1.3.1.1 Proceso de Recepción.

Se recibe a los animales según documentación de guía de movilización emitido por AGROCALIDAD, los animales son identificados, pesados y ubicados en los corrales, para cumplir con las medidas sanitarias de prevención, durante el tiempo que determine la ley.

1.3.1.2. Proceso de Corralaje y Revisión Veterinaria Ante Morten.

Durante este proceso los animales cumplen un tiempo de estancia normado por la ley (mínimo 4 horas) en el que son hidratados y pasan por un proceso de descanso y relajación muscular, tiempo en el que se les realiza control veterinario ante morten.

1.3.1.3. Proceso de Arreo.

Cumplido con los tiempos sanitarios acordados y habiéndose aceptado y cancelado las tasas correspondientes por el servicio de faenamiento.

1.3.1.4. Proceso de Noqueo.

El noqueo del animal es físico mediante la aplicación o uso de una descarga de amperaje, se insensibiliza al animal a ser sacrificado para evitarles sufrimiento a la hora del degüello.

1.3.1.5. Proceso de alzado.

El animal es colgado de los cuartos traseros, en un gancho adherido a un riel para facilitar su movilidad en el proceso de desangrado y posteriores pasos del proceso de faena.

1.3.1.6. Proceso de Sangrado y degüello.

Se aplica un corte en las arterias del cuello del animal (estando boca abajo) para que el animal se desangre, la sangre es recogida en una canaleta especial, para su posterior procesamiento convirtiéndola en harina de sangre.

1.3.1.7. Proceso de Escaldado y Pelado.

Se procede a eliminar el pelaje del animal por medio de la utilización de una tina de agua caliente y la aplicación de maquinaria de pelaje.

1.3.1.8. Proceso de corte de patas y limpieza del animal.

Procedimiento que se realiza al animal para eliminación de patas y somatización del animal.

1.3.1.9. Proceso de Flameo.

Se procede a desprender o eliminar completamente la cerda, pelo, pequeño mediante un método de flameo.

1.3.1.10. Proceso de Limpieza.

Procedimiento en el que se limpia al animal tanto en su parte ventral y dorsal.

1.3.1.11. Proceso de Corte de Cabeza.

Incisión horizontal, y eliminación de cabeza que se realiza por requerimiento del cliente.

1.3.1.12. Proceso de Eviscerado.

Corte de pene, escroto y testículos del animal.

1.3.1.13. Proceso de Corte de canal.

Corte longitudinal de canal de cerdo.

1.3.1.14. Proceso de Inspección Veterinaria Post mortem.

La carne de los animales faenados, son revisados por el veterinario para determinar su integridad orgánica y estado sanitario.

1.3.1.15. Proceso de Higiene y desinfección.

Es la aplicación de agua a presión y o ácido orgánico sobre las superficies corporales, para desinfectar al animal de posibles contaminaciones propias del manipuleo y el eviscerado.

1.3.1.16. Proceso de Pesado y Oreo.

Es la medición de peso del animal en canales y cumplimiento de tiempo pre entrega a clientes del producto. (Rastro, 2013)

1.4. TRANSPORTE DE CARNE

La carne debe ser transportada en carros frigoríficos, los cuales la deben mantener en la temperatura y en las condiciones adecuadas, debido a que podría llenarse de bacterias” (Tapia, 2014)

Los medios de transporte serán diseñados para evitar toda contaminación y asegurar la conservación de la temperatura del producto transportado

Las superficies internas del contenedor deben ser lisas, inoxidable y lavables.

El Servicio de Inspección Veterinaria debe verificar que los contenedores han sido lavados y desinfectados antes de la carga, y que los equipos de enfriamiento están en buen estado de funcionamiento. La cadena de frío no debe interrumpirse bajo ninguna circunstancia, por lo que se aconseja el uso de termo registros que permitan el control de la temperatura durante todo el tiempo que dure el transporte.

Los medios de transporte o los contenedores destinados al transporte de carne, de subproductos y derivados cárnicos comestibles, faenados o procesados en el país o en el exterior, deberán cumplir con las condiciones de estructura, que garanticen una adecuada higiene y refrigeración con un máximo de 10° C para la carne y subproductos cárnicos. (R.P., 2014)

Además la estructura debe permitir un adecuado lavado, desinfección, desagüe y circulación de aire en su interior.

En los viajes de una duración de más de 24 horas, el vehículo deberá contar con un termógrafo que asegure la entrega de un registro, uno de cuyos sensores deberá instalarse en el centro de la carga.

Se prohíbe transportar carne, subproductos y derivados cárnicos comestibles conjuntamente con otros tipos de mercancías que puedan tener efecto perjudicial sobre tales productos.

Así mismo, se prohíbe transportar, en vehículos destinados a movilizar carne, otros productos que puedan dejar residuos dañinos para la carne y que no puedan ser fácilmente eliminados.

Las medias canales o cuartos de canal que no estén congeladas, enfriadas y envasadas adecuadamente, deberán transportarse colgadas de manera que no toquen el piso y las carnes troceadas, los subproductos y derivados cárnicos comestibles en recipientes, bolsas plásticas o bandejas limpias, de superficie lisa, de material inoxidable que permitan un adecuado lavado y desinfección

Los cargadores de carnes, subproductos y derivados cárnicos comestibles, deberán acreditar haber aprobado un curso básico de capacitación en manipulación de alimentos y cumplir, además, con las disposiciones establecidas en el (Artículo

modificado por el D. S. N° 5, publicado en el Diario Oficial de 23 de abril de 2005). (Intranet, 2012)

Los métodos ideados para garantizar la inocuidad de los alimentos siguen una tendencia mundial, basada en sistemas que abarcan la participación de organismos oficiales gubernamentales y los controles efectuados por los operadores, que son los primeros responsables ante los consumidores (A.M., Silvestre A. & Rey, 2011)

1.5. CONSUMO DE CARNE DE CERDO

En Ecuador el consumo por persona de carne de cerdo se ha incrementado en los últimos cinco años y va desplazando a la carne de vacuno y pollo.

De acuerdo a un estudio realizado por la oficina económica y comercial de la embajada de Chile en Quito, la comercialización de dicha carne está generando grandes ingresos al sector y está creciendo a tasas del orden del 10% en el último quinquenio. Hay un desplazamiento del consumo de la carne de vacuno y de pollo, agrega.

Uno de las causas fundamentales para este crecimiento es el nivel de tecnificación de la industria. Sumado al aumento de las importaciones de productos y sub productos derivados del cerdo lo cual se ha traducido en la masificación de locales y sitios de venta de comida donde se consume este tipo de alimentos a nivel nacional, dice el estudio Canal de Distribución Carne de Cerdo en Ecuador, publicado en noviembre del año pasado.

El consumo per cápita en Ecuador es de aproximadamente 10.5 kilos por persona, y el abastecimiento de sub productos como grasa, chuletas, tocinos son importados desde Brasil, Canadá y fundamentalmente de Chile,

Según datos del Censo Porcino 2010 existen cerca de 1.737 granjas porcinas, que se caracterizan por poseer más de cinco madres reproductoras o su equivalente a 20 animales destinados exclusivamente para la comercialización. Además existirían más de 100 mil productores domésticos o denominados de traspatio con una población de 1.4 millones de cerdos. Según estadísticas de la Asociación Nacional de Productores de Cerdo de Ecuador (ASPE) la mayoría de la carne de cerdo es producida por las granjas de traspatio donde por ejemplo para el año 2010 se generaron cerca de 89.000 toneladas. Las granjas tecnificadas alcanzaron una producción de 45.600 toneladas.

Este sector se ha caracterizado por la informalidad, dado que a nivel nacional el 12% de las granjas tienen registros en la autoridad zoosanitaria (AGROCALIDAD), por lo cual los programas de registro a nivel nacional, control de enfermedades y dotación de programas de asistencia técnica y tecnológica apunta a que el sector pueda realizar exportaciones en los próximos años. (Equinoccio, 2014)

1.6. PRINCIPALES CONTAMINANTES DE LA CARNE DEL RASTRO A SU CONSUMO

1.6.1. Consumo

La producción pecuaria tiene el objetivo de proveer los alimentos indispensables para satisfacer la demanda de proteína de origen animal de la población humana.

No sólo es necesario producir la cantidad suficiente sino que es indispensable asegurar que estos productos tengan calidad tanto sensorial como sanitaria, para esto se recomienda que el productor pecuario siga una serie de medidas conocidas como “*Buenas Prácticas Pecuarias*” (BPP), las cuales fomentan el bienestar y salud animal, contribuyendo así a reducir los contaminantes y riesgos zoonos sanitarios en sus productos.

Para asegurar que el consumidor final tenga acceso a carne inocua, es importante que estas buenas prácticas se extiendan a todo el proceso desde el productor primario hasta la oferta del producto en el punto de venta, es decir, es importante cerciorarse de que durante el sacrificio, faenado, almacenamiento, transporte y distribución de este producto se sigan estrictas medidas de control con el fin de evitar la contaminación y proliferación de microorganismos patógenos; en este escrito se describirán los principales contaminantes de la carne del rastro a su consumo así como los puntos críticos de control para evitar la contaminación de la carne.

El proceso de contaminación de la carne en el rastro comienza con la matanza, aún en rastros higiénicos es posible que ocurra contaminación cruzada con las manos y cuchillos contaminados con heces, después del sacrificio, el proceso de faenado teóricamente es un proceso estéril, pero al desarrollarse en un ambiente altamente nutritivo con disponibilidad de agua y pH cercano a la neutralidad se favorece la replicación de un gran número de microorganismos algunos de ellos patógenos.

Entre los resultados observados en los mataderos destaca que en el 37.8% no se realiza inspección ante mortem, en el 55.1% el faenado se realiza a nivel de piso, en el 84.7% no se cuenta con esterilizadores de cuchillos, el 17.9% no cuenta con agua potable; en el 83% no se cuenta con cámara de refrigeración, en el 27.7% no se identifican las vísceras del animal y en el 93% éstas no se refrigeran, además de que el 43.9% no cuenta con vestimenta de trabajo. Aunque generalmente en menos proporción, los resultados también evidencian malas prácticas en rastros por mencionar algunas: en el 19% no se realiza inspección ante mortem, en el 62.9% no se lleva a cabo el bañado de los animales antes del sacrificio, sólo el 23% de los rastros emplean carros específicos para el transporte de las vísceras de la línea de matanza a la sala de revisión, en el 77.9% no se refrigeran las vísceras y en el 87.6% no hay planta de luz en funcionamiento.

Evidentemente, estas condiciones influyen de manera negativa en la calidad sanitaria de la carne, para que un rastro opere de manera adecuada se requiere en primer lugar que cuente con las instalaciones adecuadas y los recursos suficientes agua potable, luz, drenaje, trampas de grasa, etc., además de la capacitación y supervisión constante del personal el cual además debe contar con vestimenta adecuada y exclusiva para el trabajo, de no ser así la exposición de la canal a la ropa y manos de los trabajadores, las superficies de contacto e incluso el ambiente de las zonas de proceso y almacenamiento puede estropear el esfuerzo del productor por ofrecer un producto de calidad.

Con respecto a la importancia de los trabajadores en la contaminación de la canal y en el posterior surgimiento de brotes de ETA's Por otra parte, los rastros y mataderos deben contar con los servicios de un médico veterinario para llevar a cabo la inspección del animal en pie, la cual es de suma importancia para asegurar que los animales descansen antes del sacrificio y detectar animales visiblemente enfermos, este es un punto crítico que permite llevar a cabo una revisión más exhaustiva de esa canal o incluso evitar que ese animal sea destinados al consumo humano.

En las líneas de sacrificio de cerdos, se debe tener especial cuidado en el área de escaldado cuidando que la temperatura del agua no descienda de los niveles recomendados (58-62 °C). El tanque de escaldado debe ser lavado y desinfectado diariamente y se debe evitar la contaminación con sangre y heces, de lo contrario la piel se ensuciará con microorganismos que posteriormente pueden introducirse a la canal durante el corte de la misma.

El no contar con rieles adecuados y realizar el faenado a nivel de piso, o bien colgar las canales muy cerca una de otra, favorece la contaminación de la carne ya que la canal entra en contacto con pelo, piel, patas y sangre, adicionalmente, el proceso de eviscerado debe realizarse con sumo cuidado para evitar que la canal se contamine con contenido estomacal y entérico, leche de la ubre, sangre, semen o bilis, así mismo el eviscerado debe realizarse en la primera media hora después del sacrificio del animal con el fin de evitar que bacterias como Clostridium, salmonellas y otras entero bacterias se distribuyan del intestino hacia la carne

La distribución de las canales debe realizarse en condiciones que aseguren la higiene y el mantenimiento de la temperatura de refrigeración, así mismo, en el punto de venta es indispensable que sean descargadas de manera pronta y expedita y se almacenen en condiciones adecuadas, en caso contrario la carne del mejor animal sacrificado de la manera más higiénica puede ser un riesgo biológico para el consumidor.

La carne y sus subproductos frecuentemente son asociados con brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. En estudios realizados en Estados Unidos reportan que no es posible identificar el agente causal del 60-70% de los brotes y cerca del 50% de los casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's).

