

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

“Evaluación microbiológica de pescados frescos expendidos en los mercados de las parroquias Sayausí, El Valle y en El Mercado El Arenal del cantón Cuenca”.

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico

Autor:

William Napoleón Barba González

Juan Andrés Paucar Guamán

Director:

Diana Jesús Andrade Muñoz

ORCID: 0000-0003-2365-0404

Cuenca, Ecuador

2023-04-19

Resumen

El presente estudio tiene como objetivo el análisis microbiológico de pescados frescos orientados al expendio en la comunidad cuencana, vendidos en los mercados de las parroquias Sayausí, El Valle y en El Mercado El Arenal del cantón Cuenca. Un sondeo rápido determinó que los pescados que se venden con mayor frecuencia en los mercados seleccionados son: corvina (*Argyrosomus regius*), albacora (*Thunnus alalunga*) y el pescado hojita (*Chloroscombrus chrysurus*). El análisis microbiológico incluye la determinación de microorganismos indicadores, tales como: aerobios viables totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* además de la presencia de patógenos específicos de peces como *Salmonella* spp. y *Vibrio cholerae* también fueron investigados.

Palabras clave: análisis, aerobios, escherichia coli, staphylococcus

Abstract:

The objective of this study is the microbiological analysis of fresh fish for sale in the community of Cuenca. They are sold in the markets of the Sayausí and El Valle parishes and in El Arenal market in the canton of Cuenca. A quick survey determined that the fish most frequently sold in the selected markets are: corvina (*Argyrosomus regius*), albacore (*Thunnus alalunga*) and leaf fish (*Chloroscombrus chrysurus*). Microbiological analysis includes determination of total viable aerobic counts, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The presence of fish-specific pathogens such as *Salmonella* spp. and *Vibrio cholerae* were also investigated.

Keywords: microbiological, aerobes, *escherichia coli*, *staphylococcus*

Índice de contenidos

RESUMEN:.....	¡Error! Marcador no definido.
<i>Palabras clave</i>	1
Abstract:	2
Key words:	2
Índice de contenidos.....	3
Índice de tablas.....	6
Índice de gráficos.....	7
Agradecimientos	8
Dedicatoria.	9
Agradecimiento.....	9
Introducción	10
Objetivos.....	12
Objetivo general:	12
Objetivos específicos:	12
1. Marco Teórico.....	13
1.1 Inocuidad Alimentaria.....	13
Enfermedades transmitidas por alimentos.....	13
1.2 Tipos de enfermedades transmitidas por alimentos.	14
1.2.1 Infección:.....	14
1.2.2 Intoxicación	14
1.2.3 Toxicoinfección.....	14
1.3 Manifestaciones clínicas de las enfermedades transmitidas por alimentos.	14
1.4 Formas de contaminación alimentaria.	15
1.4.1 Contaminación biológica:	15
1.4.2 Contaminación química:	15
1.4.3 Contaminación física:	15
1.5 Contaminación cruzada:.....	16
1.6 Fuentes de contaminación alimentaria.	16
1.7 Microorganismos indicadores de higiene.....	17
1.7.1 Indicadores de condición de manejo o de eficiencia de proceso:.....	17
Aerobios mesófilos.....	17

Coliformes totales	17
1.7.2 Indicadores de contaminación fecal.....	18
<i>Escherichia coli</i>	18
<i>Salmonella</i>	18
<i>Vibrio spp.</i>	19
1.8 Recuento de microorganismos en placas Compact Dry™	20
1.8.1 Placas Compact Dry TM – Características.	20
Placa Compact Dry (TC) para aerobios mesófilos.....	20
Placa Compact Dry (EC) para <i>Escherichia coli</i>	20
Placa Compact Dry (XSA) para <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Compact Dry VP, para <i>Vibrio paraheamolyticus</i> y <i>Vibrio spp.</i>	21
1.9 Siembra en placas Petrifilm™.....	21
<i>Salmonella spp.</i>	22
1.10 Los pescados	22
1.10.1 Pescado fresco.....	22
1.10.2 Composición nutricional del pescado.....	23
1.11 Requisitos microbiológicos	24
2. Metodología.....	25
2.1 Tipo de estudio. En el presente trabajo de investigación se desarrolló un estudio observacional, transversal y de tipo descriptivo.....	25
2.2 Área de estudio.	25
2.3 Muestreo y tamaño de la muestra	26
2.3.1 Codificación de las muestras.....	27
2.3.2 Toma de muestras	27
2.3.3 Transporte de muestras.	27
2.4 Análisis de datos	28
2.4.1 Análisis Estadístico.....	28
2.4.2 Análisis de las condiciones higiénicas de los puestos de expendio de pescados de los diferentes mercados.	28
2.5 Materiales, equipos y reactivos	28
2.5.1 Materiales.....	28
2.5.2 Reactivos	29
2.6 Métodos y técnicas de análisis.	30
2.6.1 Preparación de las diluciones y siembra.....	30
3. Resultados.....	32

3.1 Recuento microbiológico de las muestras.....	32
3.2 Comparación del estado microbiológico entre mercados y especies.....	35
3.3 Condiciones Higiénicas de los diferentes puestos en los mercados.....	37
5. Conclusiones	41
6. Recomendaciones	42
7. Limitaciones del estudio.....	42
8. Referencias.....	43
Anexos	47
Anexo A	47
Anexo B	48
Anexo C	50

Índice de tablas

Tabla 1. Requisitos microbiológicos para los pescados frescos refrigerados o congelados - Norma INEN 183:2013 Primera Edición.....	27
Tabla 2. Número de puestos de expendio de pescado fresco en cada parroquia.	28
Tabla 3. Esquema de muestreo en los diferentes mercados.....	29
Tabla 4. Recuento microbiológico de las muestras en el mercado El Arenal.....	36
Tabla 5. Recuento microbiológico de las muestras en el mercado El Valle.....	37
Tabla 6. Recuento microbiológico de las muestras en el mercado Sayausí.....	37
Tabla 7. Comparación de resultados entre mercados.....	38
Tabla 8. Comparación de resultados entre pescados.....	39

Índice de gráficos

Flujograma 1. Procedimiento para la preparación de las muestras y las diluciones....	33
Flujograma 2. Procedimiento para el recuento de aerobios mesófilos, <i>E.coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	34
Flujograma 3. Procedimiento para el recuento de <i>Salmonella</i>	31
Gráfico 1. Porcentaje de cumplimiento de normas de higiene correspondientes a los mercados de la parroquias El Valle, Sayausí y el mercado El Arenal.....	370

Dedicatoria

Este trabajo de tesis se lo quiero dedicar especialmente a Dios por permitirme culminar mi carrera con salud y éxito, a mi madre quien ha sido mi fortaleza y pilar fundamental en todas las etapas de mi existencia. De igual forma a mi abuela, aunque ya no se encuentra junto a mí, siempre me brindó su amor y apoyo incondicional en el transcurso de mi vida.

William Napoleón Barba

Agradecimientos

Agradezco a Dios por ser mi guía y mi apoyo durante este camino lleno de obstáculos y dificultades, que me ayudó a no desfallecer, ni a rendirme ante nada.

A la Universidad de Cuenca que me brindó la oportunidad para continuar con mis estudios y a cumplir una de las metas más importantes en mi vida, de igual forma a los docentes de la institución, especialmente a la Ing. Diana Andrade, quienes han sabido guiarme a través de esta etapa y han fortalecido mis conocimientos con su dedicación.

Agradezco a mi familia, especialmente a mi madre, abuela, tío y a mi padrastro por la confianza y el apoyo brindado en el trayecto de mi vida, los cuales me han acompañado en mis triunfos y derrotas.

William Napoleón Barba

Dedicatoria.

Este trabajo se la dedico a mis padres y familia que estuvieron apoyándome incondicionalmente, que con sus consejos me enseñaron lo que es la vida, que con perseverancia las metas y sueños se cumplen. Quiero agradecer a mi esposa que también fue un pilar fundamental para lograr ser la persona que soy y seguir creciendo como tal a mis hijos que gracias a ellos y con su cariño me motivaron constantemente para cumplir mis sueños.

Juan Andrés Paucar

Agradecimiento

Quiero agradecer a la Ing. Diana Andrade por impartir sus conocimientos, hacia nosotros quiero agradecerle por tenernos paciencia y brindarnos un apoyo incondicional, entre otras virtudes la cual nos permitió culminar una etapa muy importante en nuestras vidas.

De igual manera a la Universidad de Cuenca que junto a sus docentes con sus palabras sabias y sus enseñanzas rigurosas se dedican a la formación de cada uno de nosotros obteniendo grandes profesionales y personas. A mis padres Alberto, Lourdes y hermanos Xavier, Jostin que siempre estuvieron apoyándome con sus consejos, impulsándome a superarme cada día para poder cumplir mis sueños. A mi esposa Cristina e hijos Martin, Joaquin que con su alegría fueron un pilar fundamental para poder culminar una etapa de mi vida con éxito a Dios por brindarme salud y una familia bella que siempre estuvo en los más duros momentos a ellos se les dedico este logro.

Juan Andrés Paucar

Introducción

Tanto las infecciones como las intoxicaciones causadas por alimentos, se les conoce como Enfermedades transmitidas por Alimentos (ETA) y se consideran un problema de salud pública. Estas enfermedades se relacionan con la ingesta de alimentos contaminados cuya cantidad es suficiente, para afectar al consumidor, por lo que representa una grave amenaza para la salud afectando principalmente a niños, mujeres embarazadas y personas de la tercera edad. En las ETA, los síntomas gastrointestinales (diarrea, vómito y náuseas) son los más frecuentes acompañados de fiebre, sin embargo, pueden aparecer complicaciones como sepsis, abortos, meningitis, síndrome de Guillan Barré o incluso la muerte (Weiler et al., 2011).

