



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE
LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**Determinación de *Escherichia coli*, en alimento
balanceado para cerdos "*Sus scrofa doméstica*"
expedido en establecimientos comerciales de la
Variante Uchumayo, Arequipa 2016.**

**TESIS PRESENTA POR LA BACHILLER:
Guevara Avendaño, Katherine Marycarmen**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
Químico Farmacéutico**

AREQUIPA – PERÚ

2017

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado principalmente a DIOS por ser mi guía espiritual por haberme permitido culminar otra meta de mi vida.

A mi madre querida RINA por haberme dado su apoyo incondicional; a ti mamita, gracias por ser como eres y por ofrecerme tu paciencia y comprensión, por tus consejos y la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.

A la personita más importante en mi vida, mi hija KEYLA VALERY, por quien me encuentro aquí culminando un sueño más; a ti hija que me diste mucha valentía y fortaleza para seguir adelante. Gracias por existir.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Alas Peruanas por la calidad y el compromiso educativo que ofrece a sus estudiantes.

A la directora de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas, la Mg. Q.F. Alexandra Fernández Gambarini, por su apoyo incondicional.

A los docentes de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, por las enseñanzas brindadas a lo largo de toda mi carrera profesional.

Un agradecimiento especial a mi asesora de tesis la Q.F. Shaneri Marcilla Truyenque, quien me brindó su apoyo, dedicación y ante todo paciencia al momento de responder mis dudas e inquietudes.

RESUMEN

La presente investigación fue realizada en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas, con la finalidad de determinar la presencia o ausencia de *Escherichia coli*, en los alimentos balanceados para cerdos, se consideró como muestra al producto de engorde, porque este se comercializa a granel; se realizó el muestreo en 5 establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo, en la zona conocida como Fátima, realizando un tipo de muestreo probabilístico aleatorio por conglomerado total de 2.5 Kg durante 5 días.

El muestreo fue realizado durante diferentes días con la finalidad de evaluar si el producto se contaminaba por mala manipulación ya que generalmente *Escherichia coli* es indicador de contaminación fecal, se manejó una codificación considerando las tiendas con la letras (A,B,C,D,E) y las fechas evaluadas mediante números arábigos (1,2,3,4,5) de tal forma que el presente trabajo evaluó 25 Muestras individualmente, teniendo como resultado que las muestras evaluadas no presentan contaminación por *Escherichia coli*, cumpliendo con las normativas de control de calidad microbiológico en este microorganismo, para ello se realizaron pruebas utilizando medios de cultivo selectivos como el Agar EMB (Eosina y Azul de Metileno) el cual nos indicó la presencia de bacterias Gram negativas en todas las muestras, sin embargo, mediante los resultados de TSI podemos determinar que en la tienda A, en una muestra podría haber contaminación por *Escherichia coli* o *Klesiella neumoneae*; estas dos bacterias dan como resultado en este medio ser fermentadoras de glucosa, lactosa y/o sacarosa, además de no presentar sulfuro de hidrógeno y gas +, este mismo resultado podemos observar también en dos muestras de las tiendas B y C, en una muestra en las tiendas D y E, pero al realizar las pruebas en Agar Citrato de Simmons todas las muestras indicaron citrato positivo, descartando así la presencia de *Escherichia coli*.

Concluyendo así que no existe contaminación por *Escherichia coli* en las muestras. Además en el presente trabajo se determinó que el pH, de las muestras evaluadas va en un rango de 6.58 - 6.66, la acidez entre 0.1442 - 0.2703, la humedad 12.62% - 12.92%, cenizas 4.23% - 4.24%, estos parámetros se encuentran dentro del rango característico de alimentos balanceado para cerdos engorde.

Palabras claves: Alimento balanceado, cerdos "*Sus scrofa doméstica*", medios de cultivo selectivo, pruebas bioquímicas, EMB (Eosina y Azul de Metileno), TSI (Triple sugar iron), Citrato de Simmons, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The present investigation was carried out in the laboratories of Alas Peruanas University, in order to determine the presence or absence of *Escherichia coli*, in pigs' balanced feed, the fattening product was considered as a sample because it is sold in bulk; sampling was carried out in 5 commercial establishments of the Uchumayo Variety, in the area known as Fatima, performing a random probability probabilistic sampling for a total conglomerate of 2.5 kg for 5 days.

Sampling was performed during different days in order to evaluate if the product was contaminated by poor handling since *Escherichia coli* is usually indicative of fecal contamination, a coding was handled considering stores with letters (A, B, C, D, E) and the dates evaluated by arabic numerals (1,2,3,4,5), so that the present study evaluated 25 samples individually, resulting in that the samples evaluated did not present contamination by *Escherichia coli*, complying with the microbiological quality control standards in this microorganism were tested using selective culture media such as EMB Agar (Eosin and Methylene Blue) which indicated the presence of Gram negative bacteria in all commercial establishments, however, through TSI results we could determine that in store A, in 1 sample there could be contamination by *Escherichia coli* or *Klesiell pneumoneae*; since these two bacteria result in fermentation of glucose, lactose and / or sucrose in this medium, besides not presenting hydrogen sulfide and gas +, this same result we could also observe in 2 samples of stores B and C, in 1 shows in stores D and E, but when the Simmons Citrate tests were performed, all samples indicated positive citrate, thus ruling out the presence of *Escherichia coli*.

In the present work, it was determined that the pH of the evaluated samples ranges from 6.58 to 6.66, the acidity between 0.1442 - 0.2703 and the humidity of 12.62% -

12.92%, ash 4.23% - 4.24%, these parameters are within the characteristic range of balanced feed for fattening pigs.

KEYWORDS:

Balanced food, "*Sus scrofa domestic*" pigs, selective culture media, biochemical tests, EMB (Eosin and Methylene Blue), TSI (Triple sugar iron), Simmons Citrate, ***Escherichia coli***.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	xv

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1 Descripción de la realidad problemática.....	1
1.2 Delimitaciones y definición del problema.....	2
1.2.1. Delimitaciones.....	2
1.2.2 Definición del problema.....	3
1.3 Formulación del problema a investigar.....	3
1.4 Objetivos de la investigación.....	4
1.4.1 Objetivo general.....	4
1.4.2 Objetivos específicos.....	4
1.5 Hipótesis de la investigación.....	4
1.6 Variables e indicadores.....	5
1.7 Justificación e importancia de la investigación.....	6
1.8 Limitaciones de la investigación.....	7
1.9 Tipo y nivel de investigación.....	7
1.9.1 Tipo de investigación.....	7
1.9.2 Nivel de investigación.....	7
1.10 Método y diseño de la investigación.....	7
1.10.1 Métodos de la investigación.....	7
1.10.2 Diseño de la investigación.....	16
1.11 Técnicas e instrumentos de recolección de información.....	16
1.12 Cobertura del estudio.....	17
1.12.1 Universo.....	17
1.12.2 Muestra.....	17

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes investigativos.....	18
2.2 Marco conceptual.....	22
2.2.1 Alimentos balanceados para cerdos (<i>Sus scrofa doméstica</i>).....	22
2.2.1.1. Composición de los Alimentos balanceados para cerdos (<i>Sus scrofa doméstica</i>).....	22
2.2.1.2 Contaminación de los alimentos balanceados.....	23

2.2.2 . <i>Escherichia coli</i> en cerdos.....	27
A. Características generales de la enfermedad.....	28

CAPÍTULO III

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1 Población y muestra.....	32
3.2. Tamaño de la muestra representativa.....	33
3.3. Análisis e interpretación de resultados.....	33

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones.....	40
4.2. Recomendaciones.....	41
Bibliografía.....	42
Anexos.....	45
Glosario de términos.....	84

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1: Reactivación de Cepa ATCC.....	45
Anexo N°2: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial A.....	46
Anexo N°3: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial B.....	47
Anexo N°4: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial C.....	48
Anexo N°5: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial D.....	49
Anexo N°6: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial E.....	50
Anexo N°7: Medios de cultivo.....	51
Anexo N°8: Registro de autorización para la toma de muestra del alimento balanceado en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5, (zona conocida como Fátima).....	57
Anexo N°9: Registro de entrega de resultados a los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).....	58
Anexo N°10: Solicitud emitida a SENASA para solicitar normativa sobre especificaciones microbiológicas en alimentos balanceados.....	59
Anexo N°11: Carta de solicitud emitida por el SENASA en respuesta a la solicitud de especificaciones microbiológicas.....	60
Anexo N°12: Norma Técnica Ecuatoriana - Alimentos zootécnicos (Requisitos).....	61
Anexo N°13: Normativa del Instituto Colombiano agropecuario- Alimentos y sales minerales para animales.....	64
Anexo N°14: Certificado de la cepa ATCC de <i>Escherichia coli</i>	68
Anexo N°15: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de pH en los centro de venta A, B, C, D, E.....	70
Anexo N°16: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de acidez en los centro de venta A, B, C, D, E.....	71
Anexo N°17: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de humedad en los centro de venta A, B, C, D, E.....	72

Anexo N°18: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de cenizas en los centro de venta A, B, C, D, E.....	73
Anexo N°19: Controles positivos y negativos de las cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i>	74
Anexo N°20: Desarrollo de la fórmula para el cálculo de tamaño de muestra....	75
Anexo N°21: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial A.....	76
Anexo N°22: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial B.....	77
Anexo N°23: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial C.....	78
Anexo N°24: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial D.....	79
Anexo N°25: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial E.....	80
Anexo N°26: Diseño de la investigación.....	81
Anexo N°27: Causas de mortalidad en un sistema de producción porcina durante las etapas de crecimiento y terminación.....	82
Anexo N° 28: Cantidades de Na (OH) 0.1N gastados para neutralizar la grasa libre por gramo de muestra en la determinación del índice de acidez.....	83
Anexo N° 29: Solicitud de autorización para la toma de muestra.....	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°1: Operacionalización de las variables.....	5
Cuadro N°2: Muestreo del alimento balanceado.....	8
Cuadro N°3: Formulación del alimento balanceado para cerdos engorde.....	23
Cuadro N°4: Requisitos mínimos y máximos de los análisis fisicoquímicos en los alimentos balanceados.....	25
Cuadro N°5: Requisitos de los análisis microbiológicos en los alimentos balanceados.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Titulación de la muestra.....	10
Figura N°2: Peso de las muestras.....	11
Figura N°3: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial A.....	46
Figura N°4: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial B.....	47
Figura N°5: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial C.....	48
Figura N°6: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial D.....	49
Figura N°7: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial E.....	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°1: Determinación de pH, acidez, humedad y cenizas, en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).....	35
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Determinación de pH, ácida, humedad y cenizas, en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).....	34
Tabla N°2: Determinación de presencia de <i>Escherichia coli</i> por pruebas de crecimiento en Agar EMB, del alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).....	37
Tabla N°3: Pruebas bioquímicas simultaneas en Agar (TSI y Citrato de Simmons) en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).....	38

INTRODUCCIÓN

Un alimento balanceado para cerdos, es aquel alimento que se encuentra listo para ser consumido y que otorga las necesidades nutricionales diarias del animal; la costumbre de algunas familias en el pasado, era alimentar a sus cerdos con restos de comida casera, haciendo la nutrición del animal deficiente en algunos casos. En la actualidad, el comercio de alimentos balanceados para cerdos ha crecido en diversidad de marcas y precio, en relación a la venta, también se comercializa a granel como ocurre en establecimientos comerciales localizados en la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa, donde venden alimentos balanceados para cerdos de dos formas, por saco sellado y por Kilos; el expender por Kilaje puede ocasionar que el alimento se contamine por el contacto, debido a que la manipulación que se realiza muchas veces es de forma incorrecta, ya que no se utiliza utensilios, como guantes para evitar que microorganismos u otros patógenos se adhieran al alimento balanceado, que es rico en nutrientes, favoreciendo su crecimiento y que podría causar daño a los animales que lo consumen.

La venta a granel y la manipulación inadecuada de estos alimentos, son una causa importante de mortalidad de animales (Anexo N°27) y un grave problema que afecta a la industria ganadera en general. A menudo, la contaminación por manipulación está asociada a ***Escherichia coli***, debido a los malos hábitos de higiene por parte del personal, explícitamente por la presencia de materia fecal, provocando graves problemas de salud al consumidor, en este caso a los cerdos, afectando su rendimiento general, creando una nueva y significativa amenaza a la ganadería.

Hay muchos tipos de *Escherichia coli*, algunos son habitantes normales del intestino, pero otras cepas causan varios cuadros clínicos bien diferenciados¹, entre estos casos encontramos a: colibacilosis neonatal, colibacilosis postdestete y enfermedad de los edemas, así como colisepticemia, mastitis e infecciones del tracto urinario², que pueden conllevar a la mortalidad en poblaciones porcinas.

Por consiguiente, la presente investigación pretende determinar la calidad microbiológica de los alimentos balanceados que se expenden a granel en establecimientos comerciales la Variante Uchumayo en el Km 2.5, zona conocida como Fátima, para evaluar la presencia de *Escherichia coli*, así mismo, los resultados obtenidos servirán como base para el inicio de muchas otras investigaciones referentes al proceso del expendio de alimento balanceado, considerado tema muy poco estudiado, ya que no existe un protocolo de control de calidad por SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria), encargado de la vigilancia fitosanitaria y zoonositaria.

1. Lakshmikantha H. Inocuidad de los alimentos balanceados para animales: El Sitio Avícola. 2013; 78(1): p. 1 - 5. <http://www.elsitioavicola.com/articulos/2319/inocuidad-de-los-alimentos-balanceados-para-animales-riesgos-y-desafios/>. [Último acceso 12 de Enero 2017].

2. Universo porcino. Infecciones por *Escherichia coli* en cerdos. Univ. p; 21(5); 2013; http://www.aacporcinos.com.ar/porcinos_sistema_productivo/porcinos_sanidad/diarrea_neonatal_por_escherichia_coli.html. [Último acceso 21 de Agosto 2016].

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1. Descripción de la realidad problemática

En la actualidad, la crianza de cerdos se sostiene en una alimentación basada, en alimentos balanceados ya que estos son fuente de carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales³; muchos de estos productos no cuentan con parámetros de control de calidad microbiológica, ya que el organismo encargado de evaluar este parámetro SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) aún no implementa protocolos de control de calidad agroalimentaria para este tipo de productos; sumado a esto la comercialización de estos productos no es de forma adecuada, desde un punto de vista séptico, ya que mantienen el producto en sacos abiertos, su expendio es mediante una cucharilla (que no es de uso exclusivo para un solo tipo de producto) en contacto con la mano del expendedor, provocando que exista contacto con contaminantes, entre esto la *Escherichia coli*, bacteria que genera patologías en cerdos como la colibacilosis neonatal, colibacilosis postdestete y enfermedad de los edemas⁴; que además puede contaminar a la población susceptible en contacto con estos animales y por tanto, esta problemática puede afectar al sector humano en general como también es labor de nosotros como químicos farmacéuticos asesorar a las personas respecto a los malestares que puede ocasionar estar en contacto con los cerdos contaminados. Teniendo en consideración estos parámetros que pueden afectar la calidad, se quiere determinar la contaminación microbiana del alimento balanceado expendido en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5, de la zona conocida como Fátima, donde acuden un

3. Ortiz, C. Guía para la alimentación animal y elaboración de concentrados. 1ed. Colombia: CAB; 2005. p. 15-20. https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57_pq0000224spz-att/Manual_de_Nutricion_Animal.pdf. [Último acceso 05 de julio 2015].

4. Universo porcino. Op. Cit., p. 2.

sector de población para comprar este tipo de alimentos debido a la cercanía de granjas porcina y empresas que elaboran alimentos balanceados en la región de Arequipa.

1.2. Delimitaciones y definición del problema

1.2.1. Delimitaciones

A. Delimitación Espacial:

El presente estudio se ejecutó en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas - Filial Arequipa.

B. Delimitación Temporal:

El estudio se realizó entre los meses de julio a diciembre del 2016.

C. Delimitación Social:

Aporte al sector ganadero acerca de una posible contaminación al manipular de manera inadecuada el alimento balanceado durante el expendio, en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima en tanto, los resultados del estudio estarán a disposición de las personas en general.

D. Delimitación Conceptual

- **Área:** Ciencias de la salud.
- **Campo:** Farmacia y Bioquímica.
- **Línea:** Control de calidad y microbiología de los alimentos balanceados.
- **Tema general:** Determinación de *Escherichia coli* en los alimentos balanceados para cerdos.
- **Tema específico:** Determinación de *Escherichia coli*, en alimento balanceado para cerdos engorde (*Sus scrofa doméstica*) expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima.

1.2.2. Definición del problema:

La determinación de la presencia de *Escherichia coli*, en alimento balanceado, expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo del Km 2.5, es un indicador de contaminación fecal en el control de calidad de estos alimentos, estas bacterias son consideradas potenciales factores que afectan la salud de los animales⁵ y que además puede contaminar a personas susceptibles en contacto con estos animales. Por tanto; es necesario evaluar si estos alimentos son bacteriológicamente seguros y no un problema en seguridad alimentaria.

1.3. Formulación del problema a investigar.

- ¿Cuáles son los resultados en la determinación de *Escherichia coli*, en el alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa 2016?

1.3.1. Subproblemas.

- ¿Cuáles serán, los resultados del análisis fisicoquímico del alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*" expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa 2016?
- ¿Cuáles serán los resultados en la determinación de *Escherichia coli* mediante las pruebas bioquímicas simultaneas en el alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel en establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa 2016?

5. Aislamiento de *Escherichia coli* enteroinvasiva y enteropatogenica desde cerdos con patologías digestivas. por Norma, Pereyra. "et al". 2011. 9(3). p. 25. <https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/aislamiento-escherichia-coli-enteroinvasiva-t31524.htm>. [Último acceso 15 de noviembre 2016].

1.4. Objetivos de la investigación:

1.4.1. Objetivo general:

- Determinar la presencia de *Escherichia coli* en el alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa 2016.

1.4.2. Objetivos específicos:

- Determinar las características fisicoquímicas (pH, acidez, humedad y cenizas) del alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa 2016.
- Evaluar la presencia de *Escherichia coli* en el alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, Arequipa 2016.

