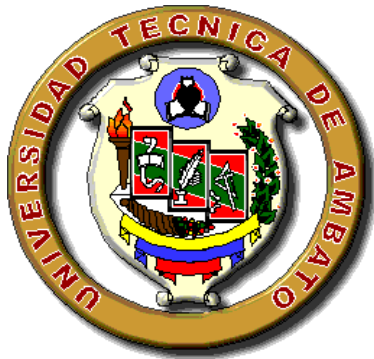


UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“FRECUENCIA DE *Listeria spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO (*Gallus gallus*) QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN AMBATO”

AUTOR: MARÍA JOSÉ VERDEZOTO ZAMBRANO

TUTORA: DRA. SANDRA CRUZ

CEVALLOS – ECUADOR

2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

**FRECUENCIA DE *Listeria spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO
(*Gallus gallus*) QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN AMBATO**

REVISADO POR:

**Dra. Sandra Cruz
TUTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**FRECUENCIA DE *Listeria spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO (*Gallus gallus*) QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN AMBATO**” como uno de los requisitos previos para la obtención del Título de grado de Medicina Veterinaria Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad para que este documento esté disponible para su lectura según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no ponga una ganancia económica potencial y se respete los derechos de propiedad intelectual del proyecto al cual está asociado, así como al director de este.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la Publicación de este Informe Final.



MARÍA JOSÉ VERDEZOTO ZAMBRANO

1721951976

mverdezoto1976@uta.edu.ec

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, MARÍA JOSÉ VERDEZOTO ZAMBRANO, portadora de la cédula de identidad número 1721951976, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “**FRECUENCIA DE *Listeria spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO (*Gallus gallus*) QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN AMBATO**” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”.



MARÍA JOSÉ VERDEZOTO ZAMBRANO

1721951976

AUTORA

APROBACION DEL TRIBUNAL DE GRADO

**“FRECUENCIA DE *Listeria spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO
(*Gallus gallus*) QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN AMBATO”**

APROBADO POR:

FECHA:

.....

Ing. Patricio Núñez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

Dr. Byron Borja

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

BQF. Cristina López

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

“Esfuézate y sé valiente”

Josué 1:9

A Dios, por el soporte y el sostén durante los momentos más difíciles, así como el disfrute y la alegría de los buenos momentos. A la niña de 6 años que siempre soñó con ser Doctora de perritos, este trabajo va dedicado para ti.

A mis padres, Darwin y Merly, quienes me otorgaron gran parte de su vida, sus enseñanzas, su amor, su sabiduría y por el apoyo incondicional. Este trabajo es un reflejo de mi amor hacia ustedes.

A mis hermanos, Evelin y Cristian, quienes me apoyaron en los buenos y malos momentos, supieron guiarme con sus enseñanzas y fuimos creciendo juntos. Estoy orgullosa de ser su hermana y haber culminado este trabajo con el ejemplo que ustedes me dieron.

“Un esfuerzo más y lo que pudo ser un fracaso se convierte en éxito”

Jean-Paul Marat

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haber sido pilar fundamental en mi carrera, un apoyo en los momentos difíciles, un recuerdo de que los esfuerzos tienen su recompensa y de que los buenos y malos momentos siempre pasan.

A mis padres. A mi mamá, Merly, por haberme enseñado de la compasión, el amor, el aprecio hacia los demás y el esfuerzo de una meta para lograrla. A mi papá, Darwin, por haberme enseñado el amor hacia los animales y el cuidado que debemos brindarles, así como la perseverancia, el análisis crítico y la curiosidad para aprender constantemente. Gracias por su apoyo incondicional y el amor que me brindan.

A mi hermana, Evelin, por ser mi amiga incondicional en todo momento, por enseñarme el amor a la medicina, por transmitir el cambio a través de su ejemplo, por enseñarme a ser una mujer valiente y decidida. Gran parte de lo que soy te lo debo a ti.

A mi hermano, Cristian, por enseñarme a reforzar mis conocimientos y valores, el aprender constante, la curiosidad, los videojuegos, el ejemplo y por los buenos momentos que hemos compartido.

A Francisco Segura, por todos los años de amistad, por el apoyo incondicional que me ha brindado, por los buenos momentos y la ayuda en los momentos difíciles. Gracias por tu presencia en mi vida.

A la doctora Sandra Cruz, por la guía, la paciencia y la ayuda brindada que me permitió culminar con éxito mi trabajo de titulación. Dios le pague por todo su apoyo.

A cada persona que formó parte de mi carrera universitaria y que, de una u otra manera, me apoyaron y me brindaron la ayuda que necesitaba en el camino. De corazón les agradezco su presencia en mi trayecto.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
CAPÍTULO I	14
MARCO TEÓRICO	14
1.1. Antecedentes Investigativos.....	14
1.1.1. Investigaciones previas	14
1.1.2. Mercado de carne de pollo	16
1.1.3. La carne de pollo y sus características	17
1.1.3.1. Composición de la carne de pollo	18
1.1.3.2. Factores que intervienen en el crecimiento de microorganismos en la carne de pollo	19
1.1.3.2.1. Factores intrínsecos	20
1.1.3.2.2. Factores extrínsecos	21
1.1.3.3. Indicadores de la calidad de la carne de pollo.....	23
1.1.4. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA)	24
1.1.4.1. Parámetros nacionales e internacionales	25
1.1.4.2. Microbiología de la carne de pollo y vías de transmisión.....	27
1.1.5. <i>Listeria spp.</i>	29
1.1.5.1. Características físico-químicas.....	30
1.1.5.2. Pruebas de detección	30
1.1.5.3. Comportamiento de <i>Listeria spp</i> en la carne de pollo	32
1.1.5.4. <i>Listeria spp</i> y listeriosis	33
1.2. Objetivos	34
CAPÍTULO II	36
METODOLOGÍA	36
2.1. Ubicación del experimento	36
2.2. Características del lugar	36
2.3. Equipos y materiales	36
2.4. Metodología	38
2.4.1. Toma de muestra	38
2.4.2. Pre-enriquecimiento	38

2.4.3.	Siembra en Agar nutritivo (Conteo de UFC)	39
2.4.4.	Siembra en Agar selectivo	41
2.4.5.	Agar Sangre.....	42
2.4.6.	Tinción Gram	43
2.4.7.	Pruebas Bioquímicas	44
2.4.7.1.	Oxidasa.....	44
2.4.7.2.	Catalasa	45
2.5.	Variable respuesta	46
2.5.1.	Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).....	46
2.5.2.	Tinción Gram	47
2.5.3.	Presencia/ausencia de <i>Listeria spp.</i>	47
2.5.4.	Hemólisis	47
2.5.5.	Catalasa	48
2.5.6.	Oxidasa.....	48
2.5.7.	Higiene del local	48
2.5.8.	Conservación de la carne	49
2.5.9.	Medidas de protección del vendedor.....	49
2.6.	Análisis estadístico.....	50
CAPÍTULO III.....		52
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		52
	Determinación del grado de contaminación por mesófilos aerobios de la carne de pollo según el número de UFC	52
	Identificación de <i>Listeria spp.</i> mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas	59
	Factores de riesgo asociados a la contaminación de la carne de pollo.....	67
CAPÍTULO IV		73
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		73
	Conclusiones	73
	Recomendaciones.....	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		75
ANEXOS		85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional de la carne de pollo, 100g.....	18
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Listeria spp.</i>	29
Tabla 3. Interpretación bioquímica de pruebas para <i>Listeria spp.</i>	32
Tabla 4. Equipos y materiales de producción	36
Tabla 5. Insumos de oficina	37
Tabla 6. Parámetros para la evaluación de higiene del punto de venta.....	48
Tabla 7. Parámetros para la evaluación de la conservación de la carne en el punto de venta	49
Tabla 8. Parámetros para la evaluación de las medidas de protección del vendedor	49
Tabla 9. Contaminación por mesófilos aerobios de la carne de pollo según UFC/g y calidad microbiológica.....	53
Tabla 10. Calidad microbiológica según el número de colonias por placa contaminada por aerobios mesófilos.....	57
Tabla 11. Parámetros seleccionados para probable resultado positivo a <i>Listeria spp.</i>	60
Tabla 12. Muestras positivas de acuerdo a los parámetros seleccionados para probable resultado positivo a <i>Listeria spp.</i>	63
Tabla 13. Muestras positivas de acuerdo a los parámetros seleccionados para probable resultado positivo a <i>Listeria spp.</i>	65
Tabla 14. Relación entre calidad microbiológica de carne de pollo e higiene del local para puntos de expendios con licencia e informales del cantón Ambato en la provincia Tungurahua	68
Tabla 15. Relación entre calidad microbiológica y la conservación de carne de pollo en puntos de expendios con licencia e informales del cantón Ambato en la provincia Tungurahua	69
Tabla 16. Relación entre calidad microbiológica y Medidas de protección del vendedor en los puntos de expendios con y sin licencia del cantón Ambato en la provincia Tungurahua.	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Técnica de siembra por extensión	40
Figura 2. Técnica de siembra por estría en placa.....	43
Figura 3. Procedimiento de la Tinción Gram.....	43
Figura 4. Placa de agar nutritivo con < 30 UFC	55
Figura 5. Placa de agar nutritivo con 30-300 UFC	56
Figura 6. Placa de agar nutritivo con > 300 UFC	58
Figura 7. Agar Listeria Cromogénico con colonias verde-azuladas presuntamente de Listeria spp.	61
Figura 8. Tinción gram. Bacilos cortos azul-violeta.....	61
Figura 9. Agar sangre con presencia de hemólisis.....	62
Figura 10. Comparación de los resultados de las pruebas bioquímicas y microbiológicas realizadas en los puntos de venta autorizados e informales	67

RESUMEN

La carne de pollo es uno de los alimentos mayor consumidos por el ser humano a nivel mundial y con elevado riesgo a la contaminación debido a sus propiedades fisicoquímicas. Su consumo se relaciona con las ETA, destacando a *Listeria spp.*, bacteria con importancia a nivel sanitario e inocuidad alimentaria. El presente estudio se enfocó en evaluar la frecuencia de *Listeria spp.* en muestras de carne de pollo que se expende en puntos autorizados e informales del cantón Ambato, Tungurahua, Ecuador. Se realizó conteo de mesófilos aerobios, siembra en medios selectivos como agar Listeria Cromogénico y pruebas morfológicas y bioquímicas para seleccionar las presuntas *Listeria spp.* Dentro de los resultados obtenidos, se realizó el análisis de contaminación de mesófilos aerobios y se encontró que las muestras de los locales autorizados e informales contaban con 6.53×10^7 UFC/g y 8.74×10^7 UFC/g, respectivamente. Para la contaminación probable de *Listeria spp.*, los locales autorizados obtuvieron resultados del 62.2% (28/45) y del 42.2% (19/45) para los locales informales. Por último, se analizó la relación que existe entre la contaminación de la carne de pollo y los factores de riesgo que se asocian, destacando la higiene del local, la conservación de las carnes y las medidas de protección del vendedor, los cuales intervienen en la calidad final de la carne de pollo.

Palabras clave: carne de pollo, *Listeria spp.*, inocuidad, ETA

ABSTRACT

Chicken meat is one of the largest foods consumed by humans worldwide and with a high risk of contamination due to its physicochemical properties. Its consumption is related to ETA, highlighting *Listeria* spp., a bacterium with importance at a health and food safety level. The present study focused on evaluating the frequency of *Listeria* spp. in samples of chicken meat that is sold in authorized and informal points of the Ambato canton, Tungurahua, Ecuador. Aerobic mesophiles were counted, seeded in selective media such as Chromogenic *Listeria* agar, and morphological and biochemical tests to select the presumed *Listeria* spp. Among the results obtained, the contamination analysis of aerobic mesophiles was carried out and it was found that the samples of the authorized and informal premises had 6.53×10^7 CFU/g and 8.74×10^7 CFU/g, respectively. For the probable contamination of *Listeria* spp., the authorized premises obtained results of 62.2% (28/45) and 42.2% (19/45) for the informal premises. Finally, the relationship between the contamination of chicken meat and the associated risk factors was analyzed, highlighting the hygiene of the premises, the conservation of the meat and the seller's protection measures, which intervene in the final quality of chicken meat.

Keywords: chicken, *Listeria* spp., safety, ETA

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Investigaciones previas

El consumo de carne forma parte del diario vivir de la población mundial, aportando la proteína necesaria en una dieta sana. Dentro de la dieta humana, la carne que se consume en mayor medida proviene de bovinos, cerdos, ovinos y aves. El pollo (*Gallus gallus*) es uno de los principales productos pecuarios consumidos y producidos a nivel mundial (**Rosales, 2015**).

En este sentido, el consumo de la carne de pollo ha crecido un 15% los últimos 10 años, teniendo un consumo per cápita mundial de este producto de 14.2 kg persona/año (**FIRA, 2019**). En Ecuador, el consumo de carne de pollo forma parte de la dieta principal para la población, con reportes del consumo per cápita de 30.4 kg persona/año en 2019 (**Sánchez et al., 2020**).

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) son muy frecuentes a nivel mundial, teniendo como agentes etiológicos bacterias como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*, provocando víctimas mortales alrededor del mundo. Esta última tiene gran importancia dentro de las patologías relacionadas con alimentos debido a su descubrimiento en varias especies de animales y productos destinados al consumo humano como carne, pollo, quesos no pasteurizados y leches pasteurizadas (**Reuben et al., 2003**).

La superficie de la carne de pollo es muy propensa a la contaminación por microorganismos, entre ellos se destaca a *Listeria monocytogenes*. *Listeria spp.* es

un microorganismo intracelular facultativo que provoca alteraciones a nivel del SNC como meningitis aguda, meningoencefalitis y encefalitis de tronco (**de la Rosa Zariñana, 2017**).

Hay distintos alimentos que se pueden contaminar con bacterias. Por su parte, **Reuben et al. (2003)** identificó un 3% de *L. monocytogenes* en muestras de leche que fueron evaluadas en Costa Rica. En una investigación realizada en Lima, Perú, la incidencia de *L. monocytogenes* en carne fresca de pollo y muestras de verduras que se obtuvieron en mercados fue del 2% (**Centurión & Takajara, 2004**).

Del mismo modo, **Genigeorgis et al. (1989)** realizaron una investigación analizando el pollo fresco de distintos mataderos donde se encontró *Listeria spp.* en porcentajes alrededor del 40.6%. Durante el final de la cadena de procesamiento del pollo fresco, se determinó presencia de *L. monocytogenes* del 33.3 – 70.0 %; sin embargo, al ser almacenadas durante 4 días a 4°C se encontró porcentajes de *L. monocytogenes* entre el 40.0 al 72.0%. Así también se evaluó la prevalencia de *L. monocytogenes* en manos y guantes de las personas que cuelgan las aves luego del procesamiento de las aves encontrando presencia de esta bacteria en porcentajes del 20.0 – 59.0 %.

Así mismo, los casos reportados por listeriosis han sido parte de los últimos años. En 2019, entre los meses de agosto y octubre, se alzó una alerta sanitaria en Andalucía, España, debido a un brote de listeriosis con un total de 3 muertos, 5 abortos y 210 personas afectadas. Posteriormente, se realizó un muestreo con 704 muestras en total y 1.56% de muestras positivas a *Listeria spp.* Esto provocó que se realizara un mapa nacional de los casos reportados, que permita facilitar la identificación de dos cepas similares que se encuentren en lugares distintos del país (**Rus, 2021**).

Por otro lado, se han realizado investigaciones en Ecuador acerca de *Listeria spp.* y su frecuencia en alimentos destinados a consumo humano. **Espinosa (2018)** realizó un estudio tomando muestras de queso de 18 provincias de Ecuador y encontró un 14.23% de muestras positivas para *L. monocytogenes*. En una revisión sistemática de estudios acerca de inocuidad en alimentos realizada en Cuenca, Ecuador desde 1981 a 2017, no hubo resultados de *L. monocytogenes* en las muestras de queso fresco (**Ortiz-Ulloa et al., 2020**).