En el mundo, 1 de cada 10 personas se enferman por ingerir alimentos contaminados, causando un total de 420 mil muertes anuales, de las que 125 mil corresponden a niños. Más del 70% de los casos de (ETA) se originan debido a una manipulación inadecuada de los alimentos, y a malas condiciones higiénicas como: incorrecto lavado de manos, suministro de agua que contengan microorganismos o parásitos por lo que es indispensable la actitud del consumidor para prevenir las ETA (Fernández et al., 2021; SIVE, 2021).

En los países en vías de desarrollo como el Ecuador, las ETA son importante causa de morbilidad y mortalidad, además de ralentizar el desarrollo socioeconómico. Durante el 2019, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos alcanzaron 19500 casos por intoxicaciones alimentarias, demostrando un decrecimiento en comparación al 2018, que se registró 24000 casos, el grupo de edad más afectado es de 20 a 49 años, mayoritariamente el sexo femenino (Ministerio de Salud Pública, 2021).

Los organismos de control sanitario de cada país tienen como objetivo vigilar que los alimentos sean de calidad e inocuos para el ser humano, mediante normativas y leyes, con el fin de reducir los problemas de salud causados por el consumo de alimentos

contaminados. En cualquier sitio que se elaboren o expendan alimentos frescos es importante realizar un control microbiológico para asesorar y ayudar a los responsables a mejorar la inocuidad de los alimentos y evaluar el impacto potencial de las medidas para lograr dicha inocuidad (Fernández et al., 2021).

El pescado es un producto que se daña fácilmente, por lo que manipularlos de una forma poco cuidadosa o tenerlos en condiciones no ideales ocasionan que este se contamine. Esta contaminación de su carne con bacterias permite la liberación de enzimas, lo que aumentan la tasa de deterioro. Se debe tener en cuenta que la calidad del pescado a temperaturas bajas se reduce lentamente, sin embargo, esto detiene el proceso de descomposición (Shaywet y Medina, 2005).

La venta de pescados en mercados y ferias no presentan condiciones adecuadas para mantener al pescado libre de microorganismos patógenos; los vendedores no utilizan hielo en la conservación de alimento ofertado, el producto permanece por muchas horas a temperatura ambiente, con estas condiciones mencionadas, se pone en riesgo la salud del consumidor (Carreño y Arquino, 2014).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es evaluar el estado microbiológico de pescados frescos expendidos en tres mercados de la ciudad de Cuenca, para conocer y relacionar dicho estado microbiológico con la forma de conservación y expendio de los pescados en los puestos de los mercados.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el estado microbiológico de pescados frescos expendidos en tres mercados de la ciudad de Cuenca.

Objetivos específicos:

- Determinar la cantidad de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, detección de *Salmonella*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*, en los pescados corvina (*Argyrosomus regius*), albacora (*Thunnus alalunga*) y hojita (*Chloroscombrus chrysurus*) expendidos en los mercados de las parroquias Sayausí, El Valle y en el mercado El Arenal del cantón Cuenca.
- Comparar los resultados obtenidos entre los mercados y entre las especies estudiadas.
- Analizar las características higiénicas más importantes de expendio de los puestos de los mercados.

1. Marco Teórico

1.1 Inocuidad Alimentaria.

Un alimento inocuo es aquel que no causa daño o enfermedad al consumidor, según la Organización Mundial de la Salud, la inocuidad de los alimentos es una cuestión fundamental de salud pública para todos los países y uno de los asuntos de mayor prioridad para los consumidores, productores y gobiernos. La inocuidad junto a las propiedades nutricionales, organolépticas y comerciales constituyen las cuatro características básicas que determinan la calidad total de los alimentos. Los requisitos necesarios en inocuidad alimentaria son: una limpieza correcta del área de trabajo, separar alimentos crudos de los cocidos, cocción correcta, mantener los alimentos a una temperatura correcta y el uso de agua y materias primas seguras; durante la obtención de materia prima, producción, almacenamiento, distribución y preparación del alimento para asegurar la salud del consumidor. Estas acciones están encaminadas a garantizar la mayor seguridad posible de los alimentos, por lo tanto, es necesario realizar un seguimiento desde la preparación de los alimentos hasta su consumo (Arispe & Tapia, 2007; OMS, 2015).

Enfermedades transmitidas por alimentos.

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) se generan por la ingesta de alimentos y/o agua contaminada con: sustancias químicas, toxinas microbianas o microorganismos patógenos que en cantidades suficientes afectan la salud del consumidor a nivel individual o colectivo. La contaminación puede darse por falta de higiene del personal o por contaminación ambiental ya sea con el agua, la tierra o el aire (López Aday et al., 2013; Varela Soto et al., 2016).

1.2 Tipos de enfermedades transmitidas por alimentos.

1.2.1 Infección: Es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos o agua contaminados con microorganismos vivos perjudiciales (virus, bacterias, parásitos), presentes en los alimentos. En estos casos ocurre el ingreso del o los microorganismos al interior del huésped y su posterior multiplicación con el consecuente daño a los tejidos. Los ejemplos más comunes de infecciones alimentarias son la salmonelosis, listeriosis o triquinosis.

1.2.2 Intoxicación: Es una enfermedad que resulta horas después de la ingesta de toxinas, que han sido producidas por hongos o bacterias, o rara vez por sustancias químicas y pesticidas presentes en los alimentos. Por ejemplo, las principales toxinas son producidas por: *Clostridium botulinum* (Tipos: A, B, E y ocasionalmente F), *S. aureus* (Enterotoxina B estafilocócica) *Clostridium perfringens* (toxina Epsilon) y *Bacillus cereus* (Citotoxina K, Enterotoxina no hemolítica, hemolisina y la toxina emética). Dentro de las intoxicaciones, también se incluyen las sustancias químicas incorporadas al alimento de manera intencional o accidentalmente como: metales pesados, plaguicidas, insecticidas, etc. Otra forma de intoxicación es cuando por desconocimiento el paciente ingiere plantas y/o hongos venenosos (Reyes-Solórzano, 2017).

1.2.3 Toxicoinfección: Es una enfermedad que resulta de la ingesta de alimentos que contienen una determina cantidad de microorganismos que tienen la capacidad de producir o liberar toxinas y una vez que son ingeridos infectan al huésped. Por ejemplo: cólera, gastroenteritis por *C. perfringens* (ASSAL, 2018).

1.3 Manifestaciones clínicas de las enfermedades transmitidas por alimentos.

Los síntomas de las ETA pueden durar varios días e incluyen: náusea, vómito, dolores abdominales, diarrea y fiebre. También pueden presentarse síntomas neurológicos, cefaleas, hinchazón ocular, dificultades renales, visión borrosa, etc. La duración e intensidad de los síntomas varía de acuerdo a la cantidad de bacterias o toxinas

presentes en el alimento, de la cantidad de alimento consumido y al estado de salud de la persona, entre otros factores. Los grupos más vulnerables son los niños, adultos mayores, mujeres embarazadas y personas con su sistema inmunológico deficiente, ya que en ellos los síntomas suelen ser más agresivos (López Aday et al., 2013).

1.4 Formas de contaminación alimentaria.

1.4.1 Contaminación biológica:

La contaminación biológica procede de microorganismos, los cuales presentan ciertas particularidades respecto a otros tipos de riesgos: Una vez que han contaminado el alimento, tienen además la capacidad para crecer en él. Pueden constituir una fuente de contaminación peligrosa para la salud del consumidor cuando se trata de microorganismos patógenos, ya que no alteran de manera visible el alimento. Puede deberse a la presencia de bacterias, parásitos, toxinas, virus, hongos (ELIKA, 2019).

1.4.2 Contaminación química:

La contaminación química se da por la presencia de determinados productos químicos en los alimentos, que pueden resultar nocivos o tóxicos a corto, medio o largo plazo. Dentro de este grupo se encuentran los contaminantes tóxicos naturales y los contaminantes tóxicos ambientales (ELIKA, 2019).

1.4.3 Contaminación física:

Se considera contaminación física del alimento, cualquier objeto presente en el mismo y que no deba encontrarse allí, y sea susceptible de causar daño o enfermedad a quien consuma el alimento. Presencia de: huesos, astillas o espinas, cristales, porcelana, trozos de madera y metal (ELIKA, 2019).

1.5 Contaminación cruzada:

La contaminación cruzada se produce cuando las bacterias ingresan a los alimentos que no se encuentran contaminados. Los alimentos cocidos se pueden contaminar al estar en contacto con alimentos crudos (carnes, pescados) o sin lavar (frutas y verduras), conociéndose a esto como contaminación cruzada directa; en cambio, la transferencia de microorganismos a los alimentos limpios, por contacto con el manipulador, con superficies y utensilios contaminados se conoce como contaminación cruzada indirecta (Pin Ramírez & Valarezo Valarezo, 2017).

1.6 Fuentes de contaminación alimentaria.

Los alimentos son susceptibles de sufrir algún tipo de contaminación a medida que se producen o preparan. Así, las principales fuentes de contaminación de los alimentos se pueden resumir en lo siguiente:

Utensilios y equipos: Han de ser higienizados periódicamente para impedir que, durante la elaboración y preparación de comidas, se vayan acumulando residuos y el nivel de microorganismos suponga un riesgo.

El hombre: El manipulador de alimentos es el factor de mayor riesgo respecto a la contaminación de los alimentos, debido al contacto continuo con ellos, de ahí que se deban extremar las buenas prácticas de manipulación.

Insectos, roedores, aves: Estos animales padecen y transmiten enfermedades que pueden afectar al hombre, por ello es imprescindible que se aplique un buen programa de control de plagas.