Entre los patógenos más comunes asociados al consumo de carne fresca se encuentran Salmonella, Cryptosporidium parvum, Campylobacter, Clostridium spp., E. Coli entero hemorrágica, incluyendo el serotipo O157H7, Yersinia enterocolitica y otros patógenos entéricos. Mientras que Listeria Monocytogenes es uno de los principales contaminantes en los productos cárnicos procesados y listos para consumirse como son las salchichas.

En las ETA's es de suma importancia la posible infección de la población humana con patógenos bacterianos que han desarrollado resistencia antimicrobiana, en algunos casos incluso a múltiples fármacos, lo que evidentemente repercute en el éxito del tratamiento y por ende puede generar complicaciones fatales. A continuación se describirán algunas de las principales ETA's: (Ardoíno, Siegfried G. Müller & Mario A., 2010)

1.7. PRINCIPALES BACTERIAS ENCONTRADOS EN LA CARNE DE CERDO

1.7.1. Salmonella

La salmonelosis es una de las ETA's más comunes en el mundo, puede contraerla cualquier persona pero es más común que la padezcan lactantes y niños.

Generalmente se asocia al consumo de huevo, carne, principalmente de cerdo y pollo y embutidos, y es más común entre mayo y septiembre, los principales reservorios de las salmonellas no tifoideas son los animales, por lo que la detección de casos en humanos implica la presencia endógena de salmonellas en la carne.

Por otra parte, el principal reservorio de la tifoidea es el hombre, cuando se presenta un brote de tifoidea vinculado a un alimento se asume que la contaminación ocurrió de manera exógena cuando el alimento entro en contacto con heces humanas o bien, aguas residuales, hasta el 21 agosto de 2013, se detectaron 29,625 casos de tifoidea.

1.7.2. Shigella

Este género bacteriano generalmente no está asociado a enfermedad en animales de abasto aunque puede estar presente en la flora intestinal de estos animales y llegar a la carne durante el proceso de carnización, el vehículo más importante para la transmisión de esta enfermedad es el agua contaminada con heces humanas y los alimentos expuestos a ésta.

Para dimensionar la importancia de esta enfermedad en nuestro país, se refiere que durante las primeras 33 semanas de 2013 se reportaron 7,459 casos.

1.7.3. Cryptosporidium

Esta se considera una enfermedad emergente y con gran relevancia en la salud pública, el principal agente etiológico es Cryptosporidium parvum, un parásito protozooario presente en el tracto intestinal de los terneros en los cuales puede provocar diarrea, se detectó su presencia en 47%, 17% y 14% en los becerros menores de 4, 5 y 6 meses, respectivamente, procedentes de 5 provincias del país.

Deficiencias en el proceso de faenado pueden favorecer la contaminación de la canal con este microorganismo, adicionalmente las heces puede contaminar el agua y ser un vehículo para la transmisión de la infestación al hombre, en humanos la Criptosporidiosis se caracteriza clínicamente por diarrea acuosa con moco, malestar abdominal, anorexia, náuseas, pérdida de peso, vómitos, aumento de la temperatura corporal y fatiga, en pacientes inmunocomprometidos la enfermedad puede ser grave.

1.7.4. E. Coli O157H7

Escherichia Coli es una bacteria que habita normalmente en el intestino de los animales de sangre caliente, incluyendo al humano, por ser un habitante regular y normal del intestino se usa desde hace un siglo como “el mejor” indicador de contaminación de los alimento con materia fecal (D.E., 2008)

El serotipo O157:H7 pertenece a las E. Coli entero hemorrágicas y entero tóxicas productoras de toxinas parecidas a Shigella, la presentación clínica de la enfermedad en las personas puede ser leve o severa y se caracteriza por diarrea acuosa usualmente con sangre, dolores abdominales severos, náuseas, vómitos, y ocasionalmente fiebre, la colitis hemorrágica puede derivar en una falla aguda del riñón o en síndrome urémico hemolítico en el 5 % de los infectados, el cual puede derivar en la muerte. (Humara, 2013)

1.8. ESTUDIO DE LA YERSINIA ENTEROLITICA

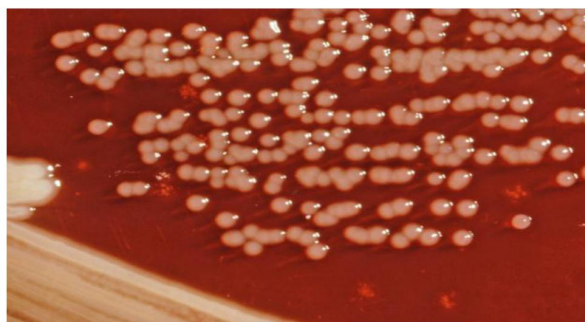


Figura 1. Colonias de Yersinia enterocolitica creciendo en una placa de agar XLD

Fuente: Wikipedia 2014

Cuadro 1. Clasificación científica de Yersinia enterocolitica spp

Clasificación científica:	
Reino:	Bacteria
Filo:	Proteo bacteria
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	Yersinia
Especie:	Yersinia. enterocolitica

Fuente: (Schleifstein & Coleman 1939)

Elaborado por: Ángel Farfán

- Yersinia es un género de bacterias ampliamente distribuida en animales y medio ambiente que puede causar Yersiniosis por consumo de alimentos contaminados.
- Bacteria psicótropa, que se multiplica a temperaturas de refrigeración.
- Las especies más importantes asociada al consumo de alimentos contaminados y mayormente causante de yersiniosis son principalmente Yersinia enterocolitica y posteriormente Yersinia pseudotuberculosis.
- Yersinia enterocolitica se puede transmitir a las personas a través del consumo de alimentos contaminados tanto en origen como en proceso por falta de higiene e inadecuadas prácticas de cocinado y conservación.

1.8.1 Yersinia Enterocolitica

1.8.1.1 Introducción

Yersinia enterocolitica es una de las tres especies del género Yersinia identificadas como patógenas para el hombre. Yersinia enterocolitica causa principalmente una gastroenteritis, mientras que Yersinia pseudotuberculosis está relacionada principalmente con la adenitis mesentérica, por lo que se refiere a su impacto social, ambas especies resultan pálidas en cuanto a insignificancia en comparación con Yersinia pestis, responsable de la peste bubónica que se calcula que mató a un 25% de la población europea en el siglo XIV.

El género Yersinia ha sido denominado así en memoria del bacteriológico francés Alexandre Yersinia quien, en 1894, describió por primera vez el organismo responsable de la peste bubónica, fue creado para encuadrar a los antiguos representantes del género Pasteurella que eran claramente representantes de las Enterobacteriaceae, en 1964, la comparación de Enterocoliticum con varios aislamientos íntimamente relacionados, identificados por otros investigadores como Pasteurella spp., llevó a Frederiksen a proponer la creación de la especie nueva Yersinia enterocolitica, dentro del género ha tenido lugar una nueva definición con la creación de siete especies nuevas a partir de cepas patógenas descritas

anteriormente como, parecidas a Yersinia enterocolítica, las más comúnmente aisladas en los alimentos, Yersinia frederiksenii, Yersinia intermedia, Yersinia kristensenii, Yersinia mollaretii y Yersinia bercovierii se pueden diferenciar fácilmente de Yersinia enterocolítica en base a unas pocas pruebas bioquímicas.

La importancia de Yersinia enterocolítica como causa de enfermedad transmitida por alimentos varía en cada uno de los países, en Inglaterra y en el país de Gales, las denuncias de los laboratorios acerca de infecciones por Yersinia enterocolítica, en su mayor parte brotes esporádicos, aumentaron de 45 en 1980 a más de 590 en 1989, año en el que superaron en número a los casos de intoxicación alimentaria tanto por Staph. Aureus como por Bacillus. Si bien es posible que el aumento refleje simplemente el perfeccionamiento de los métodos de detección y denuncia, durante el mismo tiempo se observó un aumento mucho menor en las denuncias de infecciones por Yersinia pseudotuberculosis. Esta última especie se detecta por los mismos métodos y esto hace pensar que las cifras indican un aumento real de su incidencia

1.8.1.2. Características.

La Yersinia enterocolítica es un representante de las Enterobacteriaceae, es un bacilo asporógeno, corto (0'5- 1'0 por 1-2 .m.m), Gram negativo, anaerobio facultativo, catalasa positivo y oxidasa negativo, es capaz de crecer dentro de una amplia escala de temperaturas, desde -1°C hasta +40°C, con un crecimiento óptimo en torno a 29°C y posee varias características fenotípicas dependientes de la temperatura, es inmóvil a 37°C pero móvil por medio de flagelos peritricos a temperaturas inferiores a 30°C, de igual modo que otros organismos psicótrofos, si bien es capaz de crecer a temperaturas de refrigeración, lo hace lentamente y se ha averiguado que a 3°C tarda 4 días para aumentar en 2 ciclos logarítmicos en los medios de caldo.

Es termo sensible pero con considerable variación de unas especies a otras; los valores de determinados en leche entera a 62'8°C han variado desde 0'7 hasta 57'6 segundos.

El crecimiento óptimo tiene lugar a un pH de 7-8 con un mínimo (en caldo a 25°C) que varía entre 5'1 y 4'1 dependiendo del acidulante utilizado. A medida que disminuye la temperatura, en igual medida aumenta al pH mínimo de crecimiento. Su crecimiento es posible en los medios de caldo que contienen un 5% de sal pero no en los que contienen un 7%, a 3°C o a 25°C.

La Yersinia enterocolítica se puede aislar en una serie de procedencias ambientales entre las que se incluyen el suelo, el agua dulce y el tracto intestinal de muchos animales, los estudios realizados han encontrado el organismo en numerosos alimentos entre los que se incluyen la leche y productos lácteos, las carnes especialmente de cerdo, las canales de las aves de corral, el pescado y el marisco, las frutas y hortalizas.

Casi todos los aislamientos procedentes de alimentos son a patógenos y se conocen como cepas ambientales, la especie se puede subdividir mediante biotipado, serotipado y fagotipado y parece ser que la patogenicidad sólo está asociada con determinados tipos, cada uno de ellos con una distribución geográfica concreta, en Europa, en Canadá, en Japón y en África de Sur, la yersiniosis humana está causada muy frecuentemente por el biotipo 4, serotipo O3 (4/O3) y, en menor grado, en Europa y en Japón por el bio serotipo 2/O9. Las cepas del bio serotipo de Europa, de Canadá y de África de Sur se pueden diferenciar mediante biotipado. En los Estados Unidos, el bio serotipo 1/O8 causa muy corrientemente la Yersiniosis humana aunque en este país se encuentra una gama más amplia de serotipos, por ejemplo los serotipos O13a, O13b y O5.

Han sido descritas varias técnicas distintas de biotipado y de serotipado que pretenden diferenciar las cepas patógenas de las ambientales de Yersinia enterocolitica con relativa sencillez y por esta razón se hallan más dentro de las posibilidades de los laboratorios habituales, estas técnicas comprenden la capacidad de las cepas patógenas para auto aglutinarse a 37°C, su dependencia del calcio para crecer a 37°C, y su capacidad para captar el colorante rojo congo, propiedades que habitualmente están asociadas a la presencia del plásmido de virulencia de 40-48 MDa.

Estas pruebas no son totalmente fiables debido a varios inconvenientes, por ejemplo, la expresión del fenotipo codificado por plásmidos en los cultivos, la existencia de cepas atípicas y la posibilidad de la pérdida de plásmidos durante el aislamiento, a este respecto, es posible que ofrezca algunas ventajas una prueba que sirve para investigar la actividad de la pirazinamidasa (Moran, 2009).

1.8.1.3. Reservorio.

El reservorio principal de Yersinia enterocolitica es el cerdo, y, en consecuencia, se convierte en el principal vehículo de transmisión al ser humano, a través de la carne de cerdo y derivados crudos o insuficientemente cocinados.

Por otra parte, Yersinia pseudotuberculosis ha sido aislada en otras especies animales ganado vacuno, caprino y ovino, animales salvajes jabalís, ciervos, y otros animales ratas, conejos, ardillas, en muchas especies de aves y en aguas no desinfectadas.

Yersinia no forma parte de la flora bacteriana humana.

1.8.1.4. Condiciones de supervivencia.

Se trata de enterobacterias psicótrofas, es decir, que crecen a temperaturas bajas de refrigeración < 4°C y también pueden crecer en envases al vacío. Permanecen viables a temperatura de congelación, por lo que sobreviven en alimentos congelados durante largos periodos de tiempo, estas bacterias persisten

más en los alimentos cocinados y platos preparados listos para su consumo que en los alimentos crudos, debido a la mayor disponibilidad de nutrientes.

Yersinia enterocolitica y Yersinia pseudotuberculosis toleran muy bien las condiciones de pH alcalino, en comparación con las condiciones ácidas (Bernal, 2012).

Cuadro 2: Condiciones de crecimiento de Yersinia enterocolitica

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	- 1 °C	25-32 °C	42 °C
PH	4	7,6	10
Actividad del agua	0,95	0,997	----

Elaborado por: Ángel Farfán

1.8.1.5. Patogenia.

Hasta hace poco tiempo esta enfermedad no podía ser reproducida en los animales de laboratorio, sin embargo, ciertas cepas son virulentas en ratones.