1.1.2. Mercado de carne de pollo

La carne de pollo es uno de los productos más consumidos a nivel mundial debido a su accesibilidad, disponibilidad al consumidor, versátil y fácil de preparar, siendo aceptado por la mayoría de la población. La avicultura ha tenido un gran cambio en los últimos años debido a la creciente demanda por cubrir las necesidades de los seres humanos: cambios como el crecimiento de la población, distribución de ingresos, así como la formación de una estructura familiar ha influido para que los alimentos sean consumidos y comprados en mayor medida, destacando a las grandes ciudades de cada país para satisfacer las necesidades básicas de las familias (**Alvarado et al., 2012**).

De este modo, el mercado avícola incrementará en un 4.1% a nivel mundial entre los años 2021 y 2025 con una producción alrededor de 100.9 millones de toneladas métricas. En esta cifra se colocan a los líderes de producción avícola Brasil, EEUU y China. En 2021, EEUU ha tenido un aumento en la producción de pollo de engorde en un 0.7%, con exportaciones de 3.349 billones de toneladas métricas cárnicas; con estos valores, se pronostica que el 2022 tendrá un cierre de producción de carne de 45.225 millones de toneladas métricas, acompañado de un incremento del consumo per cápita de pollo de engorde del 0.3% (**Cuéllar, 2022**).

En Ecuador, el consumo de pollo ha incrementado a 27 kg per cápita, así como una producción de 480.000 toneladas. Además, Ecuador es considerado un país de autoconsumo, donde la carne de pollo producida es consumida a nivel interno; es así que la producción tiene una aportación del 23% al PIB agropecuario y 3% al PIB total, acogiendo a 300.000 empleados (**el Universo, 2022**). Por ende, el sector avícola es un área importante tanto para la población ecuatoriana como para la economía del país.

1.1.3. La carne de pollo y sus características

La carne de pollo es una proteína de origen animal muy consumida a nivel mundial. Su alto consumo es debido al costo accesible y las características químicas, nutricionales y organolépticas que posee. La carne de ave es digerida con facilidad, muy palatable y sus componentes aportan los requerimientos nutricionales diarios que se recomiendan para el organismo humano (**Attia et al., 2016**).

Por otro lado, uno de los cortes más apetecidos de la carne de pollo es la pechuga, siendo una zona magra y saludable para el ser humano, provocando que su comercialización se incremente (**Gomez-Portilla et al., 2016**). La mayor parte de la piel del pollo se compone por tejido conectivo y grasa almacenada debajo de la misma; es así que, al retirar la piel, también se retira gran parte de la grasa que posee el pollo. Así también, el colesterol está inmerso en la membrana de las células del tejido animal, teniendo en cuenta que las carnes magras poseen menos colesterol que otro tipo de carnes con mayores contenidos de grasa (**Martínez & Mora, 2010**). En contraste, al realizar una comparación en cuanto al aporte de grasa entre la carne roja y la carne de pollo, se encuentra que la carne magra de res y la carne de pollo sin piel poseen similares contenidos de colesterol y de grasa (**INCAP, 2007**).

Por otro lado, la carne de pollo ofrece mejor digestibilidad al poseer menor cantidad de tejido conectivo en comparación a las carnes rojas, además de fibras musculares de menor grosor, con menor dureza, lo que mejora significativamente su digestión y la textura de la misma (M. Fernández & Marsó, 2003).

1.1.3.1. Composición de la carne de pollo

Dentro de los componentes de la carne se encuentran el hierro, fósforo, zinc, potasio, niacina y aminoácidos esenciales tales como lisina; ofrece un bajo contenido de ácidos grasos saturados, así como ácidos grasos omegas 3 y 6. Además, la carne de pollo otorga bajos niveles de ácidos grasos monoinsaturados (6.64g en 100g de carne de pollo con piel cruda); en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados, la carne de pollo contiene 3.40g en 100g de carne de pollo. De este modo, la composición de los valores nutricionales de la carne de pollo se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 1. Composición nutricional de la carne de pollo, 100g

Nutriente	Pollo, carne con piel	Pollo, carne sin piel
	cruda	cruda
Agua, %	65.50	75.46
Energía, Kcal	216	119
Proteína, g	17.14	21.39
Grasa Total, g	15.85	3.08
Carbohidratos, g	0.00	0.00
Fibra dietética, g	0.00	0.00
Ceniza, g	0.87	0.96
Calcio, mg	10	12
Fósforo, mg	166	173

Hierro, mg	1.01	0.89
Tiamina, mg	0.06	0.07
Riboflavina, mg	0.12	0.14
Niacina, mg	6.57	8.24
Vitamina C, mg	0	2
Vitamina A, mcg	38	16
Ác. grasos mono-insat., g	6.64	0.90
Ác. grasos poli-insat., g	3.40	0.75
Ác. grasos saturados, g	5.53	0.79
Colesterol, mg	73	70
Potasio, mg	196	229
Sodio, mg	68	77
Zinc, mg	1.07	1.54
Magnesio, mg	19	25
Vitamina B6, mg	0.32	0.43
Vitamina B12, mcg	0.31	0.37

Fuente: (INCAP 2007)

1.1.3.2. Factores que intervienen en el crecimiento de microorganismos en la carne de pollo

La industria de alimentos posee varias técnicas para la conservación de los productos destinados al consumo humano, incluyendo procesos para la inhibición del crecimiento de microorganismos. La carne de pollo puede contener microorganismos creciendo en su interior, provocando que la calidad de la misma sea afectada y contribuyendo a la transmisión de enfermedades en el ser humano. Por este motivo, el crecimiento de microorganismos se relaciona con los factores intrínsecos y extrínsecos que intervienen en la calidad de la carne de pollo.

1.1.3.2.1. Factores intrínsecos

a. pH y su efecto sobre la carne de pollo

El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración de protones, siendo evaluado en una escala de 0 a 14; los valores menores a 7 son ácidos, mientras que un valor superior a 7 se considera alcalino o básico. El pH es un parámetro utilizado para la verificación de la calidad de una carne debido a que condiciona cualidades como su color, la retención de agua, la apariencia, el sabor, entre otros (**León et al., 2017**).

Luego de la muerte del animal, el pH disminuye debido a que el glucógeno se degrada a ácido láctico en un proceso donde el músculo busca la producción de energía sin oxígeno. Esta reacción depende de enzimas sensibles a la temperatura, por lo que la temperatura muscular es un aspecto a considerar cuando se realicen mediciones de pH. En animales vivos y sanos, el pH es de 7.04 (**León et al., 2017**).

La carne de pollo es un producto con un elevado riesgo de contaminación debido a sus propiedades fisicoquímicas: elevado contenido de grasas y proteínas, actividad de agua alta y un pH casi neutral (6.655) (**León et al., 2017; Mercado et al., 2012**).

b. Actividad del agua

La carne de pollo se considera un producto altamente perecible debido a los componentes nutricionales y su valor elevado de actividad de agua. No obstante, los microorganismos contenidos dentro de la carne de pollo pueden variar (**C. Moreno, 2012**).

c. Potencial óxido-reducción

Posterior a la muerte del animal, el tejido muscular posee varias reservas de oxígeno que ofrecen un potencial óxido-reducción elevado y positivo, otorgando un crecimiento favorable para microorganismos aerobios, los cuales necesitan de oxígeno para su desarrollo normal. Luego de que el oxígeno se agota, el potencial óxido-reducción disminuye y el ambiente es apto para el crecimiento del desarrollo de microorganismos anaerobios relacionados a la putrefacción (C. Moreno, 2012).

1.1.3.2.2. Factores extrínsecos

Por su parte, es importante destacar los factores ambientales para la determinación de la calidad de la carne. Las condiciones ambientales en el transporte y manejo de las aves perjudican la calidad de la carne y el buen rendimiento del proceso para el faenamiento. En días calurosos, las temperaturas altas antemortem intervienen en la acidificación del músculo o un adecuado rigor mortis, por lo que la calidad de la carne se verá afectada en dependencia de las respuestas fisiológicas o la fatiga del ave (Bianchi et al., 2007).

a. Control de temperatura para conservación

Los alimentos deben tener control de temperatura para evitar el crecimiento de microorganismos. Posterior al sacrificio, la temperatura de la carne es elevada con un aproximado de 37°C, valor ideal para el crecimiento de bacterias mesófilas (25-40°C). De esta manera, el control de las temperaturas dentro del almacenamiento es de vital importancia para impedir el crecimiento bacteriano (C. Moreno, 2012).

b. Manejo de los procesos

El proceso de los alimentos debe realizarse en condiciones adecuadas para reducir la contaminación y el crecimiento indeseado de microorganismos, eliminando las posibilidades de contaminación cruzada en el procesamiento de la carne de pollo. A continuación, se describe brevemente el proceso para la obtención de la carne de pollo:

- Recibimiento de los animales: los pollos se preparan 24h antes del sacrificio.
- Sacrificio de los animales: se realiza un corte en el cuello del animal para el desangrado. Depende de la precisión del corte, la especie y el método de insensibilización previo al sacrificio.
- Escaldadura: facilita la separación de plumas del ave. No debe exceder los 52-54°C y un tiempo prologado para evitar dañar la piel del animal.
- Desplumado: las plumas del animal se retiran manual o mecánicamente.
- Eviscerado: se retiran los órganos internos del animal como el tracto gastrointestinal, corazón, molleja e hígado, así como la cabeza y las patas. Es importante no realizar heridas en los intestinos que puedan contaminar la canal. La desinfección y el lavado de manos del personal es crucial en este punto.
- Lavado: las canales se lavan para la eliminación de compuestos adheridos luego de la evisceración como grasa, sangre, tejido o heces.
- Cortes: la canal es cortada en cuartos para que sean transportadas a las ventas.
- Enfriamiento: las canales del ave se refrigeran para evitar contaminación bacteriana. Posterior al enfriamiento, las canales son escurridas para disminuir el exceso de agua y se pueden clasificar de acuerdo a la calidad y el tamaño que posean.
- Equipos y sistemas de frío: la cadena de frío posee el control de temperaturas en congelación o refrigeración para que las canales de

pollo sean conservadas desde el enfriamiento hasta el consumo o la preparación del alimento para el consumidor final. De esta manera, la cadena de frío controla la temperatura en los siguientes procesos:

- Enfriamiento de la canal durante el proceso
- Almacenamiento en los centros de producción
- Transporte y distribución en vehículos especiales
- Almacenamiento en puntos de venta y hogares

(Benavides Martínez & Salazar Trujillo, 2019; C. Moreno, 2012)

c. Humedad del medio

La humedad del ambiente se equilibra en compañía de los alimentos, por lo que se debe controlar los valores de agua contenidos dentro de la carne de pollo y usar humidificadores o desecadores para una regulación adecuada **(C. Moreno, 2012)**.

1.1.3.3. Indicadores de la calidad de la carne de pollo

La calidad de la carne de pollo se determina bajo varios parámetros que pueden ser vistos desde distintos ángulos: rendimiento de la canal, buena apariencia, perspectiva del mercado y consumidor, clasificación óptima de la canal, aspectos nutricionales y sensoriales **(Bianchi et al., 2007)**. Al tener nutrientes proteicos, lipídicos, así como vitaminas y minerales, otorga al consumidor un producto altamente importante en su dieta. De la misma manera, posee un bajo contenido de grasa y tejido muscular en dependencia de la edad, sexo y genotipo **(Attia et al., 2016)**.

Dentro de los factores que intervienen en la calidad de la carne se encuentra la composición dietética de las aves. El tipo de alimentación que se les otorgue influirá, en cierta medida, en la composición química de la carne obtenida en el faenamiento (**Attia et al., 2016**). Además, es importante considerar otros aspectos que influyen en la calidad de la carne como las condiciones ambientales, las prácticas de bioseguridad, sanidad dentro y fuera del galpón, sistema para el sacrificio, almacenamiento (tanto si es carne fresca o congelada) (**Javanmard et al., 2006**) y manipulación de la carne.

En conjunto, la carne de pollo y su calidad serán determinadas por todas las etapas que se requieren para su obtención, desde el nacimiento de las aves, manejo, alimentación, el faenamiento y su comercialización.

1.1.4. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA)

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son un síndrome causado por ingerir alimentos o agua con microorganismos de manera que afectan la salud del ser humano. Dependiendo del agente etiológico, los síntomas pueden variar desde náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea y fiebre, llegando a casos extremos con sepsis, abortos, meningitis o la muerte (**Soto Varela et al., 2016**).

Por su parte, se detallan más de 250 ETA a nivel mundial, la mayoría provocadas por virus, bacterias o parásitos. Además, un 70% de las diarreas son originadas por consumir alimentos contaminados por toxinas o microorganismos patógenos (**Olea et al., 2012**). Dentro de las bacterias más conocidas que producen una ETA se encuentran bacterias de los géneros *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* y la cepa O157:H7 de *Escherichia coli* (**Flores & Herrera, 2005**).

La incidencia de las ETA es una señal de la calidad sanitaria e higiénica que poseen los alimentos, demostrando la contaminación contiene un alimento. Es así que un alimento se puede contaminar mediante su proceso o el manejo de las materias primas que se utilizaron para elaborarlo. Además, se debe tomar en cuenta el hecho de que algunas bacterias nocivas forman parte del microbiota normal del ganado, cerdos o aves (**Flores & Herrera, 2005**).

Por lo mencionado anteriormente, el control adecuado de los microorganismos que producen ETA se debe llevar a cabo tanto por autoridades de salud como de las empresas procesadoras de alimentos, dependiendo de los métodos que utilicen para la determinación de los microorganismos. Detectar e investigar brotes de ETA es un reto para el Sistema de Salud Pública, requiriendo la información médica de las personas perjudicadas por las patologías, así como restos de alimentos para su respectivo análisis en el laboratorio (**Flores & Herrera, 2005**).

De esta manera, las infecciones son diagnosticadas por medio de cultivos de las muestras de alimentos sospechosos de contaminación y la identificación de las bacterias que crecieron en los medios de cultivo. Esta identificación se realiza mediante parámetros morfológicos y fisiológicos de la bacteria (**Flores & Herrera, 2005**).

1.1.4.1. Parámetros nacionales e internacionales

La FAO/OMS crearon un programa sobre normas alimentarias para promover y garantizar alimentos de calidad a nivel mundial. Bajo las directrices que reportan en el Codex Alimentarius, indican las normas adecuadas para la manipulación de alimentos y contribuir a la confiabilidad por parte del consumidor para adquirir los productos comercializados (**FAO, 2005**).

INEN: Código de práctica para manipulación de alimentos

El Instituto Ecuatoriano de Normalización elaboró el Código de Manipulación de Alimentos con base en las recomendaciones de la FAO vertidas en el Codex Alimentarius. Las Normas detalladas en el manual recomiendan las prácticas generales de higiene en cuanto a la manipulación de los alimentos destinados al consumo humano de manera que se garantice que el producto final sea sano, inocuo y saludable (INEN, 1987).

Para la determinación de UFC/g en carne de pollo, la norma INEN, el Código Alimentario Argentino (ANMAT, 2019) y la norma peruana RM N° 615-2003 (MINSa, 2003) determinan que el límite mínimo y máximo de aerobios mesófilos en carnes y menudencias es de 1×10^6 y 1×10^7 , respectivamente.

Directrices, principios, higiene de los alimentos, control de *Listeria monocytogenes*: CPE INEN-CODEX CAC/GL 61

En Ecuador, realizaron un código práctico para el control de *Listeria monocytogenes* en los alimentos donde describe los principios de higiene en los alimentos para controlar la presencia de esta bacteria en los productos destinados a consumo humano (INEN, 2009). Sin embargo, la norma INEN no establece un límite máximo permisible para *L. monocytogenes* en la carne. Debido a esto, se hace referencia a la “Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo” de la FAO (2004) donde determina que los alimentos posean una presencia límite de *L. monocytogenes* de 100 UFC/g.