Agua: El agua puede ser un vehículo de sustancias tóxicas, microorganismos, metales pesados, etc., por lo que es imprescindible que para su uso en el proceso de elaboración y manipulación de alimentos se utilice agua potable y que se controle los niveles de cloro.

Ambiente: El aire de las zonas de manipulación ha de estar lo menos contaminado posible, lo que se consigue con una buena ventilación y renovación continua del aire.

Materias primas: Deben ser de calidad, y cumplir con los requisitos que establece la legislación vigente (Garcinuño Martínez, 2019).

1.7 Microorganismos indicadores de higiene.

Son un grupo de microorganismos utilizados para controlar las condiciones higiénicas en las que son preparados o fabricados los distintos alimentos. Además, permiten una perspectiva de prevención de riesgos ya que muestran el manejo inadecuado y/o contaminación (ELIKA, 2019).

1.7.1 Indicadores de condición de manejo o de eficiencia de proceso:

Aerobios mesófilos

El recuento total de microorganismos aerobios mesófilos es una de las pruebas de indicadores utilizada con mayor frecuencia; este análisis estima de forma general la carga microbiana presente en una muestra, las cuales tienen la capacidad de crecer en presencia de oxígeno a temperaturas mesófilas de 25 a 40°C (Higiene Ambiental, 2019). Esta determinación es importante realizarla en alimentos frescos, refrigerados y congelados, lácteos y alimentos listos para su consumo (Higiene Ambiental, 2019).

Coliformes totales

Los coliformes son un grupo de bacterias Gram negativas, no formadoras de esporas, fáciles de cultivar e identificar, anaerobios facultativos, que se definen por su capacidad para fermentar la lactosa a 35°C con producción de ácido y/o dióxido de carbono gaseoso. Incluye los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. Las pruebas de coliformes se usan como indicador de una limpieza y desinfección inadecuada, condiciones insalubres o contaminación posterior a las etapas de procesado. La presencia de coliformes en productos acabados normalmente indica la

presencia potencial de bacterias que causan enfermedades en el agua, posterior a los puntos críticos de control del proceso, normalmente los puntos de aplicación de temperatura, o un fallo en el propio sistema de puntos críticos de control (Acevedo et al., 2001).

1.7.2 Indicadores de contaminación fecal

Escherichia coli

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo, no esporulante, Es un indicador de contaminación fecal reciente, humana o animal, en productos como agua embotellada, leche, alimentos infantiles, alimentos frescos (pescados, mariscos y productos cárnicos) y procesados en general. Se caracteriza por ser un microorganismo termotolerante (fermenta la lactosa a 44,5°C) y tiene la capacidad de producir indol a partir del triptófano, no utiliza citrato como fuente de carbono y no produce acetoina. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas, dichas características son útiles para la identificación en el laboratorio (Paz-y-Miño et al., 2003).

Las condiciones óptimas de desarrollo de este microorganismo son pH de 7,2 y actividad acuosa (*aw*) de 0,99. El desarrollo de *E. coli* se detiene a pH extremos (inferiores a 3,8 o superiores a 9,5) y (*aw*) inferiores a 0,94. Por ello el grado de acidez de un alimento puede constituir un factor de protección y garantizar su seguridad (Canet, 2016).

1.7.3 Microorganismos Patógenos

Salmonella

Es un género bacteriano formado por bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, se consideran bacterias móviles y tienen la capacidad de producir sulfuro de hidrógeno, por otra parte, también se caracterizan por no fermentar ni la lactosa ni sacarosa. Además, este grupo de microorganismos son agentes zoonóticos de distribución universal. Puede transmitirse por contacto directo a través de fómites, sin embargo, la

vía más frecuente es por contaminación cruzada durante la manipulación durante el proceso o por aguas contaminadas. Entre las variedades de *Salmonella* frecuentemente asociadas a salmonelosis tenemos: *paratyphi* A y B, *abortus-equi* y *abortus-ovis*. El periodo de incubación de la enfermedad es por lo general entre 12 a 36 horas, causando diarrea, dolor abdominal aguda y fiebre. Dicho microorganismo se encuentra distribuido en una variedad de alimentos tanto frescos como procesado de origen vegetal y animal, por ejemplo, en hortalizas, leche, quesos, carne de res, cerdo, aves, embutidos, mariscos crudos, pescado ahumado (Campuzano et al., 2015).

Vibrio spp.

El género *Vibrio spp.* abarca a bacilos gramnegativos, oxidasa positivos, móviles y flagelados, su hábitat común es el ambiente acuático, tanto agua dulce como en el mar. El patógeno más común de este género es el *Vibrio cholerae*, esta especie presenta más de 200 serogrupos basados en el antígeno somático termoestable O. La epidemia del cólera fue causada por los serogrupos O1 y O139, en cambio los serogrupos no-O1/noO139, suelen aislarse de fuentes ambientales y pueden producir casos esporádicos de gastroenteritis y de infecciones extra intestinales como infecciones en heridas, oídos y sepsis. El reservorio de este patógeno son los humanos, crustáceos, moluscos, cefalópodos, insectos, vegetación y agua. La transmisión se produce principalmente por la ingesta de agua o alimentos especialmente mariscos crudos o mal cocidos contaminados con heces o vómitos infectados. El foco de transmisión son los pacientes sintomáticos, que pueden excretar la bacteria antes de manifestar síntomas de la enfermedad y hasta dos semanas después de los mismos. La principal patología producida por *V. cholerae* (no-O1/no-O139) es la gastroenteritis, además se han reportado casos de infecciones en oído, heridas y bacteremia primaria (Fernandez F & Alonso, 2009; Motta et al., 2020).

Infección: El periodo de incubación varia de unas pocas horas hasta 5 días. La enfermedad generalmente dura 4-6 días y los síntomas son: diarrea acuosa, heces líquidas de apariencia de “agua de arroz” y olor a pescado, vómitos ocasionales, calambres, alteración hidroelectrolítica, sequedad de las mucosas, disminución de la turgencia de la piel, ojos hundidos, hipotensión, falta de pulso, somnolencia, coma y en casos graves de deshidratación severa causa la muerte de hasta el 60% de los pacientes (Centers for Disease Control and Prevention & (CDC)., 2018).

1.8 Recuento de microorganismos en placas Compact Dry™

Las placas Compact Dry, ofrecen un medio listo para utilizar y son eficaces ya que ayudan a reducir el tiempo de determinación microbiológica en alimentos y bebidas. Son fáciles de manejar, se debe inocular 1mL de muestra en el centro de la placa, luego incubar los medios invertidos a la temperatura específica para cada microorganismo. Las colonias que se desarrollaran están pigmentadas con diferentes colores de acuerdo al sustrato cromógeno e indicadores para cada tipo de bacteria (HyServe, 2010).

1.8.1 Placas Compact Dry TM – Características.

Placa Compact Dry (TC) para aerobios mesófilos

El medio contiene el colorante redox, cloruro de 2, 3, 5-trifenil-tetrazolio (TTC), para facilitar la diferenciación del crecimiento de la colonia. Las colonias que crecen en este medio son rojas debido al indicador redox de sal de tetrazolio. Los resultados se pueden visualizar después de 48 horas de incubación a $37 \pm 1^{\circ} \text{C}$ (Compact Dry™ TC, 2013).

Placa Compact Dry (EC) para *Escherichia coli*.

El medio contiene dos sustratos cromógenos: Magenta-GAL (5-bromo- 6-cloro-3-indoxilbeta-D-galactopiranósido) y X-Gluc (Ácido 5-bromo-4-cloro-3-indoxil-beta-D-glucurónico, sal de ciclohexilamonio). De esta manera los coliformes desarrollan una coloración roja debido al sustrato Magenta-GAL, mientras que las colonias de *E. coli* son

azules por el sustrato X-Gluc. Los resultados se pueden visualizar después de 24 ± 2 horas de incubación a $37 \pm 2^\circ \text{C}$ (Compact DryTM EC, 2013).

Placa Compact Dry (XSA) para *Staphylococcus aureus*.

La placa cromogénica consta de un medio específico de manitol deshidratado y dos sustratos cromógenos para la fosfatasa ácida y β -glucosidasa que permite diferenciar *S. aureus* de otras bacterias que pudieran crecer en la placa dando lugar a colonias de azul o verde azulado para *S. aureus*. El EDTA se incluye en el medio para inhibir el crecimiento de otras bacterias, levaduras y mohos. Los resultados se pueden visualizar después de 24 ± 2 horas de incubación a $37 \pm 2^\circ \text{C}$ (Compact DryTM X-SA, 2013).

Compact Dry VP, para *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio spp.*

Con esta placa Compact Dry, *Vibrio parahaemolyticus* resulta muy fácil de detectar. La composición de la placa tiene un sustrato cromogénico incoloro, que, gracias a la actividad enzimática específica de cada microorganismo, se degrada liberando una parte del mismo, dando a la colonia un color azul intenso y específico que permite identificar microorganismos a primera vista, por ejemplo, *Vibrio cholerae*, se pueden identificar con facilidad gracias a los sustratos cromogénicos de la coloración roja lila correspondiente. *Vibrio parahaemolyticus* se caracteriza por formar colonias verde-azuladas o azules ya que emplea un indicador de pH azul de bromotimol (Merchán & Mocha 2018).

1.9 Siembra en placas PetrifilmTM

Estas placas contienen medios de cultivo listos para sembrar las muestras, éstas pueden ser: muestras de alimentos, de agua, ambientales, materias primas, productos semi-terminados y productos terminados, están diseñadas para el recuento de unidades formadoras de colonia (UFC). Estas placas presentan una lámina transparente y delgada con un medio de cultivo específico y selectivo para cada diferente microorganismo y un agente solidificante soluble en agua. También, contiene una capa

delgada de polipropileno para atrapar el gas producido por ciertas bacterias. Constan de un indicador de pH, el cual va a colorear las colonias y permitir su identificación.