La Yersinia enterocolitica invade la mucosa intestinal donde se multiplican causando una reacción inflamatoria, produciendo un cuadro de diarrea e invadiendo en algún caso los ganglios mesentéricos produciendo adenitis supurada.

Los mecanismos moleculares de patogenicidad han sido muy estudiados y son de enorme complejidad, la codificación de las proteínas involucradas en la patogenicidad adhesinas e invasinas, es para algunas plasmídica y para otra cromosómica, su expresión es variable y está regulada por la temperatura y la concentración de calcio, estas bacterias poseen factores anti complementarios y anti fagocitarios

Aunque en diversas infecciones causadas por patógenos primarios como el estreptococo del grupo A, M. tuberculosis, las clamidias y otros, se producen fenómenos patológicos tardíos de base inmunitaria como artritis reactiva, iritis, uretritis y otros, alguno de los cuales se dan mayoritariamente en personas con determinados grupos de HLA; estos fenómenos reactivos son particularmente frecuentes tras las infecciones por Yersinia.

El diagnóstico depende del aislamiento y la identificación del microorganismo. El serodiagnóstico está limitado por el gran número de serotipos

1.8.1.6. Cuadro clínico.

Cuadro 3. Cuadro clínico del paciente

Enfermedad	Yersiniosis
Agente causal	Yersinia enterocolitica
Período de incubación	24-36 horas o mayor duración

Elaborado por: Ángel Farfán

1.8.1.6.1. Síntomas.

Dolor abdominal que hace pensar en una apendicitis aguda, fiebre, cefalalgia, malestar, anorexia, diarrea, vómitos, náuseas, escalofríos, faringitis, leucocitosis, eritema nodoso especialmente en mujeres, linfangitis mesentérica, dolor articulares.

- **Alimentos implicados:** Carne de cerdo y otras carnes, leche fresca o cualquier crudo o sobrante contaminado.
- **Medidas de control:** Cocer los alimentos totalmente, evitar que los alimentos se contaminen, lucha contra roedores y aves de corral.
- **Personas susceptibles:** Lactantes y ancianos.

1.8.1.7. Epidemiología.

La Yersiniosis es más corriente en los climas más fríos de la Europa septentrional, especialmente en Bélgica, y en América del Norte donde han sido denunciados varios brotes importantes, también muestra una gran variación estacional diferente a la de la mayoría de los demás organismos patógenos transmitidos por alimentos, alcanzándose el máximo de los casos denunciados en invierno.

La transmisión de persona a persona por mecanismo directo no parece posible pero sí lo es por indirecto pues se han observado pequeños brotes epidémicos en personal hospitalario, este tipo de contaminación oral fecal parece el principal en ambas especies.

1.8.1.8. Prevención.

Al haber grandes lagunas en la epidemiología no existe una profilaxis general o específica válida, la educación sanitaria, medidas higiénicas en general y rotura de la vía fecal oral son las medidas preventivas inespecíficas adecuadas para evitar estos procesos.

1.8.1.9. Asociación con alimentos.

Se admite que los cerdos son portadores crónicos de los serotipos de Yersinia enterocolítica más comúnmente implicados en las infecciones humanas.

El organismo puede ser aislado con mucha frecuencia en la lengua, en las tonsilas, en el intestino y en el ciego de animales por otra parte aparentemente sanos, a pesar de esto, se ha demostrado que la carne de cerdo sólo ha sido accidentalmente el vehículo de la Yersiniosis, aunque un estudio del control de los casos en Bélgica, país que tiene la incidencia más elevada de Yersiniosis, implicó una preferencia nacional por el consumo de carne de cerdo cruda.

Algunos brotes de Yersiniosis han sido causados por leche contaminada incluyendo el más importante que hasta ahora ha sido registrado que tuvo lugar en 1982 en los Estados Unidos, en este caso se implicó a los cerdos como fuente

originaria de la contaminación pero no se demostró que fueran portadores de los mismos serotipos O13 que habían causado la infección. Se supuso que el organismo había pasado a los cerdos, por medio del tarquín, a los recipientes que se utilizaban para transportar la leche de desperdicio desde la lechería a la granja de cerdos. los recipientes eran devueltos a la lechería y eran lavados y desinfectados insuficientemente antes de utilizarlos de nuevo para transportar leche que era vendida al por menor, como consecuencia, la parte externa de los envases se contaminó con *Yersinia enterocolítica* que fue transmitida a la leche al abrirlas y vaciarlos, posteriormente, se demostró que el organismo implicado era capaz de sobrevivir durante por lo menos 21 días en la parte externa de los envases de cartón que contenían la leche mantenidos a 4°C.

Han sido propuestos varios procedimientos para el control de la yersiniosis que generalmente son parecidos a los propuestos en el control de otras infecciones zoonóticas, por ejemplo de la *Salmonelosis*.

Estos procedimientos comprenden la producción y cría de animales exentos de organismos patógenos, objetivo que es posible que en la práctica sea inalcanzable, y los sistemas higiénicos de transporte y sacrificio de los animales.

La investigación realizada en Dinamarca sobre la contaminación de productos derivados de la carne de cerdo con *Yersinia enterocolítica* ha identificado a la evisceración y a las incisiones que se practican durante la inspección de la carne como puntos críticos de control y también ha demostrado que la extirpación de la lengua y las tonsillas como operación separada reduce significativamente la contaminación de otros órganos internos.

1.8.1.10. Tratamiento.

No existe acuerdo respecto a la eficacia de la terapéutica antimicrobiana en la enteritis o adenitis mesentérica, que son enfermedades auto limitadas. En la enteritis debe cuidarse la rehidratación, en los casos graves pueden administrarse tetraciclinas o cotrimoxazol en niños, las formas septicémicas deben tratarse con gentamicina o cloranfenicol.

En general son sensibles in vitro a ampicilina, aminoglicósidos, sulfamidas, pero la sensibilidad varía de unas cepas a otras por lo que es necesaria la realización del antibiograma, se han encontrado cepas de *Yersinia enterocolítica* productoras de beta lacta masas.

El valor del tratamiento antibiótico en los cuadros de enterocolitis no está claramente establecido. (Ibtrasancos, 2011)

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. MATERIALES:

2.1.1. Materiales de campo.

- 75 Cajas plásticas para recolección de muestras
- 1 Caja de guantes
- 1 Mandil
- 1 Tijera
- 1 Ficha de registro
- 1 Cámara fotográfica
- 2 Marcador permanente
- 2 Cooler
- 1 Licuadora
- 100 Fundas herméticas con cierre
- 2 Esfero
- 2 Lápiz de cera
- 2 Frascos de licuadora pequeños

2.1.1.2. Biológicos

- 75 Muestras de carne cruda 250 gr

2.1.2. Materiales de laboratorio

2.1.2.1. Biológicos

- 75 Muestras de carne 60 gr
- 1 Galón de agua destilada
- 75 Muestras de suero obtenido de la carne

2.1.2.2. Físicos

- 1 Microscopio
- 1 Espectrofotómetro
- 1 Centrifuga
- 1 Estufa
- 1 Balanza Electrónica
- 1 Platillo de vidrio
- 1 Probeta de 100ml
- 100 Tubos de ensayo 10ml
- 75 Tubos de ensayo de 5ml
- 1 Pipetas automáticas con puntas desechables
- 2 Pipetas de 1ml
- 3 Vasos de precipitación
- 3 Cajas Petri
- 2 Mechero
- 1 Baño María
- 2 Papel toalla
- 2 Espátula
- 100 Jeringas de 10ml
- 1 Marcador permanente
- 2 Caja para resultados de PCR
- 1000 Puntas para micro pipeta desechables
- 1 caja 200 unidades palillos desechables
- 1 Funda de detergente
- 2 Cepillos de limpieza
- 1 Estropajo
- 1 Esponja

2.1.2.3. Químicos

- PCR
- Determinación reactivo UREA
- Determinación reactivo ACIDO URICO
- Determinación reactivo CREATININA
- Determinación por cultivo agar MacConkey

2.2. UBICACIÓN DEL ENSAYO.

La presente investigación, se llevó a cabo en dos lugares geográficos: el primero corresponde al lugar de donde se extrajeron las muestras de carne de cerdo; es decir, el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay, ubicado al sur de la ciudad en las calles Av. de las Américas y Av. Amazonas, de acuerdo a las siguientes coordenadas: Longitud 2°53'53" de longitud sur y 79°1'38" de latitud oeste.

Gráfico 1. Ubicación del ensayo



Fuente: Google maps

El segundo lugar geográfico en donde se llevaron a cabo los exámenes de laboratorio para determinar la presencia bacteriana en las carnes de cerdo, fue el laboratorio de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Católica de Cuenca, ubicado en la avenida Panamericana Norte km 2 ½ a 6km del centro histórico de la ciudad de Cuenca Altitud 2.550 msnm

Gráfico.2. Ubicación de los laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca Facultad Medicina Veterinaria.



Fuente: Google maps

2.3. METODOLOGÍA.

2.3.1. Factores de estudio

El factor de estudio fueron 75 muestras de carne cruda de cerdo provenientes del mercado el arenal de la ciudad de Cuenca, sometidas a pruebas laboratoriales de PCR para determinar la presencia de la bacteria *Yersinia enterocolitica*.

2.3.2. Tipo de estudio y diseño general

La presente es una investigación cuantitativa, observacional y descriptiva para determinar la presencia de la bacteria *Yersinia enterocolitica* en carne de cruda de cerdo, expendida en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca.

2.3.2.1. Duración del experimento.-

La presente investigación tuvo una duración de 60 días (fechas)

2.3.3. Variables e indicadores

2.3.3.1. Variable dependiente.

- Incidencia de bacteriosis.
- Sistemas de faenamiento.
- Condiciones higiénico-sanitarias de expendio.

2.3.3.2. Variable independiente.

Muestras de carne cruda de cerdo

2.3.3.3. Indicadores.

Determinación de la presencia de la bacteria *Yersinia enterocolitica* en la carne cruda de cerdo mediante la prueba laboratoriales de PCR Látex

2.3.4. Población y muestra

Para determinar la población total de cerdos comercializados en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca, se estimó la información recibida por los

comerciantes de carne de cerdo del mercado en mención, consideraron datos del expendio en un lapso de 4 meses y se estimó la población en 450 cerdos comercializados en ese lapso de tiempo.

Tomando en consideración este dato, se procedió a calcular la muestra de la siguiente manera:

Se tomó como base de cálculo la matriz de tamaños muestrales para diversos márgenes de error y niveles de confianza, al estimar una proporción en poblaciones finitas, a partir de un tamaño del universo de 450, con una probabilidad de ocurrencia del 0,05, con un nivel de confianza del 97%, con un valor de z de 2,17 y un error máximo de estimación del 5%, dando como resultado un tamaño de la muestra de 75. La fórmula empleada para el cálculo fue la siguiente:

Cuadro 4. Tamaño de la muestra calculo

N [tamaño del universo]	450
-------------------------	-----

p [probabilidad de ocurrencia]	0,05
--------------------------------	------

Nivel de Confianza (alfa)	1-alfa/2	z (1-alfa/2)
90%	0,05	1,64
95%	0,025	1,96
97%	0,015	2,17
99%	0,005	2,58

Matriz de Tamaños muestrales para un universo de 450 con una p de 0,05										
Nivel de Confianza	d [error máximo de estimación]									
	10,0%	9,0%	8,0%	7,0%	6,0%	5,0%	4,0%	3,0%	2,0%	1,0%
90%	12	15	19	25	33	46	68	108	187	333
95%	18	21	27	34	46	63	91	140	227	361
97%	21	26	32	41	55	75	107	160	249	375
99%	30	36	45	56	73	99	137	197	287	394

Elaborado por: Dr. Marco Rosero

2.4. PROCEDIMIENTOS

2.4.1. Obtención y recolección de muestras.

Para la recolección de muestras se presentó los oficios pertinentes para la realización de este proyecto investigativo

Se procedió a comprar la carne en los establecimientos de venta de carne cruda de cerdo en el mercado el arenal de la ciudad de cuenca se compraron 75 libras de carne las cuales serían nuestras muestras la compra se realizó en varios días obteniendo grupos de muestras para el trabajo

Para el almacenamiento de la carne una vez comprada se procede inmediatamente a guardar la carne en fundas herméticas y previamente enumeradas y etiquetadas con fecha y número de muestra, inmediatamente en un cooler con hielo se deposita las muestras para no romper la cadena de frío de vital importancia para esta determinación.

Después de la recolección de muestras son transportadas al laboratorio para su inmediato procesamiento con el objetivo de obtener suero para realizar las técnicas y análisis previstos en esta investigación.

Una vez en el laboratorio se procede cuidadosamente a procesar las muestras

Para el procedimiento general sin perder el protocolo de asepsia y no romper la cadena de frío cuidadosamente se sacan las muestras de forma correcta y en orden se utiliza una balanza para pesar 60gr de carne y 40ml de agua destilada se deposita en un vaso de licuadora y se licua aproximadamente dos minutos el contenido es depositado en frascos completamente estériles los cuales están previamente etiquetados con número de muestra, fecha y su contenido son cerrados y depositados en refrigeración a una temperatura de menos 2 grados centígrados para su conservación.

