

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE AGROPECUARIA

Tema: "Identificación de la bacteria *Shigella spp* en la leche cruda y factores de riesgo en la ciudad de Tulcán".

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de Ingeniero en Agropecuaria

AUTOR: Puenayan Puenayan Luis Dario

TUTOR: Dr. Campos Vallejo Rolando Martin, MSc.

Tulcán, 2026.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que el estudiante Puenayan Puenayan Luis Dario con el número de cédula 0402108781 ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Identificación de la bacteria *Shigella spp* en la leche cruda y factores de riesgo en la ciudad de Tulcán."

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en la Codificación del Reglamento de Régimen Académico y de Estudiantes de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.

Dr. Campos Vallejo Rolando Martin, MSc.

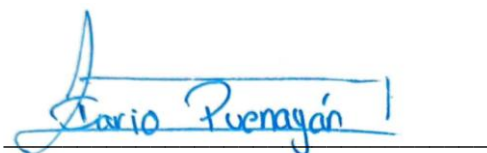
TUTOR

Tulcán, julio de 2026

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingeniero en la Carrera de agropecuaria de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Puenayan Puenayan Luis Dario con cédula de identidad número 0402108781 declaro que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



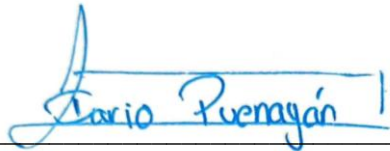
Puenayan Puenayan Luis Dario

AUTOR

Tulcán, julio de 2026

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, Puenayan Puenayan Luis Dario declaro ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Identificación de la bacteria *Shigella spp* en la leche cruda y factores de riesgo en la ciudad de Tulcán." y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.

A handwritten signature in blue ink, reading "Luis Dario Puenayan", is written over a horizontal line.

Puenayan Puenayan Luis Dario

AUTOR

Tulcán, julio de 2026

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por ser el mi guía, mi luz, mi fe, mi fortaleza quien ha forjado mi camino y me ha dirigido por el sendero correcto. El que en todo momento está conmigo ayudándome a aprender de mis errores y a no cometerlos otra vez. Eres quien guía el destino de mi vida.

A mi angelito en el cielo a mi abuelita Cristina, a mis padres, Janeth y Aníbal, por su amor, sabiduría, consejos, mi ancla de apoyo y mi abrigo. Gracias por cuidarme, por creer en mí y estar conmigo en este proceso. Logro que también es para ustedes.

A mi hermano Cristian, gracias por tu cariño, compañía y ser el que te inspira, mi motivación a seguir adelante.

A mis amigos del Colegio que están pendientes en todo momento Edison, Julián, Kevin y en especial a mis compañeros de este recorrido Jordan y Marilyn en darme su amistad sincera, su apoyo en cada momento importante y recuerdos vividos.

De manera especial, expreso mi agradecimiento al MSc. Martin Campos, tutor de mi tesis, por su guía constante, sus valiosos consejos y su paciencia a lo largo de todo el proceso. Asimismo, agradezco al MSc. Marcelo Ibarra por el apoyo brindado, sus orientaciones y la paciencia demostrada durante el desarrollo de este trabajo.

Y a todos los docentes de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, gracias por compartir sus conocimientos, experiencias y formar parte de mi crecimiento profesional.

Finalmente, agradezco a todas las personas que me brindaron su apoyo y motivación, en especial a mis familiares, cuyo acompañamiento incondicional fue fundamental. Cada uno forma parte de este logro.

“El amor de Dios es la esencia de la felicidad, pensar en ÉL es hallarse en vía de remedio...”

Juan Montalvo

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con todo mi corazón, amor y gratitud a mi angelito a mi abuelita Cristina. Sé que estás orgullosa de mí. Aunque no alcanzaste a verme en esta etapa de mi vida, siento tu presencia conmigo en cada paso que doy. Sé que me has guiado hasta donde hoy estoy gracias por cuidarme siempre. Un beso hasta el cielo.

A mis padres Janeth y Aníbal mi ancla de apoyo. Ustedes son una de las razones más profundas por las que sigo adelante en este nuevo escalón de mi vida, sabiendo que aún quedan muchos más por alcanzar, logro que es importante para mí y quería compartirlo con ustedes porque, desde el primer día de mi vida, han estado siempre a mi lado, acompañándome tanto en los momentos buenos como en los difíciles. Nada de esto habría sido posible sin su apoyo constante, su confianza y su presencia incondicional.

Mis guías en cada etapa, desde las locuras hasta los retos más difíciles que he logrado superar gracias a ustedes. Siempre han estado ahí, acompañándome y apoyándome en todo momento. Estoy profundamente agradecido de haber crecido a su lado, porque con sus enseñanzas ejemplo hoy soy una persona de bien, y todo lo que soy ahora es reflejo de ustedes.

Gracias por cada sacrificio, por cada gesto de amor por ser el mayor ejemplo de entrega y fortaleza en mi vida. Todo lo que he logrado lo he hecho llevándolas siempre en el corazón.

Puenayan Puenayan Luis Dario

ÍNDICE

RESUMEN	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUCCIÓN	15
I. EL PROBLEMA.....	17
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	19
1.3. JUSTIFICACIÓN	19
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	22
1.4.1. Objetivo General	22
1.4.2. Objetivos Específicos.....	22
1.4.3. Preguntas de Investigación.....	22
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	23
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	23
2.2. MARCO TEÓRICO	31
2.2.1. <i>Shigella spp.</i>	31
2.2.2. Origen de la bacteria <i>Shigella spp.</i>	32
2.2.3. Morfología y Propiedades Tintoriales.	32
2.2.4. Fisiología y Metabolismo	33
2.2.5. Taxonomía.....	33
2.2.6. Clasificación Serológica	33
2.2.7. Vía de transmisión de la bacteria	34
2.2.8. Prevalencia.....	34
2.2.8.1. Prevalencia Mundial.....	34
2.2.8.2. Prevalencia en América Latina	34

2.2.8.3. Prevalencia en Ecuador	35
2.2.9. Inocuidad Alimentaria	35
2.2.10. Producción ganadera en el Ecuador	35
2.2.11. Producción lechera en el Ecuador	36
2.2.12. Calidad e inocuidad de la leche	36
2.2.13. Factor de Riesgo	36
2.2.13.1 Identificación de factores de riesgo.....	36
2.2.13.2. Factores de riesgo de <i>Shigella spp.</i>	38
2.2.13.3. Riesgos asociados a la higiene del entorno y equipos de ordeño	38
2.2.13.4. Riesgos asociados al manejo y comercialización de la leche cruda	39
2.2.14. Detección Microbiológica de <i>Shigella spp.</i>	40
2.2.14.1. Fase de pre-enriquecimiento bacteriano.....	41
2.2.14.2. Fase de aislamiento selectivo y diferencial	42
2.2.14.3. Diagnóstico Diferencial.....	42
2.2.15. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	42
2.2.16. PCR Cuantitativa (qPCR)	43
2.2.16.1. Principio de Detección mediante Sondas TaqMan (Texas Red)	43
2.2.16.2. Texas Red	43
III. METODOLOGÍA	44
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	44
3.1.1. Enfoque	44
3.1.2. Tipo de Investigación	44
3.1.2.1. Exploratoria	44
3.1.2.2. De campo.....	44
3.2. HIPÓTESIS	45
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	45
3.3.1. Definición de las variables.....	45
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	47

3.4.1. Localización de la investigación	47
3.4.2. Descripción y caracterización de la investigación	47
3.4.3. Fase I: Levantamiento de información epidemiológica (Encuesta)	48
3.4.4. Fase II: Trabajo de campo y recolección de muestras.....	48
3.4.4.1. Materiales necesarios para muestreo	48
3.4.4.2. Procedimiento para la toma de muestras:.....	48
3.4.4.3. Identificación, conservación y traslado de muestras	49
3.4.5. Fase III: Procedimiento de laboratorio.....	50
3.4.5.1. Procedimiento de laboratorio microbiológico (Pre-enriquecimiento y Aislamiento)	50
3.4.5.2. Extracción de ADN	54
3.4.5.3. Traslado de material genético para análisis molecular.....	54
3.4.5.4. Identificación molecular por qPCR para <i>Shigella spp.</i>	55
3.4.5.5. Conteo de muestras positivas tanto microbiológica y qPCR.	56
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58
3.5.1. Prevalencia	58
3.5.2. Análisis de factores de riesgo atribuidos a la enfermedad.....	58
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.1. RESULTADOS	61
4.1.1. Presencia de <i>Shigella spp.</i> , mediante análisis microbiológico en muestras de leche	61
4.1.2. Detección <i>Shigella spp.</i> , mediante técnicas moleculares qPCR.....	61
4.1.2.1 Resultado de las pruebas microbiológicas y su comparación con la prueba qPCR.	62
4.1.3. Determinación Prevalencia	63
4.1.4. Análisis de los factores de riesgo asociados a la presencia de <i>Shigella spp.</i>	63
4.1.4.1. Ubicación.....	63
4.1.4.2. Tipo de ordeño	64

4.1.4.3. Tipo de Fuente de agua	64
4.1.4.4. Aseo del ordeño	64
4.1.4.5. Aseo de manos	64
4.1.4.6. Medidas de bioseguridad	65
4.1.4.7. Limpieza de ubres	65
4.1.4.8. Lugar donde ordeña se encuentra en condiciones.....	65
4.1.4.9. Desecho del despunte	66
4.1.4.10. Prueba de Mastitis.	66
4.1.4.11. Uso de recipientes durante el ordeño	66
4.1.4.12. Vacas enfermas las ordeña al final	66
4.1.4.13. Sellante después del ordeño	67
4.1.4.14. El recipiente (cantina) al traslado de enfriamiento	67
4.1.4.15. Método de enfriamiento	67
4.1.4.16. Lavado de utensilios	68
4.1.4.17. Aseo del ordeño al finalizar	68
4.2. DISCUSIÓN	69
4.2.1. Identificación de <i>Shigella spp.</i> , mediante análisis microbiológicos en muestras de leche bovina recolectadas en la ciudad de Tulcán.....	69
4.2.2. Confirmación de <i>Shigella spp.</i> , mediante técnicas moleculares (qPCR) ...	70
4.2.3. Determinación de la prevalencia de <i>Shigella spp.</i>	71
4.2.4. Relación entre la presencia de <i>Shigella spp.</i> , y los factores de riesgo identificados en la ciudad de Tulcán	72
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	75
5.1. CONCLUSIONES.....	75
5.2. RECOMENDACIONES	76
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
VII. ANEXO.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la bacteria <i>Shigella spp</i>	33
Tabla 2. Clasificación Serológica	34
Tabla 3. Matriz de operacionalización de variables.....	46
Tabla 4. Características geográficas de las parroquias Urbina y Tufiño	47
Tabla 5. Cebadores y sondas para la detección de <i>Shigella spp.</i> , mediante qPCR..	55
Tabla 6. Tabla de contingencia.....	60
Tabla 7. Comparación de resultados entre microbiológico con qPCR	62
Tabla 8. Chi cuadrado para la relación entre <i>Shigella spp.</i> , y los factores de riesgo de las parroquias.....	63
Tabla 9. Odds Ratio de Tipo de ordeño en los hatos ganaderos	64
Tabla 10. Odds Ratio de Tipo de Agua en los hatos ganaderos	64
Tabla 11. Odds Ratio de la Limpieza del ordeño en los hatos ganaderos.....	64
Tabla 12. Odds Ratio de la Limpieza de las manos en los hatos ganaderos.....	65
Tabla 13. Odds Ratio del uso de mandil u overol en los hatos ganaderos.....	65
Tabla 14. Odds Ratio y chi-cuadrado de limpieza de ubres en los hatos ganaderos	65
Tabla 15. Odds Ratio y chi-cuadrado de las condiciones del lugar en los hatos ganaderos.....	65
Tabla 16. Odds Ratio del desecho del despunte en los hatos ganaderos	66
Tabla 17. Odds Ratio de la prueba de mastitis en los hatos ganaderos	66
Tabla 18. Odds Ratio al uso de recipientes en los hatos ganaderos	66
Tabla 19. Odds Ratio de contaminación cruzada en los hatos ganaderos.....	67
Tabla 20. Odds Ratio con aplicación de sellante en los hatos ganaderos	67
Tabla 21. Odds Ratio sobre el traslado al tanque de enfriamiento en los hatos ganaderos.....	67
Tabla 22. Odds Ratio sobre al tipo de enfriamiento en los hatos ganaderos	68
Tabla 23. Odds Ratio sobre el lavado de utensilios en los hatos ganaderos.....	68
Tabla 24. Odds Ratio aseo del ordeño al finalizar en los hatos ganaderos	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Bacteria <i>Shigella</i> spp.	32
Figura 2. Ubicación geográfica de las parroquias Tufiño y Urbina.....	47
Figura 3. Lugar de acopio	49
Figura 4. Medio de cultivo Infusión Cerebro-Corazón. (BHI).....	50
Figura 5. Transfiriendo 36 ml de caldo (BHI) y 4 mL de muestra de leche cruda a un tubo Falcon estéril.....	51
Figura 6. Muestras colocadas en la incubadora con agitación	51
Figura 7. Agar Hektoen Enteric	52
Figura 8. Estriado en la superficie del medio	53
Figura 9. Condiciones de termociclador en tiempo real para la detección molecular de <i>Shigella</i> spp.	56
Figura 10. Identificación fenotípica de <i>Shigella</i> spp., en Agar Hektoen Enteric.	57
Figura 11. Muestra positiva proveniente de la Parroquia de Tufiño.	57
Figura 12. Muestra positiva proveniente de la Parroquia de Urbina.	58
Figura 13. Resultados de la qPCR para la detección del gen ipaH en muestras de leche cruda.	62

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas.....	86
Anexo 2. Encuesta de determinación de factores de riesgo a las buenas prácticas de ordeño.	88
Anexo 3. Pruebas de <i>Shigella</i> spp., por qPCR	90

RESUMEN

La bacteria *Shigella spp.* es un bacilo Gram negativo asociado a infecciones entéricas en humanos y reconocido como agente causal de la disentería bacilar. Su transmisión ocurre principalmente por vía fecal-oral a través de agua o alimentos contaminados, entre ellos la leche cruda. En tal sentido el presente estudio fue identificar la presencia de *Shigella spp.* en muestras de leche bovina y analizar los factores de riesgo asociados en las parroquias de Tufiño y Urbina aledañas a la ciudad de Tulcán, Provincia del Carchi. Se recolectaron 384 muestras de leche cruda recolectadas en hatos ganaderos. Paralelamente se aplicó una encuesta mediante entrevista a los productores para registrar prácticas de manejo relacionadas con el ordeño y la manipulación de la leche. La detección bacteriana se realizó mediante aislamiento microbiológico en medio selectivo Hektoen Enteric Agar y posterior confirmación mediante técnicas moleculares de qPCR. Los resultados evidenciaron concordancia entre ambos métodos diagnósticos, identificándose 37 muestras positivas para *Shigella spp.*, lo que corresponde a una prevalencia total de 9,63 %. A nivel territorial se registraron 17 muestras positivas en la parroquia de Urbina (11,03 %) y 20 en Tufiño (8,69 %). El análisis de factores de riesgo mostró asociación con diversas prácticas de manejo higiénico durante el ordeño, entre ellas el uso de ordeño manual, el empleo de agua no potable, la ausencia de lavado de manos previo al ordeño, la falta de indumentaria de protección, el uso de recipientes no exclusivos para la recolección de leche, el despunte inadecuado, la falta de desinfección de utensilios y deficiencias en los sistemas de enfriamiento. La prevalencia observada evidencia que las condiciones higiénico-sanitarias del proceso de ordeño influyen en la contaminación microbiológica de la leche cruda, lo que representa un riesgo para la inocuidad del producto destinado al consumo humano y la salud pública local.

Palabras Claves: *Shigella spp.*, leche, factores riesgo, microbiología, qPCR

ABSTRACT

The bacterium *Shigella spp.* is a Gram-negative bacillus associated with enteric infections in humans and recognized as the causative agent of bacillary dysentery. Transmission occurs primarily via the fecal-oral route through contaminated water or food, including raw milk. In this regard, the present study aimed to identify the presence of *Shigella spp.* in bovine milk samples and analyze the associated risk factors in the parishes of Tufiño and Urbina near Tulcán city, Carchi Province. A total of 384 raw milk samples were collected from cattle herds. Concurrently, a survey was conducted through interviews with producers to document management practices related to milking and milk handling. Bacterial detection was performed via microbiological isolation on Hektoen Enteric Agar selective medium, followed by confirmation using qPCR molecular techniques. The results showed agreement between the two diagnostic methods, with 37 samples testing positive for *Shigella spp.*, corresponding to an overall prevalence of 9.63%. At local level, 17 positive samples were recorded in the parish of Urbina (11.03%) and 20 in Tufiño (8.69%). Analysis of risk factors revealed an association with various hygiene practices during milking, including manual milking, the use of non-potable water, failure to wash hands prior to milking, lack of protective clothing, the use of non-dedicated containers for milk collection, improper teat trimming, failure to disinfect equipment and deficiencies in cooling systems. The observed prevalence indicates that the hygiene and sanitary conditions of the milking process influence the microbiological contamination of raw milk, which poses a risk to the safety of the product intended for human consumption and to local public health.

Keywords: *Shigella spp.*, milk, risk factors, microbiology, qPCR

INTRODUCCIÓN

La bacteria *Shigella spp.*, es un patógeno humano perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, clasificado como un bacilo Gram negativo, inmóvil y anaerobio facultativo, reconocido como el principal agente causal de la shigelosis o disentería bacilar. Su transmisión ocurre principalmente por la vía fecal-oral, a través del consumo de agua, leche cruda y otros alimentos contaminados, lo que representa un riesgo significativo para la salud pública, considerando que el ser humano constituye su principal reservorio (Ahn *et al.*, 2024).