1.5. Hipótesis de la investigación:

Dado que la comercialización del alimento balanceado para cerdos engorde se expende a granel, sin tomar en consideración medidas de seguridad alimentaria, es probable que en estos productos se encuentre *Escherichia coli*.

H_0 = El alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel, no se encuentra dentro de los parámetros de la normativa sobre la presencia de *Escherichia coli*.

H_1 = El alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*", expendido a granel, se encuentra dentro de los parámetros de la normativa sobre la presencia de *Escherichia coli*.

1.6. Variables e indicadores

CuadroN°1: Operacionalización de las Variables.

Variable	Dimensión	Sub-dimensión		Sub- indicadores	Tipo de variable	Escala	Ítem		
Determinación de <i>Escherichia coli</i> en el alimento balanceado.	Parámetros fisicoquímicos	pH		4.0 – 4.5	Cuantitativo	Continuas	4		
		Ácidoz		Mínimo 3%	Cuantitativo	Continuas			
		Humedad		Máximo 13%	Cuantitativo	Continuas			
		Cenizas		Máximo 8%	Cuantitativo	Continuas			
	Medio selectivo y diferencial	Agar EMB	Positivo	Colonias con centro oscuro con periferia azulada o rosa		Cualitativo	Nominal	2	
			Negativo	Colonias incoloras					
	Prueba bioquímica simultaneas	Agar TSI	Positivo	A/A= (ácido/ácido), Gas(+)		Cualitativo	Nominal	2	
			Negativo	K/A=(ácido/alcalino), Gas (+/-) K/K=(alcalino/alcalino), Gas (+/-)					
		SIM	Positivo	Turbidez del medio, que se extiende más allá de la línea de siembra, SH ₂ (-), Indol (+)		Cualitativo	Nominal	2	
			Negativo	Crecimiento solo en la línea de siembra, SH ₂ (-), Indol (-).		Cualitativo	Nominal	2	
		INVIC	Indol (I)	Positivo	Anillo de color rojo		Cualitativo	Nominal	2
				Negativo	Anillo de color amarillo				
			Rojo de metilo (RM)	Positivo	color rojo.		Cualitativo	Nominal	2
				Negativo	color amarillo.				
			Voges-Proskauer (Vp)	Positivo	Color rojo		Cualitativo	Nominal	2
				Negativo	Ausencia de color rojo				
Citrato (C)	Positivo	Alcalinización del medio (azul)		Cualitativo	Nominal	2			
	Negativo	Acidificación del medio (verde)							

Fuente: Elaboración propia.

1.7. Justificación e importancia de la investigación.

Es labor del Químico Farmacéutico, como experto de la producción y aseguramiento de la calidad de alimentos para consumo humano y animal, realizar la inspección, vigilancia y control microbiológico, con el objetivo de concientizar acerca de la implementación de las Buenas Prácticas de Manipulación en los establecimientos comerciales que expenden el alimento balanceado a granel.⁶

En los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, el alimento balanceado para cerdos engorde es expendido a granel, este procedimiento no garantiza la calidad del balanceado porque al realizar el kilaje, el alimento se puede contaminar y afectar la salud del animal.

El problema por el cual no hay una correcta forma de expender el balanceado, es en la crianza porque la mayoría de los porcicultores tienden a conseguir las cantidades necesarias de ración diaria realizando el kilaje del alimento balanceado a granel y así ser estrictos con la alimentación del animal y el peso óptimo de 110 a 115 Kilos a las 22 semanas, si no cumplen con esto, les puede representar grandes pérdidas económicas en el mercado.

Es por eso que los controles de calidad deben considerarse prioritarios para prevenir los principales riesgos de manipulación, así como la implementación de medidas sencillas de calidad para prevenir impactos negativos sobre la salud del animal⁷, siendo esta, la fundamentación social de la presente investigación.

El presente estudio, tiene una base científica porque se realizará en base a métodos fisicoquímicos y microbiológicos para la determinación de *Escherichia coli* como microorganismo indicador de calidad en los alimentos listos para consumo animal y permitirá identificar las condiciones Higiénico - sanitarias en las que son expendidos en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima.

6. Lakshmikantha H, op. cit., p.4.

7. Moreno, M. Peso óptimo de los cerdos. 2011; 22 (6).p.2. https://www.3tres3.com/manejo_en_cebo/la-obtencion-del-peso-optimo-al-sacrificio_4399/. [Último acceso 12 de Octubre del 2016].

1.8. Limitaciones de la investigación.

- No se contó con protocolos de análisis microbiológicos de alimentos balanceados en el organismo encargado (SENASA) Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Perú.

1.9. Tipo y nivel de investigación.

1.9.1. Tipo de investigación:

Investigación observacional, aplicada.

1.9.2. Nivel de investigación:

Nivel de investigación básico.

1.10. Método y diseño de la investigación.

1.10.1. Método de la investigación:

A) Recolección y acondicionamiento del alimento balanceado para cerdo:

El muestreo fue realizado en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 de la zona conocida como Fátima, se realizó a 5 establecimientos comerciales debidamente registrados y que autorizaron la toma de muestra (Anexo N°8), considerando que en dicha zona hay 12 establecimientos que venden este producto, pero las 7 restantes vende en paquete sellado, es así que la muestra total fue de 2.5 Kg, (Anexo N° 20) y 500g por establecimiento, en 5 días del 17 al 21 del mes de Septiembre del año 2016 se realizó los análisis fisicoquímicos y microbiológicos, teniendo en cuenta durante el muestreo dos niveles (base y superficie), los cuales se encuentran en contacto directo con el agente contaminante.

Se tomó la muestra con las herramientas adecuadas (cucharillas con asas) y se colocó en bolsas estériles etiquetas e identificadas para su análisis que se realizó el mismo día de muestreo.

Cuadro N°2: Muestreo del alimento balanceado.

Establecimientos comerciales Muestra	Tienda A	Tienda B	Tienda C	Tienda D	Tienda E	Total
1 (17/09/16)	1MA*	1MB*	1MC*	1MD*	1ME*	5
2 (18/09/16)	2MA*	2MB*	2MC*	2MD*	2ME*	5
3 (19/09/16)	3MA*	3MB*	3MC*	3MD*	3ME*	5
4 (20/09/16)	4MA*	4MB*	4MC*	4MD*	4ME*	5
5 (21/09/16)	5MA*	5MB*	5MC*	5MD*	5ME*	5
Total	5	5	5	5	5	25

Fuente: Elaboración propia. Los muestreos se realizaron en 5 establecimientos comerciales (A, B, C, D, E) en 5 días calendario. Las muestras son codificadas como establecimiento comercial (Tienda) y muestra 1MA, 1MB, 1MC, 1MD, 1ME...etc.

B) Determinación de pH, ácidos, humedad, cenizas.

1. Determinación de pH. (potencial de hidrógeno).

Se utilizó el método potenciométrico, método electroquímico donde se mide un potencial de equilibrio termodinámico entre dos disoluciones con distinta concentración de iones hidrógeno $[H^+]$ se establece una diferencia de potencial.

El instrumento de medida de pH está constituido por un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un mecanismo compensador de temperatura; cuando se sumergen los electrodos en la solución problema se completa el circuito.⁸

8. Rodríguez, N. Manual de laboratorio azucarero. 1ra Edición. Habana: Editorial Pueblo y educación; 1998. p. 50.

Para esto se procedió primero a verificar si el potenciómetro a utilizar fue calibrado recientemente, luego se enjuagó el electrodo de pH con agua destilada y se secó con papel tissue para la eliminación y secado del agua destilada; se sumergió el electrodo de pH en un vaso de precipitado que contiene la muestra del alimento balanceado y se tomó apunte del resultado.

Se esperó 3 minutos después de cada medición, se enjuaga cuidadosamente el electrodo de pH con agua destilada. Las pruebas se realizaron por triplicado.

2. Determinación del índice de acidez.

El índice de acidez, determina la cantidad de miligramos de hidróxido de sodio (NaOH) requeridos para neutralizar la acidez libre por gramo de muestra, el índice de acidez es una medida del grado de descomposición del aceite o de la grasa por acción de la lipasa o por alguna otra causa. Usualmente se acompaña de la rancidez por la formación de ácidos grasos libres. Tomando en cuenta este fundamento procedemos a realizar la determinación del índice de acidez en la muestra.

Primero se pesó 5 g de muestra y se filtró en una fiola de 250 ml, luego se adicionó 25 ml de solución neutra de éter- alcohol, se agitó hasta homogenizar la muestra para luego adicionar de 2 a 3 gotas de indicador de fenolftaleína al 1 %.

Se tituló con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N estandarizada hasta que la presencia de una ligera coloración rosada persista por 30 segundos.

Las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos se calcularon según fórmula.

CÁLCULO

Se determinó el contenido del índice de acidez según la siguiente fórmula.⁹

9. Rodríguez, N. Manual de laboratorio azucarero. 1ra Edición. Habana: Editorial Pueblo y educación; 1998. p. 219.

$$\text{índice de áidez} = \frac{V \times N \times PM}{M}$$

Donde:

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio (0.1N) gastado en la titulación de la muestra, cm³. (Anexo N° 29).

N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio peso del crisol mas muestra.

M = peso de la muestra.

Figura N°1: Titulación de la muestra.



Fuente: Elaboración propia.

3. Determinación de Humedad.

La determinación se basa en la pérdida de peso que sufre la muestra analizada al ser sometida a temperaturas de 100 - 105°C por cuatro horas, de tal manera que la misma experimenta una deshidratación, cuantificable por diferencia en los pesos registrados.

Tomando en cuenta este fundamento procedemos a realizar la determinación de humedad en la muestra.¹⁰

Se utilizó un crisol previamente lavado y secado en la estufa a 40°C y después se colocó en el desecador por 20 minutos, luego se pesó el crisol más la muestra de alimento balanceado 10 g (Pi), y se anotó los resultados, se colocó el crisol con la muestra en la estufa, a la temperatura de 100 - 105° C durante 4 horas, el periodo de tiempo se

10. Rodríguez, Nancy. Manual de laboratorio azucarero. 1ra Edición. Habana: Editorial Pueblo y educación; 1998. p. 50.

comenzó cuando se tuvo la temperatura deseada. Luego se llevó el crisol al desecador, se esperó a que alcance la temperatura ambiente (20 minutos aproximadamente) y se pesó en la balanza analítica (Pf), se anotó los resultados.

Este proceso se realizó hasta que la muestra presente un peso constante. Las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos se calcularon según fórmula.

CÁLCULO

Se determinó el % de humedad a partir de la pérdida de peso de la muestra.

$$W = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

W= porcentaje de humedad (%).

Pi= peso del crisol más muestra.

Pf= peso del crisol más muestra seca.

Figura N°2: Peso de las muestras.



Fuente: Elaboración propia.

4. Determinación de Cenizas.

Este método basa su principio en la incineración de la muestra a 500 – 550°C, produciendo la evaporación del agua y la pérdida de otros componente volátiles; los compuestos orgánicos al calcinarse en presencia de aire dan óxidos de carbono o reaccionan para formar fosfatos, silicatos y cloruros de potasio, sodio, calcio y magnesio, algunos elementos, como el azufre y halógenos, pueden no ser completamente retenidos en las cenizas perdiéndose por volatización. Tomando en cuenta este fundamento procedemos a realizar la determinación de cenizas en la muestra.¹¹

Se utilizó un crisol previamente lavado y secado en la estufa a 40°C y después se colocó en el desecador por 20 minutos; se pesó el crisol (p) vacío y se anotó los resultados, se pesó la muestra de alimento balanceado 5 g (M), previamente la muestra se calcino en una cocina eléctrica hasta que no emita vapores, después se colocó el crisol con la muestra en la mufla, a la temperatura de 500 - 550° C durante 4 horas, el periodo de tiempo se comenzó a la temperatura deseada, y después del tiempo requerido, se llevó el crisol al desecador y se pesó el crisol con las cenizas de la muestra (P).

Este proceso se realizó hasta que la muestra presente un peso constante. Las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos se calcularon según fórmula.

Se pesó en la balanza analítica el crisol (anotar resultados).

CÁLCULO

Se determinó el contenido de Cenizas a partir de la muestra seca.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(P - p)}{M} * 100$$

Donde:

P = masa del crisol con las cenizas en gramos.

p = masa de crisol vacío en gramos.

M = masa de la muestra en gramos.

11.Ibid, p. 51.

C) Determinación de la contaminación bacteriana por *Escherichia coli*.

1. Crecimiento en medio selectivo EMB.

Se utilizó el medio de cultivo selectivo EMB donde las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora gram positiva, haciendo a este medio, selectivo.¹²

Para el crecimiento en el medio, se siembra en la superficie, por estriado, a partir del inóculo, se tomó una azada de agua peptonada con inóculo y se incubó durante 24 horas a 37 °C, las pruebas se realizaron por triplicado. También se realizaron controles blancos, controles negativos y controles positivos de la cepa de *Escherichia coli* ATCC. (Anexo N°19) (La realización de la reactivación está en el Anexo N°1).

2. Pruebas bioquímicas simultáneas.

- **Agar triple sugar iron (TSI).**

El TSI es un medio de cultivo donde, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

El agar es el agente solidificante, por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.¹³

Para la siembra en el Agar, se tomó con una aza de kolle una colonia separada y aislada del agar EMB y se sembró en TSI, picando el fondo y

12. Granados, R. Villaverde, C. Microbiología Bacteriología, medios de cultivo y pruebas bioquímicas.1 ed. España: Paraninfo; 1998. p.230.

13. Ibid, p.235.

extendiendo sobre la superficie del medio, luego se incubo durante 24 horas a 37 °C, las pruebas se realizaron por triplicado. También se realizaron controles blancos, controles negativos y controles positivos de la cepa de *Escherichia coli* ATCC. (Anexo N°19) (La realización de la reactivación está en el Anexo N°1).

- **Medio SIM:**

El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas, y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa. El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Kovac's o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato. Para la siembra en medio SIM, se hace en línea recta por ello se tomó con una aza de kolle recta, una colonia separada y aislada del agar EMB y se sembró por inoculación recta, luego se incubo durante 24 horas a 37 °C.¹⁴

- **Medio INVIC:**

Son cuatro pruebas bioquímicas. Se emplean fundamentalmente para la identificación de las Enterobacterias (bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos con metabolismo fermentador). Dependiendo de las condiciones, las enterobacterias, pueden realizar un metabolismo aerobio (si disponen de oxígeno), realizar una respiración anaerobia (si hay nitratos u otro aceptor de electrones) y distintas fermentaciones.¹⁵

Indol:

Determina si la bacteria posee una enzima (triptofanasa). La triptofanasa hidroliza el triptófano en indol y alanina. El indol se detecta empleando un reactivo específico (Reactivo de Kovacs). El triptófano forma parte de las peptonas del medio, para la siembra se inocula en agua peptonada el inoculo

14. Ibid, p.236.

15. Ibid, p.236.

y se incuba a 37°C durante 48 horas y se añade unas gotas de reactivo de Kovacs. Agitar y dejar reposar el cultivo.

Rojo de metilo (RM):

Detecta la fermentación ácido-mixta, para la siembra se inocula en medio de Clark-Lubs. Incubar a 37°C durante 48 horas y se añade unas gotas de rojo de metilo (rojo a pH 4-5; amarillo a pH>6).

Voges-Proskauer (VP)

Detecta la fermentación butanodiólica. En esta fermentación se producen menor cantidad de ácidos que en la fermentación ácido-mixta, y una gran cantidad de butanodiol. Mediante un reactivo, (alfa-naftol y KOH al 40%), se detecta la presencia de un precursor del butanodiol (acetilmetilcarbinol o acetoina). La acetoina en presencia de oxígeno se oxida a diacetilo. El diacetilo origina una coloración roja al reaccionar con los restos guanidínicos de algunos aminoácidos de la peptona del medio, para la siembra se inocula en medio de Clark-Lubs. Incubar a 37°C durante 48 horas y se añade unas gotas alfa-naftol (0.6 ml). Agitar y añadir KOH (0.2ml) Agitar y incubar 1-2 horas a 37 °C.

Agar Citrato de Simmons.

En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático.

El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino y el agar es el agente solidificante. El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarbónico. El desdoblamiento del citrato genera progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa.¹⁶

16. Ibid, p.236.

Para la siembra en Agar Citrato de Simmons, se tomó con una aza de kolle una colonia separada y aislada del agar EMB y se sembró en medio Citrato de Simmons, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del medio, luego se incubó durante 24 horas a 37 °C, las pruebas se realizaron por triplicado. También se realizaron controles blancos, controles negativos y controles positivos de la cepa de *Escherichia coli* ATCC. (Anexo N°19), (La realización de la reactivación está en el Anexo N°1).

1.10.2. Diseño de la investigación.

La investigación corresponde a un diseño básico, (Anexo N°26).

1.11. Técnicas e instrumentos de recolección de información.

a) Técnicas de muestreo:

Se utilizó el muestreo probabilístico aleatorio por conglomerado para obtenerse una muestra de 2.5Kg por establecimiento comercial.

b) Técnicas para recolectar información:

Para la determinación de *Escherichia coli*, en alimento balanceado para cerdos "*Sus scrofa doméstica*" se tomó en cuenta:

• Fuentes primarias:

Para determinar *Escherichia coli*, en el alimento balanceado, se realizaron pruebas microbiológicas mediante medios de cultivo selectivo y pruebas bioquímicas simultáneas las cuales fueron analizadas por triplicado.

• Fuentes secundarias:

Para la recolección de datos, se tomó en cuenta material bibliográfico comprendido por libros, artículos o publicaciones.

c) Técnicas estadísticas para el manejo de datos:

Se usará el paquete estadístico SPSS con un nivel de confianza de 95%.