El tiempo de reposo es aproximadamente 24 horas luego de esto se utiliza tubos de ensayo en los cuales se enumeran y se pone el sobrenadante de la mezcla entre la carne y el agua destilada en otros tubos también enumerados se deposita la carne que dio del resultado de la mezcla, se llena aproximadamente 8ml del tubo y se los lleva a la centrifuga por 20 minutos a 2500 rpm el residuo que se obtiene después de la centrifugación, se lo deposita en los tubos que anteriormente se colocó el sobrenadante hasta conseguir una cantidad en volumen de 3ml por tubo, una vez obtenido este volumen se procede a centrifugar ahora el líquido sobrenadante que se depositó en los primeros tubos, se realiza el mismo tiempo con la misma velocidad 20 minutos por 2500 rpm obteniendo así suero puro.

Inmediatamente estas muestras son analizadas por etapas el resto de tubos con suero puro son almacenados en refrigeración con el mismo protocolo no romper la cadena de frío y mantener a menos 2 grados centígrados.

2.5. TÉCNICAS

2.5.1. PCR Látex

Método de Evaluación relacionado con el uso de aglutinación de látex para la detección de proteína C reactiva

2.5.1.1. Resumen

Se evaluó un método de aglutinación con látex para la detección de proteína C reactiva (PCR-Látex, spin react) Se procesaron en paralelo 75 sueros obtenidos de carne de cerdo de los cuales había la sospecha de encontrar la presencia de inflamación causado por la bacteria *Yersinia enterocolitica* El análisis estadístico incluyó la determinación de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo VPP, valor predictivo negativo VPN y límites de detección. Los resultados obtenidos de sensibilidad: 97,8 %; especificidad: 98,0 %; VPP: 97,8 %; VPN: 98,0 %, con un límite de detección de 6 mg/L, pueden considerarse satisfactorios, lo que permite contar con un procedimiento sencillo, rápido y eficiente que no requiere de un equipamiento especial.

2.5.1.2. PCR Introducción.

La proteína C reactiva PCR reactante de fase aguda sintetizada en el hígado se encuentra presente en el suero de animales sanos y su concentración plasmática aumenta significativamente en respuesta a diferentes tipos de estímulos, tales como infecciones, irritantes químicos, temperaturas extremas, irradiación, cirugía, trauma, presencia de bacteria, neoplasias malignas y otras condiciones inflamatorias.

Se ha reportado que la PCR interactúa con el sistema inmunitario modulando la respuesta inmune contra un gran número de agentes extraños al organismo.

Niveles elevados de PCR representan un sensible marcador inespecífico de la respuesta inflamatoria aguda y desempeñan un papel importante en el desarrollo y evolución del fenómeno mencionado, la sensibilidad y especificidad de los ensayos disponibles en la actualidad para la detección de la PCR es significativa y depende de la metodología empleada, en algunos casos complejos y costosos. Resulta importante disponer de procedimientos sencillos y eficientes; en nuestro trabajo se

evaluó un método para la detección de PCR basado en la aglutinación con látex PCR-Látex, Spinreact (Lehninger, 2010)

2.5.1.3. Método.

Se estudiaron 75 muestras de carne cruda de cerdo provenientes del mercado el Arenal de la ciudad de Cuenca, las cuales fueron previamente procesadas obteniendo suero con sospecha de procesos inflamatorios agudos e infecciones. Las muestras y los sueros se conservaron a -2 °C hasta su uso sin romper la cadena de frío.

El método PCR-látex producido en el laboratorio de la Universidad Católica de Cuenca en la Facultad de Medicina Veterinaria, está basado en la aglutinación en láminas porta-objetos de partículas de látex recubiertas de anticuerpos anti PCR de suero animal. La PCR presente en el suero problema reacciona con las partículas de látex sensibilizadas provocando una aglutinación macroscópica detectable a simple vista.

La PCR presente en la muestra – problema se une con partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti PCR animal provocando un aumento de la turbidez en la mezcla de reacción con un cambio en la absorbancia, proporcionales a la concentración de PCR. El empleo de una solución de concentración conocida permite determinar el contenido de PCR en la muestra.

2.5.1.4. Procedimiento de la técnica.

Una vez obtenido el suero de las muestras se procede a la determinación de PCR

Se colocan en la caja las muestras de suero con una micro pipeta de 50 landas calibrada para 25 landas que se requiere tanto de suero problema como del reactivo PCR Spinreact

Después de colocar las 25 landas de suero y 25 landas de reactivo PCR procedemos a mezclar con palillos desechables para homogenizar el suero con el reactivo luego de esto se dan movimientos delicados a la placa porta objetos durante

dos minutos para que exista mayor homogeneidad, transcurrido este tiempo se observa si hay aglutinación en las muestras o no, lo cual es macroscópicamente visible.

2.6 PRUEBAS BIOQUÍMICAS RÁPIDAS.

Las pruebas bioquímicas rápidas consisten en distintos test químicos a medios biológicos las cuales conocida su reacción nos permite identificar distintos microorganismos presentes, su sistema de funcionamiento generalmente consiste en determinar la actividad de una vía metabólica a partir de sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no (J.W. Baynes & M.H. Dominiczak, 2008)

2.6.1 Determinación mediante técnica Urea

2.6.1.1 Definición.

El test de la urea, mide la cantidad (concentración) de urea o nitrógeno ureico presente en la sangre.

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas, se forma en el hígado a partir de la destrucción de las proteínas, durante la digestión las proteínas son separadas en aminoácidos, estos contienen nitrógeno que se libera como ión amonio, y el resto de la molécula se utiliza para generar energía en las células y tejidos, el amonio se une a pequeñas moléculas para producir urea, la cual aparece en la sangre y es eliminada por la orina, si el riñón no funciona bien la urea se acumula en la sangre y se eleva su concentración (Morgan, 2011)

2.6.1.2 Técnica.

➤ Pipetear en una cubeta:

Cuadro 5. Técnica Urea

	Blanco	Standard	Muestra
R1(ml)	1,0	1,0	1,0
Patrón µL		25	
Muestra µL			25
R2(ml)	1,0	1,0	1,0

Fuente: Manual Spinreact 2014

Mezclar y añadir:

➤ Mezclar e incubar 15 minutos a 37°C.

2.6.1.3 Procedimiento.

Para la realización de este test utilizamos

- Dos pipetas de 1ml una para el R1 y otra para el R2
- Tubos de ensayo de 5ml
- Gradillas
- Micro pipeta con puntas desechables
- Reactivo UREA Spinreact
- Espectrofotómetro
- Incubadora

Se procede a utilizar dos cubetas o tubos de ensayo, en este caso para utilizarlos como blanco y estándar para la lectura de todas las muestras en el espectrofotómetro, en el blanco que es la primera cubeta se procede a pipetear 1ml de reactivo R1 y en la segunda cubeta que es el estándar se procede a pipetear 1ml Reactivo R1 y con la micro pipeta se adhiere 25 landas del patrón y al final se coloca en ambas cubetas 1ml de Reactivo R2

En las 75 muestras a ser analizadas se pipetea 1ml por muestra de reactivo R1

Inmediatamente se adhiere 25 landas de suero o muestra y al final se agrega 1ml de reactivo R2

Una vez listas todas las muestras se introducen en la incubadora incluida el blanco y el estándar por 15 minutos a 37 grados centígrados, pasado este tiempo se procede a la lectura en el espectrofotómetro haciendo una lectura rápida y muy efectiva.

Nota: El tiempo debe ser exacto

2.7. DETERMINACIÓN MEDIANTE TÉCNICA ÁCIDO ÚRICO.

2.7.1. Definición.

El ácido úrico es un químico creado cuando el cuerpo descompone sustancias llamadas purinas, las cuales se encuentran en algunos alimentos

La mayor parte del ácido úrico se disuelve en la sangre y viaja a los riñones, desde donde sale a través de la orina, si el cuerpo produce demasiado ácido úrico o no lo elimina lo suficiente, el animal se puede enfermar, los altos niveles de ácido úrico en el cuerpo se denominan hiperuricemia.

Este examen se hace para ver qué tanto ácido úrico se obtiene en la sangre (Bautista, 2009)

2.7.2. Técnica.

➤ Pipetear en una cubeta:

Cuadro.6 Técnica ácido úrico

	Blanco	Estándar	Muestra
R1(ml)	1,0	1,0	1,0
Patrón µL		25	
Muestra µL			25

Fuente: Manual Spinreact 2014

➤ Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C a 10 min. 15-25°C

2.7.3. Procedimiento.

Para la realización de este test utilizamos

- Pipeta de 1ml
- Tubos de ensayo de 5ml
- Gradillas
- Micro pipeta con puntas desechables
- Reactivo ÁCIDO ÚRICO Spinreact
- Espectrofotómetro
- Incubadora

Se procede a utilizar dos cubetas o tubos de ensayo en este caso para utilizarlos como blanco y estándar para la lectura de todas las muestras en el espectrofotómetro, en el blanco que es la primera cubeta se procede a pipetear 1ml de reactivo R1 y en la segunda cubeta que es el estándar se procede a pipetear 1ml Reactivo R1 y con la micro pipeta se adhiere 25 landas del patrón

En las 75 muestras a ser analizadas se pipetea 1ml por muestra de reactivo R1 Inmediatamente se adhiere 25 landas de suero o muestra

Una vez listas todas las muestras se introducen en la incubadora incluida el blanco y estándar por 5 minutos a 37 grados centígrados, pasado este tiempo se procede a la lectura en el espectrofotómetro haciendo una lectura rápida y muy efectiva.

Nota: El tiempo debe ser exacto

2.8. DETERMINACIÓN DE LA TÉCNICA DE CREATININA.

2.8.1. Definición.

La creatinina es un subproducto químico de la creatina. La creatina es un químico producido por el cuerpo y que se utiliza para proporcionarle energía principalmente a los músculos.

Este examen se realiza para ver qué tan bien funcionan los riñones, la creatinina es eliminada del cuerpo completamente por estos órganos, si la función renal es anormal, los niveles de creatinina se incrementan en la sangre, debido a que se elimina menos creatinina a través de la orina.

Los niveles de creatinina también varían de acuerdo con la talla y la masa muscular (Triviño, 2008)

2.8.2. Técnica.

➤ Pipetear en una cubeta:

Cuadro 7. Técnica Creatinina

	Blanco	Estándar	Muestra
RT(ml)	1,0	1,0	1,0
Patrón µL		100	
Muestra µL			100

Fuente: Manual Spinreact 2014

- **Mezclar y poner en marcha el cronómetro.**
- **Leer la absorbancia (A1) al cabo de 30 segundos y al cabo de 90 segundos (A2) de la adición de la muestra.**
- **Calcular: $A = A2 - A1$.**

2.8.3. Procedimiento.

Para la realización de este test utilizamos

- Pipeta de 1ml
- Tubos de ensayo de 5ml
- Gradillas
- Micro pipeta con puntas desechables
- Reactivo CREATININA Spinreact
- Espectrofotómetro

2.9. DETERMINACIÓN AGAR MacConkey.

2.9.1. Definición.

El Agar MacConkey es un medio de cultivo específico para bacterias Gram negativas y cepas que fermenten la lactosa, este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos, permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo (De la Maza, et.al. , 2009) De la Maza, et.al.) 2004

2.9.2. Técnica.

Cuadro 8. Técnica Agar MacConkey

Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Peptona	17.0	Suspender 50 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar suavemente y hervir 1 a 2 minutos hasta disolver. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
Pluripeptona	3.0	
Lactosa	10.0	
Mezcla de sales biliares	1.5	
Cloruro de sodio	5.0	
Agar	13.5	
Rojo neutro	0.03	
Cristal violeta	0.001	
pH final: 7.1 ± 0.2		

Elaborado por: Ángel Farfán

2.9.3. Siembra. Utilizando la técnica de Pour Plate: sembrar 1 ml de muestra y agregar aproximadamente 15 ml de medio de cultivo fundido y enfriado a 45-50 °C.

2.9.4. Incubación. Durante 18-48 horas, a 35-37 °C, en atmósfera aeróbica

2.9.5. Procedimiento. Para la realización de este test utilizamos

- Agares preparados
- Caja Petri
- Agar MacConkey
- Mechero
- Estufa

Una vez preparado los agares se procede a la siembra en un ambiente silencioso y exento de ruido se enciende el mechero y la asa de siembra se la calienta en la flama en total silencio, con la asa previamente estéril se introduce en el suero de destapa el borde de la caja Petri y se siembra por estrías inmediatamente se las deposita en la estufa a 37 grados centígrados por 48 horas pasado ese tiempo se observa los resultados.

2.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

2.10.1. Estadística descriptiva.

En el presente ensayo se utilizó la estadística descriptiva, mediante el cálculo de medidas de tendencia central, intervalos, rangos, porcentajes, gráficos de barra y cálculo de Ji cuadrada.