NTE INEN-ISO 11290-1

Microbiología de la cadena alimentaria – Método Horizontal para la detección y recuento de *Listeria monocytogenes* y de *Listeria spp.*

Esta Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN-ISO 11290-1 está basada en la Norma Internacional ISO 11290-1:2017, Microbiology of food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria spp.* - Part 1: Detection method. En esta norma se detallan los procesos para determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.* mediante el uso de caldos, cultivos y aislamiento en agares selectivos, así como el almacenamiento de las placas para ser observadas luego de su refrigeración y el análisis microbiológico de las muestras (INEN, 2018).

1.1.4.2. Microbiología de la carne de pollo y vías de transmisión

Las aves poseen un rigor mortis rápido con un tiempo aproximado de 1-2 horas, pudiendo observarse desde los 10 minutos hasta las 4 horas. El proceso de glucólisis y el rápido enfriamiento de la canal por su tamaño pequeño provoca que las fibras musculares se acorten con velocidad (Yagüe, 2017). Cuando la glicólisis se acelera, el pH disminuye cuando la temperatura del cuerpo sigue alta, provocando desnaturalización de las proteínas; en conjunto, estos factores afectan la calidad de la carne de pollo (R. Moreno, 2005).

La carne de pollo es uno de los medios más importantes para contaminar al ser humano de patógenos. Dentro de los microorganismos más destacados se encuentran: *Salmonella spp.*, *Campyloacter spp.*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Listeria monocytogenes* (R. Moreno, 2005).

Las vías de transmisión de *Listeria spp.* incluyen el consumo de alimentos contaminados, de madre al feto por medio de la placenta y el contacto directo entre el humano y animales infectados. La mayoría de los casos de listeriosis humana se producen por consumo de alimentos contaminados como lácteos, cárnicos, verduras que presentan *Listeria spp* (Elika, 2018).

Por lo mencionado anteriormente, la calidad de la carne de pollo tiene una vida útil adecuada de acuerdo a los procedimientos para su comercialización. Las características adecuadas de la carne de pollo se relacionan con su pH, actividad del agua, carga microbiana inicial, oxidación lipídica, un sistema de conservación de temperaturas y el uso de conservadores como antimicrobianos, antioxidantes o antifúngicos.

Por otro lado, para enumerar microorganismos se utiliza un método sencillo basado en la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mililitro o gramo de muestra. De acuerdo al alimento analizado, se utiliza ml o g (Arana et al., 2010; RENALOA, 2014). Al realizar diluciones y siembra en placas Petri por dilución, la interpretación de resultados puede cuantificarse de acuerdo a las colonias en una placa. De esta manera, las placas cuantificables serán aquellas que contengan entre 30 y 300 colonias, mientras que las placas con colonias por encima o debajo de este rango se determinarán como no contables. Establecer las UFC en microbiología de los alimentos permite obtener un criterio básico para analizar la calidad del mismo, otorgando información relevante del medio donde fue procesado o comercializado.

1.1.5. *Listeria spp.*

Listeria spp. son bacilos grampositivos cortos, no productor de esporas, móvil, anaerobio facultativo y sin ramificaciones, pudiendo ser observados de manera individual o agrupados en cadenas cortas (Palacián et al., 2011; Torres et al., 2005). Poseen 1-5 flagelos peritricos y movilidad a 28 °C. Las especies de *Listeria spp.* se encuentran ampliamente extendidas en el ambiente, siendo aisladas en suelos, comida animal, material vegetal, agua residual, pollo congelado y fresco, productos lácteos, residuos de mataderos, además del tracto gastrointestinal en animales y humanos asintomáticos (Oteo & Alós, 2000; Torres et al., 2005).

Por otro lado, *L. monocytogenes* es considerado un microorganismo intracelular destacado para investigar el mecanismo molecular de las patologías intracelulares bacterianas (Oteo & Alós, 2000). Además, se distribuye a nivel mundial debido a que sobrevive durante largos periodos de tiempo y en diferentes medios.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Listeria spp.*

Dominio	Bacteria
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilo</i>
Orden	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Listeriaceae</i>
Género	<i>Listeria</i>
Especie	<i>L. monocytogenes</i> <i>L. innocua</i> <i>L. ivanovii</i> <i>L. seeligeri</i> <i>L. grayi</i>

L. welshimeri

L. marthii

Fuente: (CABI, 2019)

1.1.5.1. Características físico-químicas

Listeria spp. posee colonias pequeñas (1-2mm) lisas, pudiendo observarse de un color azul-verdoso cuando son iluminadas con una luz proyectada oblicuamente (técnica de la lámpara de Henry) (Low & Donachie, 1997). Para el crecimiento óptimo de la bacteria se requieren temperaturas de entre 30-37 °C, pudiendo crecer desde 1 a 45 °C, con un pH adecuado de 3.3 – 9.6 (Rodríguez-Auad, 2018). Al tener un rango tan amplio de crecimiento, su presencia puede variar desde zonas de fango y desechos, hasta los frigoríficos cárnicos (Oteo & Alós, 2000).

Del mismo modo, para la verificación de *Listeria spp.* se encuentran varias pruebas con los siguientes resultados: prueba de catalasa positiva y prueba de oxidasa negativas, las reacciones de Voges-Proskauer y rojo de metilo son positivas, hidrólisis de esculina en horas, mientras que no hay resultado cuando se pone en contacto con urea o gelatina; no tienen producción de indol ni H₂S (Oteo & Alós, 2000).

1.1.5.2. Pruebas de detección

Dentro de las pruebas de detección para *Listeria spp.* y *Listeria monocytogenes* se encuentran varios procesos para caracterizar este microorganismo, de manera que se seleccionen las colonias sospechosas mediante caldos de cultivo y placas con medios selectivos para identificar su presencia mediante características morfológicas y pruebas bioquímicas. Se debe tomar en cuenta que una vez

identificado el microorganismo como *Listeria spp.* por medio de las pruebas antes mencionadas, se debe redirigir la cepa hacia un centro donde caractericen la misma (RENALOA, 2011).

Enriquecimiento de la muestra

Se puede realizar un primer enriquecimiento mediante el uso con caldo UVM o un segundo enriquecimiento en caldo Fraser para luego sembrar en placas con caldo UVM y su posterior incubación (RENALOA, 2011).

Placas de agar selectivo

Posterior a la incubación en los medios de enriquecimiento, se colocan las muestras en placas de agar selectivo como: agar MOX, agar Tripticasa soja con 5% de sangre de oveja (TS-SBA), Agar sangre, Agar Tripticasa soja-extracto de levadura (TSA, YE), Caldo cerebro corazón infusión (BHI), Agar PALCAM, Agar Oxford, Agar ALOA, Agar Cromogénico para *Listeria* o CHROMagar *Listeria*. Los agares mencionados se utilizan para determinar la presencia de *Listeria spp.*, para luego realizar pruebas bioquímicas y microbiológicas (RENALOA, 2011).

Otros procedimientos de identificación

Se utilizan para realizar una confirmación preliminar mediante pruebas bioquímicas, test de CAMP y, si es necesario, tests genéticos. Entre las herramientas a utilizar se encuentran: test de confirmación preliminar partiendo de una colonia aislada en agar HL, prueba de movilidad, prueba de catalasa, coloración de Gram, prueba de Camp y pruebas bioquímicas. Dentro de la interpretación

bioquímica se determina la diferencia entre las especies de *Listeria spp.* (RENALOA, 2011).

Tabla 3. Interpretación bioquímica de pruebas para *Listeria spp.*

Especie	Hemólisis	Producción de ácido		Test de CAMP	
		Ramnosa	Xilosa	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+	-
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-	+
<i>L. seeligeri</i>	(+)	-	+	(+)	-
<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-	-
<i>L. grayi sub. grayi</i>	-	-	-	-	-
<i>L. grayi sub. murrayi</i>	-	V	-	-	-

Fuente: (RENALOA, 2011)

Interpretación:

+: más del 90% de reacciones positivas

(+): reacción positiva débil

-: reacción negativa

V: reacción variable

Nota: existen cepas de *L. monocytogenes* que arrojan resultados negativos de β -hemólisis y reacción de CAMP negativa.

1.1.5.3. Comportamiento de *Listeria spp* en la carne de pollo

La contaminación de microorganismos en la carne de pollo es inevitable y se relaciona con la calidad microbiológica que tenga la canal utilizada como materia

prima. La bioseguridad y sanidad alimentaria en el periodo de manipulación, así como los tiempos y las temperaturas a manejar tienen un efecto importante en el crecimiento de bacterias (**Doyle & Buchanan, 2012**).

De esta manera, la contaminación de *Listeria spp.* en las canales de pollo se produce debido a la presencia de la bacteria en utensilios, superficies, máquinas de procesamiento, contaminación cruzada y malas prácticas de higiene (**Trepat, 2002**). Por otro lado, **Molero (2012)** encontró *Listeria monocytogenes* en un promedio del 20% de carne de pollo envasada que llegaría al consumidor. Dentro de las muestras analizadas, se encontró la presencia de *Listeria monocytogenes* en un 73.3% (22/30) en contenido intestinal, mientras que en el canal de envasado un 20.0% (6/30).

1.1.5.4. *Listeria spp* y listeriosis

Este microorganismo se adquiere por consumir alimentos contaminados o al contacto con mucosas de animales infectados. La listeriosis humana se presenta con poca frecuencia, pero es altamente grave, siendo provocada por *L. monocytogenes*. Esta bacteria puede encontrarse en suelos, animales, vegetación y alimentos contaminados, siendo esta última la principal vía de transmisión. Las personas más susceptibles a la infección son adultos mayores, mujeres embarazadas, inmunocomprometidos, neonatos y se han descrito casos en niños y adultos inmunocompetentes (**Janakiraman, 2008**). Su mortalidad es del 20 – 30%.

Por otro lado, dentro de la dosis infecciosa aproximada de *L. monocytogenes* es de 10 – 100 millones de UFC en organismos sanos, mientras que para huéspedes con alto riesgo de infección se requieren de 0.1 – 10 millones de UFC (**Canada, 2012; Farber et al., 1996; Janakiraman, 2008**).

De esta manera, se reconoce a *Listeria monocytogenes* como patógeno intracelular facultativo que interviene con los mecanismos regulados por ARN. Dentro de la patogenia se destaca la adhesión a la célula hospedadora y su invasión, multiplicación intracelular y movilización para la propagación a otras células. Posterior al ingreso del alimento contaminado, *Listeria spp.* ingresa a las células gastrointestinales y es fagocitada por ellas, evitando ser destruida al producir hemolisina (listeriolisina) y fosfolipasas, y degradando las membranas de los fagosomas, inhibiendo la digestión intracelular (**Rodríguez-Auad, 2018**).

Para el diagnóstico de listeriosis se utilizan pruebas para aislar la bacteria en sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR), así como otras zonas normalmente estériles del organismo humano o animal como la placenta (**Low & Donachie, 1997**). Definir el grado de inmunidad del hospedero es importante, destacando que la mayoría de pacientes con listeriosis presentan organismos inmunocomprometidos (**Palacián et al., 2011**) y permitiendo a *L. monocytogenes* que se incorpore en su sistema, considerándola un microorganismo oportunista (**Torres et al., 2005**).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar la frecuencia de *Listeria spp.* en muestras de carne de pollo que se expende en el cantón Ambato, en puntos de venta autorizados e informales.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar el grado de contaminación por mesófilos aerobios de la carne de pollo basado en el número de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) de muestras en diferentes locales de expendio del cantón Ambato.

- Identificar *Listeria spp.* mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas en muestras de carne de pollo tomadas en puntos de venta autorizados e informales del cantón Ambato.
- Establecer los factores de riesgo asociados a la contaminación de la carne de pollo.

Hipótesis

H0: No existe presencia significativa de *Listeria spp.* en muestras de carne de pollo tomadas de los puntos de venta autorizados e informales en el cantón Ambato.

H1: Existe presencia significativa de *Listeria spp.* en muestras de carne de pollo tomadas de los puntos de venta autorizados e informales en el cantón Ambato.

CAPÍTULO II METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua, con coordenadas geográficas 01°21'02'' de latitud Sur y 78° 20'36'' de longitud Oeste y una latitud de 2 865 msnm (INAMHI, 2017).

2.2. Características del lugar

Según los datos obtenidos por INAMHI (2017), el cantón Cevallos cuenta con una temperatura aproximada de 19-24°C, una humedad relativa de 75% con una altitud de 2865 msnm. Las precipitaciones anuales arrojan datos aproximados de 571.2 mm con una velocidad de viento anual de 3.0 km/h.

2.3. Equipos y materiales

Tabla 4. Equipos y materiales de producción

Material de muestreo	Materiales de laboratorio	Reactivos
• Bata	• Placas Petri	• Agar nutritivo
• Hielera cooler térmica	• Tubos y matraces	• Agar Sangre
• Mascarilla	• Balanza analítica	• Agua Peptonada Bufferada
• Gel refrigerante	• Autoclave	• Agar Listeria Cromogénico
• Bolsas ziploc	• Incubadora	

-
- Cofia
 - Guantes
 - Probetas graduadas
 - Matraz Erlenmeyer
 - Micropipeta
 - Puntas de micropipeta
 - Guantes de látex
 - Agitador magnético
 - Baño María
 - Contador de Colonias
 - Asa de Digralsky de cristal
-

Fuente: elaboración propia

Tabla 5. Insumos de oficina

Insumos de Oficina
<ul style="list-style-type: none">• Computadora• Impresora• Esferos• Marcadores permanentes• Cuaderno de anotación• Cámara fotográfica• Hojas de papel bond

Fuente: elaboración propia

2.4. Metodología

2.4.1. Toma de muestra

Se realizó la toma de muestra en cada local con registro e informal para la venta de carne de pollo en el cantón Ambato. Cada muestra se introdujo en una bolsa ziploc, sellada y colocada en una hielera cooler térmica para su refrigeración y fue llevada inmediatamente a los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

2.4.2. Pre-enriquecimiento

Las muestras obtenidas de los puntos de expendio se sometieron a un pre enriquecimiento para la estabilización de los microorganismos utilizando agua peptonada bufferada mediante el siguiente proceso:

Agua peptonada bufferada

El agua peptonada es un medio de cultivo utilizado para estabilizar los microorganismos partiendo de distintas muestras. Se utiliza en protocolos de control de higiene de los alimentos (**Britania, 2006**).

Preparación de agua peptonada según indicaciones del fabricante (TM MEDIA):

1. Se diluyó 20.0 gr de agua peptonada sólida en 1000 ml de agua destilada en un frasco de vidrio autoclavable.
2. Se mezcló el sólido con el agua destilada hasta disolverlo completamente.
3. El agua peptonada se autoclavó a 121 °C durante 15 minutos.

4. Pasados los 15 minutos de autoclave, el agua peptonada fue colocada en el baño María a 55°C durante 20-30 minutos para temperar el frasco.

Pre-enriquecimiento

1. Para iniciar el pre-enriquecimiento se introdujo 225 ml de agua peptonada en frascos Erlenmeyer.
2. Se añadió 25 gr de carne de pollo de una muestra dentro del matraz Erlenmeyer con agua peptonada.
3. Se agitó suavemente el frasco, mezclando el agua peptonada y la carne de pollo. Se dejó reposar durante 1 hora.
4. Se incubó la muestra a 37°C durante 24 horas.

2.4.3. Siembra en Agar nutritivo (Conteo de UFC)

Nutritivo

Es un medio de cultivo inespecífico para aislar microorganismos y realizar recuento de microorganismos con bajos requerimientos nutricionales. Se utiliza para analizar alimentos, agua y materiales que tengan importancia sanitaria (**Britania, 2008**).