1.12 Cobertura del Estudio.

1.12.1 Universo: Alimento balanceado para cerdo.

1.12.2 Muestra:

Se tomaron 500g de Alimento balanceado para cerdos engorde por día, haciendo un total de 2.5 Kg por establecimientos comerciales que expenden a granel en el sector de Fátima, la cantidad de la muestra tomada tiene relación a encuestas realizadas a los expendedores (Anexo N° 21, 22, 23, 24, 25), donde se puede determinar la cantidad de Kg que se lleva el cliente por venta a granel, siendo esta de 2.5 Kg y como se trata de una muestra probabilística se toma este resultado para realizar el cálculo estadístico de muestreo (Anexo N°20) dando como resultado según cálculo la cantidad es de 500 g por día.

Estas muestras fueron recolectadas en 5 días del 17 al 21 del mes de Septiembre del año 2016 a las 7:00 am, para tomar la muestra representativa se consideró la siguiente fórmula para el cálculo de muestras de poblaciones finitas.¹⁷

Fórmula para muestras de poblaciones finitas por - Murray y Larry (2005).

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Dónde:

n= tamaño de la muestra.

N= tamaño de la población.

Z= nivel de confianza (1.96) 3.8416.

p= probabilidad de éxito, o proporción esperada (0.5).

q= probabilidad de fracaso (0.5).

e= error máximo admisible (0.05).

¹⁷ Álvarez, R. estadística aplicada a las ciencias de la salud. 1ra Edición., España. Editorial: Díaz Santos..2007.p.246.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos

Niveles de contaminación bacteriana frente a *Escherichia coli*, en alimento balanceado para pollos engorde expandido en los centros de venta Feria del Altiplano, Fátima- Arequipa 2013.

Autor: Cayro Ríos, Betsaida Isabel.

Institución: Universidad Católica de Santa María.

Año: 2013

Resumen:

Este trabajo de tesis se realizó con el objetivo de determinar la presencia o ausencia de contaminación bacteriana de alimento balanceado para pollos de engorde, como son *Escherichia coli*, expandido en los centros de abasto el Altiplano y Fátima de la ciudad de Arequipa.

Se analizaron las muestras estableciendo que si hay asociación estadísticamente significativa, entre la presencia de los indicadores de calidad microbiológica y el centro de abasto en el cual se recolectó la muestra.

Prevalencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico y *Escherichia coli* productor de toxina shiga en cerdos sin manifestación clínica de diarrea, laboratorio de diagnóstico e investigaciones bacteriológicas; Buenos Aires, Argentina. 2012.

Autor: Gerardo Aníbal, Leotta.

Institución: Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas.

Año: 2012.

El objetivo del trabajo fue determinar la prevalencia de ETEC y STEC aislados de cerdos sin manifestación clínica de diarrea. Se realizó un muestreo transversal en 11 establecimientos de producción porcina. Para la detección y caracterización genotípica de los aislamientos se utilizó PCR en tiempo final. Se detectaron 293 cerdos portadores de al menos un gen característico de STEC, ETEC o E. coli O157. El 8,3 % portaron stx1, stx2 o stx2e.

Los cerdos de la provincia de Buenos Aires sin signología clínica de diarrea son portadores de ETEC, STEC no-O157, E. coli O157 no toxigénicos. La mayoría de los STEC poseen la variante stx2e. Los serotipos de STEC no están asociados con diarrea neonatal, diarrea posdestete, enfermedad de los edemas en cerdos o diarrea sanguinolenta ni SUH. Los serotipos de ETEC están asociados con diarrea neonatal, diarrea posdestete o enfermedad de los edemas.

Los E. coli aislados, presentaron resistencia frente a los antimicrobianos frecuentemente utilizados en las explotaciones porcinas. STEC y ETEC no están epidemiológicamente relacionados.

Los resultados obtenidos conforman una base de datos para colaborar con el mejoramiento de la sanidad animal en las piaras de la provincia de Buenos Aires y conocer la portación de STEC patógenos para el ser humano.

Determinación de la calidad microbiológica en alimentos balanceados para caninos en el mercado de Sumpango, Sacatepéquez. Guatemala, 2007.

Autor: Girón Pérez, Claudia Marina.

Institución: Universidad De San Carlos.

Año: 2007.

Resumen:

El presente estudio se realizó en los meses de Julio a Noviembre y es su objetivo determinar la calidad microbiológica de los alimentos balanceados para caninos en el mercado de Sumpango, Sacatepéquez. Se trabajó con ocho expendios de venta de granos, donde se vende el alimento balanceado para caninos por libra.

Cada expendio se muestreó con media libra de alimento balanceado para canino. A cada muestra se le realizó cuatro determinaciones microbiológicas, utilizando el método Petrifilm para aerobios totales, coliformes, E. coli, hongos y levaduras. Las muestras se trabajaron en el laboratorio de microbiología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Se determinó contaminación de origen bacteriano por Coliformes en un 25% y por E. coli en un 37.5% de las ocho muestras de alimento balanceado. Así también, se determinó contaminación por hongos y levaduras en un 25% de las muestras. Se tomaron en cuenta características físicas de los expendios para determinar la presencia de bacterias y hongos y resultando que un 100% de los expendios tiene expuesto el alimento al aire libre, 75% evidencia la presencia de roedores y moscas y un 75% el consumidor tiene acceso al producto.

De los resultados obtenidos se concluye que los alimentos balanceados para caninos en el mercado de Sumpango, Sacatepéquez están contaminados por bacterias y hongos.

Calidad microbiológica de alimentos para perros comercializados a granel; Santiago. Chile.2006.

Autor: Busto Pino, Carolina.

Institución: Universidad De Chile.

Año: 2006.

El siguiente estudio se realizó con el fin de comprobar la calidad microbiológica de los alimentos comerciales para perros expendidos a granel, y posteriormente contrastarla con la calidad microbiológica que presentan los mismos alimentos en envases sellados.

Con este fin, se tomaron muestras de cinco marcas de alimentos extruídos para perros; una al estado sellado y otra al estado "a granel". La toma de muestras se llevó a cabo en cinco comunas de Santiago (La Florida, Maipú, Estación Central, Recoleta y Renca), recolectándose en total cincuenta muestras.

Para la toma de muestras y posterior análisis de la información obtenida, se utilizó el plan de muestreo y límites microbiológicos del Nuevo Reglamento de los Alimentos (Chile, 2006), adaptado por la unidad de higiene y tecnología de los alimentos de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, para alimentos de caninos.

Cada una de las muestras fue sometida a cinco análisis microbiológicos: recuento de aerobios mesófilos Número Más Probable (NMP) de coliformes totales, detección de E.coli, detección de Salmonella sp. y recuento de mohos y levaduras. Del total de las muestras estudiadas, en ninguna se detectó la presencia de los patógenos Salmonella sp. y E.coli.

En el análisis de coliformes totales, todas las marcas cumplen con los límites establecidos en el programa de muestreo, tanto en alimentos sellados como a granel.

2.2. Marco Conceptual.

2.2.1 Alimentos balanceados para cerdos (*Sus scrofa doméstica*):

Los alimentos balanceados son un alimento elaborado para animales, que están compuesto por sustancias o productos, incluido los aditivos, destinado a la alimentación por vía oral de los animales, tanto si ha sido transformado entera o parcialmente. En muchos casos se pueden utilizar como alimento único, para cubrir todas las necesidades del animal. Aunque hay unos tipos de balanceados que se utilizan como alimento complementario a otros productos de la dieta.¹⁸

2.2.1.1 Composición de los alimentos balanceados para cerdos (*Sus scrofa doméstica*).

Los ingredientes de alimento balanceado deberán obtenerse de fuentes seguras, y someterse a un análisis de riesgos si se han obtenido mediante procesos o tecnologías no evaluadas hasta el momento desde el punto de vista de la inocuidad de los alimentos.

En particular, los fabricantes de aditivos para piensos deberán proporcionar al usuario una información clara que permita su empleo correcto e inocuo.¹⁹

La vigilancia de los ingredientes de piensos debe incluir su inspección, muestreo y análisis para determinar la presencia de contaminantes, aplicando protocolos basados en el riesgo. Dichos ingredientes deberán ajustarse a normas aceptables y, cuando sea el caso, reglamentarias en lo referente a los niveles de agentes patógenos, micotoxinas, plaguicidas y contaminantes que puedan suponer peligros para la salud de los consumidores.²⁰

18. Vizcarra, P. Balanceado para animales. 2013; 10(2). p. 4. <http://revistas.cientifica.edu.pe/index.php?journal=cientifica&page=article&op=view&path%5B%5D=196>. [Último acceso 12 de Octubre del 2016].

19. Manuel, P. Manual de porcicultura. 1ed. Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería; 2007. p. 50-51. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00111.pdf>. [Último acceso 08 de Abril del 2015].

20 Ortiz, C. op. cit., p. 10.

Cuadro N°3: Formulación del alimento balanceado para cerdo engorde.

INSUMOS	%	1000 (Kg)
Harina fina de maíz puro	63.3	633
Subproducto de trigo	5.69	57
Melaza	1	10
Torta de soya crisol	22.7	227
Harina integral de soya cayco	4	40
Phosbic	0.85	8.5
Carbonato de calcio	0.62	6.5
Sal común	0.45	4.5
Sulfato de lisina	0.6	6.000
Treonina	0.12	1.200
Metionina	0.07	0.700
Alquerfeed antitox	0.1	1.000

Fuente: Blas, C. Gasa, J. Mateo, G. 2013.²¹

2.2.1.2. Contaminación de los alimentos balanceados:

- Factores físicos:
 - Contacto directo con insectos y roedores.
 - Almacenamiento (humedad, temperatura, aire).
 - Ambiente inadecuado.
- Factores microbiológicos:
 - Bacterias.
 - Hongos.

21. Blas, C. Gasa, J. Mateo, G. Necesidades nutricionales para ganado porcino, Normas FEDNA. 2ed. España: Nanda; 2013. p. 52.

a) Factores físicos.

Un buen almacenamiento influye en mantener la calidad de los nutrientes de los granos utilizados para la elaboración de alimento balanceado. El almacenamiento de granos o alimentos balanceados para animales incluye una adecuada temperatura, humedad, y aireación o ventilación, para mantener la calidad de los mismos y evitar la contaminación por bacterias y hongos. El porcentaje de humedad en el almacenamiento de alimentos balanceados o granos, influye sobre el crecimiento de hongos y sus aflatoxinas. Niveles bajos de humedad no permiten el crecimiento de hongos, pero entre el 14% y 20% de humedad, el crecimiento fúngico es probable, por lo que es importante evaluar el % de humedad existente en el almacenamiento de los granos para la elaboración de alimento balanceado para animales, o alimento balanceados ya elaborados.²²

La humedad puede variar por tres causas: presencia o infestación de insectos, crecimiento de hongos y diferencia de temperatura en el lugar de almacenamiento y el medio ambiente. La temperatura influye en la humedad, y algunos hongos pueden desarrollarse a temperaturas bajas, incluso a temperatura de congelamiento, dando un crecimiento lento de los mismos. Una temperatura de 30°C a 32°C favorece el crecimiento de hongos, y la tasa de crecimiento de éstos, baja a medida que la temperatura disminuye.

La temperatura en el almacenamiento de los granos para alimentos balanceados para animales, puede variar por la temperatura ambiental, metabolismo microbiano o humedad relativa del lugar de almacenamiento. Otros factores como el agua, piel, plumas, polvo del suelo, son fuentes importantes de bacterias coliformes, enterococos y otras bacterias intestinales.

El polvo es portador de mohos y levaduras, así la contaminación de los alimentos por el aire puede tener importancia por razones higiénicas y económicas y aunque el aire no tiene flora microbiana propia, los existentes en él, están adheridos a la superficie de partículas sólidas en suspensión o

22. Cayro, B. Niveles de contaminación bacteriana frente a *Escherichia coli*, coliformes totales y mesófilos aerobios totales en alimento balanceado para pollos engorde expendido en los centros de venta feria del altiplano, Fátima Arequipa 2013". [Tesis]. Facultad de ciencias e ingenierías biológicas y químicas, Universidad Católica de Santa María, Arequipa; 2014.

en el interior de moléculas de agua, en polvos o hifas en partículas de tierra seca, aerosoles de estornudos o tos que se forman al hablar.

Estos microorganismos presentes en el aire no se pueden multiplicar, sólo permanecen en él y son los microorganismos más resistentes a la desecación los que sobrevivirán más tiempo.

Por esta razón son las esporas de los mohos las que más frecuentemente encontramos adheridas al polvo o a una partícula sólida. Los cocos son más frecuentes en el aire que las bacterias de forma bacilar.²³

Según la Norma Técnica Ecuatoriana 1992-01 (Anexo N°12), establece los requisitos que deben cumplir los alimentos balanceados para animales.²⁴

Cuadro N°4: Requisitos mínimos y máximos de los análisis fisicoquímicos en los alimentos balanceados.

REQUISITOS	ALIMENTO				METODO DE ENSAYO
	INICIADOR (%)		FINALIZADOR (%)		
	Min.	Máx.	Mín.	Máx.	
Humedad	-	13	-	13	INEN 540
Proteína cruda	20	-	18	-	INEN 543
Fibra cruda	menor que	5	menor que	5	INEN 542
Grasa cruda	3	-	4	-	INEN 541
Cenizas	-	8	-	8	INEN 544
Calcio	0,9 a	1,0	0,8 a	1,0	INEN 546
Fósforo total	0,68	-	0,60	-	INEN 547

Fuente: Norma técnica Ecuatoriana, 1992.²⁵

23. Girón, C. Determinación de la calidad microbiológica en alimentos balanceados para caninos en el mercado de Sumpango, Sacatepéquez. ". [Tesis].Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad De San Carlos, Guatemala, 2007.

24. Norma Técnica Ecuatoriana.1992-01.Ecuador: INEN; 1992. p.1-4.

25 . Ibid.p.3.

b) Factores microbiológicos.

Las plantas, animales y algunos vectores como moscas, son factores importantes en la contaminación de alimentos. Los microorganismos de origen animal proceden de su flora superficial, de la flora de sus vías respiratorias y de la flora de su tubo gastrointestinal.

Así también son portadores de microorganismos las plumas, piel, pelo de animales que contienen gran cantidad de bacterias procedentes del suelo, estiércol, piensos y agua, importantes para la contaminación de alimentos.

Las heces y los alimentos de origen animal contaminados por las mismas pueden contener diversos microorganismos entéricos, como por ejemplo del genero *Salmonella*. Algunos de los agentes que producen enfermedades infecciosas en los animales pueden ser transmitidas a las personas por los alimentos, algunas de las bacterias que producen dichas enfermedades en los animales son *Campylobacter*, *Streptococos beta-hemolíticos*, *Salmonellas*, *Escherichia coli* enteropatógeno, parásitos y virus.²⁶

Según la Norma Técnica Colombiana 30.100.003 - Alimento completo para animales composición garantizada y tolerancias (Anexo N°13). Esta norma se basa en determinar que el producto cumpla con la composición registrada y establece los niveles de tolerancia de la composición garantizada para los parámetros microbiológicos analizados en los alimentos para animales.²⁷

26. Cayro, B. Niveles de contaminación bacteriana frente a *Escherichia coli*, coliformes totales y mesófilos aerobios totales en alimento balanceado para pollos engorde expandido en los centros de venta feria del altiplano, Fátima Arequipa 2013". [Tesis]. Facultad de ciencias e ingenierías biológicas y químicas, Universidad Católica de Santa María, Arequipa; 2014.

27. ICONTEC. Norma Técnica Colombiana. DIP 30.100.003. Colombia: ICMA; 1999. p. 1-5.

Cuadro N°5: Requisitos de los análisis microbiológicos en los alimentos balanceados.

Análisis microbiológico	Máximo
Recuento de microorganismos mesofilos, UFC/g	10×10^7
Recuento de hogos, UFC/g	10×10^4
Recuento de coliformes, UFC/g	10×10^4
Recuento de <i>Clostridium sulfito</i> reductor, UFC/g	20×10^1
Detección de Salmonella/25g	Ausencia
Aislamiento de E. Coli	Ausencia

Fuente: Según la Norma Técnica Colombiana 30.100.003. 1999.²⁸

2.2.2. Escherichia coli en cerdos.

Recibe el nombre de colibacilosis, un grupo de enfermedades causadas por *Escherichia coli*, principalmente en el animal recién nacido, aunque también en animales de mayor edad.

A pesar de ser *Escherichia coli*, la bacteria más estudiada en cuanto a su fisiología y genética, curiosamente los mecanismos patogénicos que operan en las enfermedades producidas por este germen no han sido estudiados con atención necesaria, solo pocos investigadores se han preocupado por diversos aspectos de patogénesis de la colibacilosis.²⁹

28. Ibid.p. 5.

29. Steven, M. Infecciones por *Escherichia coli* en cerdos, 2011; [Consultado el 24 de Noviembre del 2016]. 17(3).p. 5-7.

En los cerdos, la colibacilosis puede manifestarse en 4 síndromes:

- Diarrea del recién nacido.
- Diarrea a las 3 semanas de edad.
- Diarrea al destete.
- Enfermedad edematosa.

Los cerdos afectados generalmente se encuentran muertos sin haber mostrado signos de enfermedad; sin embargo, cuando se observan, estos presentan incoordinación muscular, parálisis parcial y ceguera.

Los parpados son engrosados por edema. La mayoría de los cerdos afectados mueren en un lapso no mayor de 24 horas. La *Escherichia coli* es un habitante normal del tracto digestivo del hombre y los animales, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación fecal, directa o indirecta, por falta de limpieza en el manejo del alimento balanceado y su almacenamiento.³⁰

A. Características generales de la enfermedad.

La infección por cepas de *Escherichia coli* tienen dos formas de manifestación, una producida por cepas toxigénicas, la cual se caracteriza por la pérdida excesiva de fluidos por una profusa diarrea y una segunda forma de la enfermedad, que es producida por cepas invasoras que producen una disentería. Su período de incubación es variable, pero se reporta que es más corto en cuadros clínicos producidos por cepas invasoras que por cepas toxigénicas.

La presencia de *E.coli* en los alimentos pone de manifiesto la existencia de un riesgo para la salud pública tan importante como la presencia de salmonelas.³¹

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo peritrico flagelado que presenta muchas cepas o serotipos y algunas causan hemólisis. Los

30. HIPRA. Guía de referencia de la prevención para salud animal. 2011; 9(3). p. 25-27. <https://www.oie.int/doc/ged/D11405.PDF> [Último acceso 24 de Noviembre del 2016].