Esta problemática tiene un impacto directo sobre la inocuidad alimentaria, afectando tanto a productores como a consumidores. Los signos clínicos más frecuentes de la shigelosis en seres humanos incluyen fiebre, dolor abdominal, vómitos y diarrea aguda, la cual puede presentar sangre o mucosidad (Ahn *et al.*, 2024). En el sector lácteo, la presencia de este patógeno genera alertas sanitarias relevantes, especialmente en contextos donde las normas técnicas de ordeño no se aplican de manera adecuada, lo que incrementan el riesgo de contaminación del producto (Albuja *et al.*, 2021).

A nivel global, se calcula que las infecciones por *Shigella spp.*, oscilan entre 80 y 165 millones de casos anuales, con una mortalidad estimada en 600,000 fallecimientos (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2024). En Ecuador, la vigilancia epidemiológica ha reportado casos confirmados a nivel nacional, identificando que la leche cruda informal presenta índices críticos de contaminación por enterobacterias, vinculados directamente a la deficiencia de higiene en las zonas rurales (Ministerio de Salud Pública, 2025).

Aunque actualmente se desconoce la presencia real de *Shigella spp.*, en los sistemas de producción locales, investigaciones previas la identifican como un indicador crítico de contaminación, los estudios han reportado prevalencias del 7% en leche cruda y hasta un 13% en derivados (Elkenany *et al.*, 2022), lo que evidencia el riesgo latente en la cadena láctea.

En las parroquias de Tufiño y Urbina, existen condiciones de manejo higiénico-sanitario deficiente y una alta informalidad en el sector pecuario. La combinación de factores como el uso de agua no potable, la falta de aseo en el ordeño, la baja bioseguridad

del personal y la limitada inversión en infraestructura técnica, por parte de los pequeños productores, aumenta de manera significativa el riesgo de contaminación en la cadena producto (Agrocalidad, 2023).

El estudio tuvo como objetivo identificar la bacteria *Shigella spp.*, en leche cruda y determinar los factores de riesgo asociados en las parroquias de Tufiño y Urbina de la ciudad Tulcán. Para ello, se aplicaron metodologías de diagnóstico microbiológico y molecular mediante la técnica de PCR cuantitativa (qPCR), con el propósito de generar información científica que permita fortalecer las estrategias de prevención y garantizar la inocuidad del producto.

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La actividad lechera constituye uno de los principales pilares de la economía de la provincia del Carchi, debido a su aporte al desarrollo rural y a la generación de ingresos para numerosas familias vinculadas al sector agropecuario. La presencia de deficiencias técnicas en el manejo higiénico-sanitario de la leche cruda compromete la sostenibilidad económica del sector, dado que dificulta el cumplimiento de estándares de inocuidad alimentaria cada vez más exigentes en los mercados regionales y nacionales. Tales limitaciones restringen la competitividad, retrasan la incorporación de mejoras productivas y generan desinterés entre pequeños productores que operan con márgenes económicos reducidos (Carvajal *et al.*, 2024).

La leche cruda, cuando no es manipulada bajo condiciones adecuadas de higiene, puede actuar como vehículo de transmisión de infecciones zoonóticas relevantes, entre las cuales la bacteria *Shigella spp.*, presenta una elevada importancia desde el punto de vista sanitario. La presencia del patógeno se asocia a la shigelosis, enfermedad caracterizada por una considerable carga de morbilidad que afecta con mayor intensidad a poblaciones vulnerables, especialmente en contextos donde el acceso a servicios básicos y prácticas de saneamiento resulta limitado (Organización Panamericana de la Salud, 2025).

El desconocimiento de los riesgos asociados a la presencia de *Shigella spp.*, en la producción lechera ha favorecido la aplicación deficiente de prácticas de aseo durante las diferentes etapas del ordeño. Desde la perspectiva agropecuaria y de la salud animal, la detección del microorganismo en entornos ganaderos representa un indicador crítico de fallas en la aplicación de normas de bioseguridad, en el manejo sanitario del hato y en el control de fuentes potenciales de contaminación, factores que incrementan la probabilidad de alteraciones en la calidad microbiológica de la leche (Ministerio de Salud Pública, 2025).

La literatura científica describe a *Shigella spp.*, como un patógeno de reservorio humano; no obstante, la contaminación de fuentes hídricas, la presencia de pasturas

contaminadas y la aplicación inadecuada de prácticas de higiene favorecen el contacto indirecto de los bovinos con el microorganismo, lo que deriva en la contaminación del producto lácteo durante el ordeño o durante etapas posteriores de manipulación (Villalobo, 2011). Tal dinámica adquiere mayor relevancia en sistemas productivos que carecen de un control riguroso de las condiciones sanitarias del entorno.

La detección de *Shigella spp.*, en ganado bovino no suele asociarse con manifestaciones clínicas evidentes, circunstancia que facilita la diseminación silenciosa del patógeno entre hatos y a lo largo de la cadena productiva. La contaminación ambiental por materia fecal humana, la gestión inadecuada de aguas residuales, las prácticas deficientes de higiene durante el ordeño y el manejo inapropiado de las instalaciones pecuarias incrementan de manera significativa el riesgo de introducción y propagación del microorganismo. El control sanitario y la aplicación sostenida de medidas de bioseguridad resultan determinantes para reducir la probabilidad de contaminación de la leche cruda (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2024).

La disponibilidad limitada de investigaciones orientadas a identificar la prevalencia de *Shigella spp.*, en la leche cruda producida en la provincia del Carchi, particularmente en la ciudad de Tulcán, restringe la generación de información científica a nivel local. La escasez de datos dificulta la adopción de medidas preventivas eficaces por parte de los productores, situación que resulta preocupante al considerar que numerosas fincas lecheras operan bajo prácticas inadecuadas de manejo e higiene, favoreciendo la persistencia del riesgo sanitario (ELIKA, 2025).

El bienestar animal influye de forma directa en la carga microbiana de la leche, debido a que factores como el estrés fisiológico y la presencia de procesos infecciosos incrementan la susceptibilidad a la contaminación por patógenos entéricos. La presencia de *Shigella spp.*, en la cadena láctea, asociada a deficiencias en el manejo primario del ganado, representa un riesgo sanitario relevante que compromete la calidad del producto y la seguridad del consumidor final (Valdivia et al., 2021).

La realidad socioeconómica de la ciudad de Tulcán incrementa la complejidad del problema, considerando que una proporción significativa de pequeños productores enfrenta limitaciones económicas que dificultan la inversión en tecnología,

infraestructura de ordeño y servicios de salud animal. Dichas restricciones estructurales reducen la adopción de buenas prácticas productivas y sanitarias, manteniendo condiciones que favorecen la contaminación de la leche cruda y la persistencia de riesgos para la salud pública (Quirola y Burneo, 2025).

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los factores de riesgo que están asociados a la presencia de la bacteria *Shigella spp.*, en los hatos ganaderos de la ciudad Tulcán en la provincia del Carchi?

1.3. JUSTIFICACIÓN

La actividad ganadera constituye el principal soporte de la economía rural en la provincia del Carchi, sustentada en sistemas de Unidades de Producción Agropecuaria (UPAs), donde la producción de leche asegura la subsistencia cotidiana de un elevado número de familias. La cadena de valor láctea cumple un rol determinante en la estabilidad económica local, considerando que la producción y comercialización de leche permiten cubrir necesidades básicas y sostener la dinámica productiva de las comunidades rurales. Cualquier alteración en dicha cadena genera repercusiones directas sobre la seguridad alimentaria, la cohesión social y la viabilidad económica de las unidades productivas (Barragán, 2023).

El sector lácteo representa un componente estratégico para la seguridad alimentaria y el desarrollo socioeconómico del Ecuador. La producción nacional alcanza aproximadamente 5,6 millones de litros diarios de leche cruda INEC (2024), volumen que aporta alrededor del 4 % al Producto Interno Bruto agroalimentario y del cual dependen de manera directa cerca de 1,2 millones de personas (Lonita, 2022). El consumo per cápita anual se sitúa en 108 litros (MAG, 2024)., cifra que incluye leche cruda destinada al consumo directo. La elevada participación de pequeños productores, que representan alrededor del 80 % del total, junto con una cobertura limitada de asistencia técnica cercana al 4 %, configura un escenario con alta vulnerabilidad sanitaria que requiere atención prioritaria para proteger la salud pública y garantizar la sostenibilidad del sector (Centro de la Industria Láctea, 2025).

La investigación de *Shigella spp.*, adquiere relevancia en el ámbito de la salud pública debido a su elevada carga de morbilidad y a su participación frecuente en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. La Organización Mundial de la Salud ha clasificado a este patógeno como una prioridad de nivel alto en los programas de vigilancia de resistencia antimicrobiana, considerando la aparición

progresiva de cepas multirresistentes a tratamientos de primera línea (Organización Mundial de la Salud, 2022). Su peligrosidad se relaciona con una baja dosis infectiva, estimada entre 10 y 100 microorganismos con la capacidad de persistir en matrices como el agua y alimentos de consumo masivo, entre los cuales la leche y los derivados lácteos actúan como vehículos relevantes de transmisión en contextos con sistemas de saneamiento vulnerables (Instituto Nacional de Salud, 2021). Analizar la prevalencia de la shigelosis y sus factores de riesgo es fundamental para mitigar su impacto, ya que sigue siendo una causa persistente de morbilidad, desnutrición infantil y mortalidad a nivel mundial (Encyclopedia Britannica, 2025).

La detección de *Shigella spp.*, en la leche cruda ha contribuido a fortalecer la atención sobre la inocuidad alimentaria en territorios con alta dependencia de la producción láctea, como en la ciudad de Tulcán. La identificación del patógeno ha motivado procesos de capacitación orientados al cumplimiento de normativas técnicas y al fortalecimiento de prácticas de manejo higiénico en la producción primaria, promoviendo una articulación entre productores y profesionales del ámbito sanitario para enfrentar los riesgos asociados a la contaminación microbiológica de la leche (Valdivia *et al.*, 2021).

El sector ganadero de la ciudad de Tulcán presenta condiciones favorables para mejorar la salud animal y la calidad de la producción lechera mediante la adopción de prácticas adecuadas de manejo e higiene. La leche cruda constituye un medio propicio para el crecimiento de microorganismos transmitidos por alimentos y agentes zoonóticos, debido a sus propiedades fisicoquímicas que favorecen la proliferación bacteriana, lo que refuerza la necesidad de controles sanitarios rigurosos durante el ordeño y la manipulación posterior (Nieto *et al.*, 2022).

La identificación precisa de *Shigella spp.*, en la cadena de producción láctea y en el entorno poblacional resulta esencial para la gestión de la salud pública, dado que permite pasar de la sospecha epidemiológica a la evidencia científica de contaminación. La confirmación del patógeno facilita la detección temprana y el control oportuno de brotes de shigelosis, enfermedad de transmisión alimentaria que representa un riesgo significativo de morbilidad, especialmente en grupos poblacionales vulnerables (Organización Panamericana de la Salud, 2023).

La formación técnica de los productores constituye un eje fundamental para reducir los riesgos sanitarios asociados a la producción de leche cruda. La comprensión de

la relación entre prácticas de manejo, condiciones de higiene y contaminación microbiológica permite diseñar programas de capacitación orientados a mejorar la calidad del producto final (Alenezi *et al.*, 2024). La adopción de medidas adecuadas durante el ordeño, la desinfección de equipos y el mantenimiento de la salud animal contribuyen de manera directa a disminuir la presencia de *Shigella spp.*, en la producción láctea (Barragán, 2023).

El estudio se orienta a generar información sobre la prevalencia de *Shigella spp.*, en la producción lechera la ciudad de Tulcán y a fortalecer la conciencia sobre la inocuidad alimentaria entre los productores locales. La difusión de los resultados mediante procesos de sensibilización y capacitación busca promover la adopción de prácticas seguras que reduzcan el riesgo de contaminación, contribuyendo al desarrollo sostenible de la actividad lechera y a la protección de la salud de los consumidores (Lucumí, 2023).

La microbiología de los alimentos constituye el fundamento científico del estudio, al permitir la detección, identificación y cuantificación de agentes patógenos que comprometen la inocuidad alimentaria. En el caso de *Shigella spp.*, el abordaje microbiológico resulta indispensable debido a la complejidad de su aislamiento y a su estrecha relación filogenética con otros microorganismos, como *Escherichia coli*, que pueden generar confusión diagnóstica (Organización Panamericana de la Salud, 2025).

La confirmación del patógeno en matrices complejas, como la leche cruda, requiere métodos capaces de superar las limitaciones de los procedimientos tradicionales. La microbiología aplicada permite evaluar la supervivencia del microorganismo bajo diferentes condiciones ambientales y de almacenamiento, generando información objetiva para la gestión de riesgos y el fortalecimiento de normativas sanitarias orientadas a la protección del consumidor (Food and Drug Administration, 2025).

El uso de la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) se sustenta en su elevada sensibilidad, especificidad y rapidez en comparación con los métodos microbiológicos convencionales. En matrices complejas como la leche cruda, la detección de *Shigella spp.*, representa un desafío debido a su baja dosis infectiva y a su relación filogenética con *Escherichia coli*, situación que suele generar resultados ambiguos mediante técnicas de cultivo tradicionales (Nuñez *et al.*, 2025).

La qPCR permite la identificación precisa de genes de virulencia específicos, como el gen *ipaH*, garantizando una diferenciación inequívoca incluso en muestras con baja carga bacteriana. La reducción de los tiempos de diagnóstico, de varios días a pocas horas, posibilita una respuesta oportuna ante riesgos sanitarios. Al tratarse de un método cuantitativo, la técnica permite determinar la carga bacteriana con precisión, información clave para la evaluación de riesgos y la toma de decisiones en salud pública (Global Food Safety Initiative, 2024).

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Identificar la bacteria *Shigella spp.*, en leche cruda y factores de riesgo en la ciudad de Tulcán.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de *Shigella spp.*, mediante análisis microbiológicos en muestras de leche bovina recolectadas en la ciudad de Tulcán.
- Confirmar la presencia de *Shigella spp.*, mediante técnicas moleculares (qPCR) en muestras de leche bovina recolectadas en la ciudad de Tulcán.
- Determinar la prevalencia de *Shigella spp.*, en leche cruda de la ciudad de Tulcán.
- Relacionar la presencia de *Shigella spp.*, con los factores de riesgo identificados en la ciudad de Tulcán.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Cómo se aísla microbiológicamente la presencia de *Shigella spp.* en muestras de leche cruda bovina?
- ¿Como se confirma la presencia de *Shigella spp* con técnicas moleculares qPCR en muestras de leche cruda bovina?
- ¿Cuál es la prevalencia de *Shigella spp.*, en muestras de leche cruda bovina en los sitios investigados?
- ¿Cuáles son los factores de riesgo asociados a la presencia de *Shigella spp.*, en la producción de leche bovina?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Para fundamentar adecuadamente el presente estudio, se llevó a cabo la adaptación de investigaciones anteriores que abordan la problemática en cuestión. Por ello, se presentan a continuación los antecedentes investigativos relevantes:

Según Elkenany *et al.* (2022), en su estudio realizado en: "Caracterización de especies de *Shigella* multirresistentes aisladas de leche cruda de vaca y productos lácteos." Se organizó para investigar la prevalencia, los fenotipos y genotipos de resistencia a los antibióticos y desinfectantes, así como los perfiles de plásmidos de las especies de *Shigella* aisladas de la leche cruda de vaca y los productos lácteos en Egipto. Se realizó un análisis genotípico para determinar la presencia de genes codificadores de β -lactamasa (blaTEM, blaCTX-M, blaOXA-1 y blaSHV), tet(A) y qacE Δ . Se recuperaron cuarenta y dos (7 %) aislados de *Shigella* (*S. dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. sonnei*), siendo *S. dysenteriae* el tipo predominante. Las pruebas de sensibilidad a los antibióticos mostraron que el 71,4 % de los aislados de *Shigella* eran resistentes a tres o más clases de antibióticos (multirresistentes). Se observaron altas tasas de resistencia a las tetraciclinas (100 %), la ampicilina, el amoxicilina-clavulánico (90,5 % cada uno) y el cefaclor (66,7 %), mientras que no se detectó resistencia al imipenem, al sulfametoxazol/trimetoprim y a la azitromicina. La prueba de sensibilidad a los desinfectantes de las cepas de *Shigella* aisladas reveló resistencia al compuesto fenólico (ácido vanílico), mientras que el 85,7 % de las cepas de *Shigella* aisladas eran resistentes al cloruro de benzalconio. El análisis PCR Uniplex reveló la existencia de genes codificadores de β -lactamasa (blaTEM en todas las cepas aisladas y blaCTX-M en el 28,6 % de las cepas aisladas) y tet(A) en todas las cepas aisladas, y el 85,7 % de las cepas aisladas dieron positivo para qacE Δ 1, mientras que todas las cepas aisladas dieron negativo para blaOXA-1 y blaSHV. Todos los productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) de *Shigella spp.* (12, 100 %) dieron positivo para los genes blaTEM, blaCTX-M y qacE Δ 1. Además, el perfil de plásmidos reveló siete patrones de plásmidos distintos (P1-P7), que oscilaban entre 1,26 y 33,61 kb, entre todas las cepas de *Shigella*; *S. dysenteriae* mostró la mayor variación. Se observó la transferencia

conjunta de genes de β -lactamasa (blaTEM y blaCTX-M) y genes qacE Δ 1 por conjugación de todos los productores de ESBL a una cepa receptora. Estos hallazgos indican la aparición en Egipto de especies de *Shigella* que mostraban multirresistencia a antibióticos (en particular, cepas productoras de ESBL) o desinfectantes. Por lo tanto, la resistencia de las especies de *Shigella* debe supervisarse periódicamente y deben adoptarse las medidas adecuadas para gestionar el problema.