Preparación de agar nutritivo según indicaciones del fabricante (TM MEDIA)

1. Se pesó 28.0 gr de Agar Nutritivo en una balanza analítica.
2. Se colocó los 28.0 gr de Agar Nutritivo en un vaso de precipitación y se añadió 1000 ml de agua destilada.
3. Se calentó la muestra en un agitador magnético y se mezcló hasta disolver completamente el medio de cultivo.
4. Se esterilizó el medio en el autoclave a 15 psi (121 °C) durante 15 minutos.

5. Luego de autoclavar el Agar Nutritivo, se retiró y atemperó el frasco autoclavable en Baño María a una temperatura de 45-50 °C durante 20 minutos.
6. Se dosificó el medio en placas Petri, 30 mililitros por placa.

Conteo de UFC (Unidades Formadoras de Colonias)

1. Se colocaron 5 tubos de vidrio con 9 ml de suero fisiológico cada uno.
2. Se tomó 1 ml del agua peptonada mezclada con la muestra.
3. Se añadió 1 ml del agua peptonada obtenida en el tubo de vidrio, realizando diluciones de 10^{-5} de la muestra inicial.
4. Se sembró en placas Petri por extensión las diluciones 4 y 5 con ayuda de un asa de Digrafsky de cristal estéril.
5. Se incubó las placas Petri a 37°C durante 24 horas.
6. Se contabilizó las UFC de cada placa con un rango de 30 a 300 colonias en el contador de colonias. Se declararon incontables cuando la placa excedía de 300 colonias.



Figura 1. Técnica de siembra por extensión

Fuente: (López & Torres, 2006)

2.4.4. Siembra en Agar selectivo

Agar Listeria Cromogénico

Es un medio selectivo para el aislamiento e identificación presuntiva de *Listeria spp* y *Listeria monocytogenes* recomendado en la ISO 1 1290-1 para detectar y enumerar *Listeria monocytogenes* en alimentos. El sustrato Cromogénico permite la detección de la enzima β -glucosidasa, la cual es común en todas las especies de *Listeria* al tornarlas de color azul. Otro tipo de microorganismos como los Enterococos también poseen esta enzima la cual puede ser inhibida por agentes selectivos en el medio. El sustrato Lipasa C determina el halo de color blanco opaco que rodea de forma característica a *Listeria monocytogenes* (Ottaviani et al., 1987).

Preparación de Agar Listeria Cromogénico según indicaciones del fabricante (TM MEDIA):

1. Se disolvió 67.25 g en 1000 ml de agua destilada.
2. Se calentó y agitó la mezcla hasta ebullición y su disolución total. Hirvió durante 1 minuto.
3. Se esterilizó el agar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se enfrió el frasco autoclavable en Baño maría a 45-50 °C durante 20 minutos
4. Una vez que el agar se encontraba en temperatura adecuada, se distribuyó homogéneamente en placas Petri estériles.

Para la siembra:

1. Con ayuda de una micropipeta, se obtuvo 100 μ l de agua peptonada incubada y se colocó en una placa Petri con Agar Listeria Cromogénico.
2. Se dejó reposar la gota para su absorción.

3. Se sembró por medio de la técnica de estría en placa (fig. 2).
4. Se incubó a 37 °C durante 24 h.

Posterior a la siembra en medio selectivo, se procedió a realizar diferentes pruebas para la identificación preliminar de *Listeria spp.*

2.4.5. Agar Sangre

El agar sangre favorece el crecimiento de microorganismos exigentes en requerimientos nutricionales, además de permitir una clara visualización de las reacciones de hemólisis (**Britania, 2008**). En el caso de esta investigación, se utilizó para identificar la presencia de *Listeria spp* en las muestras debido a la hemólisis que provoca esta bacteria.

Preparación

Se realizó a partir de Agar Nutritivo esterilizado:

1. Se agregó 5-10% de sangre ovina desfibrinada estéril al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C.
2. Se homogeneizó el agar sangre y se distribuyó en placas Petri estériles.

Siembra

1. Con ayuda de una micropipeta, se obtuvo 100 µl de agua peptonada de la incubadora y se colocó en una placa Petri con Agar Sangre.
2. Se dejó reposar la gota para su absorción.
3. Se sembró por medio de la técnica de estría en placa (fig. 2).
4. Se incubó a 37 °C durante 24 h.

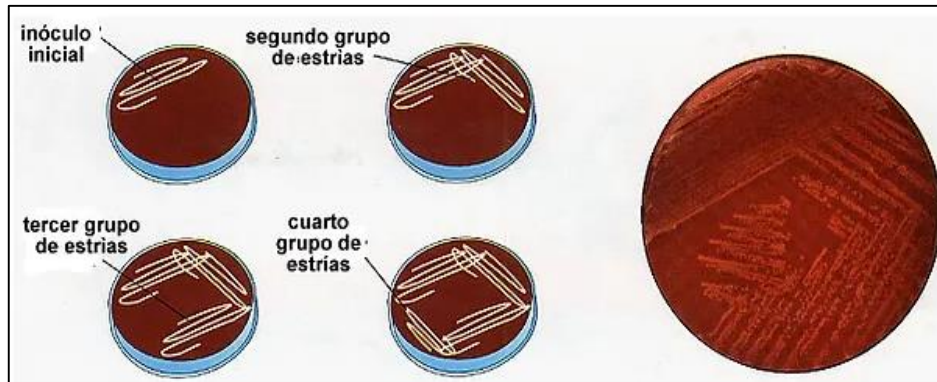


Figura 2. Técnica de siembra por estría en placa

Fuente: (Pardo, 2017)

2.4.6. Tinción Gram

Es una técnica de tinción que permite diferenciar a las bacterias en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas. Las bacterias Gram positivas se tiñen del color azul-violeta, mientras que las bacterias Gram negativas son decoloradas y retienen la tinción safranina. El fundamento de la tinción en ambos tipos de bacterias se debe a la estructura de la pared celular de cada una. Las bacterias Gram positivas poseen paredes gruesas impermeables que contienen peptidoglucanos y polímeros, resistiendo la decoloración. Por otro lado, las bacterias Gram negativas contienen una pared delgada de peptidoglucanos con una bicapa de lipoproteínas que se deshace con la decoloración (**Rodríguez & Arenas, 2018**).

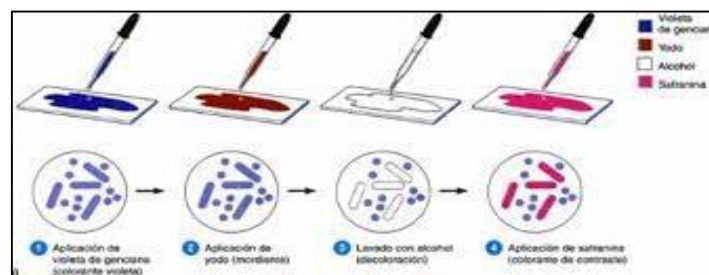


Figura 3. Procedimiento de la Tinción Gram

Fuente: (Pérez, 2019)

Materiales

- a. Cristal- violeta
- b. Lugol (yodopovidona)
- c. Alcohol-acetona
- d. Safranina

Procedimiento

1. Se colocó una gota de agua destilada en un portaobjetos.
2. Se tomó una colonia bacteriana del agar selectivo y se mezcló con la gota de agua destilada.
3. Se fijó el frotis en la llama y reposó hasta que la gota se encontrara seca.
4. Se cubrió con cristal violeta la muestra durante 1 minuto y se lavó ligeramente con agua destilada.
5. Se cubrió con yodopovidona (Lugol) durante 1 minuto y se lavó ligeramente con agua destilada.
6. Se decoloró la muestra con alcohol-acetona y se lavó con agua destilada.
7. Se cubrió con safranina durante 30 segundos y se lavó con agua destilada.
8. Se dejó secar y se observó al microscopio. Para observar con el lente de 100x se usó aceite de inmersión.

(Rodríguez & Arenas, 2018)

2.4.7. Pruebas Bioquímicas

Para las pruebas bioquímicas se utilizaron las pruebas oxidasa y catalasa.

2.4.7.1. Oxidasa

Es una prueba que se utiliza para demostrar si un microorganismo tiene la capacidad de producir la enzima citocromo-oxidasa. Este tipo de pruebas se utilizan para

caracterizar bacterias Gram negativas. Su fundamento está basado en la acción de la enzima intracelular citocromooxidasa, la cual oxida el reactivo fenilendiamina cuando se encuentra en presencia de oxígeno de la atmosfera y provoca la formación de indofenol, compuesto de color púrpura (A. Fernández et al., 2010).

Materiales

- a. Tiras de papel absorbente con zona reactiva contenida de dicloruro de N,N-dimetil-1,4- fenilendiamonio 0,1 μmol ; 1-naftol 1,0 μmol .
- b. Asas de plástico desechables

Procedimiento

1. Se colocó una colonia de microorganismos en la zona reactiva de la tira
2. Se frotó con ayuda del asa de siembra
3. Los resultados fueron interpretados pasados 10-30 segundos. La reacción se daba en un tiempo de entre 30-60 segundos. Si la tira se coloreaba de un color azul a violeta azulado, se consideraba positiva; si la tira cambiaba a un color rosado o no había cambios de color, el resultado era negativo.

2.4.7.2. Catalasa

Es una prueba utilizada inicialmente para caracterizar bacterias. La enzima catalasa se encuentra presente en bacterias anaerobias y aerobias facultativas que poseen citocromo, con excepción de *Streptococcus spp* y *Enterococcus spp*. Esta prueba está fundamentada en la hidrólisis del peróxido de hidrogeno en oxígeno gaseoso y agua por parte de bacterias sintetizan catalasa, arrojando como resultado la liberación de burbujas de gas. Las colonias de bacterias a utilizarse deben haber crecido en medios de cultivo sólido (A. Fernández et al., 2010).

Materiales

- a. Solución de peróxido de hidrógeno (refrigerar 2-8°C, sin exponer a la luz).
Para bacterias anaerobias, la concentración requerida debe ser del 15%; para el resto de bacterias, al 3%.
- b. Asas desechables
- c. Portaobjetos

Procedimiento

1. Se colocó una colonia en un portaobjetos del agar Listeria Cromogénico.
2. Se añadió 1 gota del reactivo.
3. Los resultados fueron interpretados pasados 10-20 segundos. Si había formación de burbujas, el resultado era positivo; si la reacción indicaba ninguna burbuja o una cantidad escasa de burbujas luego de 20 segundos, el resultado fue considerado negativo.

2.5.Variable respuesta

Variables cuantitativas

2.5.1. Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Las placas se contabilizaron con ayuda de un Contador de colonias bacterianas. Si la placa contenía entre 30 y 300 colonias, se consideraba contable; si la placa poseía más de 300 colonias o menos de 30 colonias, el resultado era no contable.

Para el conteo de UFC/g se utilizó la siguiente fórmula:

$$UFC/g = \frac{N^{\circ} \text{ de colonias de la última placa considerada } \times FDD}{\text{Volumen inicial sembrado}}$$

Donde:

FDD= Factor Decimal de Dilución. Al realizar 5 diluciones, el número será 1×10^5

Volumen inicial sembrado= ml sembrados en la placa. En este caso, 1ml.

Variables cualitativas

2.5.2. Tinción Gram

Se utilizó para observar la morfología de las colonias, dando un presunto positivo para *Listeria spp.* cuando se observaron bacilos cortos Gram positivos de color azul-violeta formando parejas o cadenas cortas.

2.5.3. Presencia/ausencia de *Listeria spp.*

Se consideró posibles colonias de *Listeria spp.* aquellas que se tornen de un color azul-verdoso en el Agar *Listeria* Cromogénico.

2.5.4. Hemólisis

A partir de las posibles colonias de *Listeria spp.*, sembradas en el Agar *Listeria* Cromogénico, se sembró estas colonias en Agar Sangre y se observó la hemólisis del agar. La hemólisis del agar arrojó las posibles colonias de *Listeria spp.*

2.5.5. Catalasa

Las posibles colonias de *Listeria spp.* arrojaron un resultado positivo al realizar la prueba de Catalasa.

2.5.6. Oxidasa

Las posibles colonias de *Listeria spp.* arrojaron un resultado negativo al realizar la prueba de Catalasa.

2.5.7. Higiene del local

La higiene del local es primordial para mantener la carne en óptimas condiciones, considerando que la limpieza debe realizarse varias veces en el día. Se tomó en cuenta la siguiente escala de acuerdo a lo observado en cada punto de expendio:

Tabla 6. Parámetros para la evaluación de higiene del punto de venta

0	No cumple ninguna norma de aseo
1	Aseo mínimo, se observaron pisos y mesones sucios, utensilios usados sin lavar. No se observó ningún lavabo ni desagüe.
2	Aseo medio, pisos y mesones sin limpiar en cada venta, utensilios no se lavan. Se observó lavabos y desagües cercanos a la zona de venta de pollo.
3	Aseado, pisos y mesones se limpiaron constantemente, utensilios fueron lavados luego de cada venta. Lavabos y desagües cercanos a la zona de venta de pollo

Fuente: elaboración propia

2.5.8. Conservación de la carne

Se tomó en cuenta la siguiente escala para evaluar las medidas de conservación de la carne en cada punto de expendio:

Tabla 7. Parámetros para la evaluación de la conservación de la carne en el punto de venta

0	No cumplió ninguna norma de conservación de la carne, no se observaron frigoríficos o neveras, los pollos se encontraban a temperatura ambiente sin envolturas
1	Se observaron frigoríficos y neveras; sin embargo, los pollos se encontraban a temperatura ambiente todo el tiempo sin envolturas
2	Se observaron frigoríficos y neveras; sin embargo, los pollos se encontraban a temperatura ambiente todo el tiempo con envolturas plásticas
3	Se observaron refrigeradores y neveras; los pollos se encontraban en un frigorífico para que el cliente pueda observarlo.

Fuente: elaboración propia

2.5.9. Medidas de protección del vendedor

Se tomó en cuenta las siguientes medidas de protección del vendedor:

Tabla 8. Parámetros para la evaluación de las medidas de protección del vendedor

0	Ninguna medida de protección
1	Protección mínima del personal, delantal, sin cofia y sin guantes

2	Protección media del personal, tenían delantal, guantes para manipular las carnes y no tenían cofia
3	Protección aceptable, tenían delantal, guantes para manipular las carnes y cofia

Fuente: elaboración propia

2.6. Análisis estadístico

Se realizó un diseño completamente aleatorizado bajo condiciones estrictas y sin variaciones. Los datos colectados se registraron en una base en Excel. El nivel de significancia fue del 95%.

Se realizó un análisis exploratorio de los datos de cada variable para determinar si tenían distribución normal mediante las pruebas de Kolmogórov-Smirnov. Si tenían homogeneidad de varianza, se realizó prueba de Levene.

Para los datos que cumplan con ambos criterios se utilizó ANOVA de clasificación simple y para la separación de medias se utilizó la prueba de Tuckey.

Para los datos que no cumplían estos criterios se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis complementada con el test de Mann-Whitney.

Se utilizó el estadístico de chi cuadrado, prueba que determina los contrastes de hipótesis y sirve para demostrar afirmaciones en las funciones de una o dos variables, la cual contrasta las frecuencias que se observan y las frecuencias esperadas en dependencia de la hipótesis nula.

Para el cálculo de la muestra se utilizó la siguiente fórmula

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

N = Total de la población

Z α = 1.96 al cuadrado

p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)

q = 1 - p

d = precisión (5%).

Aplicando la fórmula, se obtuvo los siguientes resultados:

$$n = \frac{82 * (1.96)^2 * 0.05 * (1 - 0.05)}{(0.05^2) * (82 - 1) + (1.96)^2 * 0.05 * (1 - 0.05)}$$

$$n = 38.86$$

Se tomaron 15 muestras semanales de los puntos de venta autorizados. Por motivos prácticos, el número de muestras totales a recoger de los puntos de venta autorizados fue de 45. Del mismo modo, las muestras totales recolectadas de los puntos de venta informales fueron de 45. Por ende, el trabajo de campo se distribuyó en 15 muestras semanales, con un total de 6 semanas en campo.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo de campo duró un total de 6 semanas, donde las 3 primeras semanas se obtuvieron muestras de los locales con licencia de funcionamiento y las 3 últimas semanas se tomaron muestras de locales informales.