31. Aislamiento de *Escherichia coli* enteroinvasiva y enteropatógena desde cerdos con patologías digestivas. por Norma, Pereyra. "et al". 2011. 9(3). p. 23. <https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/aislamiento-escherichia-coli-enteroinvasiva-t31524.htm>. [Último acceso 15 de noviembre 2016].

serotipos se asocian con virulencia. Una tipificación incluye la determinación de los antígenos somáticos (O), capsulares (K), flagelares (H) y de fimbria (F).³²

- **Factores de virulencia (FV).**

Las cepas enterotoxigénicas de *E. coli* (ETEC) tienen exotoxinas que disparan la secreción de líquidos en el lumen intestinal y son responsables de patología sistémica.

Las endotoxinas están presentes en la membrana exterior de la mayoría de las cepas de *E. coli*. Muchas infecciones por esta bacteria requieren colonizar membranas mucosas; y la adhesión al Intestino está mediada por fimbrias o pili, que son hospedero específico.^{33, 34}

- **Genética de virulencia.**

Los factores de virulencia están determinados por plásmidos para: hemolisina, toxinas y adhesinas, pero otros como la fimbria, citotoxinas y algunas hemolisinas son cromosomales.³⁵

- **Epidemiología.**

Las infecciones intestinales por ETEC (*Escherichia coli* enterotoxigénico) son contagiosas, pero sin embargo algunas cepas pueden encontrarse en cerdos sanos sin causar problemas, y su población es dinámica y variable.

Las infecciones extraintestinales no se comportan como enfermedades transmisibles. El hábitat primario de *E. coli* es el tracto Gastrointestinal; es muy complejo, esta bacteria prolifera en intestino delgado pero

32. Steven, M. op. cit., p. 4.

33. Aislamiento de *Escherichia coli* enteroinvasiva y enteropatogénica desde cerdos con patologías digestivas. por Norma, Pereyra. "et al". 2011. 9(3), p. 27. <https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/aislamiento-escherichia-coli-enteroinvasiva-t31524.htm>. [Último acceso 15 de noviembre 2016].

34. Universo porcino. op. cit., p. 5.

35. Ibid. p. 6.

representa menos del 1 % del total de la flora en el tracto gastrointestinal.³⁶

- **Signos clínicos.**

El signo principal de la colibacilosis es diarrea; otros signos dependen de la edad de los lechones, factores de virulencia y estado inmune del animal.

En casos severos se aprecia deshidratación, acidosis metabólica y muerte. La diarrea neonatal se puede presentar a las 2-3 horas posteriores al parto en uno o varios lechones, y es más común en cerdas primerizas. La mortalidad puede ser alta.

En casos menos severos la diarrea es moderada, clara y acuosa, sin deshidratación. Casos subagudos se caracterizan por lechones deprimidos, lentos, deshidratación con ojos sumidos, piel azulosa o gris y huesos salidos. En algunos lechones puede haber vómito. En casos crónicos se nota el ano y perineo inflamados.³⁷

- **Epidemiología.**

Las infecciones intestinales por ETEC (*Escherichia coli* enterotoxigénico) son contagiosas, pero sin embargo algunas cepas pueden encontrarse en cerdos sanos sin causar problemas, y su población es dinámica y variable.

Las infecciones extraintestinales no se comportan como enfermedades transmisibles. El hábitat primario de *E. coli* es el tracto Gastrointestinal; es muy complejo, esta bacteria prolifera en intestino delgado pero representa menos del 1 % del total de la flora en el tracto gastrointestinal.³⁸

36. Ibid. p. 6.

37. Ibid. p. 6.

38. Ibid. p. 6.

- **Diagnóstico.**

En el proceso del diagnóstico, se tiene que realizar una diferenciación con el rotavirus, clostridiasis, coccidiosis mediante la determinación del pH de las heces con papel indicador, porque la diarrea neonatal es alcalina, mientras que con rotavirus la diarrea es ácida.³⁹

- **Tratamiento.**

Los antibióticos de amplio espectro, pero hay que corregir factores predisponentes. La terapia con líquidos ayuda.⁴⁰

- **Prevención.**

El mejorar la higiene y el ambiente de lechones es fundamental. También ayudará a reforzar el nivel de inmunidad de las madres.

Se debe controlar la temperatura para lechones en lactación (entre 30 a 34 °C) sobre todo en animales de bajo peso. El uso de jaulas de maternidad bien diseñadas, ajustables, con piso perforado, fácil de lavar, reducen la contaminación fecal.

Un ambiente seco, tibio y bien ventilado reduce la persistencia ambiental de *E coli*. Hay que tomar en cuenta que las cerdas tienen que estar a una temperatura media de 22°C, si esta es más alta, descomponen el ambiente.

La cuarentena de reemplazos ayuda a limitar la introducción de nuevas cepas.⁴¹

39. Ibid. p. 7.

40. Ibid. p. 7.

41. HIPRA, op, cit., p. 9.

CAPÍTULO III

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Población y muestra

Se utilizó el método aleatorio probabilístico según la intencionalidad del investigador tomando en cuenta los siguientes criterios:

1. Criterio de inclusión:

Se tomó en cuenta el alimento balanceado de engorde para cerdos ya que es el más comercializado, estos se expenden a granel; se evaluó las muestras durante cinco días en los establecimientos comerciales que firmaron la autorización (Anexo N°8), con el objetivo de determinar *Escherichia coli*, en alimento balanceado para cerdos (*Sus scrofa doméstica*), de tal manera se tenga una muestra representativa.

2. Criterio de exclusión:

Fueron excluidos aquellos centros de venta que no cuentan con autorización para el giro y que no firmen la solicitud de autorización (Anexo N°8), además de aquellos alimentos que pasaron por un tratamiento térmico y que se expenden en sacos sellados.

3.2. Tamaño de la muestra representativa

Se consideró los cinco establecimientos comerciales (A, B, C, D, E) autorizados y que expenden a granel el alimento balanceado; el tamaño de muestra fue de 500 gr, los cuales se tomaron por día, se realizó en cinco días calendarios lo cual hizo un total de 2,5 Kg por establecimiento comercial; para el muestreo se consideró dos niveles (base y superficie).

3.3. Análisis e interpretación de resultados

Los resultados están distribuidos en tres tablas, de las cuales la primera hace referencia a las pruebas fisicoquímicas, mientras que las dos siguientes refieren a las pruebas microbiológicas.

Las muestras fueron analizadas individualmente y por triplicado para determinar presencia de *Escherichia coli*.

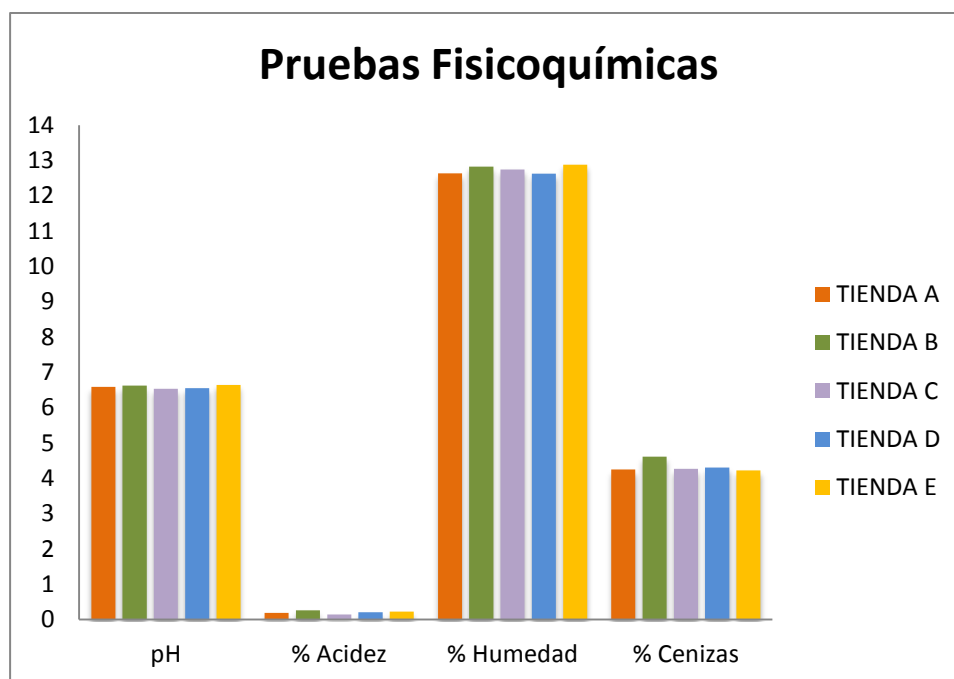
En la tabla N°1, se determinó las pruebas fisicoquímicas del alimento balanceado para cerdos engorde de los cinco establecimientos comerciales A, B, C, D, E, teniendo en cuenta que cada prueba se realizó por triplicado, determinando la desviación estándar, estas pruebas permiten realizar un análisis de los alimentos balanceados, asegurando que estos sean aptos para el consumo y que cumplan con las características y composición que se espera de ellos, sin embargo, en este análisis solo se realizó las pruebas de pH, acidez, humedad y cenizas que son indicadores que permiten conocer el estado general de los productos y que tienen influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad de los alimentos balanceados, así como en la proliferación de microorganismos.

Tabla N°1: Determinación de pH, ácidos, humedad y cenizas, en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).

Determinación de las pruebas fisicoquímicas.						
Pruebas fisicoquímicas	Fechas	Establecimiento comercial A	Establecimiento comercial B	Establecimiento comercial C	Establecimiento comercial D	Establecimiento comercial E
pH*	17/09/16	6.59±0.01	6.63±0.01	6.54±0.01	6.56±0.01	6.65±0.01
	19/09/16	6.60±0.01	6.62±0.01	6.54±0.01	6.55±0.01	6.64±0.01
	21/09/16	6.58±0.01	6.64±0.01	6.54±0.01	6.57±0.01	6.66±0.01
Ácidos (mg /L)*	17/09/16	0.1802±0.004	0.2703±0.004	0.1442±0.004	0.1802 ±0.004	0.2703 ±0.004
	19/09/16	0.2703±0.004	0.2703±0.004	0.1442±0.004	0.1802 ±0.004	0.2703 ±0.004
	21/09/16	0.1442±0.004	0.2703±0.004	0.1442±0.004	0.2703 ±0.004	0.1442 ±0.004
Humedad (%)*	17/09/16	12.62±0.2011	12.88±0.1412	12.75±0.0801	12.64±0.0998	12.92±0.2443
	19/09/16	12.63±0.1836	12.80±0.1453	12.75±0.0801	12.61±0.1082	12.89±0.2285
	21/09/16	12.66±0.1473	12.80±0.1102	12.75±0.0801	12.64±0.1159	12.84±0.1825
Cenizas (%)*	17/09/16	4.27±0.0508	4.69±0.0909	4.25±0.1220	4.30±0.0783	4.23±0.0660
	19/09/16	4.26±0.0286	4.67±0.0142	4.24±0.0824	4.32±0.0405	4.23±0.0506
	21/09/16	4.23±0.0127	4.49±0.0508	4.32±0.1236	4.30±0.0657	4.24±0.0528

Fuente: Elaboración propia. *Prueba por triplicado (n=3), desviación estándar (±).

Gráfico N°1: Determinación de pH, ácidos, humedad y cenizas, en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).



Fuente: Elaboración propia. *Prueba por triplicado (n=3), desviación estándar (\pm).

Se puede observar que las pruebas fisicoquímicas, presentan valores relativamente parecidos a los estándares de la Norma Ecuatoriana.⁴²

En cuanto al pH, se presentó valores que oscilan entre 6.54 y 6.66, los cuales se encuentran dentro del rango óptimo de desarrollo microbiano para bacterias Neutrófilas, ya que en general las bacterias crecen en pH cercanos a la neutralidad (6.5 - 7.5).

En el caso de *Escherichia coli* su pH de crecimiento óptimo es (6.0-7.0).⁴³ Por tanto, se puede inferir que los resultados de pH encontrado no afecta el crecimiento de esta cepa en el alimento balanceado.

42. Norma Técnica Ecuatoriana. op. cit., p. 3.

43. OMS. *Escherichia coli*. 2013; 10(2).p. 1-3. http://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/. [Último acceso 15 de diciembre del 2016].

Los valores de los cinco establecimientos comerciales estudiados (A, B, C, D y E), según el pH indican que no hay diferencia estadísticamente significativa entre ellas, tabla $F_{2,27} (5\%) = 3.48 < 63,9$ (Anexo N°15).

Los resultados del índice de Acidez (expresado como % de ácido láctico), presentaron valores que oscilan entre 0.1442 y 0.2703, indicando una reducción en la existencia de ácidos grasos libres y que hayan comenzado a oxidarse a compuestos oxigenados (hidroperóxidos) por la acción de agentes químicos (oxígeno, temperatura, luz o trazas metálicas) o agentes bioquímicos (microorganismo o enzimas lipooxidasas) sin embargo, en los cinco establecimientos comerciales (A, B, C, D y E), si presentan diferencia significativa entre ellas, tabla $F_{2,27} (5\%) = 3.48 > 2.06$, (Anexo N°16).

Los porcentajes de humedad y cenizas presentaron valores que oscilan entre 12.62% a 12.92% y 4.23% a 4.27% respectivamente. Estas pruebas nos indican que el producto es bajo en contenido de Agua, por tanto, no favorece el crecimiento microbiano, este factor extrínseco permite a las bacterias tener un desarrollo óptimo en humedades altas; también se encontró un 4% de material inorgánico que estaría compuesto por minerales que tienen la finalidad de enriquecer la nutrición del animal y además pueda ser aprovechado por algunas bacterias que requieren sustancias inorgánicas sencillas para obtener energía, como es el caso de algunas autótrofas y heterótrofas ya que ambas necesitan captar una serie de elementos químicos para su desarrollo y crecimiento, sin embargo, los resultados de humedad y cenizas, en los cinco establecimientos comerciales (A, B, C, D y E), no presentan diferencias estadísticamente significativas entre ellas respectivamente, para las cenizas, tabla $F_{2,27} (5\%) = 3.48 < 37.34$, (Anexo N°17) y para la humedad, tabla $F_{2,27} (5\%) = 3.48 < 1745.21$, (Anexo N°18).

Los resultados obtenidos del cultivo de las muestras tomadas en los establecimientos comerciales (A, B, C, D y E), en medio selectivo como es EMB se encuentran en la tabla N°2, donde podemos observar características como: fermentación de lactosa y crecimiento de bacterias gram negativas, esto por la presencia de eosina y azul de metileno, que inhibe el crecimiento de la amplia variedad de bacterias gram positivas.

Tabla N°2: Determinación de la presencia de *Escherichia coli* por pruebas de crecimiento en Agar EMB, de alimento balanceado a granel para cerdos engorde en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).

Características de las colonias en Agar EMB											
Prueba	Establecimiento comercial	17/09/16 (1M)		18/09/16 (2M)		19/09/16 (3M)		20/09/16 (4M)		21/09/16 (5M)	
		Cr	F	Cr	F	Cr	F	Cr	F	Cr	F
EMB	A	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-
	B	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
	C	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
	D	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-
	E	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
controles	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: Elaboración propia; Cr: Crecimiento, F: Fermentación de lactosa y/o sacarosa; (+) presencia, (-) ausencia.

En la tabla N°2, se observa que en el establecimiento comercial A, los resultados en 4 de 5 días de análisis del mes de setiembre, indicaron que si hubo crecimiento en agar EMB, pero no fermentación de lactosa, y solo en 1 de 5 días, se observó crecimiento y fermentación de lactosa.

En el establecimiento comercial B, los resultados en 3 de 5 días de análisis, presentaron crecimiento en agar EMB y no fermentación de lactosa; en tanto en 2 de 5 días, las bacterias que crecieron son fermentadoras de lactosa; los mismos resultados se presentaron en el establecimiento comercial C.

En el establecimiento comercial D, los resultados en 4 de 5 días de análisis, indicaron que si hubo crecimiento en agar EMB y no fermentación de lactosa, pero en 1 de 5 días, las bacterias crecieron y fermentaron la lactosa.

En el establecimiento comercial E, en 4 de 5 días de análisis del mes de setiembre, indicaron crecimiento pero no hubo fermentación y en 1 de 5 días del mes de setiembre se presentó crecimiento y fermentación. Evaluando los resultados podemos inferir que la contaminación puede presentarse al momento de expender el alimento balanceado y no que la muestra se contamine en el saco; los resultados permiten sugerir la presencia de bacterias gram negativas que en agar EMB, crecen y fermentan la lactosa.

Tabla N°3: Pruebas bioquímicas simultáneas en Agar (TSI, SIM y INVIC) en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde de los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).

Evaluación de las pruebas bioquímicas simultáneas																					
Pruebas bioquímicas	Fechas	Establecimiento comercial A		Establecimiento comercial B		Establecimiento comercial C		Establecimiento comercial D		Establecimiento comercial E											
		F	G	F	G	F	G	F	G	F	G										
TSI*	17/09/16	K/A	+	A/A	+	A/A	+	A/A	+	A/A	+										
	18/09/16	K/A	+	A/A	+	A/A	+	K/A	+	K/A	+										
	19/09/16	K/A	+	K/A	+	K/A	+	K/A	+	K/A	+										
	20/09/16	A/A	+	K/A	+	K/A	+	K/K	-	K/A	+										
	21/09/16	K/A	+	K/A	+	K/A	+	K/A	+	K/A	+										
SIM*		MEDIO SIM																			
		M	SH ₂	M	SH ₂	M	SH ₂	M	SH ₂	M	SH ₂										
	17/09/16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-										
	18/09/16	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-										
	19/09/16	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-										
	20/09/16	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-										
21/09/16	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-											
IMVIC*		MEDIO IMVIC																			
		I	MR	VP	C	I	MR	VP	C	I	MR	VP	C	I	MR	VP	C	I	MR	VP	C
	17/09/16	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
	18/09/16	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
	19/09/16	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
	20/09/16	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
21/09/16	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	

Fuente: Elaboración propia; Donde F: Fermentación de azúcares; K: reacción alcalina (color amarillo), A: reacción ácida (color rojo); G: Producción de gas; SH₂: Producción de ácido sulfhídrico; (+): positivo; (-): negativo, I: Indol; RM: Rojo de Metilo; VP: Voges- Proskauer; C: Citrato de simmons.* Prueba por triplicado (n=3)

Analizando la tabla N° 3 en el establecimiento comercial A y E en 4 de 5 días de análisis, la bacteria fermento la glucosa, gas (+), en medio SIM se observó turbidez del medio y sulfuros (-), en INVIC el I: (-), RM (-), VP(+), C (+); mientras que en los establecimientos comerciales B y C en 3 de 5 días de análisis, fueron mismos resultados y en el establecimiento comercial D en 2 de 5 días; este resultado nos indica que durante estos días puede haber contaminación por bacterias como *Serratia marsensen*.