Salmonella spp

El sistema Petrifilm™ 3M™ *Salmonella* Express (SALX) se utiliza para la detección cualitativa rápida y la confirmación bioquímica de especies de *Salmonella* en alimentos enriquecidos y muestras ambientales.

La Placa Petrifilm 3M SALX es un sistema de medio de cultivo cromogénico listo para utilizar, que contiene un agente gelificante soluble en agua fría y es selectivo y diferencial para *Salmonella*, proporcionando un resultado presuntivo. El disco de confirmación 3M Petrifilm SALX contiene un sustrato bioquímico que facilita la confirmación bioquímica de organismos de *Salmonella* (3M, 2018)

1.10 Los pescados

El pescado constituye uno de los alimentos de mayor valor proteico consumido ya que contiene todos los aminoácidos esenciales. También contiene grasas insaturadas altamente beneficiosas, así como vitaminas, minerales, etc. Sin embargo, debido a su composición química el pescado es un alimento perecedero y que se degrada fácilmente ya que pueden proliferar diversos microorganismos.

1.10.1 Pescado fresco

Se trata de todo pescado que no ha sufrido ningún tipo de conservación excepto la adición de hielo puro, de salmuera o de agua de mar refrigerada.

Es necesario que, en los lugares de expendio, los pescados sean conservados en hieleras y exhibidos en superficies inclinadas cubiertas de hielo. Al momento de comprar pescado el consumidor puede examinar las siguientes zonas para verificar si el pescado está fresco; los ojos deben ser claros, vivos y brillantes, las agallas en la mayoría de pescados deben tener un color rojo vivo o rosado, su piel debe ser resbaladiza, suave,

brillantes y limpia; la carne debe ser firme, consistente y elástica y finalmente el olor es el aspecto más importante, debe oler a humedad limpia, a mar, a agua dulce según la clase de pescado. El grado de frescura con que el producto llega al mercado y por tanto se pone al alcance del consumidor, es un factor de gran importancia en relación con la calidad del pescado (Dagustin, 2014).

1.10.2 Composición nutricional del pescado

La composición química de los peces varía entre las diferentes especies y entre individuos de la misma especie, dependiendo de la edad, sexo, tejido muscular, medio ambiente, y estación del año. Las variaciones en la composición química del pez dependen de la alimentación, nado migratorio y cambios sexuales relacionados con el desove (Araneda, 2022).

Los principales componentes químicos de la carne del pescado son: agua, proteína y lípidos, el contenido en agua varía entre 60-80% y es inversamente proporcional al contenido graso, el contenido en proteínas es bastante constante, se habla de 18 gramos por cada 100 gramos de alimento comestible y el contenido graso es muy fluctuante e inversamente proporcional al contenido en agua. En los pescados azules o grasos, la grasa se deposita en el tejido muscular; mientras que, en los pescados magros, la grasa se acumula en su mayor parte en el hígado (Araneda, 2022).

El perfil lipídico de los peces difiere sustancialmente al de los mamíferos, los peces contienen una menor proporción de ácidos grasos saturados (“grasas malas”), mayor proporción de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) especialmente del tipo omega 3. Los ácidos grasos específicos del pescado son el eicosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA). Ambos son ácidos grasos polinsaturados de cadena muy larga de la familia omega 3 (n-3). El principal esteroide del músculo de peces es el colesterol, cuya proporción varía entre especies (Araneda, 2022).

El contenido de hidratos de carbono en el músculo de pescado es muy bajo, generalmente inferior al 0,5%, el colágeno se encuentra en baja proporción y se convierte fácilmente en gelatina con el calentamiento.

1.11 Requisitos microbiológicos

Un requisito microbiológico es un parámetro que indica la aceptabilidad de un alimento o el funcionamiento ya sea del proceso o del sistema de control de inocuidad de los alimentos. De acuerdo con la norma técnica ecuatoriana INEN 183:2013 primera edición para pescado fresco, refrigerado o congelado, los requisitos para determinar la vida útil del pescado son: aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*, mientras que para el análisis de inocuidad se considera *Salmonella spp.* y *Vibrio cholerae*. Los requisitos microbiológicos con los límites máximos y mínimos permitidos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos microbiológicos para los pescados frescos refrigerados o congelados - Norma INEN 183:2013 Primera Edición.

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, ufc/g	5	5×10^5	10×10^5	3	AOAC 990.12
<i>E. coli</i> ufc/g	5	10	500	3	AOAC 998.08
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, ufc/g	5	100	1000	2	AOAC 2003.11
<i>Salmonella</i> /25g	5	no detectado	-	0	NTE INEN 1529-15
<i>Vibrio cholerae</i> /25 g	5	no detectado	-	0	ISO/TS 21872-1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /25 g	5	no detectado		0	ISO/TS 21872-1

Donde:

n: Número de muestras a examinar.

m: índice mínimo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M: índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c: Numero de muestras permisibles con resultados entre m y M.

2. Metodología

Los análisis de las condiciones higiénicas se basaron en encuestas de 12 preguntas las cuales fueron de autoría propia, basándonos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2687: 2013, Requisitos para Mercados Saludables. Un muestreo aleatorio fue el sistema de recolección aplicado para las muestras del mercado Arenal.

Se realizó un conteo de los parámetros microbiológicos que se encuentra en la normativa NTE INEN 183:2013, del cual se pudo establecer cuales puestos cumplen y no cumplen con los requisitos establecidos.

2.1 Tipo de estudio. En el presente trabajo de investigación se desarrolló un estudio observacional, transversal y de tipo descriptivo.

2.2 Área de estudio.

Para esta investigación se recolectaron muestras de pescado fresco en todos los puestos de venta de los mercados de las parroquias de Sayausí, el Valle y en el mercado El Arenal del cantón Cuenca. De acuerdo al catastro del GAD municipal, los mercados constan con el siguiente número de puestos:

Tabla 2. Número de puestos de expendio de pescado fresco en cada parroquia.

Parroquias	Número de puestos de venta de pescado fresco
Sayausí	1
El Valle	1
El Arenal	5

2.3 Muestreo y tamaño de la muestra

Se realizó un sondeo rápido y se determinó que los pescados que se vendían con mayor frecuencia en los mercados seleccionados son: la corvina (*Argyrosomus regius*), albacora (*Thunnus alalunga*) y el pescado hojita (*Chloroscombrus chrysurus*). Para la recolección de las muestras se utilizaron guantes de nitrilo y bisturí previamente esterilizados. Se tomó media libra para cada especie de pescado, en cada uno de los mercados. El muestro se detalla a continuación:

Tabla 3. Esquema de muestreo en los diferentes mercados.

Parroquia	Número de Puestos	Pescado hojita (<i>Chloroscombrus chrysurus</i>)	Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>)	Albacora (<i>Thunnus alalunga</i>)	Total de muestras
Sayausí	1	2	2	2	6
El Valle	1	2	2	2	6
Mercado	5	10	10	10	30
El Arenal					
Total	7	14	14	14	42

2.3.1 Codificación de las muestras

Las muestras fueron codificadas mediante un código alfanumérico de la siguiente manera:

- S: mercado de Sayausí,
- V: mercado del Valle
- A: mercado El Arenal.
- Seguido de otra letra;
- C: corvina,
- A: albacora,
- H: pescado hojita.

Seguido de la numeración de acuerdo al número de puestos.

Ejemplo: SC1: Mercado Sayausí, corvina, puesto #1; la muestra es de corvina obtenida del puesto #1 del mercado ubicado en la parroquia Sayausí.

Al final se obtendrán 42 muestras de 200 gramos cada una.

2.3.2 Toma de muestras

En la recolección de muestras de pescado se usó fundas whirl-pak estériles etiquetadas con su respectivo código y se transportaron en un envase secundario (cooler) manteniendo cadena de frío. Cada funda Whirl pack debe contener 200 g de muestra (aproximadamente media libra de pescado), se compró media libra para cada especie de pescado. El análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

2.3.3 Transporte de muestras.

Se recogieron en un recipiente esterilizado de 1 litro agua destilada, las muestras recolectadas se conservaron en un cooler a una temperatura de 2 - 8 °C, con bolsas de hielo hasta su posterior análisis.

2.4 Análisis de datos

2.4.1 Análisis Estadístico.

Las tablas descriptivas y el análisis de datos se realizaron mediante el Software Stata 14. Para la comparación de contenido microbiológico entre mercados y entre especies de pescado se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Para los microorganismos patógenos (*Salmonella*, *Vibrio spp.*) únicamente se aplica la normativa NTE INEN 183:2013, que indica la ausencia o presencia.

2.4.2 Análisis de las condiciones higiénicas de los puestos de expendio de pescados de los diferentes mercados.

Se realizó una inspección visual, con la que se respondió una encuesta de 12 preguntas cerradas (SI, NO) para evaluar las condiciones higiénicas de los diferentes puestos y mercados. Ver ANEXO 1

2.5 Materiales, equipos y reactivos

2.5.1 Materiales

- Tubos tapa rosca
- Stomacher
- Pipetas serológicas de 10 mL
- Pipeta automática de 1000 µL
- Puntas estériles para pipeta automática

- Espátula
- Lámparas de alcohol
- Matraz erlenmeyer
- Fundas whirl-pak estériles
- Equipos:
 - Autoclave N° serie 91997, marca All American, modelo 930.
 - Balanza analítica N° serie 14952, marca Ohaus, modelo Scout II.
 - Incubadora N° serie 14339, marca Memmert, modelo BKE-40.
 - Refrigerador N° serie 14324, marca Philco, modelo BR 203.