Determinación del grado de contaminación por mesófilos aerobios de la carne de pollo según el número de UFC

Se determinó el grado de contaminación por mesófilos aerobios en la carne de pollo de los puntos de venta autorizados e informales mediante el conteo de UFC/g (**tabla 9**), siendo una variable cuantitativa. Por otro lado, la calidad microbiológica fue evaluada de acuerdo al número de colonias por placa contaminada (**tabla 10**), como variable cualitativa, la misma que se relaciona con las variables de higiene del local, conservación de la carne de pollo y medidas de protección del vendedor que contribuyen a la contaminación de la carne.

En la **tabla 9** se describe el grado de contaminación por mesófilos aerobios de la carne de pollo en los puntos de venta con licencia de funcionamiento y locales informales. Por un lado, el rango promedio es el resultado de la prueba de Mann-Whitney, la cual compara si hay diferencia entre dos muestras independientes; en este estudio se encontró una diferencia significativa entre los locales autorizados e informales con respecto a esta prueba, determinando que una no depende de la otra. El rango promedio de los locales autorizados fue de 40.09, mientras que los locales informales arrojaron un valor de 50.91, dando como resultado una diferencia significativa de la prueba de Mann-Whitney y determinando que las muestras de los locales autorizados no dependen de los locales informales.

Tabla 9. Contaminación por mesófilos aerobios de la carne de pollo según UFC/g y calidad microbiológica

Variable evaluada	Punto de expendio	Rango promedio	Media
UFC/g	Locales con licencia de funcionamiento	40.09 ^b	6.53 x10 ⁷
	Locales informales	50.91 ^a	8.74 x10 ⁷
Calidad microbiológica	Locales con licencia de funcionamiento	40.34 ^b	
	Locales informales	50.66 ^a	

Fuente: elaboración propia

La media representa el promedio de UFC/g en las muestras de los locales autorizados e informales. En este sentido, se observa que los locales con permiso de funcionamiento obtuvieron una menor contaminación de mesófilos aerobios con 6.53 x10⁷ UFC/g frente a 8.74 x10⁷ UFC/g de los locales informales. La norma NTE INEN 2346 indica que los límites mínimo y máximo de mesófilos aerobios en la carne y menudencias comestibles es de 1 x10⁵ y 1 x10⁷ UFC/g, respectivamente (INEN, 2016). Por ende, a pesar de que los locales con permiso de funcionamiento obtuvieron una menor contaminación de mesófilos aerobios que los locales informales, ambos puntos de expendio no cumplen con los requisitos mínimos para la comercialización de la carne de pollo.

En este sentido, la contaminación de los puntos de expendio puede relacionarse con la cadena de procesamiento y frío, manipulación de los alimentos, la higiene sanitaria e infraestructura en los locales y la aplicación de normas de bioseguridad de los vendedores.

La presencia de microorganismos mesófilos aerobios permite determinar la contaminación en un alimento, pudiendo ser bacterias, levaduras y/o mohos (**Pérez Arnedo, 2015**). La contaminación indicada por mesófilos aerobios puede deberse a diferentes causas como interrupción en la cadena de frío, manipulación inadecuada por parte de los trabajadores o contaminación en el procesamiento de la carne (**Navarro, 2013**). Las prácticas sanitarias ineficientes, así como la falta de conservación de las carnes en refrigeradores incrementan las probabilidades de contaminación microbiana en los locales de expendio. **Benavides Martínez & Salazar Trujillo (2019)** mencionan que la pérdida de temperatura para refrigeración de la carne en las etapas desde el sacrificio hasta su comercialización interfiere con la calidad de los alimentos.

Dentro de la investigación realizada por **Nina (2019)** evaluando la carne de pollo expandida en 75 puestos de venta en un Mercado Mayorista de Perú, encontró que 17.33% de las muestras evaluadas sobrepasaban los límites permitidos por mesófilos aerobios, siendo no aptas para el consumo humano. **Jaja et al. (2018)** analizaron el conteo de mesófilos aerobios en mataderos formales e informales en carne de ganado y oveja, encontrando que ambos exceden los límites permitidos de UFC/g. Estos resultados son contrastados con los obtenidos por **Enver et al. (2021)** quienes encontraron un conteo de mesófilos aerobios de 4.75×10^3 UFC/ml en muestras de hisopos de pierna de pollo de tiendas minoristas; la elevada contaminación de microorganismos se relacionó con la deficiente higiene del personal y de las áreas de venta.

Los locales con licencia de funcionamiento y los locales informales indican una diferencia significativa con respecto a la contaminación por mesófilos aerobios en la carne de pollo que expenden. De los 45 puntos de expendio con licencia de funcionamiento, el 97.78% de locales pertenecen a mercados y plazas de venta de alimentos, mientras que el local restante se encuentra fuera de los límites de mercados y plazas; en contraste, los 45 locales informales son independientes y se encuentran distribuidos por varias zonas de la ciudad.

De esta manera, la calidad microbiológica fue una de las variables importantes a considerar en el estudio, relacionándose directamente con el conteo de mesófilos aerobios. Los locales con licencia de funcionamiento tuvieron un menor conteo de mesófilos aerobios que los locales informales; esto se contrasta con lo obtenido en la calidad microbiológica de cada punto de expendio, teniendo como resultado un deficiente control de los alimentos, ausencia de refrigeradores para mantener una correcta cadena de frío, carente higiene por parte de los vendedores y disminución de las normas de higiene con los alimentos. Debido a que la carne de pollo es un alimento altamente contaminante por ser tan rico para los microorganismos, se necesita de un control riguroso en la cadena de frío que disminuya las posibilidades de crecimiento bacteriano, así como la práctica de medidas de higiene por parte de los trabajadores y vendedores que manipulen carnes frescas destinadas al consumo humano.

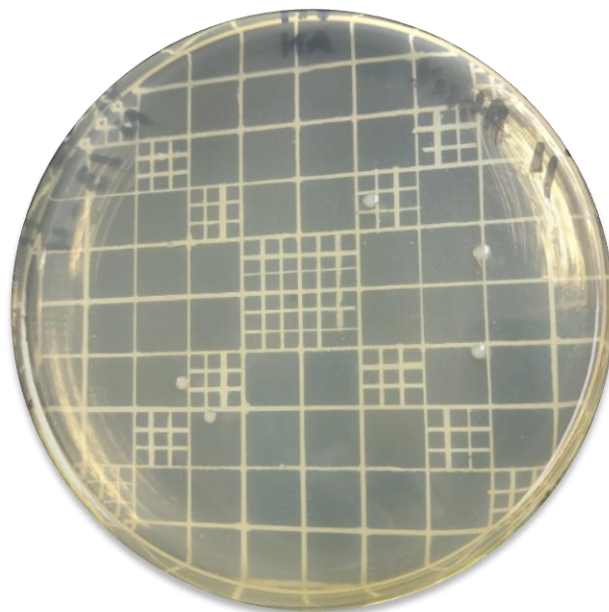


Figura 4. Placa de agar nutritivo con < 30 UFC

Fuente: elaboración propia

En la **tabla 10** se detalla la calidad microbiológica de las muestras obtenidas en los locales con licencia de funcionamiento y locales informales según el número de

colonias por placa. Se obtuvo un 28.9% de placas con colonias < 30 UFC (**figura 4**) en los locales con licencia de funcionamiento, frente al 8.9% en los locales informales. Esto puede relacionarse con las medidas de higiene del local, la conservación de las carnes y las medidas de protección del vendedor. Dentro de una contaminación moderada de colonias entre 31-300 UFC (**figura 5**) se obtuvieron resultados parecidos en los locales con licencia e informales con el 6.7% y 4.4%, respectivamente.

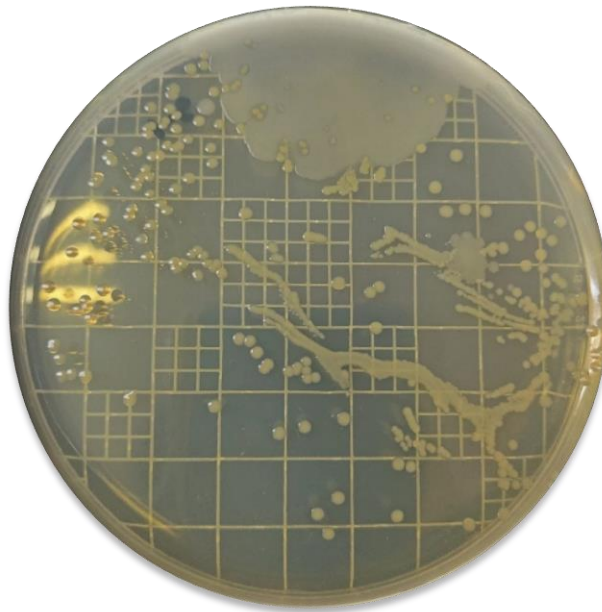


Figura 5. Placa de agar nutritivo con 30-300 UFC

Fuente: elaboración propia

En la misma dirección, se compara las placas obtenidas con colonias >300 UFC (**figura 6**), siendo consideradas como placas no contables. En este caso, los locales con permiso de funcionamiento obtuvieron un mejor resultado del 64.4% en comparación con los locales informales con un 86.7%. Esto se relaciona con la higiene de cada local, donde se observó una menor higiene por parte de los vendedores de los locales informales quienes utilizaron guantes para la manipulación de las carnes y dinero por igual, además de ausencia del lavado de utensilios y refrigeradores para los alimentos, así como una deficiente higiene del

local. A pesar del mejor resultado en los locales con permiso de funcionamiento frente a los locales informales, el porcentaje obtenido en ambos casos es realmente excesivo en comparación con el conteo de placas que tuvieron un conteo bajo de contaminación.

Tabla 10. Calidad microbiológica según el número de colonias por placa contaminada por aerobios mesófilos

Locales	Baja (< 30 col.)	Moderada (31-300 col.)	Alta (> 300 col.)	TOTAL
Con licencia	28.9% (13)	6.7% (3)	64.4% (29)	100% (45)
Informales	8.9% (4)	4.4% (2)	86.7% (39)	100% (45)

Fuente: elaboración propia

En el estudio realizado por Lavado (2017) compararon la contaminación de la carne de pollo de dos mercados de abasto, uno con cadena de frío y uno sin cadena de frío, encontrando que las carnes de pollo con cadena de frío tenían menor contaminación con 0.07×10^7 UFC/g, frente a 1.57×10^7 UFC/g obtenido a partir de la carne de pollo sin un sistema con cadena de frío. Por otro lado, Kunadu et al. (2018) analizaron la carne de pollo distribuida en 3 tipos de mercado (mercado al aire libre, supermercado y frigorífico) encontrando una contaminación por aerobios mesófilos de 6.34 log UFC/g, 5.92 log UFC/g y 5.42 log UFC/g, respectivamente. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Maharjan et al. (2019), quienes encontraron que el recuento de mesófilos aerobios disminuía de acuerdo avanzaba la cadena de procesamiento, dando como resultado un conteo aceptable de mesófilos aerobios de 4.45 log UFC/g en la carne de pollo empaquetada que era destinada para los mercados.

Los resultados contrastados permiten identificar varias problemáticas con respecto a la manipulación de la carne de pollo. Por un lado, la higiene durante el

procesamiento y la cadena de frío se relacionan para obtener un producto final de buena calidad con la presencia mínima de contaminación, por lo que es importante manejar los protocolos de bioseguridad y buen manejo de las carnes por parte de los vendedores. En tanto que la cadena de procesos, envase y envío con cadena de frío de las carnes frescas sean óptimas, la refrigeración y manipulación de las mismas también juegan un punto importante para evitar la propagación y crecimiento microbiano en la carne de pollo. Este alimento es un medio rico para el crecimiento de microorganismos que deterioran su calidad, resaltando la viabilidad de contener patógenos perjudiciales para la salud humana.

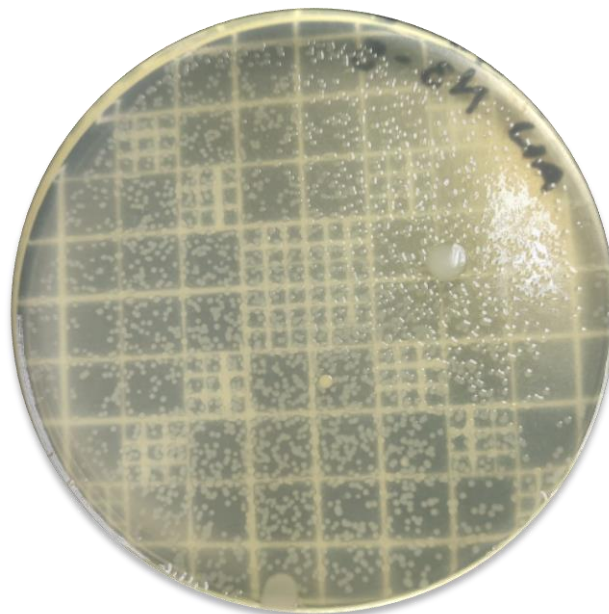


Figura 6. Placa de agar nutritivo con > 300 UFC

Fuente: elaboración propia

Por otra parte, el número de placas obtenidas con más de 300 colonias fueron elevadas. De 90 muestras, el 75.5% (68) tuvo una alta contaminación por aerobios mesófilos. La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5:2006 determina el control microbiológico de los alimentos mediante el conteo de mesófilos aerobios, realizando cálculos de las placas donde existan de 15 a 300 colonias (INEN, 2006). De la misma manera, el Método Horizontal para Recuento de Microorganismos

(Anmat) de Argentina, basada en la norma internacional ISO 4833-2:2013 para determinar el recuento de microorganismos (RENALOA, 2014), detalla la descripción del resultado de UFC cuando las placas tengan más de 300 colonias:

$$\text{UFC} = \frac{> 300 \text{ microorganismos}}{d} \text{ g/ml}$$

d: última dilución escogida

Por tanto, la última dilución fue 10^{-5} y se sembró 1g, el resultado se expresa como $>30\ 000\ 000/\text{g}$, entonces $> 3 \times 10^7 \text{ UFC/g}$.

La norma NTE INEN 2346 menciona que el límite mínimo y límite máximo de aerobios mesófilos en la carne y menudencias comestibles es de 1×10^5 y 1×10^7 UFC/g, respectivamente (INEN, 2016), lo cual coincide con la norma peruana RM N° 615-2003 (MINSa, 2003). De este modo, las muestras de carne de pollo del presente estudio que exceden el límite máximo de aerobios mesófilos se consideran no aceptables para su comercialización. Al tener una gran cantidad de muestras con un elevado conteo de UFC/g, es necesario analizar detalladamente los procesos de manipulación de la carne de pollo y la higiene por parte de los vendedores de los locales de expendio.

Identificación de *Listeria spp.* mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas

Se identificó la presencia de *Listeria spp* mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas como crecimiento en agar selectivo (Agar *Listeria* Cromogénico), tinción gram, prueba de oxidasa y catalasa, crecimiento a 4°C y prueba de hemólisis en agar sangre. Los resultados se dividieron según el lugar donde se obtuvo la muestra, siendo locales autorizados e informales. De la misma manera, se

consideraba un resultado positivo a probable *Listeria spp.* cuando la muestra cumplía los requisitos detallados en la **tabla 11**.