En el establecimiento comercial D en 1 de 5 días de análisis se fermento la glucosa, gas (+), en medio SIM se observó turbidez del medio y sulfuros (+), en INVIC el I: (-), MR (+), VP(-), C (+); por tal razón podría tratarse de las bacterias, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis* y también en 1 de 5 días, no hubo fermentación de glucosa, gas (-), en medio SIM se observó turbidez del medio y sulfuros (-), en INVIC el I: (-), MR (/), VP(/), C (+); en consecuencia podría tratarse de *Pseudomona auriginosa*.

Sin embargo, en la presente investigación tenemos como interés aquellas pruebas que nos salieron fermentadoras de glucosa, lactosa y/o sacarosa, gas (+) y en medio SIM crecimiento solo en la línea de siembra y sulfuros (-); en medio INVIC se observó I: (-), MR (-), VP(+), C (+), por consiguiente la presencia de *Klebsiella pneumoniae*, este resultado se presentó en 1 de 5 días de análisis en los establecimientos comerciales A, D, E y en 2 de 5 días de análisis en los establecimientos comerciales B y C, por consiguiente las muestras analizadas no presentan *Escherichia coli*, dando por concluido los análisis microbiológicos realizados al alimento balanceado para cerdos engorde, por consiguiente se acepta la hipótesis alterna que señala, que el alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*" expandido a granel, se encuentra dentro de los parámetros de la normativa.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Primera: No se observó presencia de *Escherichia coli* en el alimento balanceado a granel para cerdos engorde, cumpliendo con los límites permisibles microbiológicos de la normativa del Instituto Colombiano Agropecuario para el alimento balanceado para la especie porcina.

Segunda: Las pruebas fisicoquímicas que se realizaron durante el tiempo de estudio, en 5 días del 17 y 21 del mes de setiembre del año 2016, indicaron que los valores de pH se presentan entre 6.58 - 6.66; la acidez entre 0.1442 - 0.2703; la humedad 12.62% - 12.92% y las cenizas entre 4.23% - 4.27% estos valores corresponden al rango normal según la norma Ecuatoriana.

Tercera: Mediante los métodos microbiológicos; en el agar EMB se evidenció, crecimiento de bacterias gram negativas y en el agar TSI hubo fermentación A/A, presencia de gas; en el agar SIM crecimiento en la línea de siembra y ausencia de ácido sulfhídrico; en el medio INVIC el I:(-), MR(-), VP(+), C(+), caracterizando a un grupo de bacterias y dando por descartando el crecimiento de *Escherichia coli* en el alimento balanceado para cerdos engorde.

4.2. RECOMENDACIONES.

En vista de que el alimento balanceado para cerdos engorde "*Sus scrofa doméstica*" expendido a granel, no tiene investigaciones con respecto a la calidad del expendio, se recomienda:

1. Investigar coliformes totales en el alimento balanceado para cerdos "*Sus scrofa doméstica*" en los centros de venta que expenden a granel en Fátima y otros sectores.
2. Evaluar la calidad microbiológica de los alimentos balanceados para cerdos "*Sus scrofa doméstica*". expendidos a granel, y posteriormente contrastarla con la calidad microbiológica que presentan los mismos alimentos en envases sellados.
3. Establecer los análisis microbiológicos con cierta regularidad a fin de tener un protocolo de vigilancia sanitaria continua preventiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Deza J, Muñoz S. Metodología de la investigación científica. Perú: centro de investigación, Font; 2008.
- Granados R, Villaverde C. Microbiología, bacteriología, medios de cultivo y pruebas bioquímicas, micología general, parasitología general. 2^{da} edición. España: Editorial Paraninfo S. A; 1998.
- García P. Microbiología clínica aplicada. 1^{ra} edición. España: Editorial Díaz De Santos; 1997.
- Pascual R, Calderón, V. Microbiología alimentaria- metodología analítica para alimentos y bebidas. 2ed. España: Masson; 2000.
- Álvarez, R. estadística aplicada a las ciencias de la salud. 1ra Edición, España: Díaz Santos.2007.p.246.

TESIS:

- Busto P. Calidad microbiológica de alimentos para perros comercializados a granel;[Tesis en línea]. Chile: Santiago; 2016. [Consultado 15 de Setiembre del 2017 13:05 pm].Disponible en:<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/133752>.
- Cayro R. Niveles de contaminación bacteriana frente a *Escherichia coli*, coliformes totales y mesofilos aerobios totales en alimento balanceado para pollos engorde expendido en los centros de venta Feria del Altiplano, Fátima-Arequipa. [Tesis].Perú: Universidad Católica de Santa María; 2013.
- Leotta, Gerardo. Prevalencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico y *Escherichia coli* productor de toxina shiga en cerdos sin manifestación clínica de diarrea, laboratorio de diagnóstico e investigaciones bacteriológicas; 2012. [Tesis en línea]. Argentina: Buenos Aires, [Consultado 21 Noviembre del 2017 23:00 pm]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/20352>.
- Girón Pérez C. Determinación de la calidad microbiológica en alimentos balanceados para caninos en el mercado de Sumpango; 2007. [Tesis en línea]. Guatemala: Sacatepéquez, [Consultado 12 de Setiembre del 2017 10:20 am]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3699/1/Tesis%20Med%20Vet%20Claudia%20Giron%20P%C3%A9rez.pdf>.

HEMEROGRAFIA:

- Blas, C. Gasa, J. Mateo, G. Necesidades nutricionales para ganado porcino, Normas FEDNA. 2ed. España: Nanda; 2013.[Consultado el 15 de Agosto del

2016]. Disponible en:http://www.fundacionfedna.org/normas_fedna_formulacion_piensos.

WEBGRAFIA:

- Blas, C. Gasa, J. Mateo, G. Necesidades nutricionales para ganado porcino, Normas FEDNA. 2ed. España: Nanda; 2013. [Consultado el 15 de Agosto del 2016]. Disponible en:http://www.fundacionfedna.org/normas_fedna_formulacion_piensos.
- Brunori, J. Zielinski, G. Panichelli. R. Causas de mortalidad en un sistema de producción porcina durante las etapas de crecimiento y terminación. 2005. disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3507/articulos-porcino-archivo/causas-de-mortalidad-en-un-sistema-de-produccion-porcina-a-campo-durante-las-etapas-de-crecimiento-y-terminacion.html>. [Consultado el 21 de Noviembre del 2017].
- Cedeño E. Formulación, elaboración y control de calidad de un alimento balanceado para ratones de experimentación (*MUS MUSCULUS*) del bioterio de la escuela de Bioquímica y Farmacia de la Epoch; 2013. [Tesis en línea]. Ecuador: Riobamba, [Consultado el 23 de Enero del 2017 23:00 pm]. Disponible en:<http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/2691/1/56T00394.pdf>.
- Girón Pérez C. Determinación de la calidad microbiológica en alimentos balanceados para caninos en el mercado de Sumpango; 2007. [Tesis en línea]. Guatemala: Sacatepéquez, [Consultado 12 de Setiembre del 2017 10:20 am]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3699/1/Tesis%20Med%20Vet%20Claudia%20Giron%20P%C3%A9rez.pdf>.
- HIPRA. Guía de referencia de la prevención para salud animal. [Revista On line] 2011; [Consultado el 24 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <https://www.hipra.com/wps/portal/web/inicio/conocimientoHipra/patologias!/ut/p/c/pt20100621162427>.
- Héctor, M. Acidez, Basicidad y pH. [Libro electrónico] 2010; [Consultado el 24 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/35046353/Acidez-Basicidad-y-pH>.
- ICONTEC. Norma Técnica Colombiana.30.100.001. Colombia: ICMA; 2000. [Consultado el 22 de Julio del 2016]. Disponible en:http://www.fundacionfedna.org/normas_fedna_formulacion_piensos.

- Lakshmikantha H, Channaiah, N. Inocuidad de los alimentos balanceados para animales: riesgo y desafíos: El sitio avícola. [Revista On line] 2013; 78(1):1-5. [Consultado el 10 de Junio del 2015]. Disponible en: [http://www.elsitioavicola.com/articles/2319/inocuidad-de-los-alimentos/Pág. 1-5](http://www.elsitioavicola.com/articles/2319/inocuidad-de-los-alimentos/Pág.1-5).
- Manuel, P. Manual de porcicultura. 1ed. [Libro electrónico] Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería; 2007. [Consultado el 08 de Abril del 2015]. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00111.pdf>
- Moreno, M. Peso óptimo de los cerdos [Revista On line] 2011; [Consultado el 12 de Octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-porcicultura/frigorifico/foros/peso-optimo-cerdo-sacrificio-t17461/378-p0.htm>.
- Norma, P y Comba, E. Aislamiento de *Escherichia coli* enteroinvasiva y enteropatógena desde cerdos con patologías digestivas. [Revista On line] 2011; [Consultado el 24 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-porcicultura/sanidad/articulos/aislamiento-p0.htm>
- Ortiz, C. Guía para la alimentación animal y elaboración de concentrados. 1ed. [Libro electrónico]. Colombia: CAB; 2005. [Consultado el 05 de julio del 2015]. Disponible en: <http://www.books.google.com.pe/books?id=ejs7pFyB9BYC&printsec=frontcover> p 15-20.
- Steven, M. Infecciones por *Escherichia coli* en cerdos, [Revista On line] 2011; [Consultado el 24 de Noviembre del 2016]. Disponible en: https://www.3tres3.com/e-coli/infecciones-por-escherichia-coli-en-cerdos-2-de-2_34472/
- Universo porcino. Infecciones por *Escherichia coli* en cerdos. [Revista On line] 2013; [Consultado el 21 de Agosto del 2016]. Disponible en: http://www.aacporcinos.com.ar/sanidad_porcina/infecciones_por_escherichia_coli_en_cerdos.html.
- UNAM. Manual de fundamentos y técnicas de análisis de los alimentos. 2011. [Libro electrónico] 2010; [Consultado el 24 de Noviembre del 2016]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf.
- Viscarra, P. Alimento balanceado para animales. [Revista On line] 2013; [Consultado el 12 de Octubre del 2016]. Disponible en: <http://vizcarraproyectos.com/web/alimentos-balanceados-para-animales/>.

ANEXO N°1: Reactivación de cepa ATCC.

A) Cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

1. Preparación del material biológico

Se trabajó con Cepas estándares ATCC (American Type Culture Collection) *Escherichia coli* ATCC 25922.

2. Reactivación de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

Esta cepa pura fué adquirida comercialmente, la misma que se encuentra depositada en *American Type Culture Collection*

Para su reactivación se agitó el vial en forma de lapicero para diluir el liofilizado con el medio líquido que se encontraba en la parte opuesta distal del mismo, inmediatamente después con un hisopo se sacó una muestra del inóculo para luego transferirla a un medio de agar nutritivo (Mueller Hinton). Se incubó a 37°C durante 24 horas.

3. Pruebas bioquímicas para reconocimiento estándar de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Se sembró la muestra, en agar Mueller Hinton, se incubó a 37°C por 24 horas, se obtuvo colonias cremas. Luego se sembró en agar EMB por 24 horas, las colonias de *Escherichia coli* fueron de color verde metálico.

• Triple Azúcar Hierro (TSI):

Se sembró la muestra de *Escherichia coli* en agar TSI (pico – fondo) mediante el método de siembra picadura y estría, se dejó en la estufa a 37°C por 24 horas. La degradación de los tres hidratos de carbono produjo un pH ácido ocasionando el viraje del indicador rojo fenol a amarillo. A/A + - Lactosa (+), Sacarosa (+), Glucosa (+), CO₂(+), H₂S(-).⁴⁴

• Agar Citrato de Simmons:

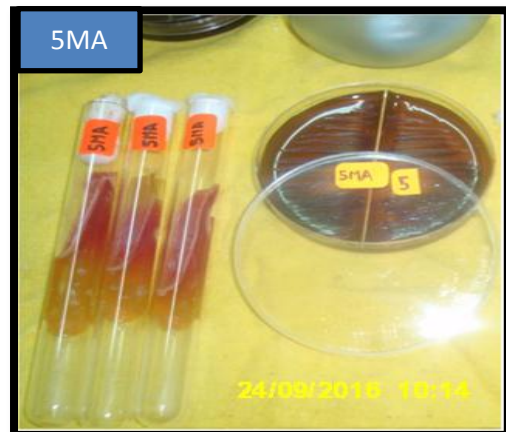
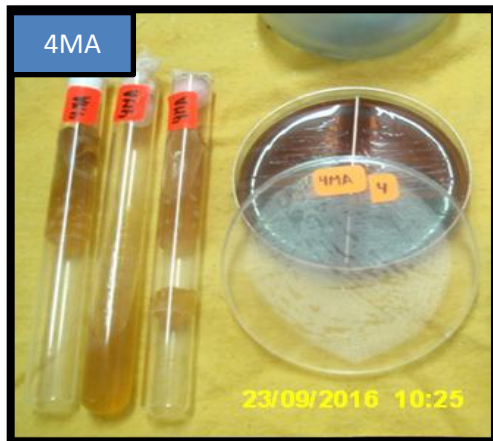
Se sembró la muestra de *Escherichia coli* en agar Citrato de Simmons (pico – fondo) mediante el método de siembra picadura y estría. Se dejó en la estufa a 37°C por 24 horas. La prueba es positiva (+) cuando el medio cambia de un color verde a un color azul.⁴⁵

44. Granados, R. Villaverde, C. Microbiología Bacteriología, medios de cultivo y pruebas bioquímicas. 1 ed. España: Paraninfo; 1998. p.235.

45. Ibíd. p.236.

ANEXO N°2: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial A.

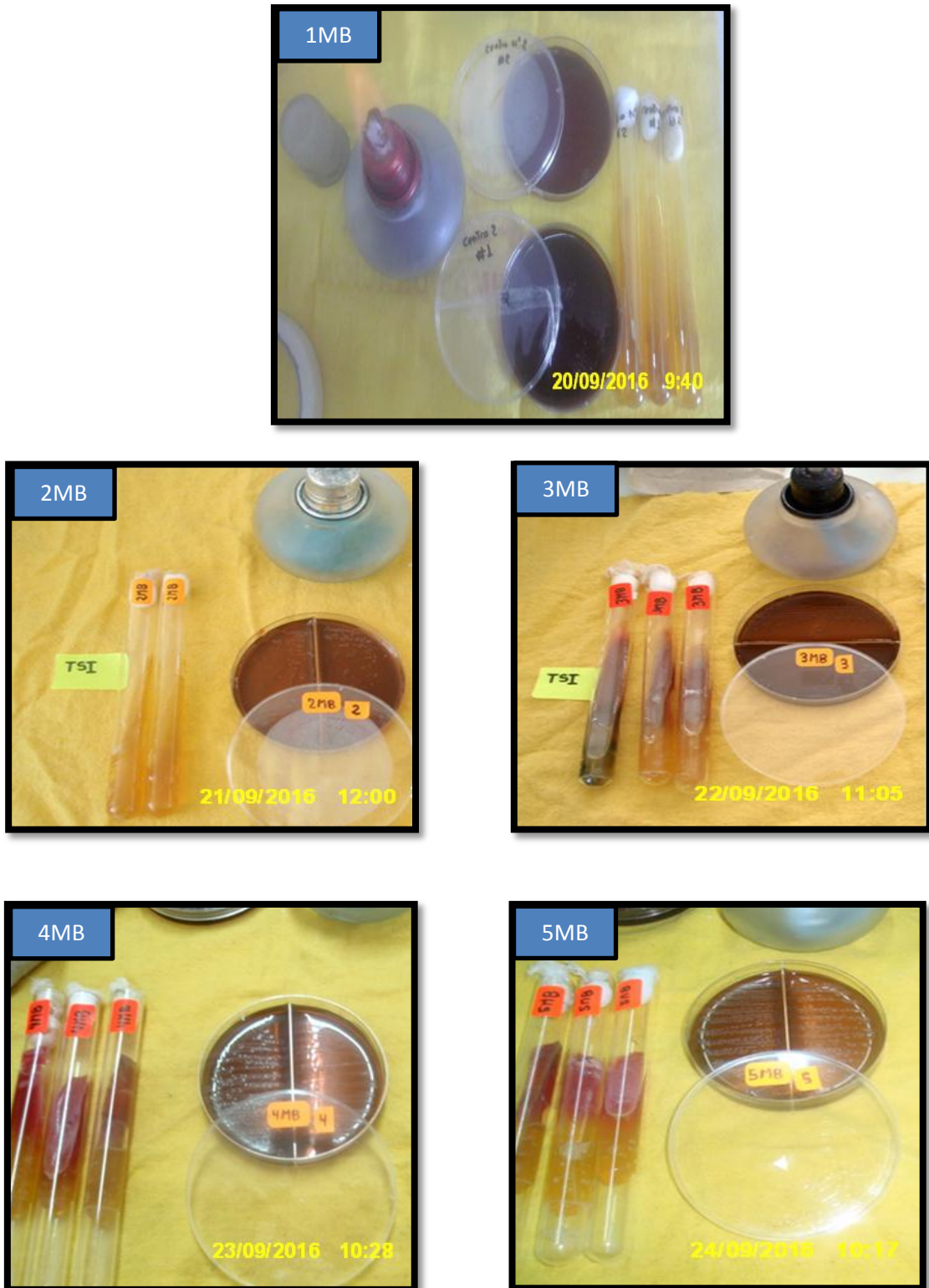
Figura N°3: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial A.