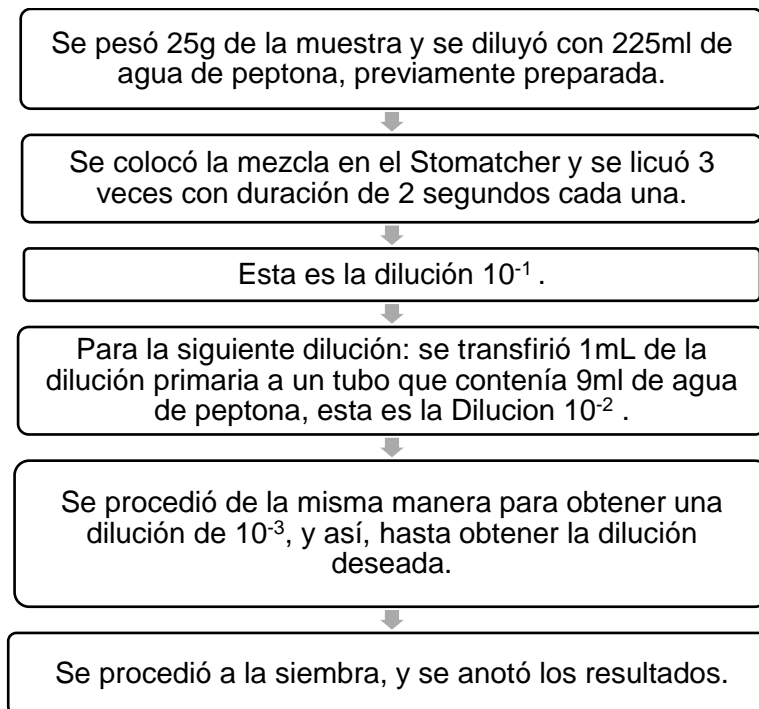
2.5.2 Reactivos

- Agua de peptona (NEOLAB)
- Agua destilada
- Kit para determinación de *Salmonella spp.* (3M)
- Placas compact Dry para recuento de aerobios mesófilos, *E. Coli*, *S. Aureus* y *Vibrio spp.*

2.6 Métodos y técnicas de análisis.

2.6.1 Preparación de las diluciones y siembra

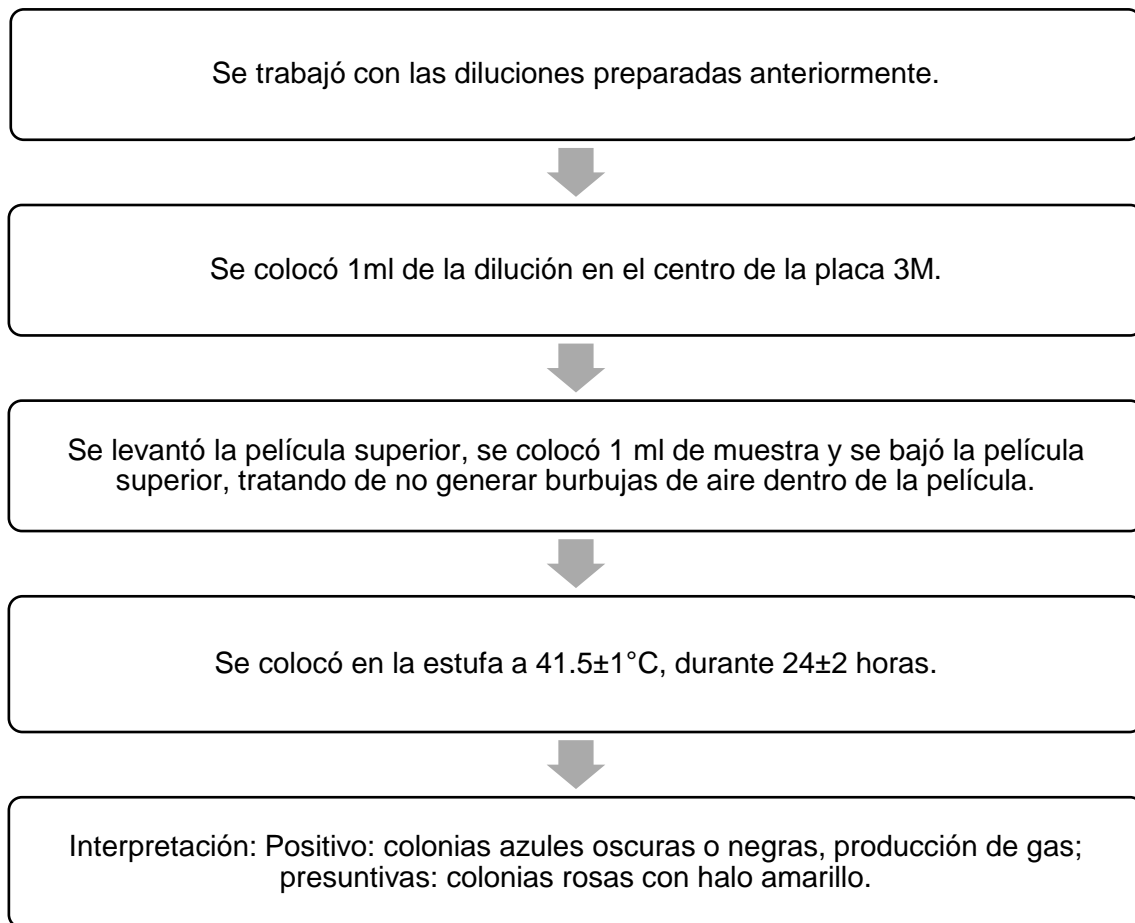
Flujograma 1. Procedimiento para la preparación de las muestras y las diluciones.



Flujograma 2. Procedimiento para el recuento de aerobios mesófilos, *E.coli*, *S. aureus* y *Vibrio parahaemolyticus*.



Flujograma 3. Procedimiento para el recuento de *Salmonella*.



3. Resultados

En el presente trabajo de investigación se analizaron 42 muestras provenientes de tres mercados de la ciudad de Cuenca (Tabla 3). Se evaluó 3 diferentes tipos de pescado los cuales fueron: corvina (*Argyrosomus regius*); albacora (*Thunnus alalunga*), y hojita (*Chloroscombrus chrysurus*). El mercado con mayor número de muestras tomadas fue el mercado el Arenal, por tener un mayor número de puestos de expendio.

3.1 Recuento microbiológico de las muestras

A continuación, se presentan los resultados obtenidos del análisis microbiológico realizado de las tres especies de pescado estudiadas, en los cinco puestos del mercado

el Arenal, un puesto del mercado El Valle y un puesto del mercado Sayausí, correspondientes al promedio de los resultados de la semana 1 y 2.

Tabla 4. Recuento microbiológico promedio de las muestras en el mercado El Arenal por puesto.

Puesto	Microorganismo	Hojita	Corvina	Albacora
215	Aerobios Mesófilos	4,38 x10 ⁴	8,63 x10 ⁴	4,1 x10 ⁴
	<i>E. coli</i>	7,85 x10 ³	5 x10 ³	2,78 x10 ²
	<i>S. aureus</i>	3 x10 ¹	4,63 x10 ²	8 x10 ¹
	<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
	<i>Salmonella</i>	3 x10 ²	9,75 x10 ¹	5,5 x10 ¹
623	Aerobios Mesófilos	1,07 x10 ⁵	7,08 x10 ⁴	1,9 x10 ⁴
	<i>E. coli</i>	2,45 x10 ⁴	1,33 x10 ³	4,35 x10 ²
	<i>S. aureus</i>	7,75 x10 ¹	6,3 x10 ²	3,25 x10 ¹
	<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
	<i>Salmonella</i>	2,95 x10 ²	0	2 x10 ¹
507	Aerobios Mesófilos	8,48 x10 ⁴	1,65 x10 ⁴	3 x10 ⁴
	<i>E. coli</i>	6,8 x10 ³	2,08 x10 ³	1,01 x10 ³
	<i>S. aureus</i>	1,25 x10 ²	6,5 x10 ¹	8,13 x10 ²
	<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
	<i>Salmonella</i>	2,75 x10 ¹	0	1,93 x10 ²
289	Aerobios Mesófilos	6,4 x10 ⁴	1,13 x10 ⁴	2,69 x10 ⁴
	<i>E. coli</i>	7,1 x10 ³	1,09 x10 ³	9,13 x10 ²
	<i>S. aureus</i>	3,5 x10 ¹	4,25 x10 ¹	0
	<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
	<i>Salmonella</i>	2,5 x10 ²	0	8,25 x10 ¹
125	Aerobios Mesófilos	5,65 x10 ⁴	2,68 x10 ⁴	4,08 x10 ⁴

<i>E. coli</i>	1,31 x10 ⁴	2,38 x10 ³	1,02 x10 ³
<i>S. aureus</i>	7,2 x10 ²	1,38 x10 ²	5,5 x10 ¹
<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
<i>Salmonella</i>	3,1 x10 ²	1,3 x10 ²	1,5 x10 ¹

Tabla 5. Recuento microbiológico promedio de las muestras en el mercado El Valle.

Puesto	Microorganismo	Hojita	Corvina	Albacora
777	Aerobios Mesófilos	9,4 x10 ⁴	4,93 x10 ⁴	1,91 x10 ⁴
	<i>E. coli</i>	1,51 x10 ⁴	2,64 x10 ³	2,38 x10 ²
	<i>S. aureus</i>	2,18 x10 ²	6,35 x10 ²	9,75 x10 ¹
	<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
	<i>Salmonella</i>	2 x10 ¹	4,25 x10 ²	2,85 x10 ²

Nota. Esta tabla muestra el promedio de las dos semanas de pescados del Mercado el Valle.

Tabla 6. Recuento microbiológico promedio de las muestras en el mercado Sayausí.