Tabla 11. Parámetros seleccionados para probable resultado positivo a *Listeria spp.*

Crecimiento en Agar Listeria Cromogénico	Tinción Gram/morfología celular	Prueba de Catalasa	Prueba de Oxidasa	Hemolisis en Agar Sangre	Crecimiento a 4°C
Colonias azules, verde-azuladas	Bacilos cortos Gram positivos color azul-violeta formando parejas o cadenas cortas	+	-	+	+
50/90 55.6%	47/90 52.2%	87/90 96.7%	87/90 96.7%	47/90 52.2%	47/90 52.2%

(+), positivo. (-), negativo. Los números indican las muestras totales obtenidas en cada prueba que corroboran un probable resultado para *Listeria spp.*

Fuente: elaboración propia

De las 90 muestras obtenidas de los locales autorizados e informales que expenden carne de pollo en la ciudad de Ambato, el 55.6% (50/90) tuvo un crecimiento en Agar Listeria Cromogénico (**figura 7**), el 52.2% (47/90) coincidió con la morfología típica de *Listeria spp.* observando bacilos cortos gram positivos de color azul-violeta (**figura 8**), mientras que las pruebas de catalasa y oxidasa tuvieron un resultado del 96.7% (87/90) de las muestras totales. Finalmente, el crecimiento a 4°C y la hemólisis en agar sangre (**figura 9**) fue del 52.2% (47/90) en ambos casos.

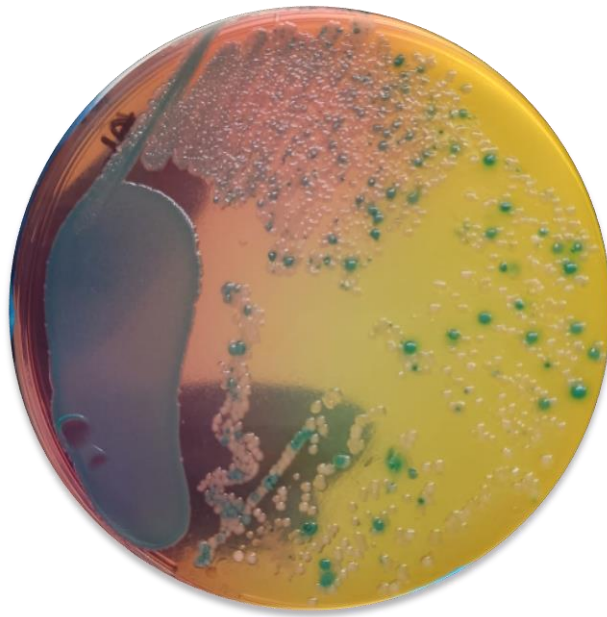


Figura 7. Agar Listeria Cromogénico con colonias verde-azuladas presuntamente de *Listeria spp.*

Fuente: elaboración propia

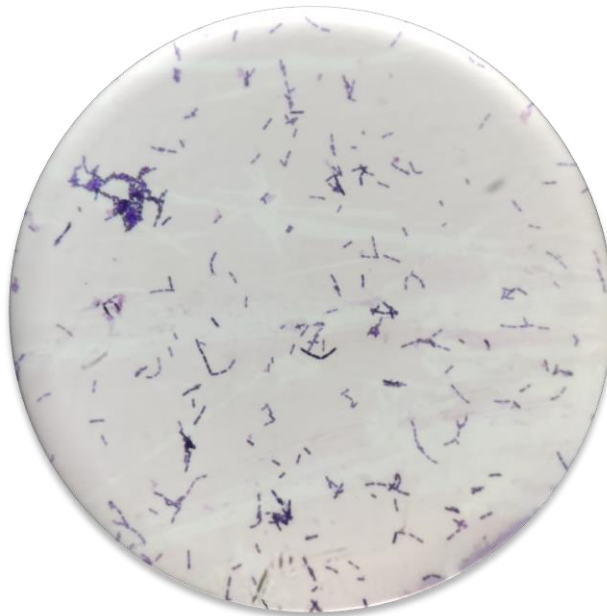


Figura 8. Tinción gram. Bacilos cortos azul-violeta

Fuente: elaboración propia

En la **figura 8** se identifican colonias bacterianas con forma de bacilos cortos color azul-violeta formando cadenas cortas o parejas, siendo uno de los criterios a considerar para la determinación de placas con probable presencia de *Listeria spp.* Al identificar las bacterias en la tinción Gram se evidenció la presencia de cocos en las placas sembradas, el fabricante menciona que puede haber crecimiento de cocos por la detección del sustrato β -glucosidasa, siendo una muestra incompatible con *Listeria spp.* y requiriendo la aplicación de técnicas de identificación molecular para determinar su género y especie.

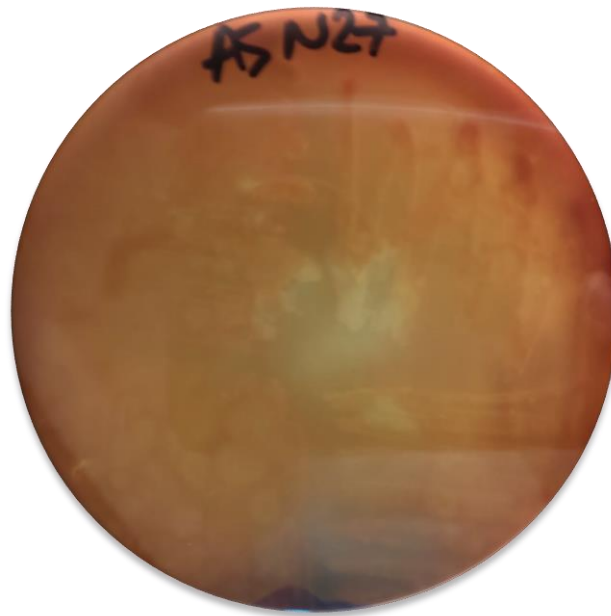


Figura 9. Agar sangre con presencia de hemólisis

Fuente: elaboración propia

De este modo, se describen los resultados obtenidos de las muestras obtenidas de los locales con permiso de funcionamiento y locales informales con las pruebas correspondientes para determinar *Listeria spp.*

Locales con permiso de funcionamiento

Las muestras obtenidas de los locales con permiso de funcionamiento fueron 45, detallando los resultados en la **tabla 12**. El 68.9% (31) de las muestras tuvieron un crecimiento en Agar Listeria Cromogénico con colonias azules y verde-azuladas. Al realizar la tinción Gram de las muestras sembradas en Agar Listeria Cromogénico, el 62.2 % (28) fueron positivas a bacilos cortos gram positivos de color azul-violeta. Las pruebas bioquímicas se realizaron en todas las placas, determinando resultados de catalasa positiva en 97.8 % (44) de las muestras y para la prueba de Oxidasa negativa fue del 93.3 % (42). La hemólisis en agar sangre y el crecimiento bacteriano a 4°C fueron positivos en 62.2 % (28) de las muestras en ambos casos. Finalmente, la prevalencia probable de *Listeria spp.* en carne de pollo expendida en los locales autorizados fue del 62.2% (28).

Tabla 12. Muestras positivas de acuerdo a los parámetros seleccionados para probable resultado positivo a *Listeria spp.*

Locales con permiso de funcionamiento	N= 45	
	n	%
Crecimiento en Agar Listeria Cromogénico	31	68.8
Gram positiva	28	62.2
Prueba de Catalasa positiva	44	97.8
Prueba de Oxidasa negativa	42	93.3
Hemólisis en Agar Sangre	28	62.2
Crecimiento a 4°C	28	62.2

Fuente: elaboración propia

La presencia de *Listeria spp.* es una alarma para la salud pública al ser una ETA. **Chin et al. (2018)** reportó un porcentaje más bajo de *Listeria spp.* comparados con

el presente estudio con 41.5% (44/106) de muestras de carne de pollo cruda de supermercados y mercados mojados, resultados similares encontrados por **Alsheikh et al. (2014)** con un 39% de *Listeria spp.* en carne de pollo congelada en Sudan. En contraste, **Arslan & Baytur (2018)** hallaron una prevalencia mayor de *Listeria spp.* con un 77.41 % (48/62) de muestras de carne de pollo obtenidas de supermercados y carnicerías en Tolu, Turkía; en el mismo estudio, se reportó un 11.3% (7) de muestras positivas para *L. monocytogenes*, resultados similares a los encontrados por **Soares et al. (2021)** con un 9.83% (6) de 61 muestras en Brasil, así como Islam et al. (2016) con prevalencia del 8.33%. Estos resultados difieren de los encontrados por **Ishola et al. (2016)** quienes encontraron una prevalencia de *L. monocytogenes* del 95.8% en carne de pollo proveniente de varias granjas en Nigeria.

Dentro de los locales autorizados para el expendio de la carne de pollo, se encontró una prevalencia de *Listeria spp.* del 62.2% con respecto a las pruebas microbiológicas y bioquímicas aplicadas. La prevalencia de *Listeria spp.* se encuentra determinada por los estudios realizados en cada zona. Los locales autorizados cuentan con mayores cuidados en cuanto a la higiene y cuidado en la manipulación de las carnes comparados a los locales informales; sin embargo, se observa una contaminación elevada de *Listeria spp.* Esto puede relacionarse con el manejo de la carne de pollo por parte del personal que trabaja en la cadena de producción, así como la interrupción de una adecuada cadena de frío.

Por otro lado, *Listeria spp.*, es un microorganismo que se encuentra en varios hábitats pudiendo sobrevivir en un amplio rango de temperaturas, lo que favorece su presencia en ambientes poco viables. La manipulación apropiada dentro de la cadena de producción, así como la aplicación de técnicas efectivas para su eliminación, hacen que la prevalencia de esta bacteria pueda disminuir considerablemente en los locales de expendio.

Los estudios realizados para determinar *Listeria spp.* en la carne de pollo que se expende en Ecuador son casi nulos, por lo que la presencia de esta bacteria podría ser mucho mayor a la reportada a nivel nacional. Al ser una bacteria relacionada con las ETA, se destaca la importancia de realizar más estudios que detallen su prevalencia en los alimentos como la carne de pollo.

Locales informales

Los resultados de las pruebas microbiológicas y bioquímicas de los locales informales se detallan en la **tabla 13**. Dentro de las muestras obtenidas de locales informales se obtuvo un 42.2% (19) de crecimiento en Agar Listeria Cromogénico presentando colonias azules y verde-azuladas. La tinción Gram realizada a partir del Agar Listeria Cromogénico fue positivo para el 42.2% (19) de las muestras con bacilos cortos de color azul-violeta, al igual que el crecimiento a 4°C y la prueba de hemólisis en Agar Sangre. Por otro lado, las pruebas de catalasa positiva y oxidasa negativa realizadas en todas las placas tuvieron resultados del 95.6% (43) y 100% (45), respectivamente. Por último, los locales informales tuvieron una presencia probable de *Listeria spp.* del 42.2% (19).

Tabla 13. Muestras positivas de acuerdo a los parámetros seleccionados para probable resultado positivo a *Listeria spp.*

Locales informales	N= 45	
	n	%
Crecimiento en Agar Listeria Cromogénico	19	42.2
Gram positiva	19	42.2
Prueba de Catalasa positiva	43	95.6
Prueba de Oxidasa negativa	45	100.0

Hemólisis en Agar Sangre	19	42.2
Crecimiento a 4°C	19	42.2

Fuente: elaboración propia

La contaminación por *Listeria spp.* en los alimentos se relaciona directamente con la calidad higiénica y manipulación de las carnes, además del cumplimiento con las normas de bioseguridad básica de la cadena de producción. **Adesokan et al. (2021)** realizaron un estudio analizando la prevalencia de *L. monocytogenes* de 224 muestras de mercados formales (112) e informales (112) de Nigeria, hallando muestras positivas en un 42.9% y 87.5%, respectivamente. Estos resultados difieren con los obtenidos en este estudio, donde los locales informales obtuvieron menor contaminación de *Listeria spp.* (42.2%) que los locales autorizados (62.2%). Esto puede estar relacionado con la manipulación de los alimentos por parte de los vendedores, la ausencia de buenas prácticas de manejo de alimentos y la falta de higiene en los puntos de expendio.

Los estudios para determinar la calidad microbiológica de la carne de pollo en puntos de expendio informales son escasos, incluidos las investigaciones realizadas a nivel mundial. **Mendonça et al. (2021)** mencionan que la procedencia de los productos cárnicos influye significativamente en los resultados obtenidos dentro del análisis microbiológico. Además, se destaca su capacidad para sobrevivir a temperaturas bajas como las cámaras frigoríficas, favoreciendo su permanencia en el medio.

En la **figura 10** se comparan los resultados obtenidos de las pruebas realizadas a partir de las muestras tomadas de locales autorizados e informales. Los locales autorizados obtuvieron mayores pruebas positivas para probable *Listeria spp.* que los locales informales. Esto se relacionaría con las medidas de higiene y la sanitización de los puntos de expendio, además de la manipulación de alimentos y dinero en el momento de la venta.

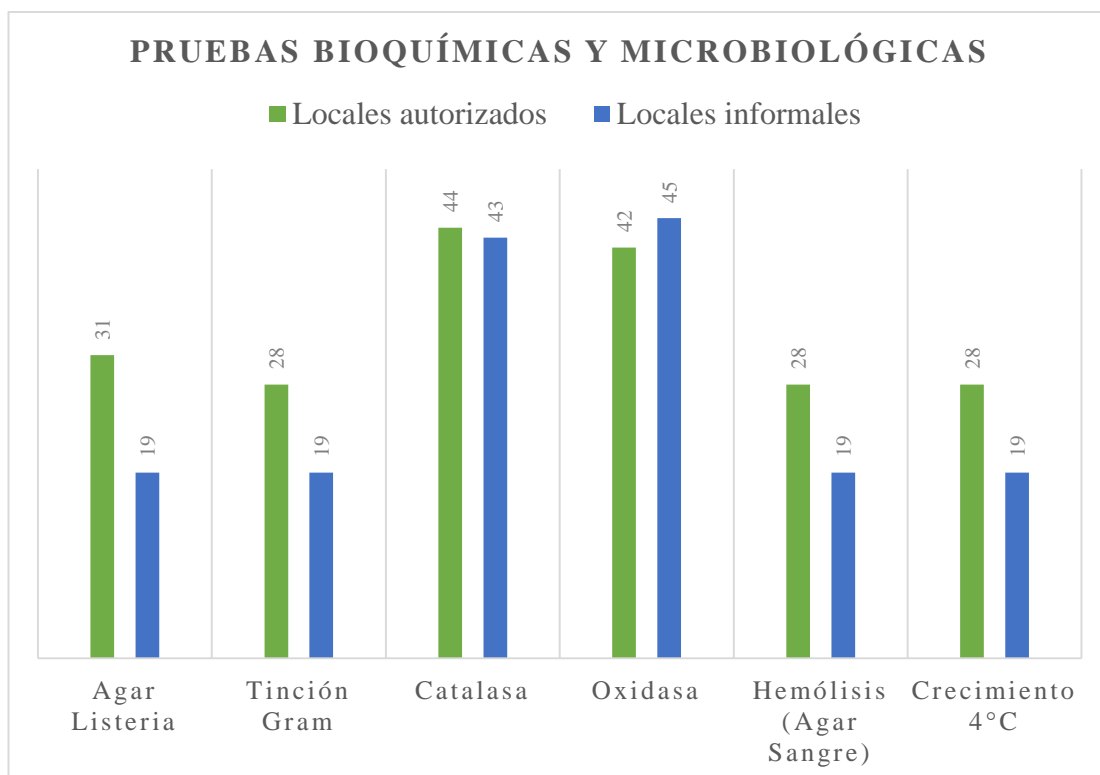


Figura 10. Comparación de los resultados de las pruebas bioquímicas y microbiológicas realizadas en los puntos de venta autorizados e informales

Fuente: elaboración propia

Factores de riesgo asociados a la contaminación de la carne de pollo

En la **tabla 14** se detallan los resultados obtenidos de la higiene del local con relación a la calidad microbiológica determinadas según el grado de aseo que obtuvieron. No hubo resultados en el grado 0 para ambos locales, el grado 1 aseo mínimo contó con el 55.6% (25) de locales autorizados y 77.8% (35) de locales informales, el grado 2 aseo medio tuvo un total de 37.8% (17) locales autorizados y 20% (9) locales informales, y el grado 3 con un aceptable aseo se determinó en 6.7% (3) de locales autorizados y 2.2% (1) de locales informales.