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°3: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial B.

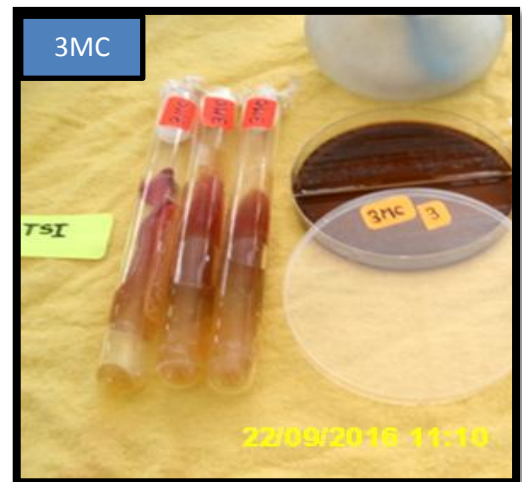
Figura N°4: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI, del establecimiento comercial B.



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°4: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial C.

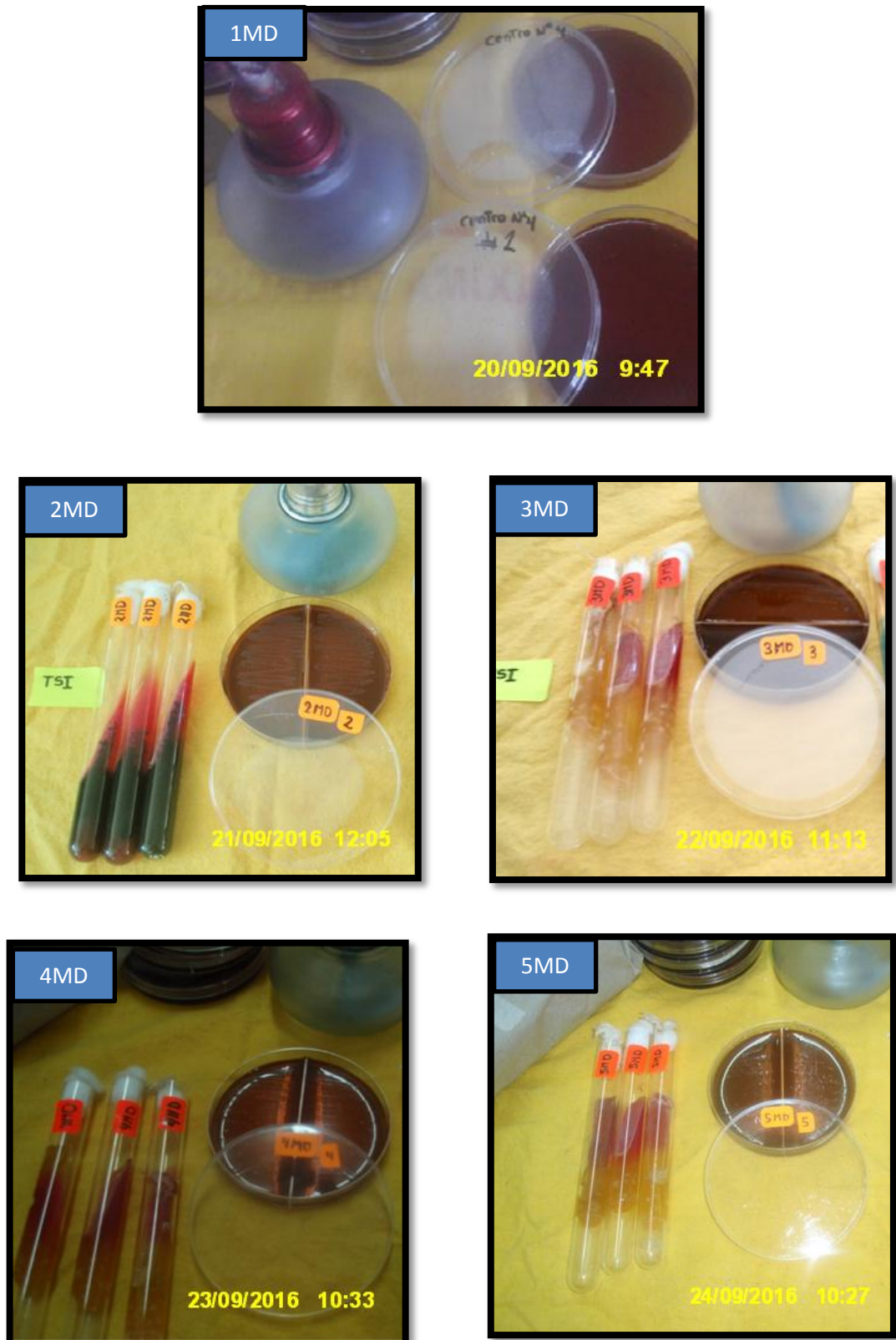
Figura N°5: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial C.



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°5: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial D.

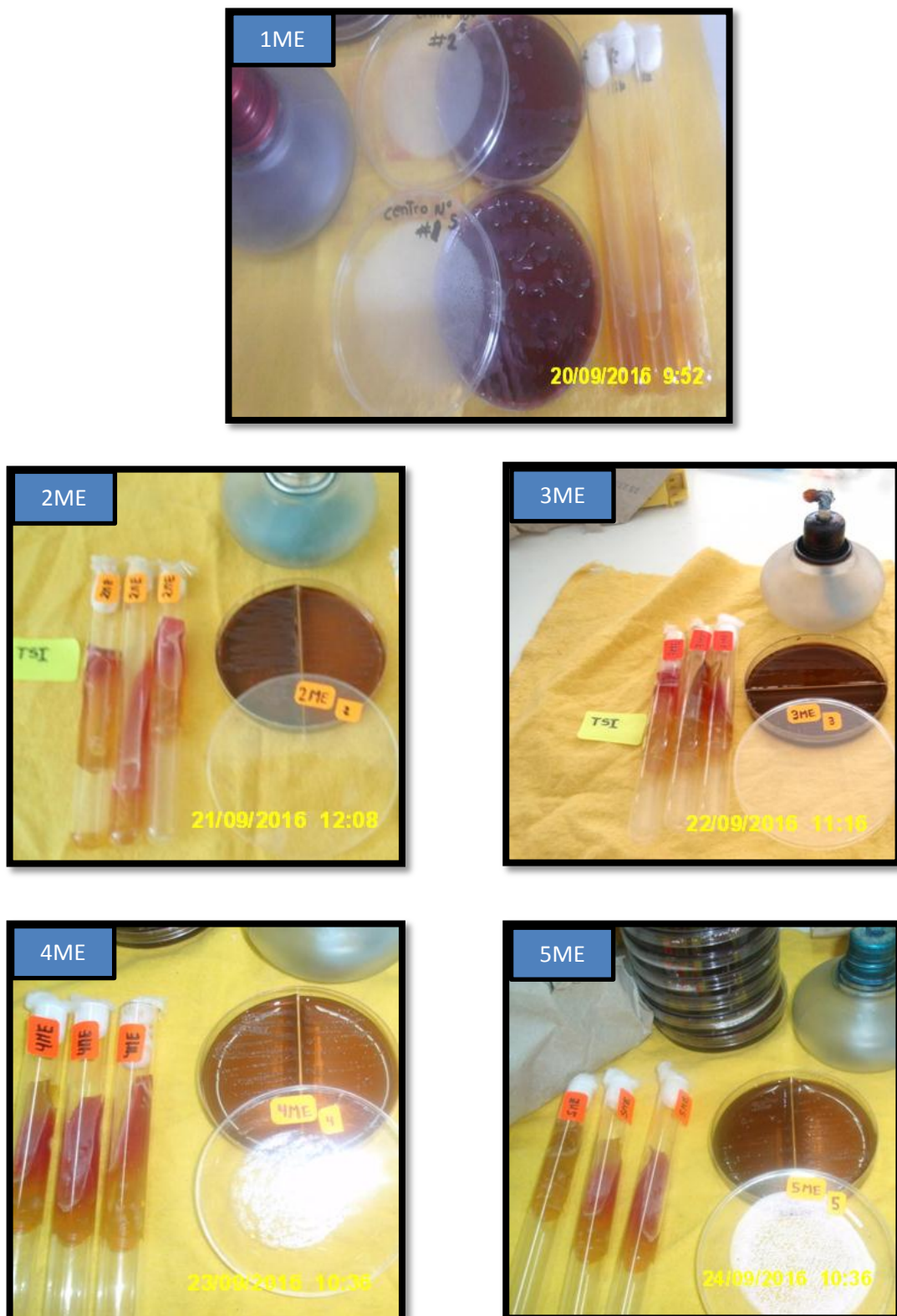
Figura N°6 : Alimento balanceado en Agar EMB, TSI del establecimiento comercial D.



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°6: Caracterización microbiológica del alimento balanceado del establecimiento comercial E.

Figura N°7: Alimento balanceado en Agar EMB, TSI, del establecimiento comercial E.



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°7: Medios de cultivo.

Agua peptonada.

Medio de enriquecimiento no selectivo, recomendado para ser utilizado en lugar de solución fisiológica para recuperar células de enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos, a los que ha sido sometido el alimento. Si es utilizado como medio base para la fermentación de hidratos de carbono, se debe adicionar el indicador de Andrade y el hidrato de carbono en cuestión.⁴⁶

Peptona de carne 10g

Cloruro de sodio 5g

Preparación

Suspender 15g del polvo en 1 litro de agua purificada. Mezclar calentando hasta ebullición durante 1 minuto. Distribuir en recipientes apropiados. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Interpretación

El crecimiento microbiano se observa por la turbidez.

E.M.B. Agar.

Este medio (también denominado E.A.M.) es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.⁴⁷

Está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Muchas cepas de *Escherichia coli* y *Citrobacter spp.*, presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras; este agar está compuesto:

• Digerido pancreático de gelatina 10,0 g	• Fosfato dipotásico 2,0
• Lactosa 5,0	• Agar 13,5
• Sacarosa 5,0	• Eosina Y 0,4
• Fosfato dipotásico 2,0	• Azul de metileno 0,065
• Agar 13,5	• pH 7,2 +/- 0,2.

46.Granados, R. Villaverde, C. Microbiología Bacteriología, medios de cultivo y pruebas bioquímicas.1 ed. España: Paraninfo; 1998. p.232.

47.Granados, R. Villaverde, C. Microbiología Bacteriología, medios de cultivo y pruebas bioquímicas.1 ed. España: Paraninfo; 1998. p.233.

Preparación:

Rehidratar 36 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en placas de Petri estériles. Conservar a temperatura ambiente.

Interpretación:

- **Microorganismos fermentadores de lactosa y / o sacarosa:** colonias de color negro azulado o amarronado. Pueden tener centro oscuro y brillo metálico.
- **Microorganismos no fermentadores de lactosa y sacarosa:** colonias del color del medio, incoloras

Las características del desarrollo observado no son suficientes para establecer el diagnóstico de la especie bacteriana. El usuario deberá aplicar pruebas de identificación para esta finalidad.

TSI (Triple Sugar Iron Agar)

Al ocurrir la degradación de cualquiera de los tres azúcares presentes, se forman ácidos que hacen virar el indicador Rojo de Fenol a un color amarillo (inicialmente el color del medio es rojo). La degradación de la Lactosa ocurre en la parte superior (pico de flauta), de la sacarosa en la parte intermedia, y la glucosa es fermentada en la parte profunda (fondo) y en condiciones anaeróbicas. El tiosulfato es reducido a sulfuro de Hidrógeno quien reacciona con la sal de hierro (Citrato férrico amoniacal) para dar formación de sulfuro de Hierro que es de color negro. La presencia de cavidades en el medio es debido a la formación de gas (CO₂) producto de la fermentación⁴⁸; este agar está compuesto:

• Extracto de carne 3g.	• Rojo fenol 0.024g.
• Citrato Férrico Amoniacal 0.5g.	• Lactosa 10g
• Extracto de Levadura 3g.	• Agar agar 12g.
• Cloruro de Sodio 5g.	• Sacarosa 10g.
• Peptona de Caseína 15g.	• pH 7.4 ± 0.2 a 25° C.
• Tiosulfato de Sodio 0.5g.	• Glucosa 1g.
• Peptona de carne 5g.	• Rojo fenol 0.024g.

Preparación:

Disolver 65 g/L, autoclavar durante (15 minutos por 121° C). Enfriar ligeramente el medio y proceder a colocar en Tubos de ensayo, dejar el medio en plano inclinado hasta coagulación. Se puede conservar los medios en congelador.

48. Granados, R. Villaverde, C. Microbiología Bacteriología, medios de cultivo y pruebas bioquímicas. 1 ed. España: Paraninfo; 1998. p.235.

Interpretación:

- Superficie alcalina/ profundidad ácida: (K/A) el microorganismo solo fermenta la glucosa.
- Superficie ácida/ profundidad ácida: (A/A) el microorganismo solo fermenta la glucosa, lactosa y/o sacarosa.
- Superficie alcalina/ profundidad alcalina: (K/K) el microorganismo es no fermentador de azúcares.
- Presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.
- El Hierro es indicador para poner en evidencia la producción de SH_2 que se manifiesta por el color negro.

Medio SIM:

El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas, y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa. El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Kovac's o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2, este agar está compuesto de:

• Triptina 20 gr	• Tiosulfato de sodio 0.2 gr
• Peptona 6.1 gr	• Agar 3.5 gr
• Sulfato de hierro y amonio 0.2 gr	• pH 7.3

Preparación:

Suspender 30 g del polvo por litro de agua destilada. Mezclar hasta disolver; calentar agitando y hervir durante un minuto. Distribuir unos 4 ml en tubos de hemólisis y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Solidificar en posición vertical.

Interpretación:

- **Cepas móviles:** producen turbidez del medio, que se extiende mas allá de la línea de siembra.

- **Cepas inmóviles:** el crecimiento se observa solamente en la línea de siembra.
Cepas SH₂ positivas: ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.
- **Cepas SH₂ negativas:** el medio permanece sin cambio de color.
Cepas indol positivas: desarrollo de color rojo luego de agregar el reactivo de Kovac's o de Erlich.
- **Cepas indol negativas:** sin cambio de color.

INVIC:

Son cuatro pruebas bioquímicas. Se emplean fundamentalmente para la identificación de las Enterobacterias (bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos con metabolismo fermentador). Dependiendo de las condiciones, las enterobacterias, pueden realizar un metabolismo aerobio (si disponen de oxígeno), realizar una respiración anaerobia (si hay nitratos u otro aceptor de electrones) y distintas fermentaciones.

1.- Indol:

Determina si la bacteria posee una enzima (triptofanasa). La triptofanasa hidroliza el triptófano en indol y alanina. El indol se detecta empleando un reactivo específico (Reactivo de Kovacs). El triptófano forma parte de las peptonas del medio.

Método:

- Inocular el medio de cultivo (agua de peptona). Incubar a 37 °C durante 48 horas
- Añadir unas gotas de reactivo de Kovacs. Agitar y dejar reposar el cultivo.

Interpretacion:

Un anillo rosa-rojizo en la superficie indica que se ha formado un complejo coloreado entre el indol y el p-dimetilamino benzaldehído. El alcohol amílico concentra el complejo coloreado en la superficie, prueba negativa anillo amarillo o color del medio.

2.-Rojo de metilo (RM):

Detecta la fermentación ácido-mixta. Se acumulan ácidos (acético, fórmico, etc.), relativamente fuertes y bajan el pH del medio hasta 4-5. Dicho cambio de pH se detecta añadiendo un indicador (rojo de metilo) al cultivo.

Método:

- Inocular el medio de Clark-Lubs. Incubar a 37 °C durante 48 hora
- Añadir unas gotas de rojo de metilo (rojo a pH 4-5; amarillo a pH>6).

Interpretacion:

Resultado positivo: color rojo

Resultado negativo: color anarillo

3.- Voges-Proskauer (VP)

Detecta la fermentación butanodiólica. En esta fermentación se producen menor cantidad de ácidos que en la fermentación ácido-mixta, y una gran cantidad de butanodiol. Mediante un reactivo, (alfa-naftol y KOH al 40%), se detecta la presencia de un precursor del butanodiol (acetilmetilcarbinol o acetoína). La acetoína en presencia de oxígeno se oxida a diacetilo. El diacetilo origina una coloración roja al reaccionar con los restos guanidínicos de algunos aminoácidos de la peptona del medio.

Método:

- Inocular el medio de Clark-Lubs. Incubar a 37 °C durante 48 hora
- Añadir unas gotas alfa-naftol (0.6 ml). Agitar y añadir KOH (0.2 ml). Agitar. Incubar 1-2 horas a 37 °C

Interpretación:

Resultado positivo: desarrollo de un color rojo en pocos minutos después de una completa agitación del tubo.

Resultado negativo: ausencia de color rojo.

4.- Citrato de Simmons

Se determina la utilización del citrato como única fuente de carbono y energía. La prueba emplea un medio definido (Koser) con citrato como única fuente carbonada (se detecta turbidez). Alternativamente se utiliza el medio de Simmons: utiliza un medio sólido con citrato sódico y un indicador ácido-base (azul de bromotimol). En este caso se detecta la alcalinización del medio por el consumo del citrato.

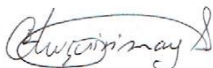




Método:

- se siembra por estría con asa de platino. Incubar a 37 °C durante 48 horas

Interpretación






La degradación del Citrato contenido en el medio, conlleva la formación de una serie de ácidos intermedios los que finalmente se volatilizan quedando el catión sodio en el medio y por consiguiente, presencia de radicales oxidrilo, alcalinizando el medio y el medio inicial que es verde se torna azul por el indicador azul de bromotimol, permitiendo diferenciar los coliformes fecales y bacterias del grupo de Enterobacter y Citrobacter. (Escherichia coli es Citrato negativo).

ANEXO N° 8: Registro de autorización para la toma de muestra del alimento balanceado en los establecimientos comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida como Fátima).