2.10.2. Fórmula Ji Cuadrada.

$$x^2 = \sum \frac{(oi - ei)^2}{ei}$$

2.10.3. Fórmula desarrollada.

$$X^2 = (O_1 - e_1)^2 / e_1 + (O_2 - e_2)^2 / e_2 + \dots (O_n - e_n)^2 / e_n$$

$$oi = 10 \text{ Frecuencia observada}$$

$$ei = 10 \text{ Frecuencia esperada}$$

2.10.4. Fórmula para los grados de libertad.

$$N^{\circ} \text{ g de l} = (c-1) (h-1)$$

De donde:

C= columnas

H= hileras

G de l = grados de libertad que se ven en las tablas de Ji cuadrada

CAPITULO 3

3. RESULTADOS.

De acuerdo a las pruebas laboratoriales establecidas para determinar la presencia de la bacteria *Yersinia enterocolitica* en carne cruda de cerdo expendida en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca, se han obtenido los siguientes resultados:

3.1. RESULTADOS PCR LATEX.

Cuadro 9. Resultados obtenidos de la prueba PCR Látex

	positivo		negativo		total	porcentaje
	No. positivo	% positivo	No. Negativo	%Negativo		
PCR	3	4	72	96	75	100

Fuente: Dr. Marco Rosero

De acuerdo al cuadro anterior, se puede determinar que mediante el análisis de la prueba de PCR para establecer la presencia de la bacteria *Yersinia enterocolitica* en carne cruda de cerdo, existen 72 pruebas negativas de un total de 75 tomadas, dando un porcentaje de casos negativos del 96%. El número de casos positivos que asciende a 3 muestras y que representan el 4% del total muestreado, pertenecen a la presencia de otros tipos de bacterias. Por lo tanto se puede advertir que de acuerdo a los resultados globales, el porcentaje de casos negativos para determinación exclusiva de *Yersinia enterocolitica* en carne cruda de cerdo que se expende en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca es del 100%.

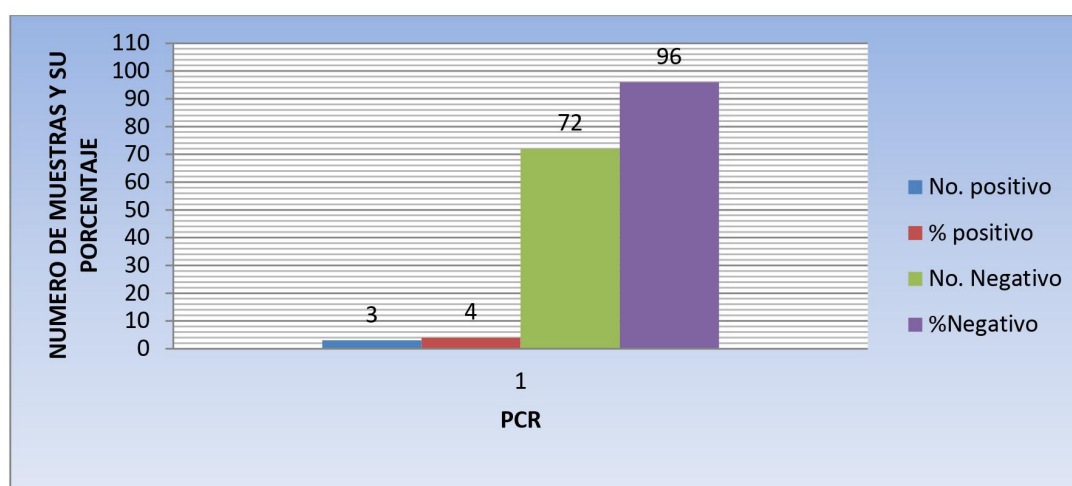


Gráfico 3. Niveles y porcentajes de casos positivos y negativos mediante la determinación con la prueba de PCR

Elaborado por: Ángel Farfán

En el gráfico que antecede, se observa la distribución de los casos estudiados con su representación en barras, se indica que no existen casos positivos para *Yersinia enterocolitica*. Sin embargo se advierten 3 casos positivos para la presencia de otro tipo de bacterias presentes en la carne cruda de cerdos.

3.2. RESULTADOS DE UREA.

Cuadro 10. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de urea en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex

NIVELES DE UREA	NI	PORCENTAJE
0,047 - 0,098	3	4,00
0,097 - 0,149	26	34,67
0,148 - 0,200	24	32,00
0,200 - 0,250	11	14,67
0,250 - 0,301	7	9,33
0,301 - 0,352	4	5,33
TOTAL	75	100,00

Elaborado por: Ángel Farfán

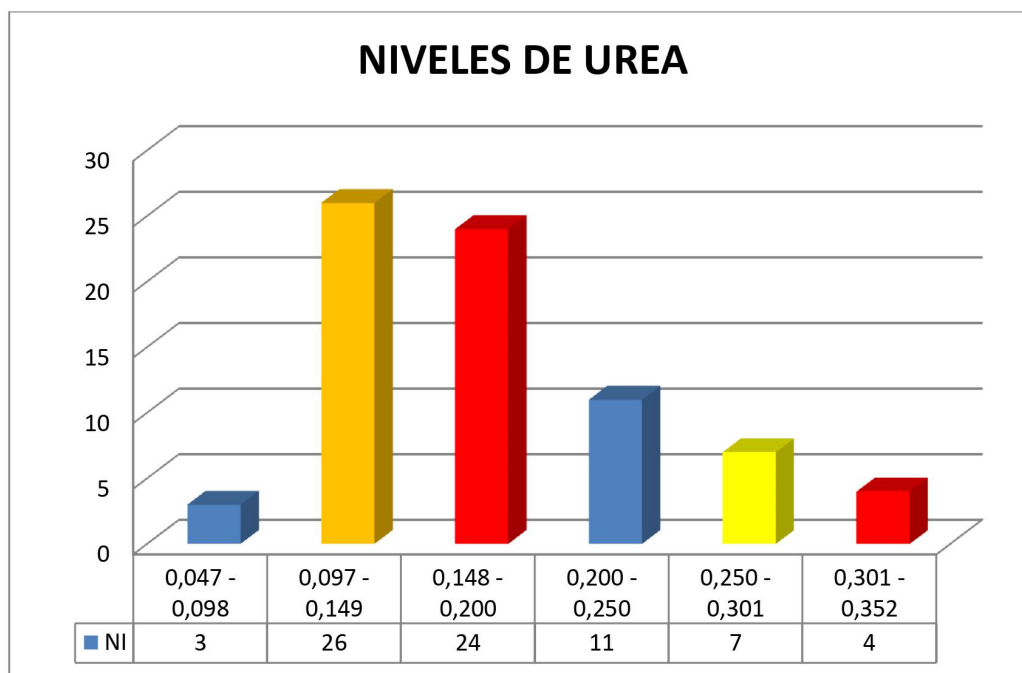
En el cuadro número 10 se puede apreciar los niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de úrea en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex, los mismos que están determinados a partir del límite superior con un valor de 0,353 y el límite inferior con un valor de 0,048, estableciéndose 6 intervalos con un rango de 0,0508.

Cuadro 11. Niveles y rangos de urea

Columna1	Columna2
INTERVALOS	6
LIMITE SUPERIOR	0,353
LIMITE INFERIOR	0,048
	0,305
RANGO	0,0508

Elaborado por: Ángel Farfán

Gráfico 4. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de urea en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex



Elaborado por: Ángel Farfán

En el gráfico número 4, se observa la distribución de los intervalos a partir de los valores de urea en carne cruda de cerdos, establecidos mediante la prueba de PCR Látex. Se puede apreciar que existen 6 intervalos de clase. De aquí se desprende que existen 3 muestras con valores de urea entre 0,047 y 0,098, 26 muestras con valores de urea entre 0,097 y 0,149, 24 muestras entre 0,148 y 0,200. El cuarto intervalo señala que existen 11 muestras con valores de urea entre 0,200 y 0,250. un quinto rango con 7 muestras con valores entre 0,250 y 0,301 y el último rango con 4 muestras entre los valores de 0,301 y 0,352.

3.3. RESULTADOS CREATININA.

Cuadro 12. Niveles y rangos de creatinina

Columna1	Columna2
INTERVALOS	6
LIMITE SUPERIOR	12,71
LIMITE INFERIOR	2,10
	10,61
RANGO	1,77

Elaborado por: Ángel Farfán

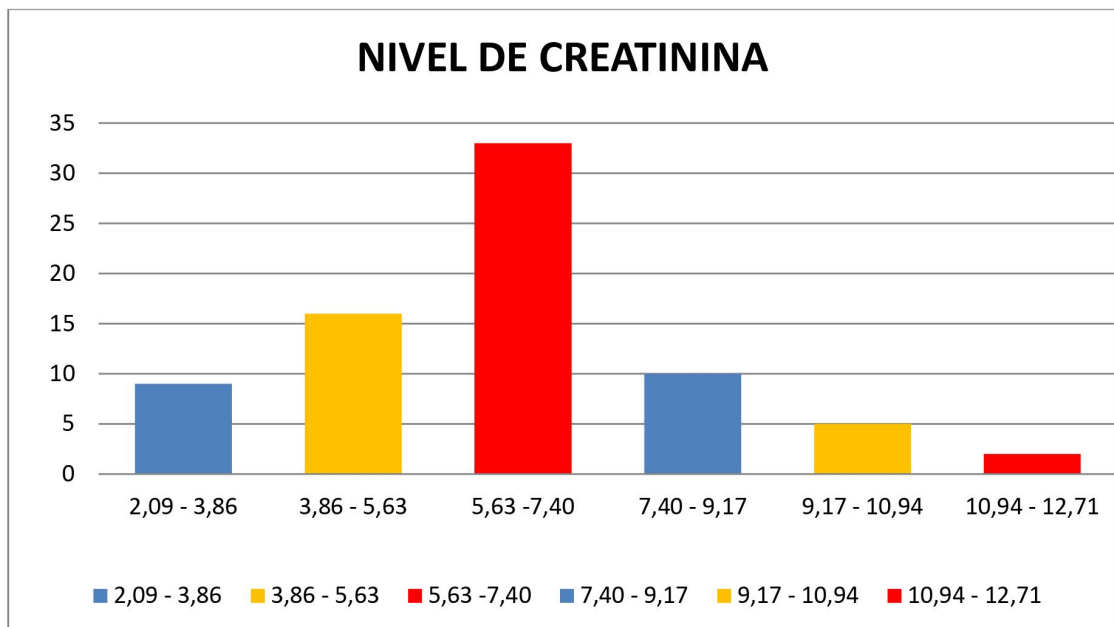
Cuadro 13. Número de Intervalos Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex

CREATININA	NI	PORCENTAJE
2,09 - 3,86	9	12,00
3,86 - 5,63	16	21,33
5,63 - 7,40	33	44,00
7,40 - 9,17	10	13,33
9,17 - 10,94	5	6,67
10,94 - 12,71	2	2,67
	75	100,00

Elaborado por: Ángel Farfán

En el cuadro número 3 se puede apreciar los niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex, los mismos que están determinados a partir del límite superior con un valor de 12,71 y el límite inferior con un valor de 2,10, estableciéndose 6 intervalos con un rango de 1,77.

Gráfico 5. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex



Elaborado por: Ángel Farfán

En el gráfico número 5, se observa la distribución de los intervalos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdos, establecidos mediante la prueba

de PCR Látex. Se puede apreciar que existen 6 intervalos de clase. De aquí se desprende que existen 9 muestras con valores de creatinina entre 2,09 y 3,86, 16 muestras con valores de creatinina entre 3,86 y 5,63, 33 muestras entre 5,63 y 7,40. El cuarto intervalo señala que existen 10 muestras con valores de creatinina entre 7,40 y 9,17, un quinto rango con 5 muestras con valores entre 9,17 y 10,94 y el último rango con 2 muestras entre los valores de 10,94 y 12,71

3.4. RESULTADOS ÁCIDO ÚRICO.

Cuadro 14. Niveles y Rangos ácido úrico

Columna1	Columna2
INTERVALOS	6
LIMITE SUPERIOR	0,182
LIMITE INFERIOR	0,001
	0,181
RANGO	0,030

Elaborado por: Ángel Farfán

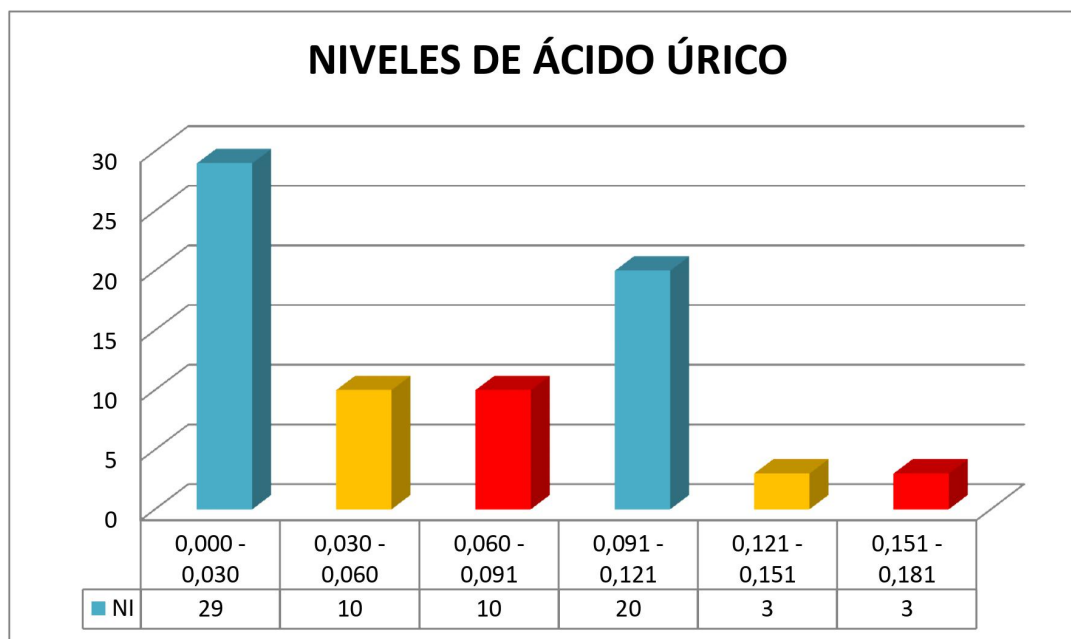
Cuadro 15. Numero de intervalos, Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex

ACIDO URICO	NI	PORCENTAJE
0,000 - 0,030	29	38,67
0,030 - 0,060	10	13,33
0,060 - 0,091	10	13,33
0,091 - 0,121	20	26,67
0,121 - 0,151	3	4,00
0,151 - 0,181	3	4,00
	75	100,00

Elaborado por: Ángel Farfán.