La higiene del local permitió identificar la calidad de aseo en cada uno de ellos. Los locales autorizados obtuvieron mejores resultados en cuanto a la calidad de su

higiene, pero sin una diferencia estadísticamente significativa, mientras que la mayoría de los locales informales tuvieron un grado 1 en la calidad de la higiene, siendo un resultado estadísticamente significativo. Esto se relacionaría con lo obtenido en la calidad microbiológica determinada por las UFC donde un 86.7% (39) de los locales informales tenían una alta contaminación por mesófilos aerobios.

Tabla 14. Relación entre calidad microbiológica de carne de pollo e higiene del local para puntos de expendios con licencia e informales del cantón Ambato en la provincia Tungurahua

Variable	Higiene del local				p
	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	
	No cumple normas	Aseo mínimo	Aseo medio	Aseo aceptable	
Calidad microbiológica	<i>Con licencia (n=45)</i>				
	0%	25 55.6%	17 37.8%	3 6.7%	0.330
	<i>Informales (n=45)</i>				
	0%	35 77.8%	9 20.0%	1 2.2%	0.0001

Diferencia estadísticamente significativa: $p < 0.05$. (Chi-cuadrado)

Fuente: elaboración propia

En la **tabla 15** se detalla la relación entre la conservación de la carne de pollo en los puntos de expendio y la calidad microbiológica. En el grado 0 sin conservación de la carne de pollo no hubo locales con licencia, mientras que 4.4% (2) de los locales informales contaron con este puntaje, en el grado 1 con ausencia de envolturas y refrigeración hubo un total de 31.1% (14) de locales autorizados y 86.7% (39) de locales informales, el grado 2 con envolturas y sin refrigeración obtuvo un total de 55.6% (25) de locales autorizados y 6.7% (3) de locales

informales, en tanto que el grado 3 con envolturas y refrigeración se determinó en 13.3% (6) de locales autorizados y 2.2% (1) de locales informales.

Tabla 15. Relación entre calidad microbiológica y la conservación de carne de pollo en puntos de expendios con licencia e informales del cantón Ambato en la provincia Tungurahua

Variable	Conservación de carne de pollo				p
	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	
Calidad microbiológica	Sin conservación	Ausencia envolturas y refrigeración	Envolturas, sin refrigeración	Envolturas y refrigeración	
	<i>Con licencia (n=45)</i>				
	0%	14 31.1%	25 55.6%	6 13.3%	1.000
	<i>Informales (n=45)</i>				
	2 4.4%	39 86.7%	3 6.7%	1 2.2%	0.001

Diferencia estadísticamente significativa: $p < 0.05$. (Chi-cuadrado)

Fuente: elaboración propia

La conservación de los alimentos es fundamental para evitar la contaminación con microorganismos que se encuentren en el medio, así como el crecimiento de bacterias que habitan en el organismo. De esta manera, los locales con licencia de funcionamiento no arrojaron una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la conservación de la carne de pollo y la calidad microbiológica, mientras que en los locales informales sí hubo una diferencia estadísticamente significativa. Esto relacionaría que la conservación de la carne en los locales informales y la calidad microbiológica estarían estrechamente ligados, obteniendo una alta contaminación en los productos que expendían. Es importante considerar que los

alimentos cárnicos deben encontrarse bajo refrigeración y ser manipulados con guantes, así como con envolturas plásticas para evitar tener un contacto directo con el producto destinado a consumo humano.

En la **tabla 16** se detallan las medidas de protección del vendedor con relación a la calidad microbiológica. El grado 0 determinó ninguna protección con un total de 20% (9) locales autorizados y 28.9% (13) de locales informales, el grado 1 con protecciones mínimas se determinó en 68.9% (31) locales con licencia y 64.4% (29) locales informales, mientras que el grado 2 con protección media se obtuvo en un 4.4% (2) de ambos locales, y el grado 3 con una protección aceptable en el 6.7% (3) de locales autorizados y 2.2% (1) de locales informales.

Tabla 16. Relación entre calidad microbiológica y Medidas de protección del vendedor en los puntos de expendios con y sin licencia del cantón Ambato en la provincia Tungurahua.

Variable	Medidas de protección del vendedor				p
	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	
	Ninguna protección	Protección mínima	Protección media	Protección aceptable	
Calidad microbiológica	<i>Con licencia (n=45)</i>				
	9 20.0%	31 68.9%	2 4.4%	3 6.7%	0.233
	<i>Informales (n=45)</i>				
	13 28.9%	29 64.4%	2 4.4%	1 2.2%	0.001

Diferencia estadísticamente significativa: $p < 0.05$. (Chi-cuadrado)

Fuente: elaboración propia

Las medidas de protección del vendedor permiten evitar la propagación de bacterias y disminuir considerablemente la contaminación en la carne de pollo. Los locales informales obtuvieron una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a las medidas de protección del vendedor y la calidad microbiológica, determinando que la calidad de la carne de pollo se vea afectada; los locales autorizados no obtuvieron una diferencia estadística significativa. Los grados de protección del vendedor determinadas indican que los locales informales tienden a poseer menos equipamiento para la manipulación de las carnes, aumentando las probabilidades de contaminación de la carne de pollo y potenciando la presencia de bacterias que pongan en riesgo la calidad microbiológica del producto.

Por su parte, **Pérez Arnedo (2015)** realizó un estudio evaluando la calidad y seguridad microbiológica de la carne de pollo con referencia a *L. monocytogenes*, encontrando que la contaminación en canales de pollo por esta bacteria aumentaba de acuerdo al avance de la cadena de procesamiento de alimentos; además, halló que la planta de procesado influye de manera importante en la prevalencia de *L. monocytogenes* en carne de pollo. La carne de pollo tiene una vida limitada, por lo que prolongar ese tiempo mediante una adecuada cadena de frío es primordial para que llegue al consumidor con buena calidad.

Enver et al. (2021) analizó la contaminación bacteriana en los vendedores y su relación con la calidad microbiológica de la carne, encontrando una variada contaminación destacando las manos de los vendedores que fueron las más contaminadas; en contraste, el material de embalaje de los productos se encontró con un mínimo de UFC/ml. Las medidas de higiénico-sanitarias de los vendedores influye de manera directa en la calidad microbiológica de la carne, por lo que se deben aplicar parámetros y normas de aseo que sean cumplidas en su totalidad por el personal que manipula la carne de pollo.

Por otro lado, **Vásquez-Ampuero & Tasayco-Alcántara (2020)** realizó un estudio determinando las condiciones higiénico-sanitarias de 50 centros de expendio de carne de pollo en Huánuco-Perú, encontrando condiciones generales de higiene y mantenimiento de infraestructura regulares, así como el 90% de ausencia de guantes en el personal, un 58% contaba con uñas largas, 78% utilizaba mandil y únicamente el 4% utilizaba gorro; además, el 30% y 40% de locales encuestados utilizaban pozas de mayólica y bandejas de plástico para mantener la carne de pollo, mientras que solo el 2% de los establecimientos tenían frigorífico y el 4% contaba con congeladores. Las condiciones de higiene del personal son realmente importantes para otorgar un producto de calidad en el que no haya presencia de microorganismo, así como su vestimenta. Las protecciones, como el gorro, guantes, mascarilla y mandil, proveen una barrera que disminuye considerablemente la contaminación cruzada por parte del vendedor a la carne de pollo.

La carne de pollo es propensa a contener microorganismos que alteran su calidad y pueden provocar enfermedades en el ser humano. Por una parte, *Listeria spp.* es una bacteria con amplia distribución que permite la formación de biopelículas, otorgando la capacidad de permanecer en el ambiente sin descartar su presencia en la cadena de producción o el comercio; por lo que su presencia puede maximizarse en situaciones donde la sanidad e higiene sean deficientes. Por otro lado, las condiciones sanitarias e higiénicas que deben poseer el personal que manipula la carne de pollo son determinantes para evitar la propagación de microorganismos, así como una correcta cadena de procesamiento de la misma.

Las cadenas de procesamiento deben llevar controles rigurosos para llevar un producto de calidad y ausentes de microorganismos a los locales de expendio, siendo un punto clave para determinar si la contaminación viene desde el matadero o se produce en el punto de expendio. Por su parte, los locales de expendio deben contar con una infraestructura y equipos óptimos para el almacenamiento y manipulación de la carne de pollo. A esto, se suma la higiene de cada vendedor, así como sus implementos para vender el producto al consumidor final.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Se determinó el grado de contaminación por mesófilos aerobios en la carne de pollo según el conteo de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) en locales autorizados e informales del cantón Ambato con 6.53×10^7 y 8.74×10^7 UFC/g respectivamente. Ambos valores exceden los límites mínimos establecidos por la NTE INEN 2346 con un límite mínimo y máximo de 1×10^5 y 1×10^7 UFC/g, respectivamente.
- Se identificó presuntas colonias de *Listeria spp.* mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas en las muestras de carne de pollo con una prevalencia del 62.2% (28/45) en locales autorizados y 42.2% (19/45) en puntos de venta informales.
- Se establecieron los factores de riesgo asociados a la contaminación de la carne de pollo como la higiene del local, la conservación de la carne de pollo y las medidas de protección del vendedor, hallando que en los locales informales la calidad microbiológica se encontraba perjudicada en cada uno de las variables, a comparación de los locales autorizados donde no había una diferencia estadísticamente significativa.

Recomendaciones

- Realizar un estudio analizando mesófilos aerobios en toda la cadena de producción de la carne de pollo, iniciando en los camales, el transporte y los locales de expendio para verificar el lugar específico donde el producto es contaminado y cómo afecta su calidad final.

- Llevar a cabo más estudios enfocados en la presencia de *Listeria spp.* en carne de pollo en Ecuador.
- Ofrecer capacitaciones continuas para los vendedores de la carne de pollo referente a la bioseguridad y las medidas de precaución en cuanto a higiene sanitaria para reducir la contaminación de los alimentos.
- Ejecutar controles periódicos de la calidad microbiológica en la carne de pollo de locales autorizados e informales para garantizar un producto de calidad otorgado al consumidor.
- Realizar análisis moleculares para la verificación de la especie y género de las bacterias encontradas en la carne de pollo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adesokan, H. K., Obimdike, O. C., & Adetunji, V. O. (2021). Informal and formal meat marketing in Ibadan, Nigeria: public health implications from microbial assessment. *PAMJ One Health*, 5(15), 1–13. <https://doi.org/10.11604/PAMJ-OH.2021.5.15.28743>
- Alsheikh, A., Mohammed, G., Abdalla, M., & Bakhiet, A. (2014). First Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* Isolated from Frozen and Shock Frozen Dressed Broiler Chicken in Sudan. *Research Article British Microbiology Research Journal*, 4(1), 28–38. https://zu.edu.jo/MainFile/Profile_Dr_UploadFile/Researcher/Files/ActivityFile_3818_54_13.pdf
- Alvarado, E., Luyando, J., & Téllez, R. (2012). Caracterización del consumidor de la carne de pollo en el área metropolitana de Monterrey. *Región y Sociedad*, 24(54), 175–199.
- ANMAT. (2019). Capítulo VI: alimentos cárneos y afines. In *Código Alimentario Argentino* (1st ed., Vol. 1, pp. 1–80). ANMAT. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_vi_carneosactualiz_2019-09.pdf
- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2010). Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología. *Academia*, 1(1), 2–15. https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf
- Arslan, S., & Baytur, S. (2018). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species and subtyping and virulence factors of *Listeria monocytogenes* from retail meat. *Journal of Food Safety*, 39(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfs.12578>
- Attia, Y., Al-Harhi, M., Korish, M., & Shiboob, M. (2016). Evaluación de la calidad de la carne de pollo en el mercado minorista: efectos del tipo y origen de las canales. *Rev Mex Cienc Pecu*, 7(3), 321–339. <https://www.redalyc.org/pdf/2656/265646504005.pdf>
- Benavides Martínez, J. C., & Salazar Trujillo, M. A. (2019). *Análisis del almacenaje en la comercialización del pollo en canal, manteniendo los*

estándares de la cadena de frío [Universidad Piloto de Colombia].
<https://todocarne.es/wp-content/uploads/ANA%CC%81LISIS-DEL-ALMACENAJE-EN-LA-COMERCIALIZACION-DEL-POLLO-EN-CANAL-MANTENIENDO-LOS-ESTANDARES-DE-LA-CADENA-DE-FRIO-RE.pdf>

Bianchi, M., Petracci, M., Sirri, F., Folegatti, E., Franchini, A., & Meluzzi, A. (2007). The Influence of the Season and Market Class of Broiler Chickens on Breast Meat Quality Traits. *Poultry Science*, 86(5), 959–963. <https://doi.org/10.1093/PS/86.5.959>

Britania, S. (2006). *Agua Peptonada Bufferada*. Britanialab. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60705cfda7b5e.pdf

Britania, S. (2008). *Nutritivo Agar*. Britanialab. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707641dee11.pdf

CABI. (2019, November 20). *Listeria monocytogenes*. Invasive Species Compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/76444>

Canada. (2012, April 30). *Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – Listeria monocytogenes*. Government of Canada. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/listeria-monocytogenes.html#fn11>

Centurión, M., & Takajara, M. (2004). Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana. In 2004. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Chin, P. S., Ang, G. Y., Yu, C. Y., Tan, E. L., Tee, K. K., Yin, W. F., Chan, K. G., & Annie Tan, G. Y. (2018). Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Genetic Diversity of *Listeria* spp. Isolated from Raw Chicken Meat and Chicken-Related Products in Malaysia. *Journal of Food Protection*, 81(2), 284–289. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-186>

Cuéllar, J. (2022, May 13). *Dinámica y tendencias actuales del mercado avícola mundial*. Veterinaria Digital.