La investigación de Loo et al. (2025), "Alta contaminación de *Salmonella* spp., en leche cruda en Ecuador." Identificación molecular de los serovares de *Salmonella* entérica Typhi, Paratyphi, Enteritidis y Typhimurium" analizó un total de 600 muestras de leche cruda recolectadas en las provincias de Pichincha y Manabí, Ecuador, empleando tanto métodos microbiológicos como técnicas moleculares para la detección de patógenos. Los resultados mostraron que 225 muestras (37,5 %) fueron positivas para *Salmonella* spp., con predominancia de los serovares *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis. La elevada prevalencia detectada se asoció directamente con prácticas de ordeño y manipulación inadecuadas, condiciones ambientales con presencia de materia orgánica y ausencia de control higiénico en equipos y superficies de trabajo. Este estudio también evidenció variación geográfica en la contaminación: el 42 % de las muestras de Pichincha y el 33 % de Manabí presentaron presencia de *Salmonella* spp., lo que refleja heterogeneidad en las condiciones de producción primaria. Los autores señalaron que la detección de patógenos entéricos en leche cruda antes de cualquier proceso de pasteurización revela un serio riesgo para la salud pública. Aunque *Shigella* spp., no fue evaluada específicamente, la presencia significativa de otros patógenos entéricos de origen fecal subraya la importancia de incorporar estudios que investiguen directamente la presencia de *Shigella* y otros microorganismos zoonóticos en la producción láctea ecuatoriana.

Puga et al. (2022), "Parámetros de calidad de la leche cruda en Ecuador entre 2010 y 2020: Revisión sistemática de la literatura y metaanálisis." realizaron una revisión sistemática y metaanálisis sobre la calidad microbiológica de la leche cruda en el Ecuador, integrando evidencias de más de 20 estudios desarrollados entre 2010 y 2020. Los resultados sintetizados indicaron que el 28–55 % de las muestras analizadas en diferentes regiones del país presentó recuentos de coliformes totales superiores a los límites aceptables, y en varios casos se detectó presencia de *Escherichia coli* (15–

32 %). Esta variabilidad sugiere condiciones sanitarias deficientes durante la producción primaria, relacionadas con prácticas de higiene pobres y ausencia de controles sanitarios estandarizados en la cadena de producción lechera. La revisión también mostró que los parámetros fisicoquímicos (como acidez y sólidos totales) en muchos casos se encontraban fuera de valores de referencia, lo que puede favorecer la proliferación bacteriana antes de la llegada al consumidor final. Aunque la evidencia no se centró en un patógeno específico como *Shigella spp.*, los porcentajes elevados de indicadores bacterianos enteropatógenos reflejan un ambiente propicio para la presencia de microorganismos entéricos de importancia en salud pública. Estos datos avalan la necesidad de investigaciones actuales que utilicen técnicas diagnósticas sensibles (como PCR o qPCR) para detectar *Shigella spp.*, directamente en leche cruda, ampliando así el conocimiento sobre la calidad microbiológica del producto en Ecuador.

De la Torres *et al.* (2025), "Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda en la industria láctea de Napo, Ecuador" evaluaron 180 muestras de leche cruda procedentes de unidades ganaderas distribuidas en la Sierra ecuatoriana, con el objetivo de comparar parámetros fisicoquímicos y microbiológicos con estándares normativos de inocuidad alimentaria. En el análisis microbiológico, se encontró que el 46 % de las muestras superó los límites máximos permisibles de recuento de bacterias aerobias mesófilas, indicador que refleja contaminación general del alimento. Además, el 28 % de las muestras reportó presencia de coliformes fecales, lo que constituye un signo claro de contaminación de origen enteral. El estudio reveló que dichas condiciones microbiológicas se relacionan con prácticas deficientes de aseo y el uso de agua sin tratamiento adecuado para el lavado de equipos. Los investigadores destacaron que la coexistencia de altas cargas bacterianas y parámetros fisicoquímicos alterados crea un ambiente favorable para la proliferación de bacterias entéricas, lo cual constituye un riesgo sanitario para los consumidores. Aunque no se identificaron *Shigella spp.*, en este estudio, la presencia de otros indicadores bacterianos relevantes sugiere la posibilidad de que patógenos entéricos específicos puedan estar presentes en leche cruda, lo que justifica estudios posteriores focalizados en su detección por métodos moleculares.

En la investigación de Tenecela y Ortiz (2023): "Análisis bacteriológico de leche cruda expendida en Tarqui-Ecuador" realizó un análisis descriptivo de 100 muestras de leche

cruda recolectadas en puntos de venta de la parroquia Tarqui, enfocándose en coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* como indicadores microbiológicos de calidad. Los resultados mostraron que el 52 % de las muestras presentó recuentos de coliformes totales por encima de los límites establecidos en los estándares de inocuidad alimentaria, lo que indica condiciones sanitarias deficientes en la producción y comercialización del lácteo. Además, el 31 % de las muestras fue positiva para *E. coli*, evidencia clara de contaminación de origen fecal. El estudio también detectó *Staphylococcus aureus* en 18 % de las muestras, lo que refleja la posible presencia de contaminación asociada a manejo humano o de equipo durante el ordeño y almacenamiento. Estos porcentajes elevan la preocupación por la seguridad del consumo de leche cruda y reflejan que las prácticas higiénicas en el contexto local son insuficientes para controlar microorganismos de origen entérico. Aunque este antecedente no identificó directamente *Shigella* spp., la alta prevalencia de indicadores de contaminación bacteriana respalda la necesidad de investigar la presencia de patógenos como *Shigella* a nivel molecular, dada su alta infectividad y su potencial impacto en la salud pública.

En el artículo Bennish y Ahmed (2020) en la definición “*Shigelosis*”. La infección por *Shigella* es una de las principales, si no la principal, causa de morbilidad y mortalidad relacionada con la diarrea en todo el mundo. *Shigella* causa aproximadamente 55.000 muertes en niños menores de 5 años y 110.000 muertes en niños mayores y adultos anualmente. *Shigella* es un bacilo gramnegativo que comprende cuatro especies y más de 50 serogrupos con diferentes grados de virulencia. Clásicamente asociada con la disentería, *Shigella*, especialmente la menos virulenta *S. sonnei*, también puede causar diarrea acuosa. *S. dysenteriae* tipo 1, que históricamente ha causado pandemias y epidemias a gran escala con alta mortalidad, ha estado inactiva en el siglo XXI. *S. flexneri* predomina en países pobres con higiene inadecuada que facilita la propagación fecal-oral de la infección. La terapia antimicrobiana proporciona un beneficio sustancial, especialmente a aquellos con síntomas de disentería, pero se ve obstaculizada por una resistencia generalizada. La ciprofloxacina y la azitromicina siguen siendo los fármacos de elección para el tratamiento, pero la resistencia a estos agentes está aumentando. A pesar de los esfuerzos concertados, sigue siendo difícil encontrar una vacuna eficaz.

Chukwu *et al.* (2023), “Aislamiento, identificación y resistencia a los antibióticos perfil de bacterias entéricas que representan una amenaza para la salud pública en

Comercio minorista de leche y productos lácteos en Abakaliki, sureste de Nigeria" desarrollaron un estudio microbiológico en el que analizaron 100 muestras de leche y productos lácteos mediante siembra en medios selectivos, aislamiento de colonias bacterianas y pruebas de identificación bioquímica para diferenciar enterobacterias. Los patógenos bacterianos aislados se caracterizaron e identificaron mediante técnicas morfológicas y bioquímicas. Se utilizó SPSS y la prueba de chi-cuadrado para el análisis del estudio; un valor p de 0,02 indica una diferencia significativa entre los recuentos de patógenos bacterianos. Se aislaron un total de 161 bacterias patógenas de 100 productos lácteos. *Salmonella* spp. (26,1%), *Escherichia coli* (44,1%) y *Shigella* spp. (29,8%). Todos los aislados identificados mostraron una susceptibilidad del 100 % a la ciprofloxacina y la gentamicina, con un 66,7 % para la ofloxacina. La Augmentin, la ampicilina, el cloranfenicol y la espectinomicina presentaron una resistencia del 100 %. A partir de este procedimiento se obtuvieron 48 aislamientos bacterianos, dentro de los cuales *Shigella* spp., fue identificada como uno de los patógenos presentes, alcanzando una frecuencia del 29.8%. La identificación se realizó en función de las características de crecimiento en medios selectivos y la respuesta a pruebas bioquímicas específicas, lo que permitió confirmar la presencia del microorganismo dentro de las muestras analizadas. Los resultados presentaron que la detección de *Shigella* spp., se logra a partir de un proceso sistemático que combina el cultivo bacteriano con técnicas de identificación que permiten diferenciarla de otras enterobacterias presentes en la leche. La proporción encontrada refleja un nivel considerable de contaminación, lo que sugiere que el microorganismo no aparece de forma esporádica, sino como consecuencia de condiciones repetitivas dentro del manejo productivo. Este enfoque resulta pertinente para la presente investigación, ya que el uso de métodos de aislamiento microbiológico permite establecer una base comparable para la identificación del patógeno, facilitando la interpretación de los resultados obtenidos en función de las condiciones sanitarias evaluadas en el contexto local.

Oueslati *et al.* (2011) en su investigación titulada: "Distribución diferencial de patógenos de la leche cruda y lugar de *Shigella* por modo de distribución de ordeño" los resultados relacionados específicamente con *Shigella* evidenciaron diferencias notables según el tipo de ordeño y el punto de muestreo. En la leche obtenida mediante ordeño manual, la presencia de *Shigella* fue relativamente baja, con una proporción del 16,5 %. Sin embargo, en la leche procedente de ordeño automático,

la frecuencia de aislamiento de *Shigella* aumentó considerablemente, alcanzando el 80,7 %, lo que la posicionó como el patógeno predominante en este tipo de sistema. Asimismo, se observó que, en las muestras recolectadas en tiendas de comestibles, las proporciones de *Shigella* disminuyeron de forma significativa respecto a las obtenidas directamente del ordeño, lo que sugiere una posible reducción de la carga microbiana durante el almacenamiento o transporte. La distribución de *Shigella* fue heterogénea en función del tipo de ordeño, indicando una posible influencia del entorno y de las condiciones higiénico-sanitarias en la persistencia del patógeno. En síntesis, los resultados destacan que *Shigella* presenta una mayor prevalencia en el ordeño automatizado frente al manual, lo que podría relacionarse con factores ambientales o técnicos asociados a la limpieza y desinfección del equipo de ordeño, así como a la calidad microbiológica del agua utilizada en el proceso.

Contero & Cachipiendo (2021) en su investigación: "Calidad del agua y de la leche en sistemas de ordeño manual de la Sierra Norte del Ecuador" con el objetivo de determinar la influencia de las condiciones higiénico-sanitarias sobre la contaminación bacteriana en explotaciones lecheras. La investigación comparó fincas que utilizaban agua potable con aquellas que empleaban agua de lluvia o agua de riego durante el proceso de ordeño. Los resultados evidenciaron que el 98 % de los productores evaluados no disponían de agua potable permanente para las actividades de ordeño, situación que incrementó significativamente el riesgo de contaminación microbiológica. Asimismo, se identificó presencia de coliformes fecales en aproximadamente el 29 % de las muestras analizadas, tanto en agua como en leche, indicando contaminación de origen fecal asociada a deficientes prácticas de higiene. Los autores reportaron elevados conteos bacterianos totales y altos niveles de aerobios mesófilos en recipientes y superficies utilizadas durante el ordeño manual, lo que evidenció condiciones inadecuadas de limpieza y sanitización. Según los investigadores, factores como el deficiente lavado de manos, la limpieza insuficiente de utensilios y el uso de agua contaminada favorecieron la proliferación de microorganismos patógenos capaces de afectar la inocuidad de la leche cruda. El estudio concluyó que la calidad del agua constituye un factor crítico en la contaminación microbiológica de la leche bovina en sistemas de ordeño manual, recomendando la implementación de Buenas Prácticas de Ordeño (BPO),

controles sanitarios y programas de capacitación para reducir los riesgos microbiológicos y mejorar la calidad higiénico-sanitaria de la producción lechera.

Reta *et al.* (2016), "Contaminación bacteriana de la leche cruda de vaca consumida en la ciudad de Jigjiga, estado regional somalí, este de Etiopía." La leche es un complemento esencial de la dieta diaria, especialmente para las mujeres embarazadas y los niños en crecimiento. Al ser secretada en los alvéolos de la ubre, es prácticamente un fluido estéril. Sin embargo, más allá de esta etapa de producción, puede producirse contaminación microbiana proveniente de diversas fuentes. Se realizó un estudio transversal entre marzo de 2013 y enero de 2014 en la ciudad de Jigjiga para evaluar la contaminación bacteriana de la leche cruda destinada al consumo humano y determinar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados. Se recolectaron asépticamente un total de 120 muestras de leche cruda en diferentes puntos de muestreo considerados como posibles fuentes de contaminación. Los datos se analizaron utilizando el software SPSS versión 17. Se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo. En general, los organismos identificados y sus tasas de prevalencia fueron *Escherichia coli* 70 (58 %), *Staphylococcus aureus* 29 (24,2 %), *Shigella spp.* 21 (17,5 %), *Proteus sp.* 9 (7,5 %) y *Salmonella spp.*, 4 (3,3 %). Las tasas de aislamiento de estas bacterias identificadas en cada punto de muestreo son estadísticamente significativas para *E. coli* y *Proteus sp.* ($P < 0,05$).

Se observó alta resistencia a los antibióticos para los aislados de *E. coli* frente a la doxiciclina (42,3 %) y la ampicilina (30 %). *Shigella spp.*, fue resistente a la ampicilina (38,1 %). Los aislados de *Salmonella spp.*, fueron altamente resistentes a la amoxicilina (50 %). De un total de 29 aislamientos de *S. aureus*, se observó una alta tasa de resistencia a la penicilina G (27, 93,1 %), seguida de la tetraciclina (20, 69 %), y un nivel muy bajo de resistencia a la vancomicina (2, 6,9 %) y a la rifampicina (1, 3,4 %).

También se observó multirresistencia en el 55,2 % del total de aislamientos. Teniendo en cuenta el alto índice de contaminación de la leche cruda con las bacterias aisladas mencionadas anteriormente, se recomienda adoptar prácticas sanitarias durante la recogida, el transporte y la venta, ya que el consumo de leche sin pasteurizar puede suponer un importante riesgo para la salud pública.

Bustamante *et al.* (2023), "Calidad-inocuidad de la leche cruda de vaca que ingresa a centros de acopio de la provincia Cañar-Ecuador, en el contexto de las normativas

Latinoamericanas", con el objetivo de evaluar su cumplimiento con los parámetros establecidos en la normativa ecuatoriana y contrastarlos con regulaciones aplicadas en otros países de América Latina. La investigación incluyó el análisis de 203 muestras de leche cruda provenientes de productores que abastecen a diferentes centros de acopio de la provincia. En el laboratorio se determinaron parámetros fisicoquímicos como grasa, proteína, sólidos totales y punto de congelación. Paralelamente se realizaron análisis microbiológicos orientados a estimar el nivel de contaminación del producto, considerando el recuento de bacterias aerobias mesófilas y enterobacterias, indicadores comúnmente utilizados para evaluar las condiciones higiénicas durante las primeras etapas de la producción y recolección de la leche.

El estudio reportó que una parte importante de las muestras presentó recuentos bacterianos superiores a los valores recomendados para leche cruda destinada al consumo o procesamiento. Aunque varios parámetros fisicoquímicos se mantuvieron dentro de los rangos establecidos por la normativa nacional, los resultados microbiológicos reflejaron deficiencias en las condiciones de higiene durante el ordeño, almacenamiento y transporte del producto. Los autores señalaron que estas condiciones favorecen la presencia de microorganismos asociados a contaminación fecal. Este antecedente resulta relevante para la presente investigación porque evidencia que, en sistemas de producción lechera de América Latina, la leche cruda puede constituir un medio favorable para la presencia de bacterias entéricas. En consecuencia, se justifica la aplicación de métodos microbiológicos y moleculares dirigidos a la detección de patógenos específicos como *Shigella spp.*, así como el análisis de los factores de riesgo vinculados con las prácticas de manejo en la producción lechera.

Arauco *et al.* (2025), "Evaluación de la calidad fisicoquímica, microbiana e higiénica de la leche de vaca producida por rebaños en los Andes peruanos". La investigación incluyó el análisis de 40 muestras recolectadas directamente en unidades productivas, las cuales fueron sometidas a pruebas de laboratorio para determinar parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. Paralelamente se aplicaron encuestas a los productores con el propósito de identificar prácticas de manejo, condiciones sanitarias y procedimientos utilizados durante el ordeño y almacenamiento de la leche. Los análisis microbiológicos contemplaron la determinación de bacterias mesófilas, coliformes totales y otros microorganismos utilizados como indicadores del nivel de higiene en la producción primaria.

Los resultados mostraron que varias muestras presentaron niveles bacterianos superiores a los límites recomendados para leche cruda, lo que refleja problemas en las condiciones sanitarias del proceso productivo. Los autores señalaron que factores como la higiene durante el ordeño, el manejo del ganado y el estado sanitario de los equipos utilizados influyen directamente en la calidad microbiológica del producto. La presencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal evidencia que la leche cruda puede convertirse en un medio de transmisión de bacterias entéricas cuando no se aplican prácticas adecuadas de manejo sanitario, constituyendo un antecedente importante para la presente investigación, ya que confirma que en sistemas ganaderos andinos existen condiciones que favorecen la contaminación microbiológica de la leche cruda. Tales evidencias respaldan la necesidad de aplicar métodos diagnósticos específicos para la detección de patógenos de importancia en salud pública, como *Shigella spp.*, así como de evaluar los factores de riesgo asociados a la producción y manipulación del producto.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Shigella spp.