En el cuadro número 4 se puede apreciar los niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex, los mismos que están determinados a partir del límite superior con un valor de 0,182 y el límite inferior con un valor de 0,001, estableciéndose 6 intervalos con un rango de 0,030.

Gráfico 6. Niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex.



Elaborado por: Ángel Farfán.

En el gráfico número 6, se observa la distribución de los intervalos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdos, establecidos mediante la prueba de PCR Látex. Se puede apreciar que existen 6 intervalos de clase. De aquí se desprende que existen 29 muestras con valores de ácido úrico entre 0,00 y 0,030, 10 muestras con valores de ácido úrico entre 0,030 y 0,060, 10 muestras entre 0,060 y 0,091. El cuarto intervalo señala que existen 20 muestras con valores de ácido úrico entre 0,091 y 0,121, un quinto rango con 3 muestras con valores entre 0,121 y 0,151 y el último rango con 3 muestras entre los valores de 0,151 y 0,181.

Cuadro 16. Muestreos de la carne de cerdo cruda que se expenden en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca, de acuerdo al lugar de venta.

Lugar de venta de la carne de cerdo	Primer muestreo	Segundo muestreo	Tercer muestreo	Total
Locales interiores	10	23,33	16,67	50
Locales exteriores	5	11,67	8,33	25

Elaborado por: Ángel Farfán

Total 75

3.5. FÓRMULAS ESTADÍSTICAS Y PROCEDIMIENTOS DEL DISEÑO.

- Primer muestreo $(15 \times 50 / 75) = 10 - (15 \times 25 / 75) = 5$
- Segundo muestreo $(35 \times 50 / 75) = 23,33 - (35 \times 25 / 75) = 11,60$
- Tercer muestreo $(25 \times 50 / 75) = 16,67 - (22 \times 25 / 75) = 8,33$

3.5.1. Calculo ji cuadrada.

$$\chi^2 = \sum \frac{(oi - ei)^2}{ei}$$

$oi = 10$ Frecuencia observada

$ei = 10$ Frecuencia esperada

$$\chi^2 = \frac{(10 - 10)^2}{10} + \frac{(5 - 5)^2}{5} + \frac{(20 - 23,33)^2}{23,33} + \frac{(15 - 11,67)^2}{11,67} + \frac{(20 - 16,67)^2}{16,67} + \frac{(5 - 8,33)^2}{8,33}$$

$$\chi^2 = 0 + 0 + \frac{11,08}{23,33} + \frac{11,08}{11,67} + \frac{11,08}{16,67} + \frac{11,08}{8,33}$$

$$\chi^2 = 0,47 + 0,94 + 0,66 + 1,33$$

$$\chi^2 = 3,4$$

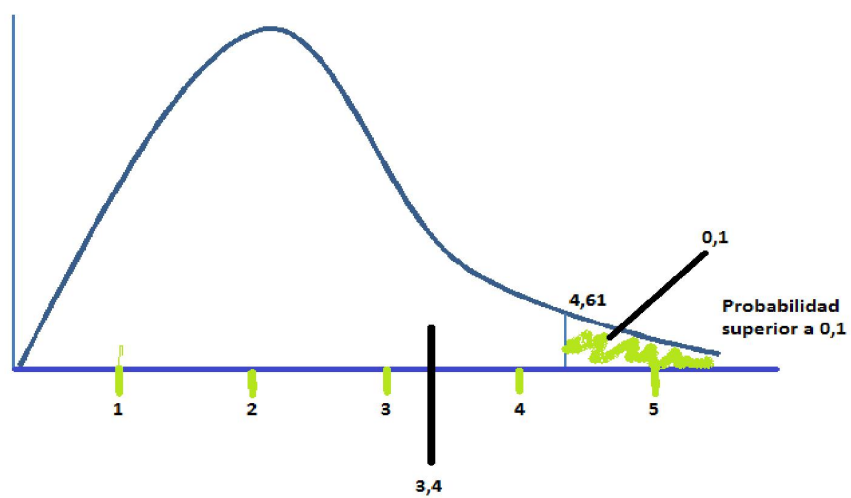
3.5.2. Grados de libertad.

$$gl = (2 - 1) + (3 - 1) = 2$$

$$alfa = 0,1 = 4,61$$

Vemos que 3,4 se encuentra a la izquierda de 4,61 la probabilidad asociada a valores inferiores a 3,41 es menos que alfa 0,1 (4,61), por lo tanto no existe significancia estadística.

Figura 2. Representación gráfica de los valores de χ^2 calculado



Elaborado por: Ángel Farfán.

CAPITULO 4

4. CONCLUSIONES.

1. Mediante el análisis de la prueba de PCR para establecer la presencia de la bacteria *Yersinia enterocolitica* en carne cruda de cerdo, existen 72 pruebas negativas de un total de 75 tomadas, dando un porcentaje de casos negativos del 96%. El número de casos positivos que asciende a 3 muestras y que representan el 4% del total muestreado, pertenecen a la presencia de *Estreptococos*. Por lo tanto se puede advertir que de acuerdo a los resultados globales, el porcentaje de casos negativos para determinación exclusiva de *Yersinia enterocolitica* en carne cruda de cerdo que se expende en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca es del 100%.
2. Los niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de urea en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex, están determinados a partir del límite superior con un valor de 0,353 y el límite inferior con un valor de 0,048, estableciéndose 6 intervalos con un rango de 0,0508.
3. En cuanto a los niveles de intervalo y porcentajes respectivos a partir de los valores de creatinina en carne cruda de cerdo, determinados mediante la prueba de PCR Látex, están determinados a partir del límite superior con un valor de 12,71 y el límite inferior con un valor de 2,10, estableciéndose 6 intervalos con un rango de 1,77.
4. De acuerdo a la distribución de los intervalos a partir de los valores de ácido úrico en carne cruda de cerdos, establecidos mediante la prueba de PCR Látex se concluye que existen 6 intervalos de clase. De aquí se desprende que existen 29 muestras con valores de ácido úrico entre 0,00 y 0,030, 10 muestras con valores de ácido úrico entre 0,030 y 0,060, 10 muestras entre 0,060 y 0,091. El cuarto intervalo señala que existen 20 muestras con valores de ácido úrico entre 0,091 y 0,121, un quinto rango con 3 muestras con valores entre 0,121 y 0,151 y el último rango con 3 muestras entre los valores de 0,151 y 0,181.
5. De acuerdo a las pruebas estadísticas de Ji cuadrada se concluye que el valor calculado de 3,4 se encuentra a la izquierda de 4,61 y que por lo tanto la

probabilidad asociada a valores inferiores a 3,41 es menor que alfa 0,1 (4,61), por lo tanto no existe significancia estadística.

CAPITULO 5

5. RECOMENDACIONES.

1. Evaluar sistemáticamente el uso de nuevas técnicas de diagnóstico para determinar la posible presencia de *Yersinia enterocolítica* en carne de cerdo, tomando en cuenta otras variables como sistema de faenamiento, transporte de la carne hacia los centros de expendio, tiempo de permanencia de la carne en los lugares de venta al menudeo, condiciones higiénico-sanitarias de expendio y de otros factores intrínsecos de la actividad porcícola en general.
2. Desarrollar investigaciones de inocuidad de carne de cerdo y otro tipo de carnes para el consumo humano, tomando muestras de carne con dependencia anatómica y porcentaje de grasa incluida en la muestra.
3. Investigar el efecto económico que produciría el decomiso de carne de cerdo contaminada que pudiera ser comercializada en los centros de abasto de la ciudad de Cuenca.
4. Hacer conciencia que el consumo de carne involucra muchos factores que tiene que ver con Salud Pública y que las condiciones de inocuidad no solo depende del control de las instituciones de salud, de rastro o de control sanitario, sino también de las exigencias de calidad por parte del consumidor directo de estos productos.

BIBLIOGRAFÍA.

- De la Maza, et.al. . 2009.** *Color Atlas of Medical Bacteriology*. Washington, D.C : ASM Press, 2009.
- A.M., Silvestre A. & Rey. 2011.** *Comer sin riesgos tomo II*. Buenos Aires : Hemisferios, 2011.
- Ardoíno, Siegfried G. Müller & Mario A. 2010.** *Tecnología de carnes*. Argentina : Acrubia, 2010.
- Bautista, Dra. Blanca. 2009.** *Nutrición Animal*. Quito : Edinsa, 2009.
- Bernal, Carlos Esteban. 2012.** *Temas de bacteriología y Virología médica*. Colombia : Fefmur, 2012.
- D.E., Conner. 2008.** *Growth and survival of E. coli O157:H7*. Ny : Coprinsat, 2008.
- Dra. Rosa I. Bermúdez et.al. . 2008.** *Acta Médica del Centro, Vol. 2, No. 2,; Presentación de una paciente*. Ecuador : s.n., 2008.
- Equinoccio, Radio. 2014.** <http://www.radioequinoccio.com/>.
<http://www.radioequinoccio.com/inicio/item/4392-cada-ecuatoriano-consume-105-kilos-de-carne-de-cerdo.html>. [En línea] 8 de 1 de 2014.
- Humara, M. en C. MVZ Lucía del Carmen Favila. 2013.** *Principales contaminantes de la carne de cerdo*. s.l. : CENID Microbiología Animal, INIFAP, 2013.
- Ibtrasancos. 2011.** <http://html.rincondelvago.com/>. <http://html.rincondelvago.com/yersinia-enterocolitica.html>. [En línea] 2011.
- Intranet. 2012.** <http://intranet.uach.cl>.
<http://intranet.uach.cl/dw/canales/repositorio/archivos/28/2939.pdf>. [En línea] 2012.
- J.W. Baynes & M.H. Dominiczak. 2008.** *Bioquímica Veterinaria*. Cuba : Harper, 2008.
- Lehninger. 2010.** *Bioquímica*. Brasil : Sarvier, 2010.
- Melesndez, Doris. 2010.** Determinación de la incidencia de *Stephanurus dentatus* en cerdos faenados en el camal municipal de la parroquia san Juan . [aut. libro] Doris Melendez. *Determinación de la incidencia de Stephanurus dentatus en cerdos faenados en el camal municipal de la parroquia san Juan* . Babahoyo : s.n., 2010.
- Moran, Luis. 2009.** *Bacterias* . Chile : Proxed, 2009.
- Morgan, McDonald Edward Greenhalgh. 2011.** *Nutrición Animal*. Argentina : Acribia, 2011.
- R.P., Novick. 2014.** *Comisión del Codex Alimentarios*. Chile : Development, 2014.
- Rastro, Empresa de faenamiento y. 2013.** <http://www.epmrq.gob.ec/>.
<http://www.epmrq.gob.ec/index.php/servicios/faenamiento/faenamiento-porcinos>. [En línea] epmrq, 2013.

Reports, Consumer. 2013. <http://salud.univision.com/es/alimentaci%C3%B3n-saludable/hallan-bacteria-resistente-en-carne-de-cerdo>. *univisionreports.com*. [En línea] 8 de 1 de 2013.

Tapia, Francisco. 2014. Transporte de carne debe hacerse en mejores condiciones. 2014.

Triviño, Jesus Armando. 2008. *Bioquímica tomo II*. Chile : Dchile editoria, 2008.

ANEXO 1

RECURSOS

Económicos:

Lo referente a los recursos económicos consta en el Anexo N°3 Titulado: EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE YERSINIA ENTEROCOLITICA EN LA CARNE CRUDA DE CERDO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO EL ARENAL DE LA CIUDAD DE CUENCA

Humano:

Responsable: Ángel Emanuel Farfán Cajamarca.

Director de tesis: Marco Antonio Rosero Peñaherrera.

Bibliográficos:

Se utilizaron datos informativos de internet, libros y folletos actuales relacionados con Bacteriología, Inspección de Carnes y Catastros, Laboratorio Clínico.