MUESTRA	NOMBRES	TIPO DE MUESTRA	FIRMA
A	Distribuidora D ^o Carlo al servicio del criador <i>Isidora Chusquinmay Sapacayo</i>	Alimento balanceado para cerdo engorde	
B	Distribuidora Rusbelia <i>Rusbelia Katy Maquera Puntunuma</i>	Alimento balanceado para cerdo engorde	 Rusbelia Katy Maquera Puntunuma RUC: 20601764084 GERENTE GENERAL
C	Alimentos balanceados el progreso <i>Gladis Juana Flores</i>	Alimento balanceado para cerdo engorde	
D	Pensando en el futuro de la granja servicios veterinarios. <i>HERMEINDA PAYVA</i>	Alimento balanceado para cerdo engorde	
E	Alimentos balanceados VITAPRO <i>Esther Paipaza Susapana</i>	Alimento balanceado para cerdo engorde	

FUENTE: Elaboración propia

**ANEXO N° 9: Registro de entrega de resultados a los establecimientos
comerciales de la Variante Uchumayo Km 2.5 (zona conocida
como Fátima).**

MUESTRA	NOMBRES	Establecimiento comercial
A	Distribuidora D ^{ra} Carlo al servicio del criador	
B	Distribuidora Rusben	
C	Alimentos balanceados el progreso	
D	Pensando en el futuro de la granja servicios veterinarios	
E	Alimentos balanceados VITAPRO	

FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO N°10: Solicitud emitida a SENASA para solicitar normativa sobre especificaciones microbiológicas en alimentos balanceados.

SOLICITO: Especificaciones Microbiológicas
de los piensos para la especie Porcina

Señores:

SENASA - Arequipa

Estimado Sres.

Yo, Katherine Marycarmen Guevara Avendaño egresada de la Universidad Alas Peruanas me dirijo a Ud. para solicitar información acerca de normativas de alimentos balanceados para la especie porcina en relación a criterios microbiológicos (Límites permisibles en recuentos microbiológicos), con el objetivo de plasmar datos y permitirme utilizar este documento como Anexo a mi tesis denominada "DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli*, EN ALIMENTO BALANCEADO PARA CERDOS (*Sus scrofa domestica*) EXPENDIDO EN LOS CENTROS DE VENTA DEL SECTOR FATIMA EN AREQUIPA 2016".

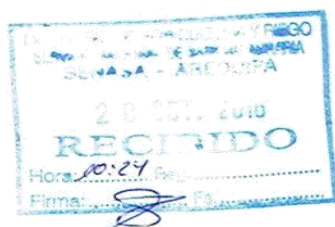
En caso de no presentar normativas en relación a este tema pido se me acceda por un documento oficial emitido por SENASA a basarme en Normativas ICA (Instituto colombiano agropecuario). en la cual si se presenta estas directivas microbiológicas.

En virtud de lo cual quedo de Ud. atentamente y firmo.

Arequipa, 19 de Octubre del 2016.



KATHERINE GUEVARA AVENDAÑO



**ANEXO N°11: Carta de solicitud emitida por el SENASA en respuesta a la solicitud
De especificaciones microbiológicas.**



"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"
"Año de la consolidación del Mar de Grau"

Arequipa, 25 de Octubre de 2016

CARTA-0259-2016-MINAGRI-SENASA-DEARQ

Señora
KATHERINE MARYCARMEN GUEVARA AVENDAÑO

Presente.-

Asunto : ALIMENTOS BALANCEADOS ESPECIE PORCINA

Referencia : (1) Solicitud presentada

Tengo el agrado de dirigirme a usted para saludarla, así mismo para comunicarle que luego de realizar las consultas necesarias, no se cuenta con una norma nacional de parámetros microbiológicos en piensos. Por ello, no podemos brindarle la información solicitada.

Es propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi consideración.

Atentamente,

	MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA DIRECCION SENASA AREQUIPA

Ms. Blgo. Waldo Cornejo Cáceres
Director Ejecutivo

HOBXRU7FS90G



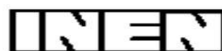
ANEXO N°12: Norma Técnica Ecuatoriana- Alimentos zootécnicos (Requisitos)

**NTE INEN 1829 (1992) (Spanish) :
Alimentos zootécnicos Requisitos**



PROTECTED BY COPYRIGHT

CDU: 636 084:636.085



CIUU: 1110

AL 06.01-421

Norma Técnica	ALIMENTOS ZOOTECHNICOS.	NTE INEN
Ecuatoriana		1 829
Obligatoria	REQUISITOS.	1992-01

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los alimentos compuestos destinados a la alimentación de animales.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a los alimentos compuestos que se comercializan en forma de harina, gránulos(pellets) y migas.

3. DEFINICIONES

3.1 Alimento iniciador. El alimento para suministrarse a los animales en la fase de iniciación comprendida como un mínimo de 21 días.

3.2 Alimento finalizador. El alimento para suministrarse a los animales luego del iniciador hasta el sacrificio.

3.3 Para otras definiciones referentes a los alimentos zootécnicos consultar la Norma INEN 1

4. DISPOSICIONES GENERALES

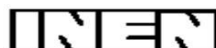
4.1 El alimento debe tener las características físicas, químicas y organolépticas aptas para la alimentación del pollo de engorde y debe estar libre de insectos, plaguicidas, elementos extraños y de adulterantes.

5. REQUISITOS

5.1 Cuando el alimento se presenta en forma de harina, el tamaño de partícula debe ser tal que no menos del 97% en masa del material pase a través del tamiz de 2,0 mm y no menos del 75% en masa del material pase a través del tamiz de 850 µm de acuerdo con el Anexo A de la presente norma (ver Norma INEN 154 y 517).

(Continúa)

DESCRIPTORES: alimentos para animales, aves de corral.



5.2 Cuando el alimento se elabore en forma de gránulos (pellets) el diámetro máximo aceptable del gránulo será de 4,0 mm (5/32").

5.3 Los alimentos para animales deben cumplir con los siguientes requisitos establecidos en las Tablas 1.


TABLA 1. Requisitos bromatológicos (a)

REQUISITOS	UNIDAD	ALIMENTO				METODO DE ENSAYO
		INICIADOR		FINALIZADOR		
		Min.	Más.	Mín.	Más	
Humedad	%	-	13	-	13	INEN 540
Proteína cruda	%	20	-	18	-	INEN 543
Fibra cruda	%	menor que	5	menor que	5	INEN 542
Grasa cruda	%	3	-	4	-	INEN 541
Cenizas	%	-	8	-	8	INEN 544
Calcio	%	0,9 a	1,0	0,8 a	1,0	INEN 546
Fósforo total	%	0,68	-	0,60	-	INEN 547

(a) Los valores especificados se expresados en el alimento tal como ofrecido.

ANEXO N° 13: Normativa del instituto colombiana agropecuario – alimentos y sales minerales para animales.



 <p>DIVISION DE INSUMOS PECUARIOS</p>	<p>ALIMENTOS PARA ANIMALES Parámetros Microbiológicos</p>	<p>DIRECTIVA DIP - 30 - 100 - 003</p>
		<p>Página 1 de 3</p>
<p>Santafé de Bogotá, agosto de 1999</p> <p>DIRIGIDO A: productores, importadores y comercializadores de alimentos destinados al consumo animal.</p> <p>OBJETIVO: Establecer los parámetros microbiológicos en alimentos para las especies avícola, bovina, canina, cunícola, felina, porcícola y piscícola.</p> <p>DEFINICIONES:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Alimento para animales: Mezclas de nutrientes elaborados en forma tal que responden a requerimientos de cada especie, edad y tipo de explotación, bien sea suministrado como única fuente de alimento o como suplementos o complementos de otras fuentes nutricionales. ▪ Contaminante: Agente químico o biológico que aparece ocasionalmente y no se adiciona de forma intencional durante el proceso de elaboración del alimento. Su ingreso al producto terminado puede tener origen en las materias primas, el transporte, el medio ambiente de producción y almacenamiento, el material de empaque o como residuo de producciones anteriores presentes en maquinarias y equipos utilizados en diferentes procesos. ▪ Aislamiento: Obtener un microorganismo puro a partir de una sola colonia. En esta directiva se aplica específicamente para <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella spp.</i> ▪ Unidad formadora de colonia (UFC): Término que se emplea para expresar el contenido de bacterias viables, asumiendo que una bacteria da origen a una colonia. ▪ Límite permisible: Máxima cantidad de microorganismos expresada como UFC que se acepta en un determinado alimento. <p>ANTECEDENTES:</p> <p>Los riesgos que representa para la salud del hombre y los animales cuando consumen alimentos con cargas microbiológicas por encima de los límites permisibles y/o la presencia de microorganismos patógenos, así como su contaminación focalizada obligan cada vez mas a establecer controles y normas estrictas para evitar y controlar la presencia de estos microorganismos (bacterias, hongos).</p> <p>En el Comité de Alimentos para animales del ICONTEC y por concertación entre los industriales, productores, investigadores, comercializadores y el ICA como organismo oficial de control, se establecieron los límites permisibles de contaminantes en la parte microbiológica en alimentos para animales.</p>		

 DIVISION DE INSUMOS PECUARIOS	ALIMENTOS PARA ANIMALES PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS	DIRECTIVA DIP – 30 - 100 - 003
		Página 2 de 3

NORMA: Los alimentos para cada especie animal no deben sobrepasar los siguientes límites permisibles en recuentos microbiológicos:

ESPECIE: AVICOLA	
Parámetros Microbiológicos	UFC/g
Recuento microorganismos mesofilos	10×10^5
Recuento microorganismos coliformes	10×10^4
Recuento clostridios sulfito reductores	20×10^1
Recuento hongos	10×10^4
Aislamiento Salmonella spp en 25 g	Ausente
Aislamiento Escherichia coli	Ausente


ESPECIE: CANINA	
Parámetros Microbiológicos	UFC/g
Recuento microorganismos mesofilos	50×10^3
Recuento microorganismos coliformes	10×10^2
Recuento clostridios sulfito reductores	10×10^1
Recuento hongos	50×10^2
Aislamiento Salmonella spp en 25 g	Ausente
Aislamiento Escherichia coli	Ausente

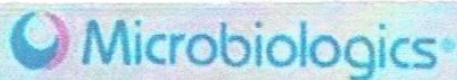
ESPECIE: CUNICOLA	
Parámetros Microbiológicos	UFC/g
Recuento microorganismos mesofilos	10×10^3
Recuento microorganismos coliformes	50×10^1
Recuento clostridios sulfito reductores	10
Recuento hongos	50×10^2
Aislamiento Salmonella spp en 25 g	Ausente
Aislamiento Escherichia coli	Ausente

ESPECIE: FELINA	
Parámetros Microbiológicos	UFC/g
Recuento microorganismos mesofilos	50×10^3
Recuento microorganismos coliformes	10×10^2
Recuento clostridios sulfito reductores	10×10^1
Recuento hongos	50×10^2
Aislamiento Salmonella spp en 25 g	Ausente
Aislamiento Escherichia coli	Ausente

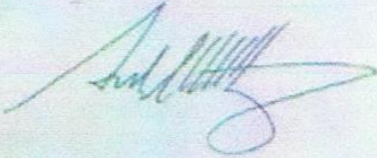
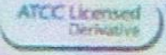

ESPECIE: PISCICOLA	
Parámetros Microbiológicos	UFC/g
Recuento microorganismos mesofilos	10×10^4
Recuento microorganismos coliformes	10×10^2
Recuento clostridios sulfito reductores	10×10
Recuento hongos	50×10^2
Aislamiento Salmonella spp en 25 g	Ausente
Aislamiento Escherichia coli	Ausente

ESPECIE: PORCINA	
Parámetros Microbiológicos	UFC/g
Recuento microorganismos mesofilos	10×10^7
Recuento microorganismos coliformes	10×10^4
Recuento clostridios sulfito reductores	20×10^1
Recuento hongos	10×10^4
Aislamiento Salmonella spp en 25 g	Ausente
Aislamiento Escherichia coli	Ausente

 DIVISION DE INSUMOS PECUARIOS	ALIMENTOS PARA ANIMALES PARAMETROS MICROBIOLOGICOS	DIRECTIVA DIP – 30 - 100 - 003
		Página 3 de 3
<p>BIBLIOGRAFIA:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. "Alimento completo para Aves" Norma Técnica Colombiana. NTC 2107 (2ª Revisión) 2. "Alimento completo para Cerdos" Norma Técnica Colombiana. NTC 1839 (3ª Actualización) 3. "Alimento completo para Conejos" Norma Técnica Colombiana. NTC 3697 4. "Alimento completo para Gatos" Norma Técnica Colombiana. NTC 3687 (1ª Actualización) 5. "Alimento completo para Peces" Norma Técnica Colombiana. NTC 3688 (1ª Actualización) 6. "Alimento completo para Perros" Norma Técnica Colombiana. NTC 3686 (1ª Actualización) 7. Buenas Prácticas en la Fabricación de los Alimentos para animales, enero de 1999 INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 8. Resolución 1056 abril 1996 del INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA "Reglamentación de los Insumos Pecuarios". <p>APROBACIÓN DE DIRECTIVAS ACTA No. 002 de julio de 1999, del Comité de Seguimiento de Alimentos para Animales y Sales Mineralizadas.</p> <p style="text-align: center;"> <hr/> SALOMON MARIN LASSO JEFE DIVISION DE INSUMOS PECUARIOS INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO - ICA </p>		

ANEXO N° 14: Certificado de la cepa ATCC de *Escherchia coli*.

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0483 Lot Number: 483-512 Reference Number: ATCC® 8739™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2017/6/30 Release Information: Quality Control Technologist: Tracy A Blenker Release Date: 2015/7/16
Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex. Microscopic Features: Gram negative straight rod.	Performance Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GN (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive  Brad Goskowitz, President AUTHORIZED SIGNATURE
<p>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p> (7) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use those trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> <p> (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005</p> <p>TESTING CERT #2655-01</p>	

MicroBiologics

bioMerieux Customer: 05871
System #: C21105

Laboratory Report

Printed Jul 15, 2016 08:08 CDT

Printed by: lab
Report Version: 1 of 1

Isolate Group: 483 512-1

Bench: TB

Card Type: GN Testing Instrument: 00000A6D6328 (1116)

Bionumber: 0405611540564611
Organism Quantity:

Comments:	

Identification Information	Card: GN	Lot Number: 241334940	Expires: Feb 14, 2017 12:00 CST
	Completed: Jul 14, 2015 16:58 CDT	Status: Final	Analysis Time: 5.00 hours
Selected Organism	99% Probability <i>Escherichia coli</i>		Confidence: Excellent identification
Bionumber: 0405611540564611			
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	6	dCEL	-	7	8GAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLtp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	SKG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	(+)
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	BMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-			

ANEXO 15: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de pH en los centro de venta A, B, C, D, E.

Fechas	Centro de venta A	Centro de venta B	Centro de venta C	Centro de venta D	Centro de venta E
17/09/2016	6.5900	6.6300	6.5400	6.5600	6.6500
19/09/2016	6.6000	6.6200	6.5500	6.5500	6.6400
21/09/2016	6.5800	6.6400	6.5300	6.5700	6.6600

Rstd estadístico($F > F_c$) No hay diferencia estadística. ($H_0 = m_1 = m_2 = m_3$, etc.)

($F < F_c$) Si hay diferencia estadística. ($H_1 = m_1 \neq m_2 \neq m_3$, etc.)

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	19.77	6.59	1E-04
Columna 2	3	19.89	6.63	1E-04
Columna 3	3	19.62	6.54	1E-04
Columna 4	3	19.68	6.56	0.0001
Columna 5	3	19.95	6.65	0.0001

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.02556	4	0.00639	63.9	4.3971E-07	3.47804969
Dentro de los grupos	0.001	10	1E-04			
Total	0.02656	14				

ANEXO N°16: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de acidez en los centro de venta A, B, C, D, E.

Fechas	Centro de venta A	Centro de venta B	Centro de venta C	Centro de venta D	Centro de venta E
17/09/2016	0.1802	0.2703	0.1442	0.1802	0.2703
19/09/2016	0.2703	0.2703	0.1442	0.1802	0.2703
21/09/2016	0.1442	0.2703	0.1802	0.2703	0.1442

Rstd estadístico($F > F_c$) No hay diferencia estadística. ($H_0 = m_1 = m_2 = m_3$, etc.)

($F < F_c$) Si hay diferencia estadística. ($H_1 = m_1 \neq m_2 \neq m_3$, etc.)

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	0.5947	0.19823333	0.004219203
Columna 2	3	0.8109	0.2703	0
Columna 3	3	0.4686	0.1562	0.000432
Columna 4	3	0.6307	0.21023333	0.002706003
Columna 5	3	0.6848	0.22826667	0.005300403

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.02090306	4	0.00522576	2.064277669	0.16078146	3.47804969
Dentro de los grupos	0.02531522	10	0.00253152			
Total	0.04621828	14				

ANEXO N°17: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de humedad en los centro de venta A, B, C, D, E.

Fechas	Centro de venta A	Centro de venta B	Centro de venta C	Centro de venta D	Centro de venta E
17/09/2016	12.62	12.88	12.75	12.64	12.92
19/09/2016	12.63	12.80	12.72	12.61	12.89
21/09/2016	12.66	12.80	12.70	12.64	12.84

Rstd estadístico($F > F_c$) No hay diferencia estadística. ($H_0 = m_1 = m_2 = m_3$, etc.)

($F < F_c$) Si hay diferencia estadística. ($H_1 = m_1 \neq m_2 \neq m_3$, etc.)

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	37.91	12.6366667	0.000433333
Columna 2	3	38.48	12.8266667	0.002133333
Columna 3	3	38.17	12.7233333	0.000633333
Columna 4	3	37.89	12.63	0.0003
Columna 5	3	38.65	12.8833333	0.001633333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.15333333	4	0.03833333	37.33766234	5.5342E-06	3.47804969
Dentro de los grupos	0.01026667	10	0.00102667			
Total	0.1636	14				

ANEXO N°18: Estadístico de hipótesis (ANOVA) para pruebas fisicoquímicas de cenizas en los centro de venta A, B, C, D, E.