Puesto	Microorganismo	Hojita	Corvina	Albacora
808	Aerobios Mesófilos	2,26 x10 ⁴	1,24 x10 ⁵	9,07 x10 ³
	<i>E. coli</i>	1,38 x10 ³	4,25 x10 ³	1,13 x10 ³
	<i>S. aureus</i>	1,82 x10 ³	3,05 x10 ²	1,7 x10 ²
	<i>Vibrio spp.</i>	0	0	0
	<i>Salmonella</i>	9,75 x10 ²	7 x10 ²	1,55 x10 ²

Con los resultados obtenidos del recuento microbiológico de cada microorganismo (Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*) de las especies de pescado analizadas, únicamente Aerobios mesófilos y *Vibrio spp.* cumplen con lo establecido en la Normativa Ecuatoriana NTE INEN 183:2013.

3.2 Comparación del estado microbiológico entre mercados y especies.

Se realizó una comparación de la carga microbiana entre mercados y entre especies de pescado, por cada microorganismo analizado; obteniéndose los siguientes resultados luego de aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Tabla 7. Comparación de resultados entre mercados

		Aerobios	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
		Mesófilos		
"EL ARENAL"	Media	4,61 x10 ⁴	4,99 x10 ³	2,2 x10 ²
	De	3,93 x10 ⁴	6,78 x10 ³	3,14 x10 ²
	N	30	30	30
"EL VALLE"	Media	5,41 x10 ⁴	5,98 x10 ³	3,16 x10 ²
	De	3,81 x10 ⁴	7,36 x10 ³	3,91 x10 ²
	N	6	6	6
"SAYAUSÍ"	Media	5,18 x10 ⁴	2,25 x10 ³	3,16 x10 ²
	De	6,57 x10 ⁴	1,69 x10 ³	3,91 x10 ²
	n	6	6	6
Valor p		0.7589	0,9345	0.0643

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la comparación entre mercados al aplicar la prueba estadística, por cada microorganismo respectivamente.

Tabla 8. Comparación de resultados entre pescados.

		Aerobios Mesófilos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Hojita	Media	6,76 x10 ⁴	1,08 x10 ⁴	4,32 x10 ²
	De	3,14 x10 ⁴	7,69 x10 ³	8,88 x10 ²
	N	14	14	14
Corvina	Media	5,27 x10 ⁴	2,68 x10 ³	3,25 x10 ²
	De	5,72 x10 ⁴	2,61 x10 ³	3,53 x10 ²
	N	14	14	14
Albacora	Media	2,41 x10 ⁴	7,17 x10 ²	1,78 x10 ²
	De	1,96 x10 ⁴	5,43 x10 ²	2,78 x10 ²
	N	14	14	14
Valor p		0,0070	0,0001	0,2079

Al realizar la comparación entre especies de pescados encontramos que existe una diferencia estadísticamente significativa para los pescados en los indicadores de Aerobios mesófilos, que nos indica la carga microbiana total presente en una muestra; a pesar de que cumplen con lo establecido en la Normativa Ecuatoriana NTE INEN 183:2013, la diferencia estadísticamente significativa luego de aplicar la prueba, se debe a que existe el crecimiento de otros microorganismos tanto indicadores como patógenos, es por eso que si están presentes en el análisis aunque se encuentren dentro de los límites permisibles, por otro lado, en el microorganismo *E. coli*, el cual es un indicador de contaminación fecal en los alimentos, por lo que los mismos no son seguros para el consumidor, es por ello que se deben tomar medidas de corrección de higiene tanto del manipulador como del área de trabajo para garantizar la salud de la población.

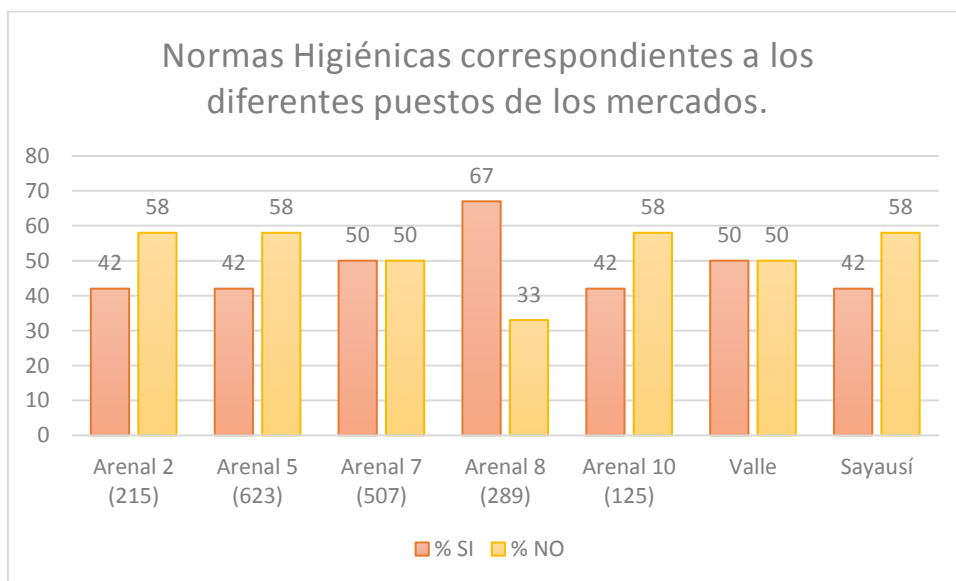
Se analizó presencia o ausencia de *Salmonella* en 42 muestras (tres muestras por duplicado por siete puestos de estudio), de los cuales 30 corresponden al Mercado Arenal, 6 al mercado El Valle y 6 al Mercado Sayausí.

Encontrándose *Salmonella* en 28 de las 42 muestras analizadas, esto debido a la contaminación cruzada que existe dentro de los puestos, tanto directa como indirecta; mientras que *Vibrio spp.* no se detectó en ninguna especie expendida en los diferentes puestos que formaron parte del estudio.

3.3 Condiciones Higiénicas de los diferentes puestos en los mercados.

Las siguientes tablas expuestas son la representación gráfica de las respuestas de encuestas realizadas en los puestos de mercados, las cuales nos describen si los puestos cuentan o no con las condiciones higiénicas adecuadas para la venta de pescados, para ello se realizó una gráfica de dos columnas, en las cuales se contó el número de respuestas de SI y NO expresados en porcentaje.

Gráfico 1. Porcentaje de cumplimiento de normas de higiene correspondientes a los mercados de las parroquias El valle, Sayausí y el mercado El Arenal.



El resultado de las encuestas proyectadas en las gráficas indica que tanto los puestos del Arenal como el del Valle y Sayausí no cumplen con una correcta higiene, en general

se observó que los expendedores no utilizan una vestimenta adecuada (uso de mandil y guantes), los utensilios no se lavan con frecuencia después de cada venta, el aseo no es frecuente luego de manipular el dinero de las ventas, los mesones no están limpios y los peces no se conservan en hielo.

Según los análisis microbiológicos y las encuestas que se realizaron a los diferentes puestos de los mercados el Arenal, el Valle y Sayausí; se obtuvo que el puesto 289 del Arenal es el más limpio al momento de expender el producto y la carga microbiana está dentro de la normativa INEN 183: 2013, los resultados y las encuestas respaldan en gran medida un índice bajo de organismos microbiológicos que puedan causar algún daño en la salud de las personas ya que en este puesto se cumple con un 67% de buenas condiciones higiénicas al momento de expender el pescado siendo el único puesto que sobresale más del 50% a diferencia de los demás puestos examinados.

4. Discusión

Aunque el pescado forma parte de una dieta saludable, su consumo no está fuera de riesgo. Los continuos brotes de infecciones asociadas a los productos del mar en todo el mundo han hecho que las estrategias de control existentes sean cuestionables. Por lo tanto, es necesario comprender los agentes etiológicos, los productos del mar asociados con la enfermedad y los mecanismos de contaminación que son susceptibles de control para la prevención de brotes de infecciones asociadas con los alimentos del mar.

El análisis de laboratorio no cumple con las condiciones microbiológicas especificadas de acuerdo a la normativa INEN 183:2013, la contaminación de los pescados se debe a la incorrecta manipulación de la materia prima durante todo el proceso hasta llegar al consumidor, en algunas ocasiones el agua de mar se encuentra contaminada debido a los desagües de ciertos hoteles, restaurantes como también de algunos transportes marítimos. Al momento de su transporte los pescados pueden conservarse en hielo, sin

embargo, durante su expendio en ferias o mercados estos no cumplen con ciertas condiciones que favorecen a que el producto se conserve de manera adecuada y sin contaminación; al no desinfectar la zona de trabajo y los utensilios con los que se suele cortar el pescado, puede existir una contaminación cruzada directa o indirecta.

Con los resultados obtenidos sobre la evaluación microbiológica de pescados frescos expendidos en los distintos mercados, se observó que, de los parámetros analizados, Aerobios mesófilos y *Vibrio spp.*, cumplen las características impuestas por la norma técnica “Requisitos microbiológicos para los pescados frescos refrigerados o congelados” INEN 183:2013. La ausencia de *Vibrio spp.*, es un resultado esperado a obtener ya que las medidas preventivas impuestas desde 1998 tales como: la desinfección del agua en el ámbito doméstico, cloración del agua en los centros de Salud del país, realización de campañas de educación entre los expendedores de alimentos sobre la manipulación adecuada de los mismos e implementación de técnicos de laboratorio en el diagnóstico bacteriológico precoz de *V. cholerae*, etc. contribuyeron a reducir el impacto de una nueva epidemia de cólera en el Ecuador, tanto en términos de letalidad como de incidencia (Gabastou, J. M., & Yadon, Z. E., 2002).