La *Shigella spp.*, es un tipo de bacterias Gram negativas que forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*, y se distingue por su habilidad para generar shigelosis, una gastroenteritis aguda con posibilidad de desarrollar colitis invasiva (Taneja y Mewara, 2016). Como indica Kotloff *et al.* (2018) que es "uno de los patógenos entéricos más importantes en cuanto a la morbilidad mundial". Desde el punto de vista taxonómico, el género comprende cuatro especies principales: *S. sonnei*, *S. boydii*, *S. flexneri* y *S. dysenteriae*. En los países con ingresos medios y bajos, *S. flexneri* es más común, en cambio, *S. sonnei* tiene mayor presencia en áreas industrializadas. es un patógeno humano altamente infeccioso, que representa una de las principales causas de diarrea sanguinolenta a nivel mundial. *Shigella dysenteriae* serotipo 1, productora de toxina siga (Stx), se ha asociado a la presentación de diarreas sanguinolentas severas y Síndrome Hemolítico Urémico (SHU).

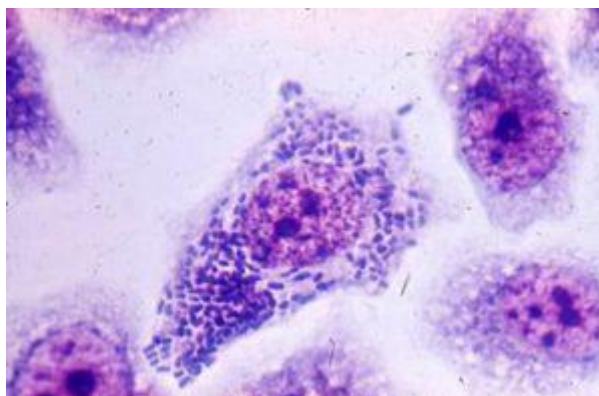


Figura 1. Bacteria *Shigella* spp.

Fuente:(Kotloff et al., 2018)

2.2.2. Origen de la bacteria *Shigella* spp.

Esta bacteria según estudios se ha identificado que se deriva del tracto intestinal humano, el cual ha evolucionado mediante parientes inofensivos y se propaga principalmente por la vía fecal-oral, a través de alimentos o agua contaminados por heces humanas, o por contacto directo persona a persona, afectando el colon y causando shigelosis, una diarrea severa (Organización Mundial de la Salud, 2022).

La bacteria *Shigella* spp., llega a la leche principalmente a través de manos sucias de manipuladores infectados o por agua y alimentos contaminados con heces humanas, siendo el hombre el reservorio principal. En la leche, el origen suele ser una manipulación higiénica deficiente, especialmente en lácteos crudos (no pasteurizados), donde las moscas también pueden transmitirla desde desechos fecales a los alimentos, causando brotes por consumo de leche y productos lácteos contaminados (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2025).

2.2.3. Morfología y Propiedades Tintoriales.

Desde un punto de vista microbiológico, las especies del género *Shigella* corresponden a bacilos delgados que no forman esporas y que, al someterse a la coloración de Gram, adquieren tonalidad rosada o rojiza debido a su naturaleza Gram negativa. Asimismo, una propiedad clave para distinguirlas de otras enterobacterias filogenéticamente cercanas como *Salmonella* o *Escherichia coli* consiste en su falta de motilidad, ya que no poseen flagelos del antígeno H (Lampel et al., 2018).

2.2.4. Fisiología y Metabolismo

Desde una perspectiva fisiológica, se trata de microorganismos con metabolismo anaerobio facultativo, lo que significa que pueden multiplicarse tanto cuando el oxígeno está disponible como cuando está ausente. En términos bioquímicos, exhiben un patrón metabólico característico que facilita su diferenciación e identificación en pruebas diagnósticas de laboratorio:

- Fermentación: Utiliza glucosa y otros carbohidratos generando principalmente compuestos ácidos; sin embargo, a diferencia de la mayoría de las enterobacterias, suelen llevar a cabo este proceso sin liberar gas como subproducto.
- Lactosa: La mayor parte de las especies se caracteriza por no utilizar lactosa, por lo que se clasifican como lactosas negativas; esta propiedad resulta fundamental para distinguirlas en medios selectivos como *MacConkey* o *Salmonella-Shigella* (SS), donde se observan como colonias sin pigmentación. No obstante, *Shigella sonnei* constituye una excepción relevante, ya que puede metabolizar lactosa de manera lenta.
- Pruebas enzimáticas: Son oxidasas y ureasas negativas (ELIKA, 2025).

2.2.5. Taxonomía

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la bacteria *Shigella spp*

Nombre	Descripción
Dominio	Bacteria
Filo	Pseudomonadota (Proteobacteria)
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacterales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Shigella</i>

Fuente: (Lampel et al., 2018)

2.2.6. Clasificación Serológica

Basándose en el antígeno O (parte del lipopolisacárido de la pared celular), el género se divide en cuatro serogrupos o especies principales, tal como lo establece la clasificación internacional (Organización Panamericana de la Salud, 2023).

Tabla 2. Clasificación Serológica

Serogrupo	Especie	Características Destacadas
Grupo A	<i>S. dysenteriae</i>	Es la más virulenta; produce la potente toxina Shiga.
Grupo B	<i>S. flexneri</i>	Causa común de shigelosis endémica en países en desarrollo.
Grupo C	<i>S. boydii</i>	Menos común, distribución geográfica limitada.
Grupo D	<i>S. sonnei</i>	La más frecuente en países industrializados; enfermedad más leve.

Fuente: (Organización Panamericana de la Salud, 2023)

2.2.7. Vía de transmisión de la bacteria

La transmisión, desde una perspectiva epidemiológica, se produce principalmente a través de la vía fecal-oral, ya sea por contacto entre personas, alimentos o agua contaminada. Su elevada capacidad de transmisión se explica por la baja dosis infectiva, que va de 10 a 100 células son suficientes para causar infección.(Mayo Clinic, 2025).

2.2.8. Prevalencia

La prevalencia se define como la proporción de individuos o unidades de muestreo en una población determinada que tienen una condición, enfermedad o contaminante particular en un momento determinado o dentro de un período de tiempo determinado. Cuantifica la carga total del evento en la población, siendo un indicador estático esencial para la planificación sanitaria y la evaluación de riesgos en inocuidad alimentaria (Pfeiffer, 2021).

2.2.8.1. Prevalencia Mundial

A nivel global, la shigelosis persiste como la principal causa de disentería bacteriana e inflamación intestinal. Según datos de OMS (2024) y CDC (2024) se calcula que el número de casos anuales oscila entre 80 y 165 millones, con una tasa de mortalidad que llega a los 600000 fallecimientos. Este fenómeno impacta sobre todo a niños menores de cinco años en naciones con ingresos bajos y medios.

2.2.8.2. Prevalencia en América Latina

En Latinoamérica y el Caribe, la presencia de *Shigella* tiene una notable disparidad relacionada con el acceso a agua potable y servicios de saneamiento. De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (Organización Panamericana de la Salud, 2025).

El análisis según Lubeck *et al.* (2025), indica que la prevalencia agrupada en casos de diarrea es del 3.1% mediante cultivo tradicional, pero asciende al 16.5% cuando se emplean métodos moleculares (qPCR). En Sudamérica, se identifica como la tercera causa más común de hospitalizaciones por diarrea, con una fracción atribuible del 11.8% (Ministerio de Salud Pública, 2025).

En cuanto a la matriz láctea, estudios de inocuidad en el país reportan que la leche cruda informal presenta altos índices de contaminación por enterobacterias. Investigaciones recientes destacan que la prevalencia de patógenos como *Salmonella spp.*, y *Shigella spp.*, en leche cruda ecuatoriana está vinculada a la falta de higiene en el ordeño y la mala calidad del agua en zonas rurales, alcanzando niveles críticos que superan los límites del Codex Alimentarius (Albuja Karina *et al.*, 2021).

2.2.8.3. Prevalencia en Ecuador

En Ecuador, la vigilancia epidemiológica de la shigelosis se reporta a través del sistema SIVE-ALERTA. Hasta la semana epidemiológica 20 de 2025, se han notificado 75 casos confirmados a nivel nacional, con la mayor concentración en la provincia de Pichincha (Ministerio de Salud Pública, 2025).

2.2.9. Inocuidad Alimentaria

El concepto de inocuidad alimentaria es de naturaleza multidimensional y va más allá de la mera ausencia de contaminantes visibles. Según el punto de vista normativo y técnico, se entiende como la seguridad de que un alimento no tendrá consecuencias negativas en la salud del consumidor si es preparado y/o consumido conforme a su uso previsto (Organización Mundial de la Salud, 2023).

2.2.10. Producción ganadera en el Ecuador

La producción ganadera se define como el conjunto de actividades orientadas a la cría, manejo, alimentación y aprovechamiento de animales domésticos con fines productivos, principalmente para la obtención de carne, leche y sus derivados (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022). Este sistema constituye uno de los pilares del sector agropecuario ecuatoriano, tanto por su contribución al Producto Interno Bruto Agropecuario (PIBA) como por su papel en la seguridad alimentaria y generación de empleo rural (MAGAP, 2025).

En este contexto, el Ecuador presenta una diversidad de sistemas ganaderos asociados a sus condiciones agroecológicas. En la región Sierra predominan sistemas de producción bovina doble propósito (leche y carne), mientras que en la Costa y Amazonía se desarrollan sistemas extensivos de carne, generalmente con menor tecnificación (Burgos *et al.*, 2014).

2.2.11. Producción lechera en el Ecuador

La producción de leche en Ecuador es parte de una intrincada cadena productiva que incluye numerosos eslabones: producción primaria, acopio, procesamiento, distribución y consumo. Los ganaderos de leche, en particular los medianos y pequeños, cumplen una función esencial a nivel primario, ya que muchos habitan en zonas rurales donde la ganadería lechera es la principal fuente de ingresos (MAG, 2024).

2.2.12. Calidad e inocuidad de la leche

La calidad higiénica de la leche es un componente crítico para la competitividad, especialmente si se considera la formalización y las exportaciones. Según reportes recientes, parte de la producción debe cumplir con altos estándares de calidad e inocuidad para acceder a mercados más exigentes (Albuja Karina *et al.*, 2021).

La informalidad dificulta implementar controles sanitarios eficaces, lo que puede traducirse en variabilidad en parámetros como células somáticas, bacterias u otros contaminantes. Por ello, es teóricamente relevante analizar cómo la formalización contribuye a mejorar la calidad del producto y el valor agregado de la industria (Albuja *et al.*, 2021).

2.2.13. Factor de Riesgo

2.2.13.1 Identificación de factores de riesgo

La identificación de factores de riesgo en la contaminación microbiológica de la leche cruda constituye un proceso fundamental dentro del análisis sanitario, debido a que permite reconocer las condiciones que favorecen la presencia y diseminación de microorganismos patógenos en la cadena productiva. Desde un enfoque epidemiológico, los factores de riesgo se definen como características o prácticas que incrementan la probabilidad de ocurrencia de un evento adverso, en este caso, la contaminación bacteriana del producto lácteo. En el ámbito de la inocuidad alimentaria, estas condiciones no actúan de forma aislada, sino que se presentan

como un conjunto de variables interrelacionadas que influyen directamente en la calidad microbiológica del alimento.

Se ha evidenciado que la contaminación bacteriana en leche cruda se encuentra estrechamente asociada con deficiencias en las prácticas de higiene durante el ordeño y la manipulación del producto. En este sentido, Elkenany *et al.* (2022) demostraron la presencia de *Shigella spp.*, en leche cruda y derivados lácteos, señalando que, como la higiene deficiente del personal, el uso de utensilios contaminados y las condiciones inadecuadas de almacenamiento favorecen la proliferación de este patógeno, la contaminación no depende únicamente de la presencia del microorganismo en el ambiente, sino de las condiciones que facilitan su ingreso y permanencia en la cadena de producción.

A nivel de sistemas productivos, se ha determinado que prácticas específicas de manejo tienen una influencia directa sobre la calidad microbiológica de la leche. Chimuti *et al.* (2024), identificaron que variables como el tipo de recipiente utilizado, la calidad del agua, la frecuencia de limpieza de los equipos, el tiempo de almacenamiento y las condiciones del área de ordeño presentan una relación significativa con la carga bacteriana del producto. Este análisis evidencia que los factores de riesgo deben ser evaluados considerando tanto aspectos técnicos del proceso como condiciones del entorno productivo, ya que ambos inciden en la inocuidad del alimento.

Desde una perspectiva más amplia, estudios de revisión sistemática han señalado que los factores de riesgo asociados a la contaminación de la leche incluyen dimensiones estructurales y socioeconómicas, tales como el nivel de capacitación de los productores, el acceso a servicios básicos, la infraestructura del sistema lechero y las prácticas tradicionales de manejo. Belayneh *et al.* (2025), concluyeron que la contaminación bacteriana en leche cruda está significativamente relacionada con deficiencias en bioseguridad, condiciones higiénicas inadecuadas y limitaciones en la formación técnica de los productores, lo que refuerza la necesidad de abordar el problema desde un enfoque integral.

Por otra parte, el componente humano ha sido identificado como un elemento determinante en la transmisión de patógenos en alimentos. Amare *et al.* (2024), evidenciaron que prácticas como el inadecuado lavado de manos, la manipulación directa de alimentos sin condiciones higiénicas apropiadas y el consumo de

productos no pasteurizados se asocian significativamente con la presencia de bacterias como *Shigella spp.*

La identificación de factores de riesgo en la producción de leche bovina en la ciudad de Tulcán implica analizar variables como el tipo de ordeño, la calidad del agua utilizada, las condiciones del lugar de ordeño, la higiene del personal, la limpieza de utensilios, la presencia de enfermedades en los animales y las medidas de bioseguridad implementadas. La evaluación de estos elementos permite establecer relaciones entre las prácticas productivas y la presencia de *Shigella spp.*, aportando evidencia científica para la interpretación de resultados y la formulación de estrategias de control sanitario.

Un factor de riesgo constituye cualquier atributo, condición o conducta que incrementa la probabilidad de padecer una enfermedad, sufrir una lesión o enfrentar un problema de salud. En términos biológicos, ambientales, sociales o conductuales, estos elementos pueden modificar la vulnerabilidad de una persona. En el ámbito de las enfermedades infecciosas, este tipo de factores puede favorecer el contacto con agentes patógenos, aumentar la susceptibilidad a la transmisión o influir en la evolución clínica del cuadro. Reconocerlos permite elaborar medidas de prevención y control más precisas y eficientes (Rojas *et al.*, 2021).

2.2.13.2. Factores de riesgo de *Shigella spp.*

La inocuidad alimentaria y la shigelosis (causada por *Shigella spp.*) son ejemplos claros de cómo interactúan los factores de riesgo conductuales y ambientales. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) han identificado factores clave que contribuyen a las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2024).

2.2.13.3. Riesgos asociados a la higiene del entorno y equipos de ordeño

La presencia de bacterias patógenas en la leche cruda se relaciona directamente con las condiciones en las que se realiza el ordeño y el estado de los equipos utilizados. Durante este proceso, los utensilios como baldes, filtros o recipientes pueden convertirse en fuentes de contaminación cuando no son sometidos a una limpieza y desinfección adecuada. Fahed (2024), señala que los equipos de ordeño mal higienizados favorecen la transferencia de microorganismos hacia la leche, especialmente cuando existen residuos orgánicos que facilitan su supervivencia. Bajo

estas condiciones, los microorganismos no solo ingresan al producto, sino que pueden mantenerse activos y contaminar de manera continua diferentes lotes.

A esta situación se suma la formación de biopelículas en superficies que no han sido correctamente sanitizadas. Estas estructuras permiten que las bacterias se adhieran y resistan los procesos de lavado, lo que dificulta su eliminación total. Ahmed *et al.* (2025) explican que la persistencia bacteriana en equipos de contacto directo con la leche constituye un factor determinante en la calidad microbiológica del producto. En relación con los resultados obtenidos en la presente investigación, la identificación de *Shigella spp.*, puede entenderse como consecuencia de estas condiciones, donde la falta de control en la higiene del entorno y los utensilios favorece la presencia y permanencia del patógeno.

2.2.13.4. Riesgos asociados al manejo y comercialización de la leche cruda

El manejo posterior al ordeño representa otra etapa crítica en la que la leche puede contaminarse o mantener microorganismos ya presentes, durante el transporte y la comercialización, el producto suele pasar por diferentes condiciones que influyen directamente en su calidad microbiológica. Según Elkeany *et al.* (2022), la presencia de bacterias patógenas en leche cruda y productos lácteos está asociada a prácticas inadecuadas durante la manipulación y distribución, donde el control sanitario no siempre es constante, este tipo de condiciones facilita la permanencia de microorganismos como *Shigella spp.*, incluso cuando su presencia inicial pudo haber sido limitada.

El tiempo de almacenamiento y las condiciones en las que se mantiene la leche también influyen en el comportamiento bacteriano. Cuando no existe control sobre estos factores, la carga microbiana puede incrementarse progresivamente, afectando la inocuidad del producto. En este sentido, Chimuti *et al.* (2024), destacan que la leche cruda constituye un medio favorable para el crecimiento bacteriano cuando no se establecen medidas adecuadas de conservación. En relación con la presente investigación, estos elementos permiten comprender que la detección de *Shigella spp.*, no responde únicamente al momento de producción, sino a un conjunto de condiciones que intervienen a lo largo de toda la cadena, consolidando el riesgo sanitario asociado al consumo de leche cruda.

2.2.14. Detección Microbiológica de *Shigella* spp.

El análisis microbiológico orientado a la detección de *Shigella* spp., en leche cruda cobra relevancia debido al riesgo sanitario que implica su presencia en alimentos de consumo directo, el microorganismo posee una dosis infectiva baja, lo que incrementa su peligrosidad en contextos donde los controles de higiene y procesamiento resultan limitados. La complejidad de la matriz láctea, caracterizada por su composición orgánica y carga microbiana diversa, exige el empleo de procedimientos que permitan distinguir con precisión la presencia del patógeno frente a otras enterobacterias con comportamiento similar.