ANEXO 2

Cuadro 17. Tabla de resultados

Nro. Muestra	PCR	UREA	CREATININA	ACIDO URICO
1	N -	0,123	5,9	0,014
2	N -	0,126	6,9	0,006
3	N -	0,191	3,6	0,005
4	N -	0,129	6,8	0,006
5	N -	0,176	2,1	0,019
6	N -	0,188	5,9	0,012
7	N -	0,184	3,7	0,01
8	N -	0,171	4,6	0,006
9	N -	0,156	4,9	0,012
10	N -	0,126	9,3	0,014
11	N -	0,269	2,6	0,128
12	N -	0,256	3,9	0,05
13	N -	0,233	3,1	0,018
14	N -	0,187	5,3	0,032
15	N -	0,153	4,7	0,09
16	N -	0,140	3,5	0,08
17	N -	0,155	4,2	0,009
18	N -	0,176	5,8	0,045
19	N -	0,217	6,5	0,033
20	N -	0,318	4,4	0,037
21	N -	0,280	5,7	0,034
22	N -	0,272	5,5	0,043
23	N -	0,133	5,3	0,028
24	N -	0,236	4,4	0,032
25	N -	0,217	4,7	0,018
26	N -	0,301	3,8	0,016
27	N -	0,307	7,1	0,019
28	N -	0,282	5,4	0,013
29	N -	0,231	6	0,015
30	N -	0,321	6,3	0,012
31	N -	0,123	6,84	0,07
32	N -	0,136	6,14	0,008
33	N -	0,232	7,46	0,108
34	N -	0,353	6,43	0,06
35	N -	0,192	6,97	0,054
36	P +	0,048	12,71	0,153
37	N -	0,195	8,63	0,007
38	P +	0,053	10,87	0,108
39	P +	0,056	12,21	0,165
40	N -	0,192	2,29	0,098
41	N -	0,179	6,6	0,103
42	N -	0,146	9,9	0,019
43	N -	0,155	7,02	0,011
44	N -	0,154	8,48	0,113
45	N -	0,182	6,48	0,111
46	N -	0,123	9,2	0,113
47	N -	0,213	7,31	0,13
48	N -	0,263	9,65	0,108
49	N -	0,117	8,87	0,09
50	N -	0,187	9,1	0,098
51	N -	0,172	6,9	0,012
52	N -	0,165	5,95	0,104
53	N -	0,13	8,82	0,001
54	N -	0,143	6,9	0,012
55	N -	0,197	5,02	0,087
56	N -	0,193	7,65	0,081
57	N -	0,119	5,65	0,017
58	N -	0,104	6,48	0,063
59	N -	0,133	6,75	0,107
60	N -	0,109	5,3	0,104
61	N -	0,231	4,48	0,107
62	N -	0,127	6,78	0,117
63	N -	0,187	7,16	0,112
64	N -	0,201	6,88	0,104
65	N -	0,145	7,77	0,129
66	N -	0,128	6,75	0,023

67	N -	0,113	6,88	0,089
68	N -	0,119	4,54	0,111
69	N -	0,191	5,76	0,099
70	N -	0,202	3,77	0,076
71	N -	0,121	6,55	0,112
72	N -	0,102	7,86	0,023
73	N -	0,216	6,98	0,11
74	N -	0,121	8,22	0,182
75	N -	0,125	7,12	0,076

Elaborado por: Ángel Farfán

UREA				CREATININA			ACIDO URICO
0,048			9	2,10		29	0,001
0,053				2,29			0,005
0,056				2,60			0,006
0,102				3,10			0,006
0,104				3,50			0,006
0,109				3,60			0,007
0,113				3,70			0,008
0,117				3,77			0,009
0,119	2			3,80			0,01
0,119			16	3,90			0,011
0,121	2			4,20			0,012
0,121				4,40			0,012
0,123	3			4,40			0,012
0,123				4,48			0,012
0,123				4,54			0,012
0,125				4,60			0,013
0,126	2			4,70			0,014
0,126				4,70			0,014
0,127				4,90			0,015
0,128				5,02			0,016
0,129				5,30			0,017
0,13				5,30			0,018
0,133	2			5,30			0,018
0,133				5,40			0,019
0,136				5,50			0,019
0,140			33	5,65			0,019
0,143				5,70			0,023
0,145				5,76			0,023
0,146				5,80			0,028
0,153				5,90		10	0,032
0,154				5,90			0,032
0,155	2			5,95			0,033
0,155				6,00			0,034
0,156				6,14			0,037
0,165				6,30			0,043
0,171				6,43			0,045
0,172				6,48			0,05
0,176	2			6,48			0,054
0,176				6,50			0,06
0,179				6,55		10	0,063
0,182				6,60			0,07
0,184				6,75			0,076
0,187	3			6,75			0,076
0,187				6,78			0,08
0,187				6,80			0,081
0,188				6,84			0,087
0,191	2			6,88			0,089
0,191				6,88			0,09
0,192	2			6,90			0,09
0,192				6,90		20	0,098
0,193				6,90			0,098
0,195				6,97			0,099
0,197				6,98			0,103
0,201				7,02			0,104
0,202				7,10			0,104
0,213				7,12			0,104
0,216				7,16			0,107
0,217	2			7,31			0,107
0,217			10	7,46			0,108
0,231	2			7,65			0,108
0,231				7,77			0,108
0,232				7,86			0,11
0,233				8,22			0,111
0,236	2			8,48			0,111
0,256				8,63			0,112
0,263				8,82			0,112
0,269				8,87			0,113
0,272				9,10			0,113
0,280			5	9,20			0,117
0,282				9,30		3	0,128
0,301				9,65			0,129
0,307				9,90			0,13
0,318				10,87		3	0,153
0,321			2	12,21			0,165
0,353				12,71			0,182

Tablas de número de intervalos con sus variables

ÚREA

Cuadro 19. Números de intervalos y porcentajes de urea

Y1-1	Y2	NI	PORCENTAJE
0,047	0,098	3	4,00
0,098	0,149	26	34,67
0,149	0,200	24	32,00
0,200	0,250	11	14,67
0,250	0,301	7	9,33
0,301	0,352	4	5,33
TOTAL		75	100,00

Elaborado por: Ángel Farfán

CREATININA

Cuadro 20. Número de intervalos y porcentajes Creatinina

Y1-1	Y2	NI	PORCENTAJE
2,09	3,86	9	12,00
3,86	5,63	16	21,33
5,63	7,40	33	44,00
7,40	9,17	10	13,33
9,17	10,94	5	6,67
10,94	12,71	2	2,67
TOTAL		75	100,00

Elaborado por: Ángel Farfán

ÁCIDO ÚRICO

Cuadro 21. Número de intervalos y porcentajes ácido úrico

Y1-1	Y2	NI	PORCENTAJE
0,000	0,030	29	38,67
0,030	0,060	10	13,33
0,060	0,091	10	13,33
0,091	0,121	20	26,67
0,121	0,151	3	4,00
0,151	0,181	3	4,00
TOTAL		75	100,00

Elaborado por: Ángel Farfán

ANEXO 3

PRESUPUESTO

EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE YERSINIA ENTEROCOLITICA EN LA CARNE CRUDA DE CERDO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO EL ARENAL DE LA CIUDAD DE CUENCA

Cuadro 22. Presupuesto invertido

INGRESOS	USD
Fondos propios	1.300.00
Total	
EGRESOS	
Diseño y elaboración el proyecto	50.00
Compra de materia prima	200.00
Material de Escritorio	50.00
Subtotal	300.00
De la elaboración de la propuesta	50.00
Material de laboratorio	600.00
Material de Escritorio	50.00
Material de Impresión	200.00
Imprevistos 10%	100.00
Subtotal	1.000
Total	1.300.00

Elaborado por: Ángel Farfán

Anexos 4

Fotografías de la investigación



Figura 3. Compra de la muestra carne en el mercado el Arenal



Figura 4. Identificación de Muestras



Figura 5. Cooler para transporte al laboratorio



Figura 6. Almacenamiento hermético de las muestras



Figura 7. Transporte al laboratorio de las muestras



Figura 8. Mantenimiento de las muestras en refrigeración para no romper la cadena de frío

Trabajo en Laboratorio realización de la práctica de la tesis



Figura 9. Pesado de la muestra



Figura 10. Peso en gr de la muestra



Figura 11. Corte de la muestra



Figura 12. Preparación para la obtención de suero



Figura 13. Frascos estériles para depósito de carne procesada



Figura 14. Frascos estériles llenados de muestra y previamente etiquetados para su identificación