Referente a los indicadores de calidad evaluados en cada uno de los sitios de expendio en los mercados seleccionados encontramos que el patógeno de mayor predominio es: *E. Coli*. Es transcendental aludir que microorganismos como *S. aureus*, y *Salmonella*, se encuentran presentes en casi todas las muestras analizadas, sin embargo, son microorganismos que fácilmente se pueden eliminar por procesos de cocción, es decir sometiendo el alimento a temperaturas superiores a 60°C por un tiempo superior de 15 minutos con el objetivo de destruir la carga microbiana (Sánchez, J.D, 2015).

Previo al proceso de muestreo, se realizó un análisis visual y se llenaron encuestas con 12 normas higiénicas para poder conocer las condiciones sanitarias del lugar de expendio, teniendo como resultado que en diferentes puestos los pescados no cumplen

con el análisis organoléptico ideal, sus condiciones higiénico-sanitarias son deficientes y sus implementos necesarios para una correcta conservación del producto son escasos.

Los estudios elaborados por Cedeño, Cuenca, Talledo y Vargas, (2021) para Albacora (*Thunnus alalunga*) y Martínez, Romero (2015) para Corvina (*Argyrosomus regius*), analizaron la presencia de microorganismos patógenos e indicadores, en los cuales, los resultados de los análisis fueron de gran similitud con el estudio de autoría propia, con resultados positivos para: Aerobios mesófilos, *E. coli* y *Salmonella*, superando los límites establecidos por las normativas tanto ecuatoriana, NTE INEN 183:2013, como la del Salvador: Reglamento Técnico Centroamericano RTA 67.04.05:08. Por otra parte. *S.aureus* y *Vibrio spp.* resultaron negativo. Dadas estas comparaciones, se refleja las pocas condiciones higiénicas de los lugares de venta de estas especies.

En el estudio, Evaluación Microbiológica de Pescado Fresco Albacora (*Thunnus alalunga*) en el Mercado Central del Cantón Chone. Se determinó que las muestras de albacora presentaron *Aerobios mesófilos*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli*, estos microorganismos se encontraron sobre los límites máximos permisibles de acuerdo con la NTE INEN 183-2013 (Mendoza, A. L. C., & Nevárez, G. C., 2021).

Al expandir la búsqueda sobre el control microbiológico de pescados, encontramos un artículo realizado en Perú el cual lleva por nombre "Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco" (Vásquez, Tasayco, Chuquiyaui; 2018). En el que llegan a resultados similares donde las UFC/g de *E. coli* y *S. aureus*, están por encima de los niveles permitidos en la Norma Técnica Peruana (Carbajal et al., 2003). Dichos autores además de evaluar el estado microbiológico de pescados, evaluaron el nivel de educación de los expendedores. Llegando a la conclusión que existe una relación directa entre el nivel de estudio de los vendedores con el cumplimiento de las normas básicas de higiene.

Una vez realizados los análisis microbiológicos en cada uno de los puestos de los diferentes mercados, estos reflejan que en el puesto 289 existe menos presencia de microorganismos indicadores y patógenos, lo cual se puede relacionar con los resultados de las encuestas ya que este mismo puesto es el que presenta condiciones higiénicas ideales, sin embargo, existen algunas condiciones que deberían tenerse en cuenta para evitar la contaminación microbiológica de los peces.

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en el laboratorio nos indican que los pescados no cumplen con los requisitos microbiológicos mencionados en la normativa INEN 183: 2013. Aerobios mesófilos se encontraron dentro del límite permisible y *Vibrio spp.* estuvo ausente en todas las muestras debido a que es una enfermedad que se erradicó en el 2017 en el Ecuador ya que las medidas para controlar ETA por brotes de este microorganismo fueron muy cuidadosas para asegurar la salud de los consumidores. Al comparar los resultados obtenidos, entre mercados, el puesto 289 del mercado El Arenal es el que más requisitos microbiológicos cumple en relación a otros puestos y entre especies, obtuvimos que el pescado Albacora es el que menos contaminación microbiológica posee y el pescado Hojita es el más contaminado, al aplicar un test estadístico para comparar los resultados obtenidos entre mercados y peces, se obtuvo que no existe una diferencia significativa entre mercados, pero si existe diferencia para la comparación entre peces en el microorganismos Aerobios mesófilos, que nos indica la carga microbiana total en una muestra y *E. coli*, el cuál es un indicador de la presencia de heces en los mismos, es por eso que los puestos deben mejorar las condiciones higiénicas, las cuales han sido evaluadas mediante encuestas de preguntas cerradas (SI, NO) y se expresaron en porcentaje; en estas gráficas se observa que el puesto 289 del mercado El Arenal es el que mejores condiciones higiénicas posee.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda al personal encargado del expendio de pescado tener una mejor higiene en su lugar de trabajo, que las condiciones de los mesones y pisos se mejoren, también un correcto lavado de manos y utensilios, al igual que el producto sea conservado dentro de frigoríficos adecuados y en correcto estado para mantener al pescado fresco y así evitar la proliferación de microorganismos y el contacto con partículas de polvo o se encuentren expuestos a heces de insectos.

Implementar buenas prácticas de higiene en el lugar de trabajo, como en la manipulación del producto, de igual forma es importante mantener un buen aseo personal, así como una vestimenta adecuada y un área limpia de trabajo para el expendio de pescados, de esta forma se evitará la contaminación y con ello el crecimiento de microorganismos que puedan resultar perjudiciales para la salud.

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Debido a que solo las pruebas fueron aplicados a ciertos puestos seleccionados, es posible que los resultados no sean extensibles para todos los mercados que se encuentran dentro del cantón.

8. Referencias

- Acevedo, L., Mendoza, C., & Oyón, R. (2001). Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Sthaphylococcus* sp. Y hongos en ensaladas para perro calientes expendidas en la ciudad de Maracay, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(4), 366-370.
- Ampuero, J. M. V., Alcántara, W. R. T., Talenas, M. Á. C., & Sotil, S. A. (2018). Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco.
- ASSAL. (2018). ASSAI / ETA - Enfermedades Transmitidas por los Alimentos. <https://www.assal.gov.ar/eta/>
- Campuzano, S., Mejía Flórez, D., Madero Ibarra, catalina, & Pabón Sánchez, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. 13(23), 81-92.
- Carreño M, Arquino K. 2014. Evaluación de la calidad del Odentes regia regia "Pejerrey" que se expende en el mercado modelo y central del distrito de Huacho-Región Lima. 2014. Universidad Nacional Faustino Sánchez Carrión-Huacho
- Centers for Disease Control and Prevention & (CDC). (2018). *Vibrio cholerae* serogrupos O1 y O139.
- Erika Merchán & Christian Mocha (2018). Evaluación de la calidad microbiológica de ceviches y encebollados de pescado. Universidad de Cuenca. Carrera de Bioquímica y Farmacia, pp 30 - 31. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/30635/1/Trabajo%20de%20Titulaci%3%b3n.pdf>
- ELIKA. (2019). Tipos de Contaminación Alimentaria. 6.Tipos-de-contaminación-alimentaria.pdf

Fernandez F, S., & Alonso, G. (2009). Colera y Vibrio cholerae. Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, 40(2), 50-69.

Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., Varela, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, 5(2), 2284-2298. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433

Gabastou, J. M., Pesantes, C., Escalante, S., Narváez, Y., Vela, E., García, L., ... & Yadon, Z. E. (2002). Características de la epidemia de cólera de 1998 en Ecuador, durante el fenómeno de " El Niño". Revista panamericana de salud pública, 12(3), 157-164.

Garcinuño Martínez, R. M. (2019). CONTAMINACIÓN DE LOS ALIMENTOS DURANTE LOS PROCESOS DE ORIGEN Y ALMACENAMIENTO. UNED, 51-63.

Higiene Ambiental. (2019). Indicadores microbiológicos, higiene en industria alimentaria. <https://higieneambiental.com/indicadores-microbiologicos-higiene-en-la-industria-alimentaria>

Instituto Nacional de Aprendizaje. (2020). Microorganismos indicadores.

López Aday, D., Rivero Álvarez, E., Martínez Torres, A., & Alegret Rodríguez, M. (2013). Enfermedades transmitidas por alimentos en Villa Clara. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 51(2), 203-213.

Martinez,B, Romero,M (2015). Evaluación de la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el muelle del PUERTO DE LA LIBERTAD. Universidad de EL SALVADOR.

Méndez Reyes, E. (2008). Correlación entre la presencia de microorganismo indicadores de higiene y grupos patógenos de E. coli determinados por PCR en ensaladas de verduras crudas [Tesis de Pregrado]. Universidad Autónoma del

Estado de Hidalgo. Mendoza, A. L. C., Zambrano, P. A. V., Solórzano, V. T., & Nevárez, G. C. (2021). La Evaluación Microbiológica de Pescado Fresco Albacora (*Thunnus alalunga*) en el Mercado Central del Cantón Chone. *La Técnica*, 69-81.

Ministerio de Salud Pública (2021). SUBSISTEMA DE VIGILANCIA SIVE- ALERTA ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR AGUA Y ALIMENTOS ECUADOR, SE 52, 2020. <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/Etas-SE-52.pdf>

Motta, J. C., Forero, C., Arango, Á., Hernández Linares, I., Sánchez, M., Motta, J. C., Forero, C., Arango, Á., Hernández Linares, I., & Sánchez, M. (2020). Bacteriemia por *Vibrio cholerae* (no-O1/no O139): Reporte de caso. *Acta Médica Peruana*, 37(3), 341-345. <https://doi.org/10.35663/amp.2020.373.993>

Paz-y-Miño, M., Barzola, C., Lazcano, C., Ponce, M., & León, J. (2003). Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana en la potabilización del agua. *Revista Peruana de Biología*, 10(2), 133-144.