El aislamiento bacteriano mediante técnicas convencionales continúa siendo una fase inicial necesaria dentro del proceso diagnóstico. El uso de medios selectivos, como el agar Hektoen Enteric, permite observar características diferenciadoras en las colonias, entre ellas la coloración verde-azulada y la ausencia de producción de sulfuro de hidrógeno. Las particularidades facilitan una primera aproximación al reconocimiento del microorganismo, apoyándose en criterios fenotípicos y metabólicos. No obstante, cuando en la muestra coexisten bacterias con perfiles similares, como *Escherichia coli*, la interpretación de los resultados puede verse comprometida, lo que limita la confiabilidad del diagnóstico basado únicamente en cultivo (Amare *et al.*, 2024).

Evidencia reciente ha puesto en discusión la suficiencia de los métodos tradicionales cuando se emplean de manera aislada. Elkenany *et al.*, (2022), reportaron la presencia de cepas multirresistentes de *Shigella* en leche cruda, advirtiendo que la identificación fenotípica puede conducir a errores si no se complementa con herramientas de mayor resolución. Este planteamiento conduce a la necesidad de integrar metodologías que permitan confirmar la identidad del microorganismo con mayor exactitud, especialmente en estudios donde se evalúan riesgos para la salud pública.

Dentro de ese marco, las técnicas moleculares han adquirido protagonismo en el diagnóstico microbiológico. La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) permite detectar secuencias genéticas específicas del patógeno, como el gen *ipaH*, el cual se encuentra presente en múltiples copias en el genoma de *Shigella*. Dicha característica incrementa la sensibilidad del método, facilitando la detección incluso en muestras con baja carga bacteriana. A ello se suma la reducción

significativa del tiempo de análisis, lo que representa una ventaja frente a los procedimientos convencionales que requieren periodos prolongados de incubación.

La literatura especializada ha señalado que la combinación de enfoques constituye la alternativa más robusta para la identificación de patógenos en alimentos. Rodríguez *et al.* (2021), destacaron que la integración entre cultivo microbiológico y técnicas moleculares permite mejorar la precisión del diagnóstico y ampliar la caracterización del microorganismo, fortaleciendo así la interpretación de los resultados. Aunque dicho estudio se desarrolló en el ámbito clínico, sus aportes resultan pertinentes para el análisis de matrices alimentarias, donde la detección oportuna adquiere un valor preventivo.

El control de calidad en cada etapa del proceso analítico también incide directamente en la validez de los resultados obtenidos. La manipulación de las muestras, las condiciones de transporte y el cumplimiento de protocolos de asepsia representan factores determinantes en la conservación de la viabilidad bacteriana. Sanders (2022), advierte que errores en estas fases pueden generar contaminación cruzada o pérdida de microorganismos, afectando la confiabilidad del análisis microbiológico.

A partir de estos elementos, el procedimiento aplicado en la presente investigación se sustenta en la articulación de técnicas complementarias, el aislamiento en medios selectivos permite identificar características preliminares del microorganismo, mientras que la confirmación mediante qPCR asegura la verificación de su presencia a nivel genético, la combinación metodológica aporta solidez al estudio, al reducir la probabilidad de falsos resultados y permitir una interpretación más precisa de la prevalencia de *Shigella spp.*, en relación con las condiciones de producción evaluadas en el contexto local.

2.2.14.1. Fase de pre-enriquecimiento bacteriano

El medio BHI (Infusión de Cerebro y Corazón) se emplea principalmente como etapa de pre-enriquecimiento y reactivación de cepas de *Shigella spp.*, antes de su transferencia a medios selectivos, como el agar *Salmonella-Shigella* (SS). Dado que se trata de un medio nutritivo y no selectivo, no permite la identificación directa del patógeno; más bien, favorece el crecimiento general de microorganismos, especialmente aquellos con mayores requerimientos nutricionales. Su uso resulta particularmente adecuado para reactivar cultivos conservados por congelación o

lioofilización, los cuales se incuban entre 35 y 37 °C antes de proceder a su siembra en medios selectivos destinados al aislamiento y posterior identificación de *Shigella* spp. (Nuñez et al., 2025).

2.2.14.2. Fase de aislamiento selectivo y diferencial

El agar entérico Hektoen (HE) constituye un medio de cultivo selectivo y diferencial para bacterias entéricas Gram negativas, en particular *Salmonella* y *Shigella*, a partir de matrices como heces y alimentos. Este medio inhibe el crecimiento de microorganismos Gram positivos y permite distinguir especies bacterianas mediante cambios cromáticos y la detección de producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S). Su formulación incorpora carbohidratos —lactosa, sacarosa y salicina— que, al ser fermentados, generan colonias de tonalidad amarillo-anaranjada, como ocurre con *Escherichia coli*. En contraste, *Shigella* y *Salmonella* no fermentan estos azúcares y forman colonias de color verde, aunque en el caso de *Salmonella* suele observarse un centro ennegrecido debido a la producción de H₂S (Hektoen, 2020).

2.2.14.3. Diagnóstico Diferencial

El diagnóstico diferencial de *Shigella* spp., en matrices lácteas es un reto crítico para la seguridad alimentaria, debido a la coexistencia de microbiota competidora que comparte características bioquímicas. Estudios genómicos recientes confirman que *Shigella* spp., y *E. coli* son filogenéticamente la misma especie, lo que dificulta su separación en el laboratorio clínico y de alimentos. Según Taneja y Mewara (2016), la distinción principal sigue basándose en el carácter metabólico "inerte" de *Shigella* (no móvil, no fermentadora de lactosa y negativa para lisina descarboxilasa), aunque se han reportado cada vez más variantes de *E. coli* anaerogénicas e inmóviles que mimetizan a *Shigella* spp., comparten un ancestro común tan cercano que técnicamente son la misma especie (clados especializados), la qPCR se enfoca en el patotipo más que en la taxonomía por lo que se recomienda este tipo de técnica.

2.2.15. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La introducción de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en 1983, desarrollada por Kary Mullis, representó un cambio de paradigma en la biología molecular al permitir la replicación exponencial de fragmentos de ADN. Esta metodología ha demostrado ser esencial en áreas como la medicina diagnóstica, la genética y la criminalística, gracias a su capacidad para analizar material genético

a partir de muestras mínimas. Debido a la relevancia de este hallazgo para las ciencias biomoleculares, Mullis fue distinguido con el Premio Nobel en 1993

2.2.16. PCR Cuantitativa (qPCR)

Principio general de la técnica de amplificación en tiempo real. La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) es la técnica de elección para la detección e identificación rápida y sensible de patógenos gastrointestinales como las especies del género *Shigella*. El fundamento de esta técnica radica en la amplificación exponencial de un fragmento específico del ácido desoxirribonucleico (ADN) del patógeno, y la cuantificación simultánea de esta amplificación mediante la emisión de fluorescencia (Lin *et al.*, 2010).

2.2.16.1. Principio de Detección mediante Sondas TaqMan (Texas Red)

La qPCR se realiza frecuentemente utilizando un formato de sondas de hidrólisis, comúnmente conocidas como sondas TaqMan. Estas sondas son oligonucleótidos diseñados para unirse específicamente a una secuencia diana, como el gen *ipaH* de *Shigella* spp., un marcador universal para la identificación del género (Lindsay *et al.*, 2013).

Cada sonda está marcada en sus extremos con dos componentes críticos:

Fluoróforo Reportero (como ejemplo: Texas Red): Ubicado en el extremo 5', este componente es el emisor de la señal de detección.

Supresor (Quencher): Situado en el extremo 3', este componente inhibe la señal del fluoróforo mientras la sonda se mantiene intacta.

2.2.16.2. Texas Red

Es un fluoróforo de gran valor en biología molecular, perteneciente a la familia de las tetrametilarrodamina (TRITC). Su popularidad radica en su excelente estabilidad y su espectro de emisión distintivo, caracterizado por tener su pico de fluorescencia en torno a los 615 nanómetros (nm) (que define su longitud de onda de detección). Esta particularidad cromática (emisión roja-anaranjada) permite su fácil diferenciación de otros marcadores fluorescentes de uso común, como el FAM (que emite en el verde). Gracias a esta separación espectral, el Texas Red es ideal para su uso en la detección multiplex, permitiendo la identificación simultánea de múltiples blancos genéticos en una única reacción, como ocurre en la PCR cuantitativa (qPCR) (Lindsay *et al.*, 2013).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

La investigación fue desarrollada con un enfoque mixto, por una parte, el enfoque cuantitativo se sustentó en la utilización de datos numéricos y procesos estadísticos que permitió identificar la bacteria *Shigella spp.*, en la leche cruda y factores de riesgo en la ciudad de Tulcán mediante una encuesta estructurada (Anexo 2). Por otra parte, el enfoque cualitativo se basó en identificación fenotípica por medio del aislamiento bacteriano en muestras de leche cruda considerando características macroscópicas de las colonias, tales como color y morfología, observadas de manera visual.

3.1.2. Tipo de Investigación

3.1.2.1. Exploratoria

En este estudio se desarrolló con un alcance exploratorio, debido a la escasa información sistematizada existente sobre esta bacteria presente en el alimento lácteo en el contexto en la ciudad de Tulcán. Este tipo de estudio permite una aproximación inicial al fenómeno, orientada a identificar características de prevalencia.

3.1.2.2. De campo

Este tipo de investigación permitió entrar en contacto con el problema de estudio, es decir, con la presencia de la bacteria de estudio en varias muestras de leche, para ello, se recolectó muestras de leche cruda en las parroquias de la ciudad de Tulcán con el fin de identificar la presencia de *Shigella spp.*, además de indagar a ganaderos sobre prácticas de manejo e identificar los factores de riesgo de esta bacteria e identificar las prácticas agrícolas y el cuidado del sector ganadero frente a la bacteria *Shigella spp.*

3.2. HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H_0): No existe asociación entre la presencia de *Shigella spp.*, con los factores de riesgo en la ciudad de Tulcán.

H_1 : Existe asociación entre la presencia de *Shigella spp.*, con los factores de riesgo en la ciudad de Tulcán.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.3.1. Definición de las variables

Variable dependiente:

La prevalencia de la bacteria *Shigella spp.*, en leche cruda proveniente de fincas productoras ubicadas en las parroquias aledañas a la ciudad de Tulcán.

Se conceptualiza como la proporción de muestras de leche que resultan positivas a la detección del microorganismo respecto del total de muestras analizadas en un periodo determinado. Este indicador cuantifica la carga de contaminación microbiológica en la cadena primaria de producción láctea y permite evaluar el riesgo sanitario asociado al consumo de leche sin pasteurizar.

Variables independientes:

Factor de Riesgo

Un factor de riesgo se entiende como cualquier característica biológica, ambiental, conductual o socioeconómica que aumenta la probabilidad de que un individuo, población o sistema sea afectado por una enfermedad o evento adverso.

Tabla 3. Matriz de operacionalización de variables

Variable Instrumentos	Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumentos
Variable Dependiente: Prevalencia de <i>Shigella spp.</i>	Muestra de leche de Acopios de las UPAs	-Medio de cultivo Nutritivo BHI (Brain Heart Infusion agar) -Medio cultivo selectivo Hektoen Enteric Agar - qPCR	-El medio se toma de color amarillo turbio -Se mira el crecimiento de las colonias con característica fenotípica color azul verdoso	-Tubos 50ml estériles con tapa azul -Caja Petri estériles
Variable Independiente Factores de riesgo	-Ubicación -Tipo de ordeño - Calidad del agua - Lugar de ordeño -Higiene personal -Enfermedades de la ubre -Presencia de animales enfermos - Aseo de utensilios - Medidas de bioseguridad	Odds ratio OR=1: no existe factor de riesgo. OR>1: El factor aumenta el riesgo del suceso. OR<1: El factor disminuye el riesgo del suceso	Entrevista	Cuestionario (Anexo 2)

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Localización de la investigación

La investigación tuvo lugar en las parroquias de Tufiño y Urbina pertenecientes a la ciudad de Tulcán, Provincia del Carchi, Ecuador como se representa en la figura 2.

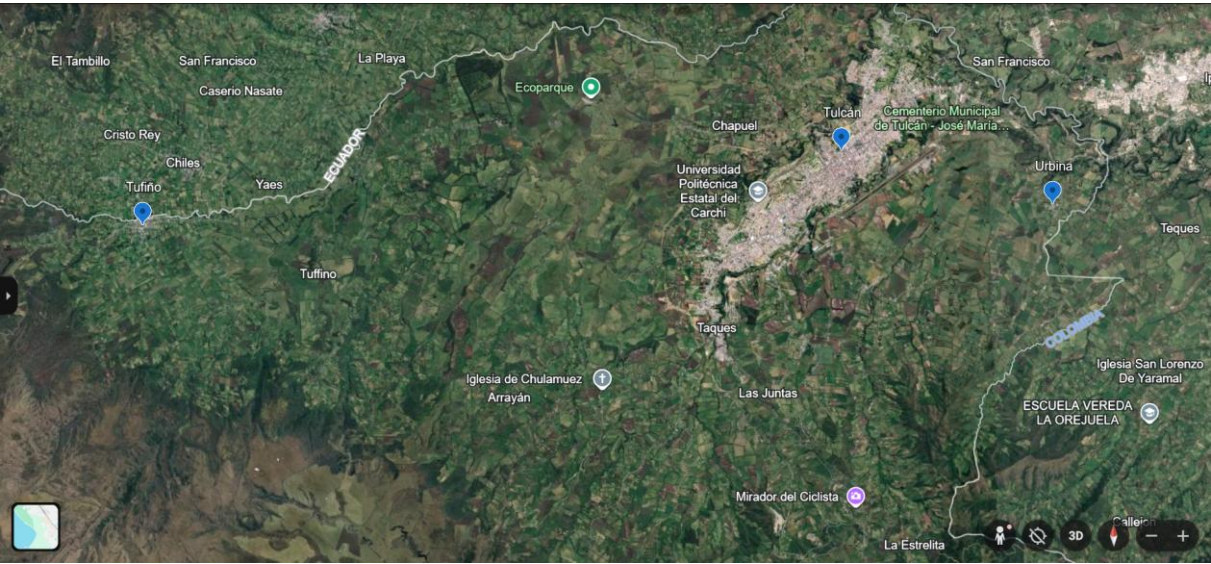


Figura 2. Ubicación geográfica de las parroquias Tufiño y Urbina
Fuente:(Google Earth, 2025)

Tabla 4. Características geográficas de las parroquias Urbina y Tufiño

Característica	Parroquia Tufiño	Parroquia Urbina
Ubicación	Frontera con Colombia (Oeste de Tulcán), al pie del Volcán Chiles.	Suroeste de la ciudad de Tulcán.
Altitud	3200 m.s.n.m.	2.987 m.s.n.m.
Latitud	0° 47' 25" Norte	0° 49' 15" Norte
Longitud	77° 52' 35" Oeste	77° 45' 20" Oeste
Clima	Frío de Alta Montaña / Páramo	Frío Andino / Templado-Frío
Temperatura	6°C a 11°C	10°C a 13°C
Precipitación (Anual)	1.000 mm – 1.750 mm	750 mm – 1.250 mm

Fuente: (GAD Municipal de Tulcán, 2023)

3.4.2. Descripción y caracterización de la investigación

La investigación se desarrolló mediante aplicación de la fórmula para poblaciones finitas, con el objetivo de determinar el tamaño de la muestra donde se identificó la cantidad de ganaderos en la zona de la ciudad, se utilizó un margen de error del 95%, lo cual permitió recolectar un total de 384 muestras de leche en diferentes UPAs de las parroquias antes aledañas a la ciudad de Tulcán.

3.4.3. Fase I: Levantamiento de información epidemiológica (Encuesta)

Con el propósito de identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de *Shigella spp.*, en la producción de leche bovina, se aplicó una encuesta estructurada dirigida a los productores de las Unidades de Producción Agropecuaria (UPAs) incluidas en el estudio. El instrumento permitió recopilar información relacionada con las prácticas de manejo higiénico-sanitario durante el ordeño, el uso de agua, las condiciones de limpieza de los utensilios, el manejo del ganado y los procedimientos de enfriamiento de la leche. La información obtenida fue utilizada para analizar la posible asociación entre estas prácticas productivas y la presencia de *Shigella spp.*, en las muestras de leche cruda analizadas.

La encuesta se realizó a cada uno de los predios para determinar los factores de riesgo mediante un cuestionario estructurado (Anexo 2), donde se indago acerca de cómo es su tipo de ordeño, presencia de donde proviene el agua, alimentación, refrigeración de la leche, lavado de manos, condiciones de sanidad y del lugar del ordeño.

3.4.4. Fase II: Trabajo de campo y recolección de muestras

3.4.4.1. Materiales necesarios para muestreo

- Guantes de examinación.
- Papel toalla o papel de limpieza.
- Tubos falcon estériles plásticos con tapa
- Marcador permanente.
- Planilla o libreta para registro.
- Conservadora de espumaplast o cooler para transporte de muestras.
- Refrigerantes o botellas plásticas con agua congelada
- Tener la coordinación del día de que se recolecto la muestra, con el traslado y llegada al laboratorio

3.4.4.2. Procedimiento para la toma de muestras:

- Se recolecto la muestra donde se usó medidas de bioseguridad, utilizando equipo de protección personal correspondiente. La recolección de la muestra requirió la implementación de: guantes de manipulación, overol antifluido, cofia para la contención del cabello y mascarilla de protección respiratoria.

- Donde se tomó la muestra directamente del recipiente o cantina, luego de haber terminado la jornada de ordeño en un tubo falcón estéril de 50 ml, se coloca aproximadamente de 30 mL de muestra.
- Luego terminada la recolección se colocó en una gradilla y en un cooler o caja de espuma (espumaplast) para su traslado. Esto asegura de que se mantengan protegidas, organizadas y en una temperatura de 4 – 12°C adecuada durante el transporte (Shialer, 2019).



Figura 3. Lugar de acopio

3.4.4.3. Identificación, conservación y traslado de muestras

Las muestras fueron enumeradas en tubos falcón estéril con un marcador por orden de muestreo, se anotó en una hoja a qué número de finca y sector corresponde cada una. Esta planilla, se traslada al laboratorio junto con las muestras.