Fechas	Centro de venta A	Centro de venta B	Centro de venta C	Centro de venta D	Centro de venta E
17/09/2016	4.25	4.62	4.25	4.30	4.22
19/09/2016	4.26	4.63	4.26	4.29	4.23
21/09/2016	4.25	4.62	4.27	4.30	4.23

Rstd estadístico($F > F_c$) No hay diferencia estadística. ($H_0 = m_1 = m_2 = m_3$, etc.)

($F < F_c$) Si hay diferencia estadística. ($H_1 = m_1 \neq m_2 \neq m_3$, etc.)

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	12.76	4.25333333	3.33333E-05
Columna 2	3	13.87	4.62333333	3.33333E-05
Columna 3	3	12.78	4.26	1E-04
Columna 4	3	12.89	4.29666667	3.33333E-05
Columna 5	3	12.68	4.22666667	3.33333E-05

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.32577333	4	0.08144333	1745.214286	3.5891E-14	3.47804969
Dentro de los grupos	0.00046667	10	4.6667E-05			
Total	0.32624	14				

ANEXO N°19: Controles positivos y negativos de las cepas ATCC de *Escherichia coli*.**(1) Controles positivos de las cepas ATCC de *Escherichia coli*.**

ANEXO N°20: Desarrollo de la fórmula para el cálculo de tamaño de muestra.

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Donde:

n= tamaño de la muestra

N= Tamaño de la población (Según encuesta)

Z= Nivel de confianza (1.96) 3.8416

p= probabilidad de éxito, o proporción esperada (0.5)

q= probabilidad de fracaso (0.5)

e= error máximo admisible (0.05)

$$n = \frac{1.96^2 * 2.5 * 0.5 * 0.5}{1.96^2 * 0.5 * 0.5 + (2.5 - 1) * 0.05^2}$$

$$n = \frac{2.401}{0.96415}$$

$$n = 2.49$$

ANEXO N°21: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial A.

1- ¿Ud. Cada cuanto tiempo observa que compran alimento balanceado para cerdos engorde?.

- Interdiario
- Todos los días
- Por semana

2- ¿ Compran el alimento agranel?.

- Si
- No

3- ¿Qué cantidad promedio compran los clientes para complementar la ración diaria del cerdo?

- 3 Kg
- 2 Kg
- 2.5 Kg

ANEXO N°22: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial B.

4- ¿Ud. Cada cuanto tiempo observa que compran alimento balanceado para cerdos engorde?.

- Interdiario
- Todos los días
- Por semana

5- ¿ Compran el alimento agranel?.

- Si
- No

6- ¿Qué cantidad promedio compran los clientes para complementar la ración diaria del cerdo?

- 3 Kg
- 2 Kg
- 2.5 Kg

ANEXO N°23: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial C.

7- ¿Ud. Cada cuanto tiempo observa que compran alimento balanceado para cerdos engorde?.

- Interdiario
- Todos los días
- Por semana

8- ¿ Compran el alimento agranel?.

- Si
- No

9- ¿Qué cantidad promedio compran los clientes para complementar la ración diaria del cerdo?

- 3 Kg
- 2 Kg
- 2.5 Kg

ANEXO N°24: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial D.

10- ¿Ud. Cada cuanto tiempo observa que compran alimento balanceado para cerdos engorde?.

- Interdiario
- Todos los días
- Por semana

11- ¿ Compran el alimento agranel?.

- Si
- No

12- ¿Qué cantidad promedio compran los clientes para complementar la ración diaria del cerdo?

- 3 Kg
- 2 Kg
- 2.5 Kg

ANEXO N°25: Encuesta realizada a los vendedores del establecimiento comercial E.

13- ¿Ud. Cada cuanto tiempo observa que compran alimento balanceado para cerdos engorde?

- Interdiario
- Todos los días
- Por semana

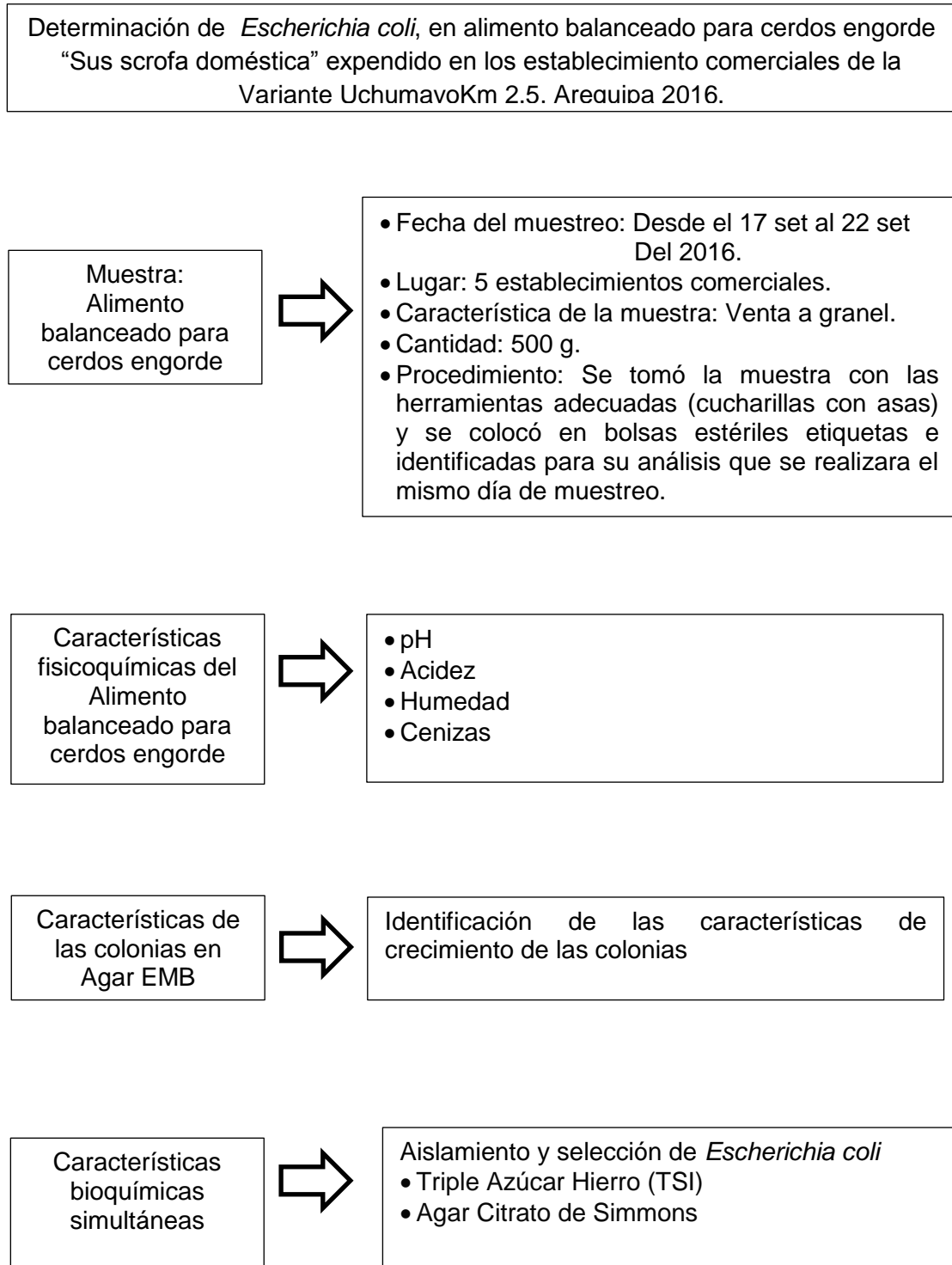
14- ¿ Compran el alimento agranel?

- Si
- No

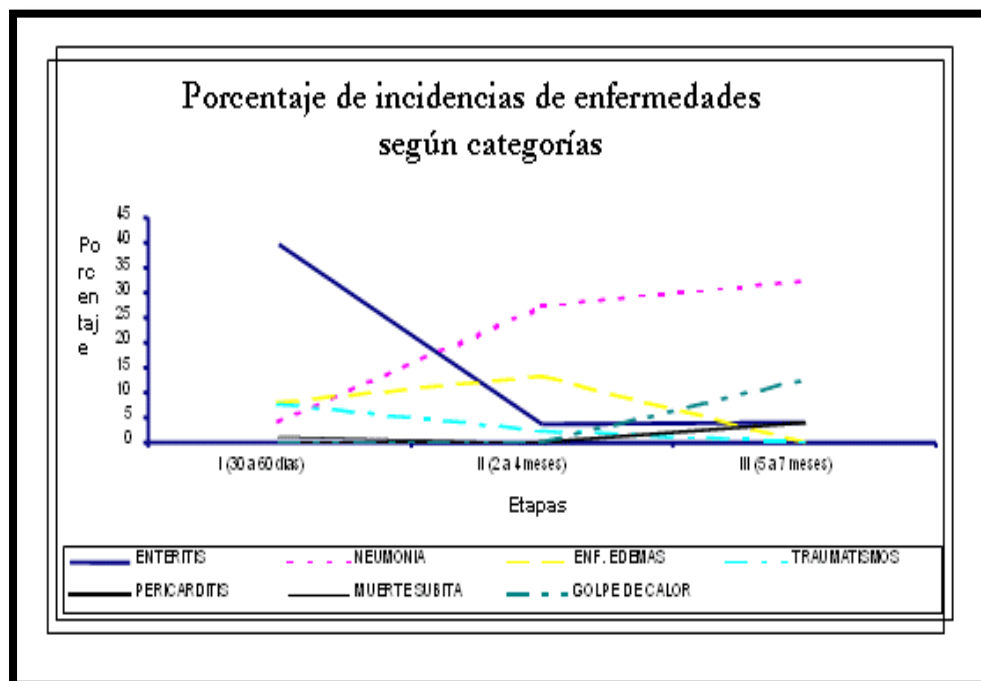
15- ¿Qué cantidad promedio compran los clientes para complementar la ración diaria del cerdo?

- 3 Kg
- 2 Kg
- 2.5 Kg

ANEXO N°26: Diseño de la investigación:



ANEXO N°27: Causas de mortalidad en un sistema de producción porcina durante las etapas de crecimiento y terminación.



Fuente: INTA - Instituto nacional de Tecnología agropecuaria. Colombia 2005.

El estudio de la información evidencia una mayor incidencia de mortalidad en la etapa I y II que abarcaría el post destete y recría, siendo del 1.5 y 2.1 % respectivamente sobre el total de animales destetados en los 18 años estudiados. El período de terminación es la categoría con menor porcentaje de mortalidad (1%). La mortalidad entre los 30 hasta los 60 días de vida desde 1985 hasta el año 1997 fue menor, posiblemente debido a que en ese período la lactancia era de 56 días, observándose el mayor impacto de mortalidad en la etapa II, situación que se invirtió cuando a partir del año 1998 se redujo la lactancia a 28 días. En el caso de la etapa II se observa el aumento de la incidencia de las patologías respiratorias, disminuyendo hasta casi tornarse insignificantes las entéricas, que desaparecieron casi por completo en la etapa III también se observa las enfermedades respiratorias y digestivas en aumento. Como conclusión final queda claramente demostrada la diferente incidencia de los cuadros digestivos en las etapas de vida del lechón y los cuadros respiratorios en etapas de recría y engorde.⁴⁹

49 . Brunori, J. Zielinski, G. Panichelli. R. Causas de mortalidad en un sistema de producción porcina durante las etapas de crecimiento y terminación. 2005. disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3507/articulos-porcino-archivo/causas-de-mortalidad-en-un-sistema-de-produccion-porcina-a-campo-durante-las-etapas-de-crecimiento-y-terminacion.html>ultimo [Ultimo acceso 21 de noviembre del 2017].

ANEXO N° 28: Cantidades de Na (OH) 0.1N necesaria para neutralizar la grasa libre por gramo de muestra en la determinación del índice de acidez.

Gasto de la solución de Na(OH)					
Fechas	Establecimiento comercial A	Establecimiento comercial B	Establecimiento comercial C	Establecimiento comercial D	Establecimiento comercial E
17/09/2016	0.1 ml	0.15 ml	0.08 ml	0.1 ml	0.15 ml
19/09/2016	0.15 ml	0.15 ml	0.08 ml	0.1 ml	0.15 ml
21/09/2016	0.08 ml	0.15 ml	0.08 ml	0.15 ml	0.08 ml

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 29: Solicitud de autorización para la toma de muestra.

Señores.

COMERCIANTES DE ALIMENTO BALANCEADO DEL SECTOR FATIMA

Arequipa, 15 de Setiembre del 2016.

Estimados señores:

Yo, Katherine Marycarmen Guevara Avendaño, Egresada de la Universidad Alas Peruanas de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, Solicito me faciliten tomar muestras de Alimento Balanceado para realizar la tesis denominada: "DETERMINACIÓN DE *Escherichia coli*, EN ALIMENTO BALANCEADO PARA CERDOS (*Sus scrofa domestica*) EXPENDIDO EN LOS ESTABLECIMIENTOS COMERCIALES DE LA VARIANTE UCHUMAYO KM 2.5 (ZONA CONOCIDA COMO FÁTIMA). AREQUIPA 2016", en un periodo de 5 días consecutivos del 17 al 21 de Setiembre, por tal motivo pido me firme el registro de autorización, posterior a la recolección de las muestras, se les hará llegar una copia de la tesis plasmando los resultados.

Quedando a la espera de recibir noticias de Uds.

Atentamente.



KATHERINE MARYCARMEN GUEVARA AVENDAÑO

GLOSARIO DE TERMINOS:

1. **Alimentos balanceados:** Es un alimento desarrollado para que cubrir todas las necesidades nutricionales de nuestra mascota en condiciones normales, de ahí que se llame balanceado.
2. **Alimentos a granel:** Es el término que se usa para nombrar las cargas que se efectúan en grandes cantidades, o los productos que se venden sin envasar ni empaquetar.
3. **Alimentos zootécnicos:** Las sustancias orgánicas e inorgánicas, simples o en mezclas, que incluyan o no aditivos, destinados a la alimentación animal.
4. **Agar:** Polisacárido complejo extraído de ciertas algas marinas, el cual no es digerido por la mayor parte de las bacterias. Está constituido por un 70% de agarosa y 30% de agar pectina. Se funde a temperaturas mayores a 100°C y se gelifica a 45-50°C.
5. **Aseguramiento de la calidad:** Es el conjunto de actividades planificadas y sistemáticas aplicadas en un sistema de gestión de la calidad para que los requisitos de calidad de un producto o servicio sean satisfechos
6. **Bacterias:** Organismos unicelulares procarióticos sin núcleo diferenciado, aunque presentan un nucleóide, una estructura que contiene una molécula circular de ADN; sin organelos con membrana; presentan varias formas y se pueden encontrar prácticamente en cualquier ambiente (suelos, aguas, aire, y como simbioses o patógenos del humano, otros animales y plantas).
7. **Bacterias patógenas:** Son aquellas que causan enfermedades infecciosas.
8. **Buenas Prácticas de Manipulación:** Son un conjunto de procedimientos, instrucciones y normas que debemos aplicar para producir alimentos saludables para nuestros clientes.
9. **Crecimiento microbiano:** Es el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo. No se refiere al crecimiento de un único microorganismo sino al de una población.
10. **Calidad microbiológica:** Hace referencia a dos aspectos fundamentales: la calidad higiénico-sanitaria y la calidad comercial.
11. **Control de calidad:** Es el conjunto de los mecanismos, acciones y herramientas realizadas para detectar la presencia de errores. La función principal del control de calidad es asegurar que los productos o servicios cumplan con los requisitos mínimos de calidad.
12. **Colibacilosis:** Se llama a toda enfermedad del tracto digestivo, que puede cursar a nivel entérico local o sistémico, producida por *Escherichia coli*, sea cual sea la especie animal afectada.

13. **Colisepticemia:** Es el resultado final de una infección generalizada de dicha bacteria y sus productos de desecho metabólico sépticos. De ahí el nombre COLI (E. coli),
14. **Escherichia coli Enterotoxigénico (ETEC):** Es causante de patología por alteración del equilibrio hidroelectrolítico de las células de la mucosa intestinal debido a la producción de toxina termolábil (LT), y/o de toxina termoestable (ST), codificadas, respectivamente por los locus genéticos lt y st.
15. **Enfermedad de los edemas:** Es una enfermedad infecciosa letal, que se observa en cualquier lugar del mundo donde haya producción porcina. Principalmente afecta a lechones durante las dos semanas post-destete. Está causada por una proliferación de bacterias E. coli productoras de Shigatoxina (STEC), que se conoce como Verotoxina.
16. **Medio de cultivo:** Es cualquier sustancia líquida o sólida que puede utilizarse en el laboratorio para que el crecimiento de microorganismos. Cualquiera que sea el medio debe incluir todo lo necesario para el crecimiento, lo cual varía según el organismo que se quiere cultivar, pero que comprende: agua, compuestos nitrogenados, una fuente de energía y otros factores de crecimiento. Los requerimientos nutricionales de las bacterias varían desde los sencillos compuestos inorgánicos de las autótrofas hasta las complicadas vitaminas y factores de crecimiento de algunas heterótrofas.
17. **Métodos bioquímicos:** Son aquellos que nos permite demostrar una o mas características de interés usando las propiedades químicas.
18. **Microorganismo:** Organismos microscópicos pertenecientes por regla general a virus, bacterias, algas, hongos o protozoos.
19. **Mortalidad:** Es la condición de ser mortal por tanto, de ser susceptible a la muerte.
20. **Micotoxinas:** Las micotoxinas son toxinas producidas por algunas especies de moho. Estas micotoxinas son algunas de las sustancias más tóxicas que existen
21. **Piensos:** Porción de alimento seco que se da al ganado; constituido por una mezcla de materias primas (vegetales y/o animales y/o minerales) que son transformadas o no con el fin de lograr un alimento nutritivo y sano para los animales.
22. **Venta a granel:** Es aquel producto que no habiendo sido envasado previamente, se mide en presencia del consumidor.