Pin Ramírez, L. A., & Valarezo Valarezo, R. F. (2017). Plan de mejoras técnicas para la manipulación y conservación de alimentos en el Mercado Municipal San Jacinto (Cooperativa Juan Montalvo). [Universidad Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20813/1/TESIS%20Gs.%202017%20-%20Plan%20de%20mejoras%20tecn%20manipul%20conserv%20alimentos.pdf>

R-Biopharma. (2016). Organismos indicadores. <https://food.r-biopharm.com/es/analitos/microbiologia/organismos-indicadores/>

Sánchez, J.D. (2015) OPS/OMS: Peligros Biológicos, Pan American Health Organization / World Health Organization. Available at:

https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3A2015-peligros-biologicos&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0

Shawyer.M, Medina .A.(2005). *El uso de hielo en pequeñas embarcaciones de pesca.*

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. <https://www.fao.org/3/y5013s/y5013s00.htm#Contents>

SIVE. (2021). Subsitema de Vigilancia SIVE-ALERTA. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS PRO AGUA Y ALIMENTOS SE20, 2021. MINISTERIO DE SALUD PUBLICA. <https://www.salud.gob.ec>

Varela Soto, Z. E. S., Pérez Lavalle, L., & Estrada Alvarado, dalidier. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: Una mirada en colombia. 32(1), 105-10122.

Weiler, N., Leotta, G. A., Zárate, M. N., Manfredi, E., Álvarez, M. E., & Rivas, M. (2011). Brote de intoxicación alimentaria asociado al consumo de leche ultrapasteurizada en la República del Paraguay. *Revista argentina de microbiología*, 43(1), 33-36.

Anexos

Anexo A

Encuestas de los mercados sobre las Buenas prácticas de Higiene

El vendedor tiene una vestimenta adecuada.

Sí No

El vendedor utiliza guantes o algún tipo de protección al momento de manipular el pescado.

Sí No

El puesto dispone de agua potable.

Sí No

El puesto dispone de congeladores o hielo para conservar a los pescados.

Sí No

Los instrumentos utilizados en el corte del pescado ya sea cuchillo o u otro se lava o mantiene algún tipo de higiene después de cada venta.

Sí No

El mesón en el puesto de expendio de pescado se encuentra limpios.

Sí No

Los pescados en los puestos de expendio cumplen con una buena apariencia visual.

Sí No

Tienen estantes específicos para cada tipo de pescado.

Sí No

Se lava las manos al momento de manipular el pescado y cuando cobra el dinero.

Sí No

Los pisos están en buen estado o limpios.

Sí No

El puesto tiene un buen drenaje de agua

Sí No

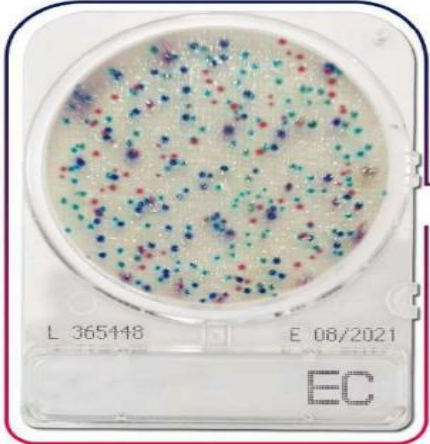

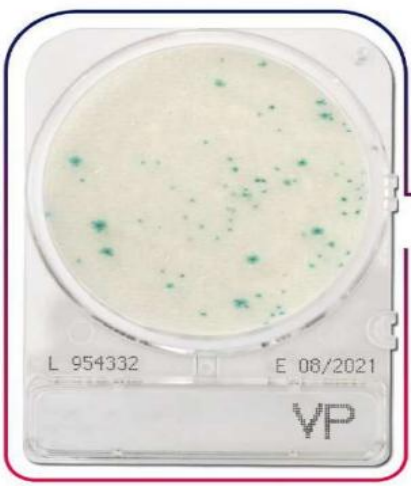
Los frigoríficos o tachos para almacenar el pescado están en buen estado.

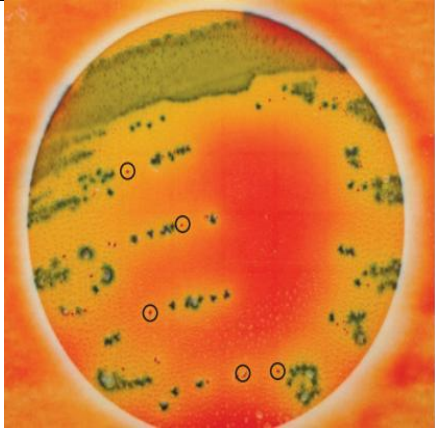
Sí No

Anexo B

Interpretación de los colores de las colonias

Microorganismo	Características de las colonias	Gráfico
Aerobios mesofilos	Colonias anaranjadas.	

<p><i>E. coli/coliformes</i></p>	<p>- <i>E. coli</i>: colonias azules</p> <p>- <i>Coliformes totales</i>: colonias rojas, azules y moradas</p>	 <p>L 365448 E 08/2021</p> <p>EC</p>
<p><i>S. aureus</i></p>	<p>- Colonias azules o celestes.</p>	 <p>L 835469 E 08/2021</p> <p>XSA</p>
<p><i>Vibrio parahaemolyticus</i></p>	<p>- Colonias azules o azules verdosas.</p>	 <p>L 954332 E 08/2021</p> <p>VP</p>

<p><i>Salmonella</i></p>	<p>- Positivo: colonias azules oscuras o negras, producción de gas; presuntivas: colonias rosas con halo amarillo.</p>	
--------------------------	--	--

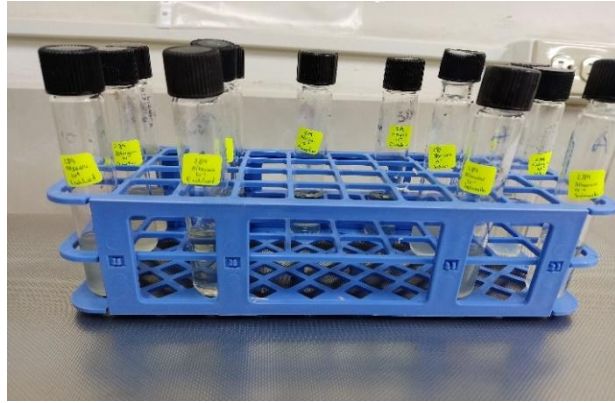
Anexo C



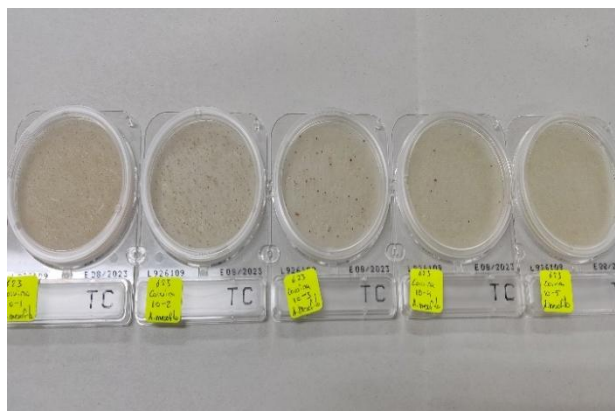
Fotografía 1. Visualización de las condiciones higiénicas del puesto 507 “, Mercado el Arenal”.



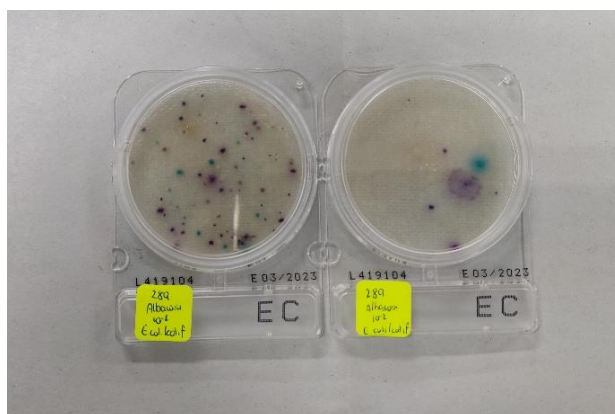
Fotografía 2. Toma de muestras, puesto 215 “El Arenal”.



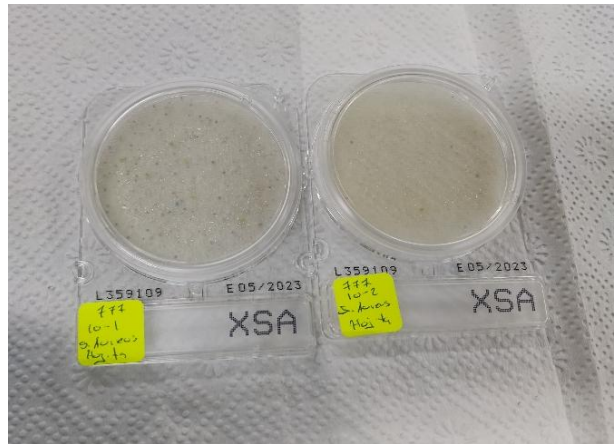
Fotografía 3. Preparación de las diluciones del puesto 289, “Mercado el Arenal”.



Fotografía 4. Análisis de Aerobios mesófilos en *Argyrosomus Regius* (corvina), puesto 623, “Mercado el Arenal”.



Fotografía 5. Análisis de *Escherichia coli* y coliformes en *Thunnus Alalunga* (albacora), puesto 289, “Mercado el Arenal”.



Fotografía 6. Análisis de *Estafilococo aureus* en *Chloroscombrus chrysurus* (hojita), puesto 777, “Mercado el Valle”.



Fotografía 7. Análisis de *Salmonella* en *Thunnus Alalunga* (albacora), puesto 507, “Mercado el Arenal”.



Fotografía 8. Análisis de *Vibrio* spp. en *Argyrosomus Regius* (corvina), puesto 808, "Mercado Sayausí".