Datos que se usó para enviar al laboratorio

- Fecha de recolección de las muestras.
- Datos del establecimiento: Nombre, ubicación, número de muestra

Las muestras fueron trasladadas a los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi.

3.4.5. Fase III: Procedimiento de laboratorio

3.4.5.1. Procedimiento de laboratorio microbiológico (Pre-enriquecimiento y Aislamiento)

- Enriquecimiento: Con las muestras recolectadas, se realizó el proceso de crecimiento de la bacteria que se quiere identificar para lo cual se aplicó la fase de pre-enriquecimiento bacteriano: disolver 37gr en 1000ml de agua destilada dispensarlo en botellas autoclavable a 121°C durante 15min a una presión atmosférica 15 psi (BRAIN HEART INFUSION AGAR, 2023). Esto ayudo a promover el crecimiento de ciertas bacterias incluyendo la *Shigella spp.*

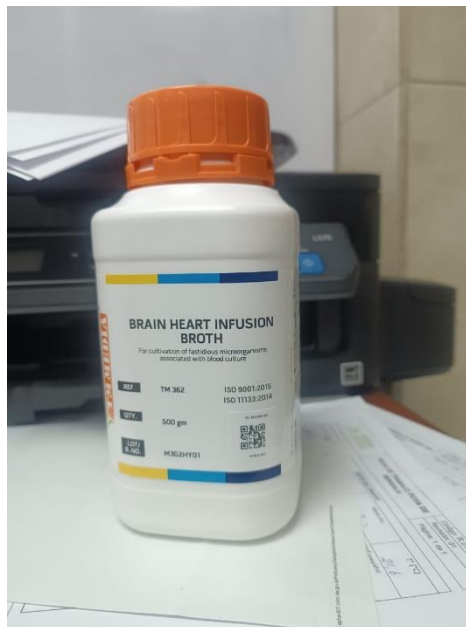


Figura 4. Medio de cultivo Infusión Cerebro-Corazón. (BHI)

- Una vez preparado el medio de cultivo, se transfirieron 36 ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) y 4 mL de muestra de leche cruda a un tubo Falcon estéril en la cabina de flujo laminar. Cada tubo fue debidamente rotulado al número correspondiente de muestra.

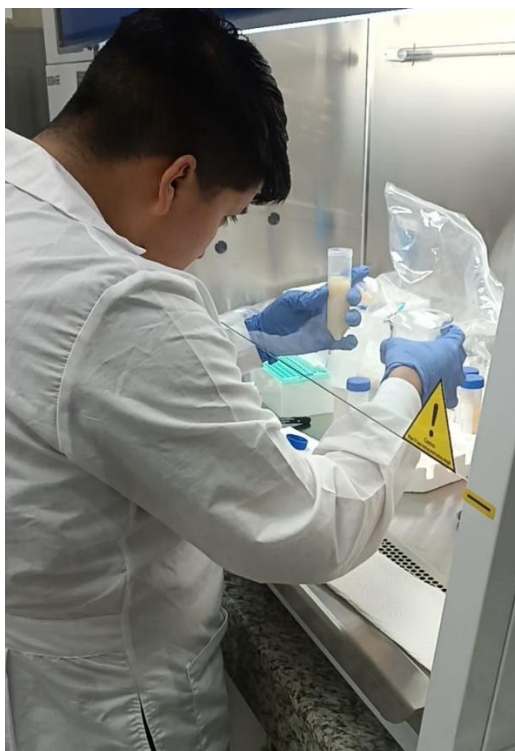


Figura 5. Transfiriendo 36 mL de caldo (BHI) y 4 mL de muestra de leche cruda a un tubo Falcon estéril

- Posteriormente, los tubos fueron colocados en una incubadora con agitación, donde se mantuvieron a una temperatura de 37 °C durante un período de 18 a 24 horas, con el fin de favorecer el crecimiento de la bacteria de interés.



Figura 6. Muestras colocadas en la incubadora con agitación

- Aislamiento selectivo: Transcurrido el tiempo se preparó el medio selectivo agar Hektoen Enteric agar en el cual se calcula lo siguiente: Disolver 76.67gr en 1000ml agua destilada. Caliente suavemente para disolver el medio por completo y no estabilizar en autoclave ni sobrecalentar. Enfríe a 45-50°C y se

vierte en las cajas Petri estériles que nos facilita para el aislamiento y diferenciación de bacterias enteropatógenas, especialmente del género *Shigella* y *Salmonella*, a la identificación de la bacteria *Shigella* (Hektoen Enteric Agar, 2020).



Figura 7. Agar Hektoen Enteric

- El medio se enfrió bajo condiciones estériles, una vez enfriado, se utiliza un asa previamente esterilizada al rojo vivo para tomar la muestra que se desea procesar, y se realizó la siembra empleando la técnica de estriado en superficie todo realizado en la cámara de flujo laminar (Sanders, 2012).



Figura 8. Estriado en la superficie del medio

- Se pasa la incubadora señalando la caja Petri con el número de muestra, fecha y se espera resultados de 19 a 24 horas.
- Después de la incubación se examinó a una comparación fenotípica y luego procedió a recoger la colonia donde suele ser de color azul verdoso, húmedas y elevadas (Biotech, 2020).
- En el caso de las muestras que resultaron positivas, se preparó el medio BHI. Utilizando el asa esterilizada al rojo vivo, se recogió la colonia y se mezcló con glicerol (previamente autoclavado dos veces) para su posterior congelación, asegurando así su almacenamiento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.4.5.2. Extracción de ADN

Materiales

- Tubos 1.5 μ L
- Centrífuga refrigerada
- Vortex
- TE buffer
- Puntas 200 μ L
- Termobloque
- Placa de cultivo con colonias aisladas
- Asa metálica
- Mechero
- Tubos de 200 μ L

Protocolo

- Colocar 10 μ L en 5ml de BHI (incubar por 19 horas a 37 °C).
- Tomar 1ml de este sembrado en un tubo eppendorf de 2 ml.
- Centrifugar 5 a 10 mins por 3 a 4 mil rpm.
- Se forma pelet se bota sobrenadante.
- Diluir el pelet en 500 μ L de TE.
- Calentar termobloque a 95 °C por 1 min.
- Congelar a -20 °C *overnight* (o -80°C por 10 min).
- Centrifugar a 10,000 rpm, 4 °C, 10min.
- Colocar 200 μ L de sobrenadante en tubos rotulados de 200 μ L.
- Almacenar a -20 °C

3.4.5.3. Traslado de material genético para análisis molecular

Acabo el proceso de extracción de ADN las muestras se trasladaron bajo condiciones a los laboratorios de la Universidad de las Americas (UDLA)- Quito para realización de la qPCR donde tomaron estos procedimientos.

3.4.5.4. Identificación molecular por qPCR para *Shigella* spp.

Diseño de cebadores: Utilizaron cebadores y sondas de hidrólisis para la identificación molecular de *Shigella* spp., en la Tabla 5 centrados en el gen *ipaH*, el cual codifica el antígeno del plásmido de invasión H y se encuentra conservado en las cuatro especies del género (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei*) (Liu *et al.*, 2024).

- Cebadores y sondas para la detección de *Shigella* spp., mediante qPCR

Tabla 5. Cebadores y sondas para la detección de *Shigella* spp., mediante qPCR

Gen Blanco	Nombre del Cebador	Secuencia (5' → 3')	Tamaño del Amplicón (pb)	Fuente
<i>ipaH</i>	<i>ipaH-F (Forward)</i>	5'-GCT GGA AAA ACT CAG TGC CT-3'	64 pb	Taneja Neelam y Mewara Abhishek (2016)
	<i>ipaH-R (Reverse)</i>	5'-CCA GTC CGG AAT ATT GCT CC-3'		
	Sonda TaqMan	FAM-TCA TCG CCT TTG CTG ATG ACT TGC-BHQ1		
<i>ipaH</i>	<i>ipaH-L (Forward)</i>	5'-CCT TTG CGC ATT TGT CAT T-3'	118 pb	Halimeh <i>et al.</i> (2020)
	<i>ipaH-R (Reverse)</i>	5'-TGG AAT GTT GAT GAG TAT CCA-3'		
<i>virA</i>	<i>virA-F (Forward)</i>	5'-CTG CAG TTT CGA GGT GGT TC-3'	120 pb	Lu Duofei <i>et al.</i> (2025)
	<i>virA-R (Reverse)</i>	5'-GTC AAC GCT TGC ACT ACC AT-3'		

Detección molecular de *Shigella* spp., mediante qPCR: Para la identificación molecular de *Shigella* spp., se prepararon reacciones de qPCR utilizando un volumen final de 10 µL, compuesto por 2X TaqMan™ Universal Master Mix II con UNG (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EE. UU.), 0,2 µm de cada cebador específico para el gen *ipaH*, 0,1 µm de la sonda de hidrólisis (Tabla 5) y 1µL de ADN molde diluido 1:5. La amplificación se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones térmicas: un ciclo inicial a 50 °C durante 2 min para la acción de la enzima UNG, seguido de 1 ciclo a 95 °C durante 5 min para la desnaturalización inicial. Posteriormente, se realizaron 45 ciclos que consistieron en 95 °C durante 15 s para la desnaturalización, 60 °C durante 45 s para la hibridación de la sonda y los cebadores (lectura de fluorescencia), y 72 °C durante 30 s para la extensión. Las corridas se ejecutaron en el termociclador CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE. UU.) como indica en la Figura 9 (Nuñez *et al.*, 2025).



Figura 9. Condiciones de termociclador en tiempo real para la detección molecular de *Shigella spp.*

Este protocolo se empleó para detectar la presencia del gen *ipaH* en el ADN extraído a partir de las muestras de leche cruda enriquecida y para la confirmación genética de los aislados bacterianos obtenidos en medios de cultivo selectivos. En el análisis de datos, las muestras que presentaron amplificación para el gen *diana* se clasificaron como positivas para *Shigella spp.* / *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), dado que el gen del plásmido de invasión es un marcador genético altamente específico y conservado en ambas poblaciones patógenas (Nuñez *et al.*, 2025).

3.4.5.5. Conteo de muestras positivas tanto microbiológica y qPCR.

Para garantizar la precisión en la identificación de *Shigella spp.*, se empleó una cepa de control positivo como referente comparativo durante toda la fase de aislamiento en medios selectivos.

El uso de esta cepa de control, fenotípicamente idéntica a la bacteria objetivo, permitió establecer un patrón morfológico estándar para la lectura de las placas de Agar Hektoen Enteric (HE). Los resultados de las muestras aisladas coincidieron con las características del control:

- Morfología de la colonia: Se observaron colonias elevadas y húmedas.
- Coloración: Presentaron un tono azul-verdoso característico, debido a la ausencia de fermentación de lactosa y sacarosa en el medio, coincidiendo plenamente con el comportamiento fenotípico de la cepa de control.

En la Figura 10 se observa la cepa de control positivo con colonias azul-verdosas típicas y se comparó con las positivas de la Figura 11 y 12.

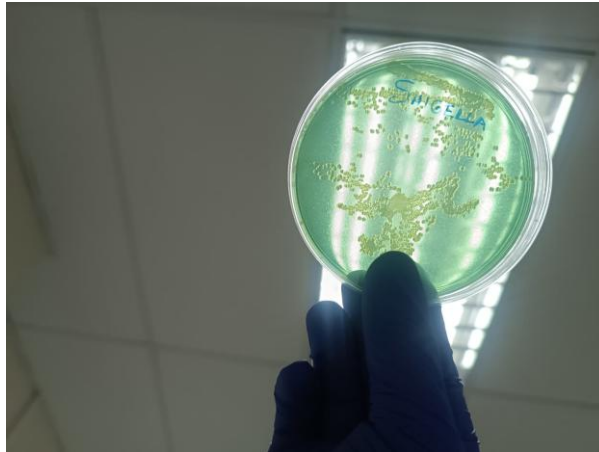


Figura 10. Identificación fenotípica de *Shigella* spp., en Agar Hektoen Enteric.



Figura 11. Muestra positiva proveniente de la Parroquia de Tufiño.

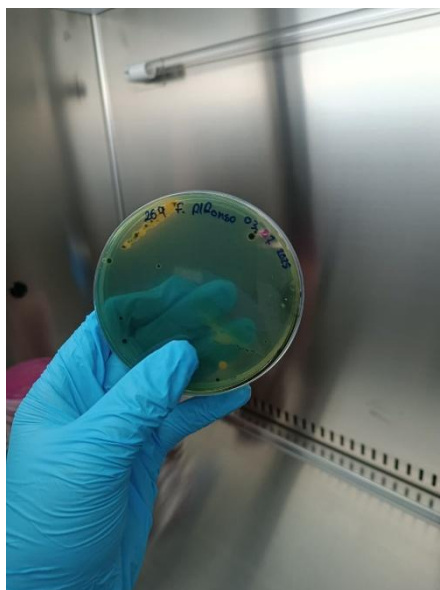


Figura 12. Muestra positiva proveniente de la Parroquia de Urbina.

En esta situación se realizó una comparación de los positivos con las muestras realizadas microbiológicamente y pcr que se quiere indicar que el ensayo fue técnicamente válido (control positivo y NTC correctos). Las muestras muestran amplificación

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1. Prevalencia

La prevalencia es la proporción de casos existentes de una enfermedad en una población determinada en un momento dado (Rodríguez et al., 2020)

$$P = \frac{\text{número de casos positivos}}{\text{total de población en ese momento}} \times 100\%$$

Fuente: (Ward, 2013)

3.5.2. Análisis de factores de riesgo atribuidos a la enfermedad

La recolección de información sobre estos factores se llevó a cabo a través de una entrevista estructurada, los datos se ingresaron en una base de datos en Excel. Para examinar y comprender los resultados, se empleó en el estudio se empleó un diseño de cohortes que permitió sistematizar la información a través de procedimientos analíticos basados en fórmulas y matrices. Asimismo, se incorporaron métodos propios de la investigación de tipo transversal, orientados a la caracterización y medición de las variables de interés dentro del periodo evaluado.

- Prueba de chi cuadrado

Las probabilidades vinculadas a que un evento se produzca en presencia de una exposición dependen directamente del valor del Odds Ratio. Sin embargo, cuando esta razón es menor que 1, se interpreta que la exposición reduce la posibilidad de que el evento ocurra (Ruiz Mitjana, 2019).

La prueba de chi cuadrado se utiliza para analizar la posible asociación entre dos variables de naturaleza categórica, constituyendo un procedimiento estadístico destinado a contrastar la hipótesis nula. Desde el punto de vista interpretativo, se compara el valor de significancia con el umbral convencional de 0,05. Cuando dicho valor es superior a este nivel, se mantiene la hipótesis nula, lo que indica que no existe relación entre las variables. Por el contrario, cuando el valor es igual o inferior al nivel de significancia establecido, se rechaza la hipótesis nula, sugiriendo la presencia de dependencia entre las variables.

- Valor P

Constituye un estimador probabilístico fundamental para evaluar la evidencia empírica frente a la hipótesis nula. En términos formales, el valor p se define como la probabilidad de obtener un estadístico de prueba igual o más extremo que el observado, bajo el supuesto de que la hipótesis nula es cierta. Según Romero (2018)

El valor p se compara con un nivel de significancia preestablecido (α), que es la probabilidad máxima de cometer un **Error de Tipo I** (falso positivo) que el investigador está dispuesto a tolerar (típicamente $\alpha = 0.05$).

- Si $p < \alpha$ Rechaza la H_0 : El resultado es estadísticamente significativo. Se considera que la diferencia/efecto no es atribuible al azar.
- Si $p > \alpha$ No rechazar la H_0 : El resultado no es estadísticamente significativo. La evidencia es insuficiente para descartar que la diferencia/efecto se deba al azar (Romero, 2018).

El análisis de la relación entre una exposición y un desenlace se fundamenta en el uso del Odds Ratio (OR). Este indicador se obtiene al comparar la probabilidad relativa del evento en el grupo expuesto frente a la probabilidad correspondiente en el grupo no expuesto, permitiendo así estimar la magnitud de la asociación entre ambas condiciones (Tenny y Hoffman, 2023).

En los estudios de casos y controles, el Odds Ratio se emplea como un indicador clave para evaluar si una determinada exposición se vincula con la aparición de un evento. Cuando este coeficiente presenta valores elevados, sugiere que el desenlace es más frecuente entre los individuos expuestos; por el contrario, valores menores reflejan una menor probabilidad de que el evento se relacione con dicha exposición (Tenny y Hoffman, 2023).

Para poder interpretar se basó:

- **OR= 1:** No existe asociación entre exposición y evento.
- **OR>1:** La exposición está asociada a un mayor riesgo del evento.
- **OR<1:** La exposición está asociada a un menor riesgo

Odds ratio =

$$\frac{\text{Odds del evento en el grupo expuesto}}{\text{Odds del evento en el grupo no expuesto}}$$

Odds ratio =

$$\frac{a/b}{c/d} = \frac{ad}{bc}$$

Tabla 6. Tabla de contingencia

		Event	
		Yes	No
Exposure	Yes	A	b
	No	C	d

Odds Ratio =

$$\frac{\text{odds of the event in exposed group}}{\text{odds of the event in non-exposed group}}$$

Odds Ratio =

$$\frac{a/b}{c/d} = \frac{ad}{bc}$$

Upper 95% CI =

$$e^{\left[\ln(OR)+1.96\sqrt{(1/a)+(1/b)+(1/c)+(1/d)}\right]}$$

Lower 95% CI =

$$e^{\left[\ln(OR)-1.96\sqrt{(1/a)+(1/b)+(1/c)+(1/d)}\right]}$$

Fuente: (BioDatev, 2025)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Presencia de *Shigella* spp., mediante análisis microbiológico en muestras de leche

Tras la evaluación de 384 muestras de leche cruda obtenidas de 105 hatos ganaderos, en las parroquias de Urbina y Tufiño.