- <https://www.veterinariadigital.com/articulos/dinamica-y-tendencias-actuales-del-mercado-avicola-mundial/>
- de la Rosa Zariñana, A. E. (2017). *Estandarización y validación de la técnica de PCR para la determinación de Listeria monocytogenes en carne de pollo, res y cerdo*. Colegio de Postgraduados.
- Doyle, M., & Buchanan, R. (2012). *Food microbiology: Fundamentals and Frontiers* (4a ed.). ASM Press.
- el Universo, S. (2022, July 6). *Julio es el mes del pollo, cuyo consumo creció el 155 % en la región y en Ecuador, donde se prefiere frito y la ingesta per cápita llega a 27 kg* / *Economía*. El Universo. <https://www.eluniverso.com/noticias/economia/julio-es-el-mes-del-pollo-cuyo-consumo-crecio-el-155-en-la-region-y-en-ecuador-donde-se-prefiere-frito-y-la-ingesta-per-capita-llega-a-27-kg-nota/>
- Elika. (2018). *Listeria*. ELIKA Seguridad Alimentaria. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/listeria/>
- Enver, K., Senita, I., Sabina, O., Saud, H., Almir, T., Nermina, D., & Samir, M. (2021). Microbiological Contamination of Fresh Chicken Meat in the Retail Stores. *Food and Nutrition Sciences*, 12(01), 64–72. <https://doi.org/10.4236/FNS.2021.121006>
- Espinosa, A. (2018). *Detection of Listeria monocytogenes in artisanal soft cheeses from different street markets of Ecuador* [Universidad San Francisco de Quito]. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/8432/1/141564.pdf>
- FAO. (2005). Código de Prácticas de Higiene para la carne. In *Codex Alimentarius* (Vol. 1, pp. 1–54). FAO/OMS. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf
- FAO, S. (2004). *Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo* (1st ed., Vol. 1). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <https://www.fao.org/3/y5393s/Y5393S.pdf>

- Farber, J., Ross, W., & Harwing, J. (1996). Evaluación de riesgos para la salud de *Listeria monocytogenes* en Canadá. *Revista Internacional de Microbiología Alimentaria*, 30(1–2), 145–156.
- Fernández, A., García, C., Saéz, J. A., & Valdezate, S. (2010). *Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología* (Primera edición). EIMC.
- Fernández, M., & Marsó, M. (2003). *Estudio de la carne de pollo en tres dimensiones: valor nutricional, representación social y formas de preparación* [Trabajo de investigación final, Instituto Universitario de Ciencias de la Salud Fundación H. A. Barceló]. www.nutrinfo.com.ar
- FIRA. (2019). *Panorama Agroalimentario*.
- Flores, T., & Herrera, R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública de México*, 47(5), 388–390. <https://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v47n5/28385.pdf>
- Genigeorgis, C., Dutulescu, D., & Garayzabal, F. (1989). Prevalence of *Listeria* spp. in Poultry Meat at the Supermarket and Slaughterhouse Level. *Journal of Food Protection*, 52(9), 618–624.
- Gomez-Portilla, M., Gomez, N., & Martínez-Benavides, J. (2016). Evaluación de las características organolépticas, físicas y químicas de pechuga de pollo, en San Juan de Pasto (Nariño). *Revista Veterinaria y Zootecnia*, 10(2), 62–71. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2016.10.2.6>
- INAMHI. (2017). *Querochaca (UTA)*. INAMHI. https://www.inamhi.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/Am_2013.pdf
- INCAP. (2007). *Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica* (M. Menchú & H. Méndez, Eds.; Segunda Edición, Vol. 1). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). <http://www.incap.int/mesocaribefoods/dmdocuments/TablaCAAlimentos.pdf>
- INEN. (2006). *NTE INEN 1 529-5* (1a edición). INEN. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-5.pdf>
- INEN. (2009). *Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de Listeria monocytogenes en los alimentos (CAC/GL 61-2007, IDT)* (Vol. 1). INEN.

- https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/cpe_inen_codex_cac_gl_6_1.pdf
- INEN. (2016). *Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos* (Vol. 1). https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2346-2.pdf
- INEN. (2018). *Microbiología de la cadena alimentaria - método horizontal para la detección y recuento de Listeria monocytogenes y de Listeria spp. - Parte 1: método de detección (ISO 11290-1:2017, IDT)* (INEN-ISO, Ed.; 1st ed., Vol. 1). INEN. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_11290-1.pdf
- INEN, Sn. (1987). *Código de Práctica para Manipulación de alimentos* (1st ed., Vol. 1). Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/CPE-1.pdf>
- Ishola, O., Mosugu, J., & Adesokan, H. (2016). Prevalence and antibiotic susceptibility profiles of *Listeria monocytogenes* contamination of chicken flocks and meat in Oyo State, south-western Nigeria: Public health implications. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 57(3), 157–163. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5139611/>
- Islam, M., Husna, A., Islam, M., & Khatun, M. (2016). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Beef, Chevon and Chicken in Bangladesh. *American Journal of Food Science and Health*, 2(4), 39–44. <http://www.aiscience.org/journal/ajfshhttp://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
- Jaja, I., Green, E., & Muchenje, V. (2018). Aerobic Mesophilic, Coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* Counts of Raw Meat from the Formal and Informal Meat Sectors in South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(4), 819. <https://doi.org/10.3390/IJERPH15040819>
- Janakiraman, V. (2008). Listeriosis in Pregnancy: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, 1(4), 185. </pmc/articles/PMC2621056/>
- Javanmard, M., Rokni, N., Bokaie, S., & Shahhosseini, G. (2006). Effects of gamma irradiation and frozen storage on microbial, chemical and sensory

- quality of chicken meat in Iran. *Food Control*, 17(6), 469–473.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2005.02.008>
- Kunadu, A. P.-H., Amoako, D., & Tano-Debrah, K. (2018). The microbiological quality of imported frozen chicken drumsticks from retail meat shops in Accra, Ghana. *Science and Development*, 2(1), 12–18.
https://ugspace.ug.edu.gh/bitstream/handle/123456789/28977/The%20microbiological%20quality%20of%20imported%20frozen%20chicken%20drumsticks%20from%20retail%20meat%20shops%20in%20Accra_Ghana%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Lavado, D. (2017). *Estudio comparativo de la carga bacteriana en carcasas de pollo provenientes de diferentes sistemas de beneficio y comercialización en el Distrito de Trujillo* [Universidad Privada Antenor Orrego].
http://200.62.226.186/bitstream/20.500.12759/2927/1/REP_MED.VETE_DIEGO.LAVADO_ESTUDIO.COMPARATIVO.CARGA.BACTERIANA.CARCASAS.POLLO.PROVENIENTES.DIFERENTES.SISTEMAS.BENEFICIO.COMERCIALIZACIÓN.DISTRITO.TRUJILLO.pdf
- León, M., Orduz, A., & Velandia, M. (2017). Composición fisicoquímica de la carne de ovejo, pollo, res y cerdo. *Limentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 15(2), 62–75.
https://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/ALIMEN/articloe/view/2969
- López, L., & Torres, C. (2006). *Estudio cuantitativo de bacterias*.
<http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp5.pdf>
- Low, J. C., & Donachie, W. (1997). A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *The Veterinary Journal*, 153(1), 9–29.
[https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(97\)80005-6](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(97)80005-6)
- Maharjan, S., Rayamajhee, B., Chhetri, V. S., Sherchan, S. P., Panta, O. P., & Karki, T. B. (2019). Microbial quality of poultry meat in an ISO 22000:2005 certified poultry processing plant of Kathmandu valley. *International Journal of Food Contamination*, 6(8), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S40550-019-0078-5/TABLES/7>

- Martínez, T., & Mora, D. (2010). Conocimientos y opiniones sobre la carne de pollo de dos comunidades ruralurbana de Costa Rica. *Rev Costarr Salud Pública*, 19(1), 3–11. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v19n1/a02v19n1.pdf>
- Mendonça, V., da Cruz, A., Rodrigues, E., Ereno, L., & Gonçalves, J. (2021). Presence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in lamb meat commercialized in Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, 43(1), e114420. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.BJVM114420>
- Mercado, M., Ávila, J., Rey, M., Montoya, M., Gamboa, A., Carrascal, A. K., & Correa, D. X. (2012). Brotes por *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. *Biomedica*, 32(3), 355–364. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.697>
- MINSA. (2003). *RM N° 615-2003: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. Ministerio de Salud del Perú. http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf
- Molero, G. (2012). *Análisis microbiológico de canales de pollo en los mataderos del estado Zulia, Venezuela* [Universidad de Córdoba]. <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/8380/2012000000663.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Moreno, C. (2012). *Estudio del efecto combinado de nisina y ácido láctico en la vida útil de carne de pollo* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/5420>
- Moreno, R. (2005). Calidad de la carne de pollo. *Food Research Centre*, 47(6), 347–355. https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/01_02_47_calidad.pdf
- Navarro, H. (2013). Logística en la cadena de frío. *Zona Logística*, 1(1), 1–36. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/60423615/conferencia_logistica_en_la_cadena_de_frio_proexport_201320190828-3041-npxzml-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1661887592&Signature=Qjl2-ccWcJNOQgYaYTH3sT1335YYMpEHqc37KQDD~6YMT9WYWiOen1c~uxGLRtjqXLv9zE19MuZQP0HETr7GxAd~JE2E66sCxldhhfTrrrkeIETzbfCpbONZGI2R19FbkcfKbSY61CBoo3DmlMA-jt4d5tnAtAYjgghS84crn2JKsbdLYpN~UbuTtTs10jZSYchSxOPFmmg-

L0v6wRckQP0IKutrLGnBZd-5dQRU~Z4PtHg85Aty0OyCQiWi-
w15L~EGWNhCU1NT50tH7OmR7iO1HYJ7tfQTLehj3LQqtr12FO59FYZw
01P3-TFiWI5Xit

- Nina, M. (2019). *Calidad microbiológica de la carne de pollo expandida en el Mercado Mayorista Miguel Grau del distrito de Tacna* [Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. http://tesis.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3872/1734_2019_nina_inc_huna_ms_faci_biologia_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Olea, A., Díaz, J., Fuentes, R., Vaquero, A., & García, M. (2012). Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 29(5), 504–510. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000600004>
- Ortiz-Ulloa, J., Castro, M., Ochoa, A., & Donosa, S. (2020). Revisión sistemática de estudios sobre inocuidad alimentaria en Cuenca, Ecuador, periodo 1981-2017. *Segur. Aliment. Nutr.*, 27(1), 1–12.
- Oteo, J., & Alós, J. I. (2000). Listeria y listeriosis. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 1(1), 1–4. <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/listeria.pdf>
- Ottaviani, B., Ottaviani, F., & Agosti, M. (1987). Medios de cultivo: Listeria, Agar Cromogénico. In *Manual Básico de Microbiología* (pp. 221–222).
- Palacián, M., Cameo, I., Arazo, P., Marco, L., & Revillo, J. (2011). Infecciones por Listeria monocytogenes. *Rev Esp Quimioter*, 24(2), 112–114. <http://www.seq.es/seq/0214-3429/24/2/palacian.pdf>
- Pardo, L. (2017). *Microorganismos termorresistentes en la producción de cerveza. Estudio inicial*. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/19612/PardoRipoll_Lucía_TFG_2017.pdf?sequence=2
- Pérez, A. (2019). *Microbiología de los abscesos dentales*. <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/17523/Microbiologia%20de%20olos%20abscesos%20dentales.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pérez Arnedo, I. (2015). *Calidad y seguridad microbiológica de la carne de pollo: con especial referencia a la incidencia de Salmonella, Campylobacter y*

- Listeria monocytogenes en las distintas etapas de la producción y procesado* [Tesis Doctoral, Universidad de la Rioja]. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwit1v2Opr_5AhUKRTABHadeAPwQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Ftesis%2F46794.pdf&usg=AOvVaw0aioI-8WuR37y8JWwFhIFt
- RENALOA. (2011). *Análisis microbiológico de los alimentos: microorganismos patógenos* (1st ed., Vol. 1). ANMAT. http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_i.pdf
- RENALOA. (2014). *Análisis microbiológico de los alimentos* (F. Trinks, Ed.; Vol. 3). ANMAT. http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf
- Reuben, A., Treminio, H., Arias, M., & Chaves, C. (2003). Presencia de *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(4), 389–392.
- Rodríguez, P. A., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 166–167.
- Rodríguez-Auad, J. P. (2018). Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Rev Chilena Infectol*, 35(6), 649–657. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v35n6/0716-1018-rci-35-06-0649.pdf>
- Rosales, S. (2015). *Estudio de Mercado Avícola enfocado a la Comercialización del Pollo en Pie, año 2012-2014*. Superintendencia de Control de Poder de Mercado. <https://www.scpm.gob.ec/sitio/wp-content/uploads/2019/03/ESTUDIO-AVCOLA-VERSION-PUBLICA.pdf>
- Rus, M. (2021, August 14). *El mayor brote de listeriosis de España: una derrota convertida en victoria*. Heraldo. <https://www.heraldo.es/noticias/nacional/2021/08/14/enfermedades-mayor-brote-listeriosis-derrota-convertida-en-victoria-1512835.html>

- Sánchez, A., Vayas, T., Mayorga, F., & Freire, C. (2020). *Sector Avícola en el Ecuador*. CEDIA. <https://blogs.cedia.org.ec/obest/wp-content/uploads/sites/7/2020/09/Sector-avicola-Ecuador.pdf>
- Soares, V. M., Padilha, M. B., de Guerra, M. E. M., Schneider, F. A., Gasparetto, R., dos Santos, E. A. R., Tadielo, L. E., Brum, M. C. S., Traesel, C. K., & Pereira, J. G. (2021). Identification of salmonella spp, listeria monocytogenes, and indicator microorganisms in commercialized raw meats and fresh sausages from Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciencia Rural*, 51(6), 1–8. <https://doi.org/10.1590/0103-8478CR20200569>
- Soto Varela, Z., Pérez Lavalle, L., & Estrada Alvarado, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte*, 32(1), 105–122. <https://doi.org/10.14482/SUN.32.1.8598>
- Torres, K., Sierra, S., Poutou, R., Carrascal, A., & Mercado, M. (2005). Patogénesis de Listeria monocytogenes, microorganismo zoonotico emergente. *Revista MVZ Córdoba*, 10(1), 511–543. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682005000100003
- Trepat, M. (2002). *Incidencia y comportamiento de Salmonella y Listeria en pechugas de pavo curadas* [Universidad Autónoma de Barcelona]. <https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2002/tdx-0422103-211335/mtq1de1.pdf>
- Vásquez-Ampuero, J. M., & Tasayco-Alcántara, W. R. (2020). Presencia de patógenos en carne cruda de pollo en centros de expendio, Huánuco-Perú. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 11(2), 130–141. <https://doi.org/10.36610/J.JSARS.2020.110200130>
- Yagüe, Á. (2017). *Transformación del músculo en carne*. AviNews. <https://avinews.com/transformacion-del-musculo-carne/>

ANEXOS

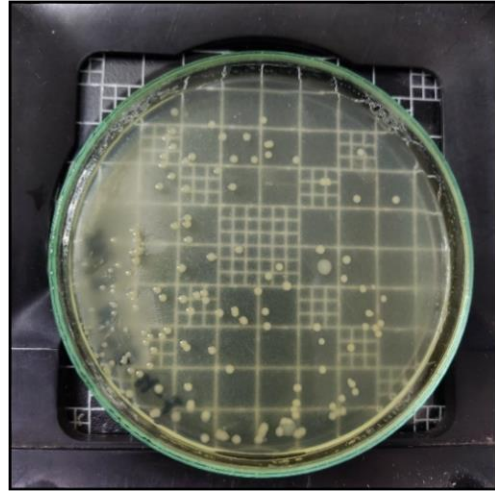
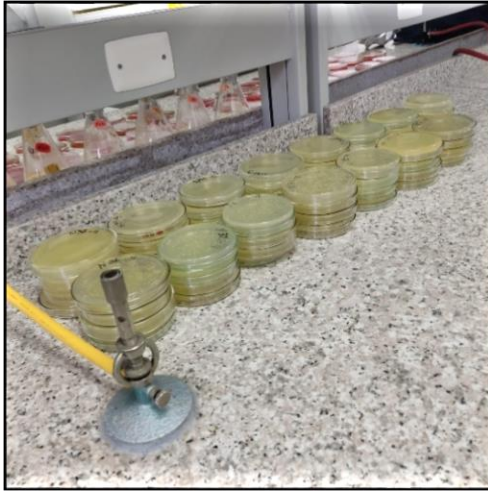
Anexo 1. Toma de muestras de carne de pollo y evaluación de parámetros del local



Anexo 2. Matraces Erlenmeyer con agua peptonada y muestras de pollo



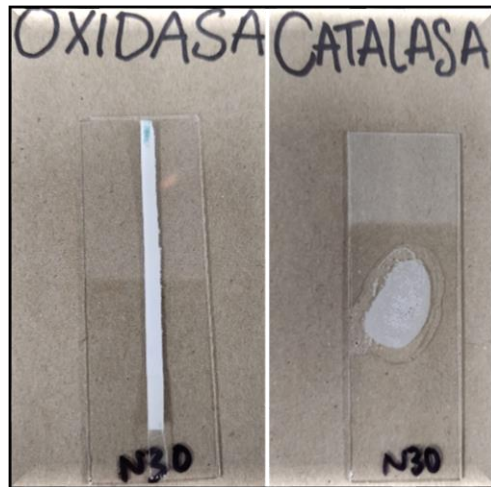
Anexo 3. Placas de agar nutritivo y conteo de colonias



Anexo 4. Placas de agar Listeria Cromogénico y siembra por estría



Anexo 5. Prueba de oxidasa y catalasa



Anexo 6. Tinción gram