Figura 15. Almacenamiento de muestras procesadas previas a su análisis

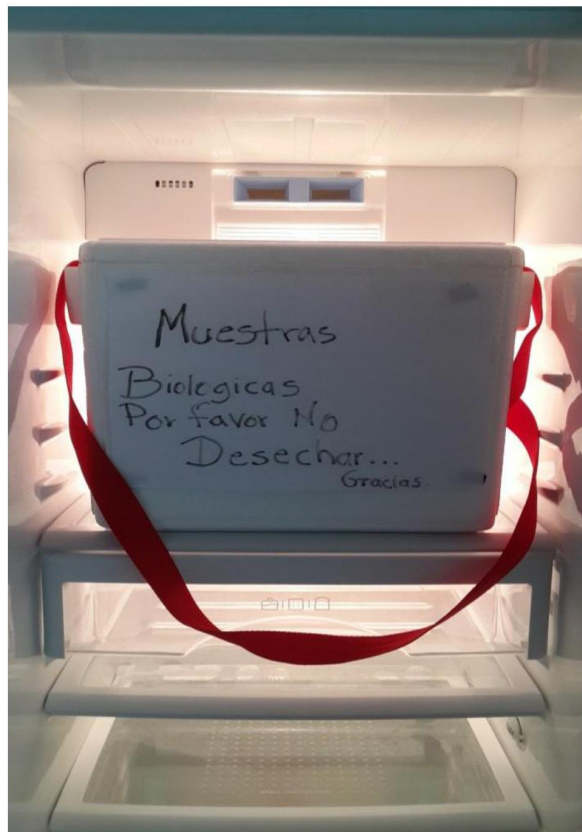


Figura 16. Almacenamiento en refrigeración menos dos grados



Figura 17. Tubos de ensayo para depositar sobrenadante



Figura 18. Llenado de tubos

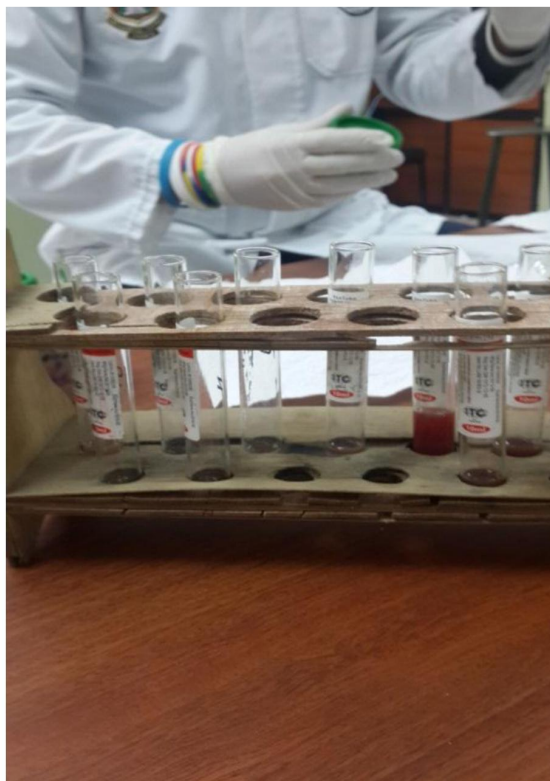


Figura 19. Sobrenadante llenados en los tubos de ensayo



Figura 20. Llenado de los tubos de ensayo con la muestra carne procesada



Figura 21. Llenado de la centrifuga con las muestras



Figura 22. Centrifuga con las muestras 2500rpm por 20 minutos

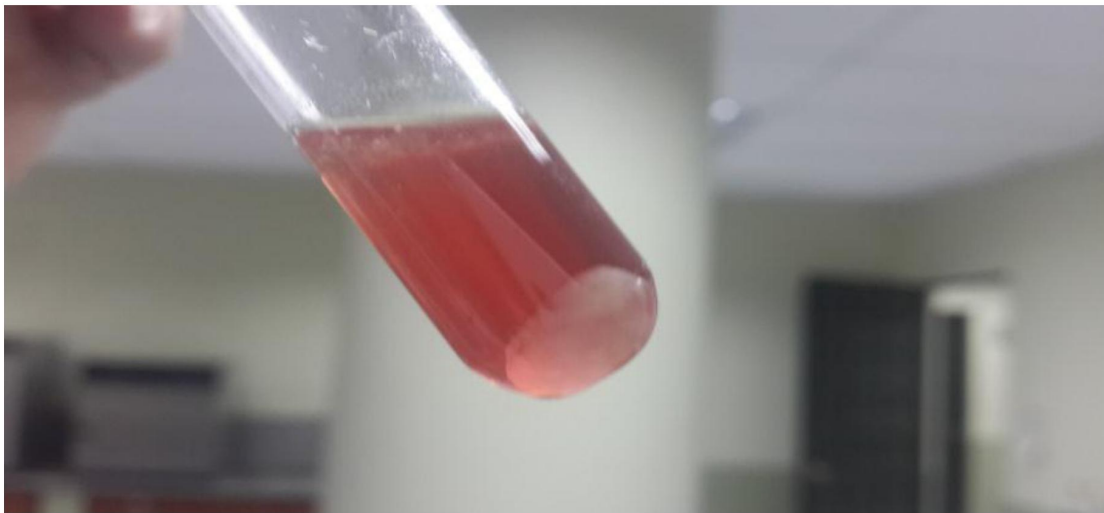


Figura 23. Obtención de suero puro

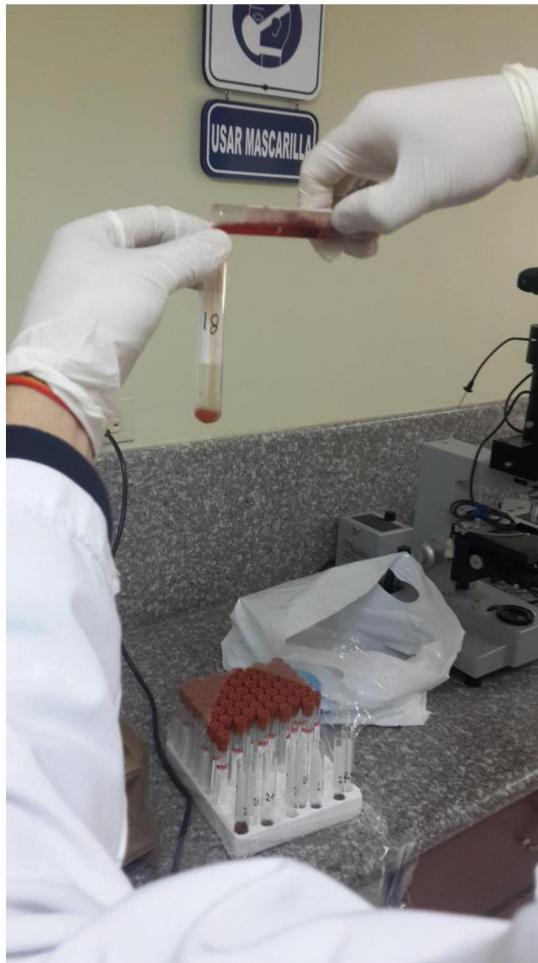


Figura 24. Llenado de tubos de ensayo con suero puro obtenido de la centrifugación de la muestra carne cruda

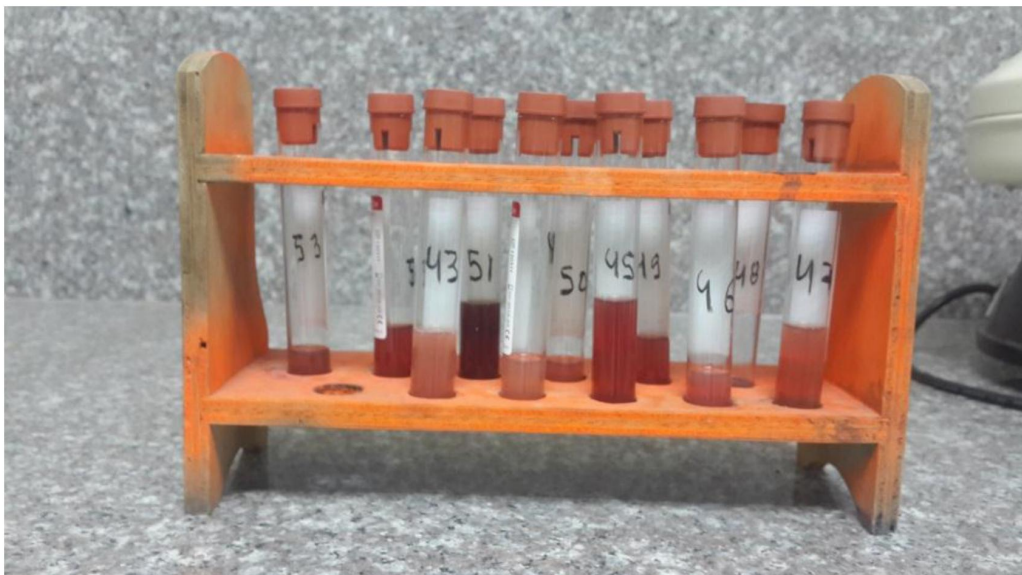


Figura 25. sueros listos para ser analizado

Técnica PCR



Figura 26. Plantilla de resultados



Figura 27. Reactivo PCR Látex



Figura 28. Micro pipeta de puntas desechables de 5 a 50 landas



Figura 29. Toma De muestra para depositar en la plantilla pcr látex



Figura 30. Realización de la técnica

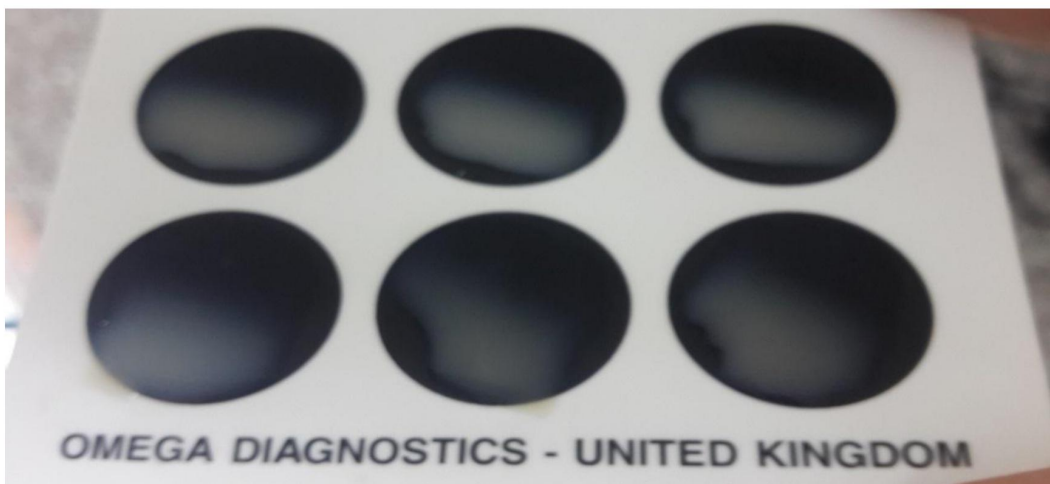


Figura 31. Resultados de las primeras muestras

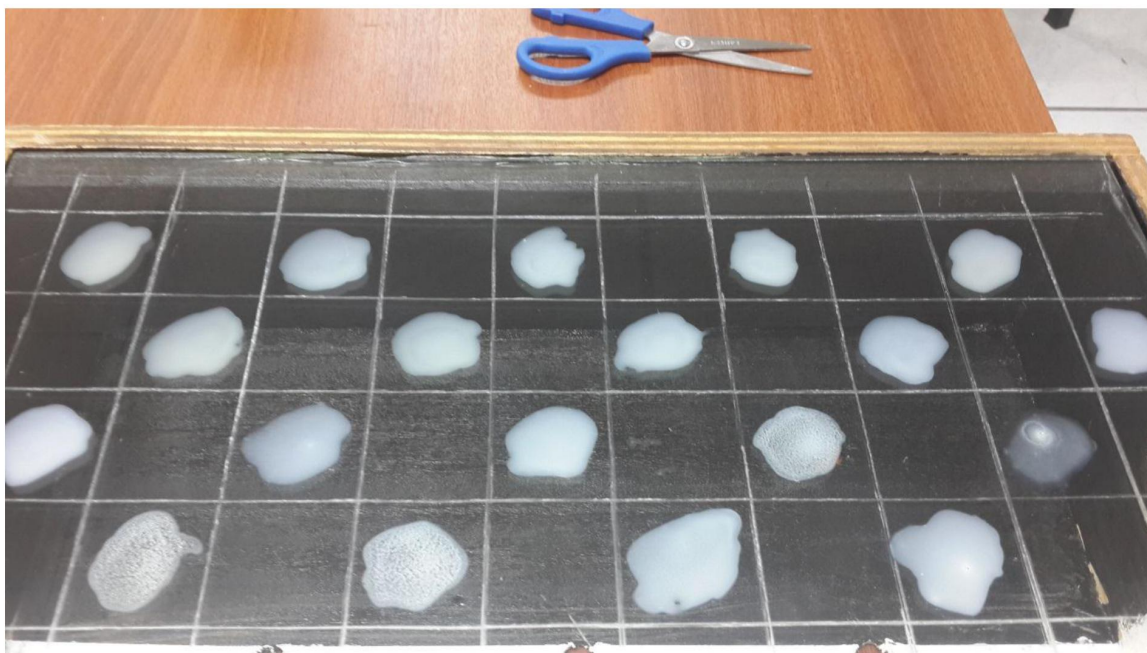


Figura 32. Resultados de PCR

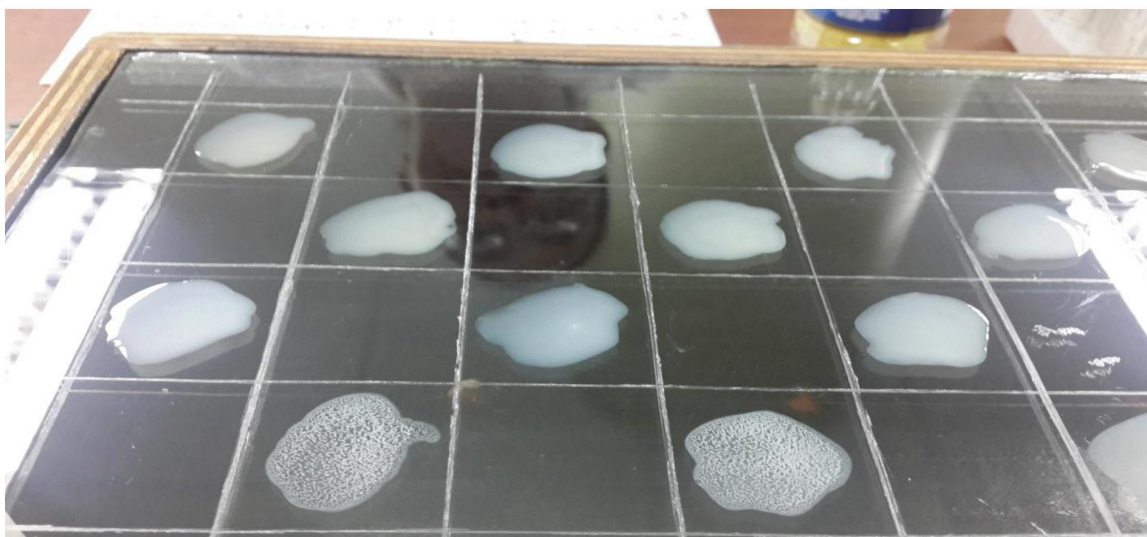


Figura 33. Resultados de PCR positivos

Pruebas químicas rápidas



Figura 34. Reactivos Pruebas químicas rápidas



Figura 35. Reactivo Urea



Figura 36. Reactivo Creatinina



Figura 37. Reactivo Ácido Úrico



Figura 38. Tubos de 5ml para espectrofotómetro medición urea ácido úrico y creatinina



Figura 39. Incubadora con muestras



Figura 40. Espectrofotómetro para medición de ácido úrico, urea, creatinina

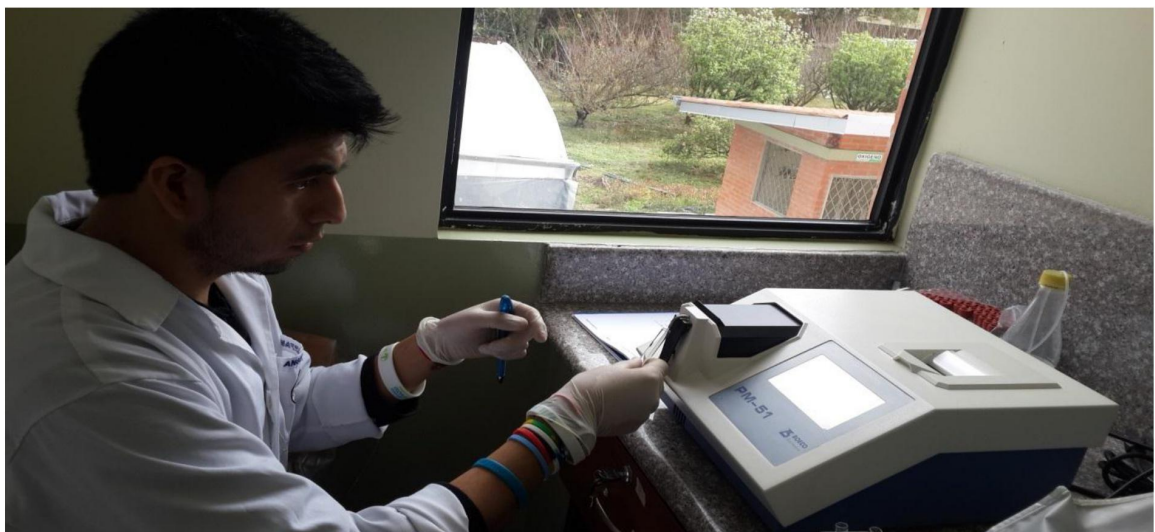


Figura 41. Medición y lectura de resultados de Urea Creatinina y ácido úrico



Figura 42. Siembra de agar MacConkey



Figura 43. Mantenimiento en estufa 37 grados en 48 horas para la formación de colonias



Figura 44. Resultados de agar MacConkey colonias estreptococos negativo *Yersinia enterocolitica*