La identificación de 37 muestras positivas representa 9,63%, del total analizado, proporción que indica la circulación del patógeno en la cadena de producción de leche cruda. La presencia de *Shigella* spp., en alimentos de consumo humano se considera relevante debido a su alto potencial de transmisión fecal-oral y riesgo para la salud pública. Por ello, incluso presencias moderadas adquieren importancia epidemiológica al evidenciar posibles deficiencias en las prácticas de higiene y manejo sanitario en los hatos productores. Del total de la muestra, se obtuvieron 37 resultados positivos, distribuidos de la siguiente manera:

- Parroquia de Urbina: De 154 muestras (45 hatos), se identificaron 17 positivos.
- Parroquia de Tufiño: De 230 muestras (60 hatos), se identificaron 20 positivos.

4.1.2. Detección *Shigella* spp., mediante técnicas moleculares qPCR.

Tras el aislamiento primario y la selección fenotípica en medios selectivos, se procedió a la confirmación molecular de las muestras sospechosas mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR).

El análisis molecular se centró en la detección del gen *ipaH* (invasion plasmid antigen H), el cual es un marcador altamente específico y conservado para el género *Shigella* spp.

Se observan las curvas de amplificación del control positivo y las muestras positivas de los hatos evaluados, demostrando la especificidad de la prueba como indica en la figura 13.

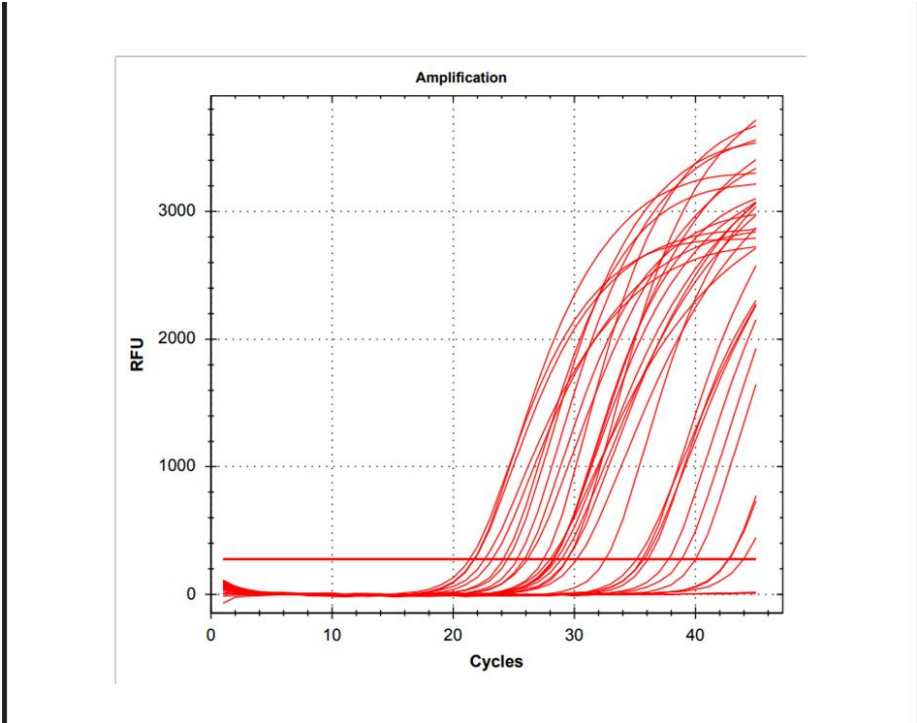


Figura 13. Resultados de la qPCR para la detección del gen ipaH en muestras de leche cruda.

4.1.2.1 Resultado de las pruebas microbiológicas y su comparación con la prueba qPCR.

Como indica la Tabla 7 tenemos un resultado al 100% de la población debido que ambas pruebas como en el caso de la microbiológica es una prueba específica comparando el control positivo con las colonias fenotípicamente y en qPCR teniendo en porcentaje se considera igual una prueba específica dándonos a confirmar que son la bacteria de *Shigella spp.*, incluso en la gráfica del Figura 13 existe las curvas pronunciadas.

Tabla 7. Comparación de resultados entre microbiológico con qPCR		
Medio de Cultivo Selectivo Hektoken Enteric Agar	qPCR	Total
+	+	37

4.1.3. Determinación Prevalencia

La evaluación se llevó a cabo sobre una población de 384 muestras de ganaderos, 154 en la Parroquia de Urbina y 230 en la Parroquia de Tufiño. Las muestras provinieron de 105 hatos ganaderos, de los cuales 45 pertenecen a Urbina y 60 son de Tufiño.

Del total de muestras positivas se obtuvieron 37 resultados positivos, por lo que el índice de prevalencia total de *Shigella spp.*, es 9,63%, de los cuales 17 positivos obtuvieron en la parroquia de Urbina, por lo que el índice de prevalencia de *Shigella spp.*, es del 11.03% y en la parroquia de Tufiño se identificaron 20 positivos con una prevalencia del 8.69%.

$$P = \frac{\text{número de casos positivos}}{\text{total de población en ese momento}} \times 100\%$$

$$P = \frac{37}{384} \times 100\% = 9.63\% \text{ Prevalencia Total}$$

$$P = \frac{17}{154} \times 100\% = 11.03\% \text{ Prevalencia Total en la Parroquia de Urbina}$$

$$P = \frac{20}{230} \times 100\% = 8.69\% \text{ Prevalencia Total en la Parroquia de Tufiño}$$

4.1.4. Análisis de los factores de riesgo asociados a la presencia de *Shigella spp.*

4.1.4.1. Ubicación.

Como se muestra en la Tabla 8 no existe asociación entre la presencia de *Shigella spp.*, y la ubicación o fuente de la muestra, ya que obtuvo un p-valor de 0,6371.

Tabla 8. Chi cuadrado para la relación entre *Shigella spp.*, y los factores de riesgo de las parroquias.

Ubicación	<i>Shigella spp</i>	
	No	Si
TUFIÑO	40	20
URBINA	28	17
Chi cuadrado	0,22	
p-valor	0,6371 ns	

4.1.4.2. Tipo de ordeño

Como se muestra en la Tabla 9 el tipo de ordeño (manual) se considera un factor de riesgo para *Shigella spp.*, ya que obtuvo un valor de Odds Ratio de 1,56.

Tabla 9. Odds Ratio de Tipo de ordeño en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Tipo de ordeño		No	Si
	Manual Mecánico	50 18	24 13
Odds Ratio		1.56	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.3. Tipo de Fuente de agua

Como se muestra en la Tabla 10 el agua no potable utilizada en las actividades de ordeño se considera un factor de riesgo para *Shigella spp.*, ya que obtuvo un valor de Odds Ratio de 2,21.

Tabla 10. Odds Ratio de Tipo de Agua en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Fuente de Agua		No	Si
	No Potable Potable	18 50	9 28
Odds Ratio		2.21	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.4. Aseo del ordeño

En la Tabla 11 por la falta de limpieza adecuada en el ordeño antes de usar se considera un factor de riesgo para *Shigella spp.*, ya que obtuvo un valor de Odds Ratio de 3,57.

Tabla 11. Odds Ratio de la Limpieza del ordeño en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Limpia el sitio de ordeño		No	Si
	No Si	27 54	10 14
Odds Ratio		3.57	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.5. Aseo de manos

Como muestra en la Tabla 12 en el no lavado de manos es una de las actividades de ordeño que se considera un factor de riesgo para *Shigella spp.*, ya que obtuvo un valor de Odds Ratio de 5.04.

Tabla 12. Odds Ratio de la Limpieza de las manos en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Se lava las manos antes de ordeñar	No	No	Si
	Si	9	8
		59	29
Odds Ratio		5.04	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.6. Medidas de bioseguridad

Como muestra la Tabla 13 por la falta de uso de overol o mandil durante el ordeño es un factor de riesgo para *Shigella spp.*, ya que obtuvo un valor Odds Ratio de 7,97.

Tabla 13. Odds Ratio del uso de mandil u overol en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Utiliza overol	No	No	Si
	Si	43	31
		25	6
Odds Ratio		7.97	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.7. Limpieza de ubres

Como lo muestra la Tabla 14 en la parte de no revisar la condición física de las ubres es un factor de riesgo para *Shigella spp.*, ya que obtuvo Odds Ratio de 2.21.

Tabla 14. Odds Ratio y chi-cuadrado de limpieza de ubres en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Limpia y revisa las ubres	No	No	Si
	Si	18	9
		50	28
Odds Ratio		2.21	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.8. Lugar donde ordeña se encuentra en condiciones

Como muestra lo muestra la Tabla 15 tiene relación a los factores de riesgo para *Shigella spp.*, las condiciones del lugar donde ordeña no tengan un adecuado aseo por el valor de Odds Ratio de 2.16.

Tabla 15. Odds Ratio y chi-cuadrado de las condiciones del lugar en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
El lugar este seco, techado y sin animales sueltos	No	No	Si
	Si	43	23
		25	14
Odds Ratio		2.16	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.9. Desecho del despunte

En la Tabla 16 sugiere que en esta actividad del despunte se considera un factor de riesgo para *Shigella spp.*, estar realizando de una forma inadecuada o contaminante para un valor de Odds Ratio de 4.10.

Tabla 16. Odds Ratio del desecho del despunte en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Realiza el despunte en un recipiente	No	No	Si
	Si	15	12
		53	25
Odds Ratio		4.10	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.10. Prueba de Mastitis.

En la Tabla 17 se muestra que puede ser un factor de riesgo para *Shigella spp.*, de manera indirecta por no hacer la prueba constituye un riesgo real lo que tiene un Odds Ratio de 5.35.

Tabla 17. Odds Ratio de la prueba de mastitis en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Prueba de Mastitis	No	No	Si
	Si	32	25
		36	12
Odds Ratio		5.35	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.11. Uso de recipientes durante el ordeño

Como indica en la Tabla 18 puede ser un factor de riesgo para *Shigella spp.*, por el uso de los recipientes que solo son exclusivos para el ordeño por mala higiene deficiente con valor de Odds Ratio de 6.73.

Tabla 18. Odds Ratio al uso de recipientes en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Los baldes o bidones son de solo uso del ordeño	No	No	Si
	Si	8	9
		60	28
Odds Ratio		6.73	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.12. Vacas enfermas las ordeña al final

Como indica en la Tabla 19 existe un factor de riesgo para *Shigella spp.*, tenemos que a ordeñar las con tratamiento al inicio puede ser vinculado con Odds Ratio de 2.32.

Tabla 19. Odds Ratio de contaminación cruzada en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Si dispone de vacas enfermas las ordeña al final	No	No	Si
	Si	27	15
		41	22
Odds Ratio		2.32	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.13. Sellante después del ordeño

Como indica en la Tabla 20 hay un factor de riesgo a *Shigella spp.*, los que no aplican sellante pueden tener a un mayor riesgo con un valor de Odds Ratio de 2.82.

Tabla 20. Odds Ratio con aplicación de sellante en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Aplicación de sellador	No	No	Si
	Si	29	18
		39	19
Odds Ratio		2.82	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.14. El recipiente (cantina) al traslado de enfriamiento

Como indica en la Tabla 21 existe factor de riesgo a *Shigella spp.*, por lo que no es trasladada de manera inmediata la cantina a un método de enfriamiento con un valor de Odds Ratio de 8.05.

Tabla 21. Odds Ratio sobre el traslado al tanque de enfriamiento en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
Al finalizar el ordeño la cantina se transfiere al enfriamiento	No	No	Si
	Si	7	16
		61	89
Odds Ratio		8.05	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.15. Método de enfriamiento

Como indica en la Tabla 22 existe un factor de riesgo a *Shigella spp.*, por los que comparten en el mismo tanque de enfriamiento, este mal calibrado la temperatura requerida o existe en un manejo inadecuado de aseo con un valor de Odds Ratio de 2.82.

Tabla 22. Odds Ratio sobre al tipo de enfriamiento en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
		No	Si
Método de enfriamiento	Enfriamiento por agua	24	15
	Enfriamiento por tanque	44	22
Odds Ratio		2.82	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.16. Lavado de utensilios

En la Tabla 23 indica que existe un factor de riesgo con *Shigella spp.*, por no lavar los y desinfectar los utensilios tiene mayor riesgo con un valor de Odds Ratio de 4.98.

Tabla 23. Odds Ratio sobre el lavado de utensilios en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
		No	Si
Lavado de utensilios	No	12	11
	Si	56	26
Odds Ratio		4.98	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.1.4.17. Aseo del ordeño al finalizar

En la Tabla 24 indica un factor de riesgo para *Shigella spp.*, donde no existe la debida limpieza del lugar donde ordeña por el valor de Odds Ratio de 2.60.

Tabla 24. Odds Ratio aseo del ordeño al finalizar en los hatos ganaderos

		<i>Shigella spp</i>	
		No	Si
Limpia el área de ordeño terminada la jornada	No	34	20
	Si	34	17
Odds Ratio		2.60	
Interpretación		Factor de Riesgo	

4.2. DISCUSIÓN

4.2.1. Aislamiento de *Shigella spp.*, mediante análisis microbiológicos en muestras de leche bovina recolectadas en la ciudad de Tulcán.

En el análisis microbiológico de 384 muestras de leche cruda, utilizando pre-enriquecimiento en caldo BHI y posterior siembra en agar selectivo Hektoen Enteric (HE), se logró aislar 37 cepas compatibles con *Shigella spp.*, Las colonias presentaron características macroscópicas acordes al comportamiento del microorganismo, con crecimiento elevado, aspecto húmedo y tonalidad azul-verdosa, lo que permitió distinguirlas frente a otras enterobacterias presentes en la muestra. Los resultados coinciden con lo reportado por Chukwu *et al.* (2023), quienes, a partir del análisis microbiológico de leche y productos lácteos, identificaron *Shigella spp.*, con una frecuencia del 29.8% dentro de los aislamientos obtenidos. La presencia del patógeno en ambos contextos evidencia que la contaminación no ocurre de manera aislada, sino que se relaciona con fallas en las condiciones higiénicas durante el ordeño, la manipulación y el almacenamiento, lo que confirma el riesgo sanitario asociado al consumo de leche cruda.

La efectividad de este paso fenotípico también es respaldada por Elkenany, *et al.* (2022) "Caracterización de especies de *Shigella* multiresistentes aisladas de leche cruda de vaca y productos lácteos" quienes lograron recuperar y caracterizar exitosamente diversas especies del patógeno a partir de leche cruda bovina utilizando protocolos dependientes de cultivo bacteriológico. El éxito en la recuperación de las cepas en el agar Hektoen Enteric demuestra que el uso de medios altamente selectivos permite discriminar visualmente a *Shigella spp.*, frente al abundante microbiota competidora típica de la leche cruda sin pasteurizar. No obstante, como lo indica la literatura técnica, la gran similitud bioquímica y filogenética que este patógeno comparte con otras enterobacterias, particularmente con variantes anaerogénicas e inmóviles de *Escherichia coli*, subraya que este riguroso diagnóstico microbiológico diferencial debe actuar como el filtro indispensable y complementario previo a la confirmación mediante ensayos moleculares.

4.2.2. Confirmación de *Shigella spp.*, mediante técnicas moleculares (qPCR)

La identificación inicial de *Shigella spp.*, realizada mediante aislamiento bacteriológico en agar Hektoen Enteric fue posteriormente confirmada a través de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), obteniéndose concordancia total en las 37 muestras positivas detectadas durante el análisis microbiológico. La coincidencia entre ambas metodologías confirma la presencia del microorganismo en las muestras analizadas y respalda la confiabilidad de los resultados obtenidos.

El uso de qPCR permitió realizar una identificación molecular específica del patógeno, reduciendo la posibilidad de confusión con otras enterobacterias que pueden presentar características fenotípicas similares en medios de cultivo selectivos. En estudios microbiológicos de matrices alimentarias, la utilización conjunta de métodos microbiológicos tradicionales y técnicas moleculares constituye una estrategia ampliamente utilizada para mejorar la precisión diagnóstica y la confirmación de patógenos.

Resultados similares fueron reportados por Chukwu *et al.* (2023), quienes analizaron leche y productos lácteos mediante aislamiento microbiológico y lograron identificar *Shigella spp.*, con una frecuencia del 29.8% dentro de las bacterias encontradas. El procedimiento empleado, basado en cultivo y recuperación en medios selectivos, permitió confirmar la presencia del patógeno en este tipo de alimentos, lo que coincide con lo obtenido en el presente estudio. La aparición de *Shigella spp.*, en ambos casos no responde a un evento aislado, sino a condiciones de manejo que favorecen su ingreso y permanencia en la leche. La relación entre los resultados apunta a fallas durante el ordeño, la manipulación o el almacenamiento, factores que influyen directamente en la calidad microbiológica del producto y que deben considerarse dentro del análisis del riesgo sanitario.

Finalmente, la utilización conjunta de métodos tradicionales y técnicas moleculares constituye la estrategia más robusta para garantizar la inocuidad alimentaria. Estos hallazgos coinciden con lo planteado por (Nuñez *et al.*, 2025), quienes demostraron que los métodos basados en qPCR permiten superar las limitaciones de especificidad de los cultivos en matrices lácteas complejas. Al haber amplificado exitosamente el gen ipaH —marcador considerado el estándar de oro por su conservación en el género (Taneja y Mewara, 2016), se elimina cualquier ambigüedad taxonómica

frente a otras enterobacterias, confirmando la circulación de cepas con potencial invasivo en la producción primaria de Tulcán.

4.2.3. Determinación de la prevalencia de *Shigella* spp.

El análisis microbiológico realizado permitió identificar una prevalencia total de 9,63 % (37/384) de *Shigella* spp., en muestras de leche bovina provenientes de hatos ganaderos de la ciudad de Tulcán. Este hallazgo evidencia la presencia del patógeno en sistemas de producción primaria de la zona y confirma que la leche cruda puede actuar como un vehículo potencial para la transmisión de bacterias entéricas hacia el consumidor, especialmente cuando el producto se manipula o comercializa sin procesos adecuados de control sanitario.

La presencia observada en el presente estudio resulta ligeramente superior a la reportada por Elkenany, *et al.* (2022), en la investigación titulada "Caracterización de especies de *Shigella* multiresistentes aisladas de leche cruda de vaca y productos lácteos", en la cual se identificó una prevalencia cercana al 7 % mediante aislamiento bacteriológico y análisis molecular en productos lácteos. Las diferencias entre ambos estudios pueden relacionarse con variaciones en las condiciones sanitarias del proceso de ordeño, el manejo de los hatos ganaderos o el uso de agua durante la limpieza de equipos e implementos de recolección. En sistemas productivos donde las medidas de bioseguridad no se aplican de manera constante, la probabilidad de contaminación microbiológica del producto tiende a incrementarse, favoreciendo la presencia de microorganismos patógenos en la leche cruda.

La distribución de *Shigella* spp., también presentó variaciones porcentuales entre parroquias. En Urbina se registró una prevalencia de 11,03 % (17/154), mientras que en Tufiño se identificó 8,69 % (20/230). A pesar de estas diferencias numéricas, el análisis estadístico mediante chi-cuadrado indicó que la variable de ubicación geográfica no presenta asociación significativa con la presencia de la bacteria ($p = 0,6371$).

4.2.4. Relación entre la presencia de *Shigella spp.*, y los factores de riesgo identificados en la ciudad de Tulcán.

El análisis de los factores de riesgo asociados a la presencia de *Shigella spp.*, evidenció que diversas prácticas relacionadas con la manipulación de la leche y el manejo sanitario durante el proceso de ordeño incrementan significativamente la probabilidad de contaminación del producto.

Considerando que los hatos incluidos en esta investigación presentan características productivas similares de manejo, infraestructura y prácticas de ordeño manual, la distribución homogénea de los casos positivos entre parroquias sugiere la existencia de factores de riesgo microbiológico comunes dentro del sistema pecuario local.

En el factor de riesgo con valor obtenido en el tipo de ordeño manual (OR= 1.56) indica una mayor probabilidad de presentación de contaminación o infección asociada al ordeño manual, posiblemente relacionada con deficiencias higiénico-sanitarias durante la manipulación de la leche.

En concordancia con este hallazgo, Contero y Cachipundo (2021) en su investigación, "Calidad del agua y de la leche en sistemas de ordeño manual de la Sierra Norte del Ecuador", reportaron presencia de coliformes fecales en el 29 % de las muestras analizadas en sistemas de ordeño manual de la Sierra Norte del Ecuador, asociando esta contaminación con el uso de agua no potable y deficientes prácticas de higiene durante el ordeño. Este antecedente respalda la hipótesis de que las condiciones operativas compartidas entre explotaciones pueden favorecer la persistencia y diseminación de agentes microbiológicos dentro de los sistemas lecheros tradicionales.

Entre los factores con mayor asociación se identificó el traslado tardío de la leche al sistema de enfriamiento (OR = 8,05), la falta de uso de overol por parte del ordeñador (OR = 7,97) y el uso de recipientes no exclusivos para la recolección de leche (OR = 6,73). Estas condiciones favorecen la exposición del producto a fuentes externas de contaminación y facilitan la introducción directa de microorganismos patógenos durante las primeras etapas de manejo de la leche cruda.

Hallazgos similares fueron reportados por Tenecela y Ortiz (2023), en el estudio "Análisis bacteriológico de leche cruda expendida en Tarqui-Ecuador", donde se identificó que las deficiencias en las condiciones higiénicas durante el ordeño constituyen uno

de los principales factores asociados a la contaminación microbiológica en sistemas locales de producción lechera.

El análisis de las prácticas sanitarias también mostró que la omisión del lavado de manos antes del ordeño incrementa considerablemente el riesgo de contaminación (OR = 5,04), debido a que facilita la transferencia directa de bacterias entéricas desde el manipulador hacia la leche cruda. Este resultado respalda lo reportado por Puga *et al.* (2022), en el estudio “Parámetros de calidad de la leche cruda en Ecuador entre 2010 y 2020: revisión sistemática de la literatura y metaanálisis”, donde se concluye que la presencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal en la producción primaria se relaciona estrechamente con deficiencias en las prácticas básicas de higiene del personal encargado del ordeño.

Otro factor identificado en la investigación fue el uso de agua no potable durante el proceso de ordeño (OR = 2,21). El empleo de agua sin tratamiento sanitario en la limpieza de utensilios y equipos puede actuar como un vehículo directo para la transferencia de bacterias hacia la leche cruda, comprometiendo su calidad microbiológica. Este resultado coincide con lo observado por De la Torres *et al.* (2025) en la investigación “Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda en la industria láctea de Napo-Ecuador”, donde se determinó que el uso de fuentes hídricas sin tratamiento y la limpieza deficiente de los equipos de ordeño influyen directamente en el deterioro microbiológico de la leche cruda producida en sistemas ganaderos.

Los resultados obtenidos también evidenciaron que el manejo sanitario del ganado constituye un factor importante en la contaminación bacteriana del producto. En particular, se identificó que la omisión de la prueba de mastitis (OR = 5,35) y el manejo inadecuado de vacas enfermas durante el ordeño (OR = 2,32) incrementan la probabilidad de contaminación microbiológica. Aunque *Shigella spp.*, no es un patógeno propio del ganado bovino, el contacto con superficies contaminadas, el ambiente del establo y la contaminación fecal cruzada pueden facilitar la introducción del microorganismo en la leche durante el proceso de ordeño.

Una situación similar fue descrita por Arauco Villar *et al.* (2025) en el estudio “Evaluación de la calidad fisicoquímica, microbiana e higiénica de la leche de vaca producida por rebaños en los Andes Peruanos”, donde se confirmó que las prácticas de manejo sanitario y profiláctico del ganado influyen directamente en la calidad

microbiológica final de la leche producida en sistemas ganaderos de la región andina.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La investigación demostró en el análisis microbiológico en la leche cruda recolectadas en hatos ganaderos de las parroquias Urbina y Tufiño donde se evidenció la presencia de *Shigella spp.*, donde se aislaron 37 muestras.
- El uso de métodos microbiológicos de cultivo posibilitó la identificación de muestras positivas para *Shigella spp.*, las cuales fueron confirmadas mediante la técnica molecular qPCR. Esta alta concordancia entre ambas metodologías evidencia la confiabilidad del diagnóstico bacteriológico inicial, y respalda que la combinación de técnicas tradicionales y moleculares constituye una herramienta complementaria altamente efectiva para la identificación precisa de patógenos en matrices complejas como la leche cruda.
- Se obtuvo una Prevalencia total de 9,63 %, que la producción lechera en estos sectores aledaños a la ciudad de Tulcán presenta condiciones que permiten la introducción y persistencia de bacterias entéricas en el producto. La distribución de los casos positivos entre ambas parroquias (11,03 % en Urbina y 8,69 % en Tufiño) y la ausencia de asociación estadística con la ubicación geográfica indican que la presencia del patógeno no responde a un patrón territorial específico, sino a condiciones sanitarias compartidas en los sistemas de producción evaluados.
- El análisis epidemiológico de factores de riesgo evidenció que la presencia de *Shigella spp.*, se relaciona principalmente con prácticas de manejo higiénico-sanitario durante el ordeño y la manipulación de la leche. Variables como el uso de agua no potable, la ausencia de lavado de manos, la falta de indumentaria de protección, el uso de recipientes no exclusivos para la recolección de leche y el traslado tardío hacia sistemas de enfriamiento mostraron valores elevados de riesgo. Lo que indican que la contaminación bacteriana detectada en las parroquias Urbina y Tufiño

está asociada a prácticas operativas dentro de los hatos ganaderos, lo que señala la responsabilidad directa de los procedimientos de manejo sanitario en la inocuidad del producto.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar exámenes en los ordeñadores para que identificación bacteriana a nivel de especie para los aislamientos del género *Shigella* para determinar su densidad poblacional.
- Promover un control técnico a los hatos que integren buenas prácticas sanitarias continuas y se lleven acorde a la realidad del pequeño productor.
- Enfriar la leche lo más pronto posible después del ordeño
- Identificar molecularmente las especies y serotipos circulantes de *Shigella* spp. (como *S. flexneri* o *S. sonnei*) en sistemas de producción lechera para su caracterización epidemiológica.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrocalidad. (2023). *Buenas Prácticas Pecuarias en Ganadería de Leche para pequeños productores*.
- Ahmed, T., Platts-Mills, J. A., Pholwat, S., Campbell, G., Wettstone, E. G., Smith, J. A., & Taniuchi, M. (2025). Optimization of *Shigella* and *Campylobacter* Detection from Milk and Water and Differentiation of Viable Organisms Using Viability PCR. *Journal of Environmental Engineering*, 151(5). <https://doi.org/10.1061/JOEEDU.EEENG-7921>
- Ahn, Y., Jin, S., Park, G., Lee, H. Y., Lee, H., Shin, E., Kim, J., Yoo, J., & Kim, Y. (2024). Epidemiological analysis and prevention strategies in response to a shigellosis cluster outbreak: a retrospective case series in an alternative school in the Republic of Korea, 2023. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 15(1), 68–76. <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2023.0298>
- Albuja, K., Escobar, A. S. N., & Andueza. Leal, F. D. (2021). Calidad bacteriológica de la leche cruda bovina almacenada en el centro de acopio Mocha. Tungurahua. Ecuador. *Siembra*, 8(2), 176–198. <https://doi.org/10.29166/siembra.v8i2.3176>
- Alenezi, M. S., Tartor, Y. H., El-Sherbini, M., Pet, E., Ahmadi, M., & Abdelkhalek, A. (2024). Antibiotic Residues in Milk and Milk-Based Products Served in Kuwait Hospitals: Multi-Hazard Risk Assessment. *Antibiotics*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111073>
- Amare, A., Eshetie, S., Kasew, D., Amare, A., Abebe, W., & Moges, F. (2024). Prevalence of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., and intestinal parasites among food handlers working in University of Gondar student's cafeteria, Northwest Ethiopia. *Frontiers in Public Health*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1370338>
- Arauco Villar, F., Guzmán Estremadoyro, L., Pantoja Esquivel, R., Mayorga Sánchez, N., Unchupaico Payano, I., & De La Cruz, A. R. H. (2025). Evaluación de la calidad fisicoquímica, microbiana e higiénica de la leche de vaca

- producida por rebaños en los Andes peruanos. *La Granja. Revista de Ciencias de La Vida*, 41(1), 127–139. <https://doi.org/10.17163/lgr.n41.2025.08>
- Barragán, O. (2023, October). *Pequeños productores, ciudades y leche: desafíos en el abastecimiento alimentario en los Andes norte del Ecuador*. BIBLIOTECA IPGH Ecuador. <https://ipgh.gob.ec/BIBLIOTECA/pequenos-productores-ciudades-y-leche/>
- Belayneh, S. B., Luak, C. K., & Bamboro, S. A. (2025). Pathogenic bacteria in raw milk and milk products in Ethiopia: A decade review of prevalence, contributing factors, and antimicrobial resistance. A systematic review and meta-analysis. *Sage Open Medicine*, 13. <https://doi.org/10.1177/20503121251353356>
- Bennish, M. L., & Ahmed, S. (2020). Shigellosis. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*, 492–499. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-55512-8.00048-X>
- BioDatev. (2025). Odds ratio: ¿Qué es y cómo interpretarlo? <https://biodatev.com/odds-ratio-calculo-e-interpretacion/>
- Biotech, T. (2020). *PRODUCT DATA SHEET*. www.tmmedia.in
- BRAIN HEART INFUSION AGAR. (2023). *TM 361-BRAIN HEART INFUSION AGAR INTENDED USE*. www.tmmedia.in
- Burgos, J. C. V., Jimenez, D. G. B., Cárdenas, V. T., Rios, S., RE, S. L. S., Alvarado, H. U. N., & Enríquez, D. M. P. (2014). Tipificación de las fincas ganaderas de doble propósito en la provincia de Pastaza. *Revista Amazónica. Ciencia y Tecnología*, 3(3), 183–197. <https://doi.org/10.59410/RACYT-V03N03EP01-0041>
- Bustamante–Ordoñez, J. G., Vintimilla–Rojas, A. E., Andrade–Guzmán, O. S., Abad–Quevedo, V. L., Agurto–Granda, D. A., López–Espinoza, M. D., Macancela–Herrera, D. A., & Lupercio–Novillo, R. L. (2023). Calidad–inocuidad de la leche cruda de vaca que ingresa a centros de acopio de la provincia Cañar–Ecuador, en el contexto de las normativas Latinoamericanas. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias*, 33(1), 1–8. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e33183>
- Carvajal, P. L. A., Montenegro, A. G. F., Revelo, R. V. W., Terán, R. G. J., & Urgilés, U. G. P. (2024). Socioeconomic determinants of small and medium-sized dairy farms in the Ecuador-Colombia border area. *Tropical Animal Health and Production* 2024 56:7, 56(7), 254-. <https://doi.org/10.1007/S11250-024-04092-X>

- Centro de la Industria Láctea. (2025). *Sector lácteo ecuatoriano: pilar estratégico para la seguridad alimentaria y el desarrollo sostenible*. CIL. <https://www.cil-ecuador.org/post/sector-l%C3%A1cteo-ecuadoriano-pilar-estrat%C3%A9gico-para-la-seguridad-alimentaria-y-el-desarrollo-sostenibl>
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (2024, January 10). *Shigella Infection | Shigella - Shigellosis | CDC*. CDC. <https://www.cdc.gov/shigella/about/index.html>
- Chimuti, S., Mugadza, D. T., Ntuli, V., & Njage, P. M. K. (2024). Contribution of Farm-level Hygiene and Handling Practices to Microbial Safety Profiles in the Informal Dairy Sector in Zimbabwe. *Journal of Food Protection*, 87(8), 100313. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100313>
- Chukwu, O. S., Uzoh, C. V., Yusuf, I., Aroh, K. E., Owolabi, O. J., Kalu, A. C., Egwu-lkechukwu, M. M., Nnabugwu, C. C., Azuama, O. C., Ilang, D. C., Ugwu, B., Okata-Nwali, D. O., & Ugwuocha, C. S. (2023). Isolation, Identification and Antibiotic Resistance Profile of Public Health Threat Enteric Bacteria from Milk and Dairy Products Retail in Abakaliki, South-East, Nigeria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 17(3), 1620–1627. <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.3.23>
- Contero, R., & Cachipuendo, C. (2021). Calidad del agua y de la leche en sistemas de ordeño manual de la Sierra Norte del Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 32(4), e20937. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I4.20937>
- De la Torres-Moreira, J. A., Montalvo-Lozada, M. A., Meza-Barrezueta, J. O., Rivadeneyra-Espín, V. G., Gallegos – Guerra, K. A., & Villamarin, K. K. (2025). Evaluation of the physicochemical and microbiological quality of raw milk in the dairy industry of Napo, Ecuador. *Revista Científica de La Facultad de Veterinaria*, 35(2), 1–10. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e35666>
- ELIKA. (2025, December 12). *ELIKA Seguridad Alimentaria | Shigella - ELIKA Seguridad Alimentaria*. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/shigella/>
- Elkeany, R., Elteashy, R., Elsayed, M., Abdel, M., & Shata, R. (2022). Characterization of multi-resistant <i>Shigella</i> species isolated from raw cow milk and milk products. *Journal of Veterinary Medical Science*, 84(7), 22–0018. <https://doi.org/10.1292/jvms.22-0018>

Encyclopaedia Britannica. (2025). *Shigelosis* | Descripción, Causa, Transmisión, Síntomas y Tratamiento | Britannica. Britannica. https://www.britannica.com/science/shigelosis?utm_source

Fahed, K. H. (2024). The Current Prevalence of the Food-Borne *Shigella* Spp in Local Stored Cheese in Al-Diwaniyah City, Iraq: The Virulence *ipaH* and *uidA* Genes as Targets for a Molecular Study. *SAR Journal of Pathology and Microbiology*, 5(05), 187–190. <https://doi.org/10.36346/sarjpm.2024.v05i05.005>

Food and Drug Administration. (2025). *Manual Analítico Bacteriológico (BAM)*. FDA. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>

GAD Municipal de Tulcán. (2023). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial Cantón Tulcán Administración 2019 - 2023*.

Global Food Safety Initiative. (2024). *Seguridad Alimentaria (GFSI)*. GFSI. <https://mygfsi.com/who-we-are/overview/>

Google Earth. (2025, November 5). *Ubicacion Geografica - Google Earth*. https://earth.google.com/web/@0.77337254,-77.79883721,3179.96981394a,48778.81464563d,35y,-0.00000065h,0.33847941t,-0r/data=CgRCAggBMikKJwolCiExeXpQX21TWHl3MEcyb2ZXZVNVMXdaN1ZoekRaYmhmYlkgAToDCgEwQgllAEoHCJ_A_FlQAAQ?authuser=0

Halimeh, F. B., Rafei, R., Diene, S., Mikhael, M., Mallat, H., Achkar, M., Dabboussi, F., Hamze, M., & Rolain, J. M. (2020). Challenges in identification of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. in Lebanon. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 67(2), 100–106. <https://doi.org/10.1556/030.2020.01102>

Hektoen, E. A. (2020). *TM 121- HEKTOEN ENTERIC AGAR*. www.tmmedia.in

INEC. (2024). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*.

Instituto Nacional de Salud. (2021). Revisión Sistemática de Literatura-*Shigella* spp. en alimentos. *Ministerio de Salud y Protección Social*.

Kotloff, K. L., Riddle, M. S., Platts-Mills, J. A., Pavlinac, P., & Zaidi, A. K. M. (2018). Shigellosis. *The Lancet*, 391(10122), 801–812. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33296-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33296-8)

- Lampel, K. A., Maurelli, A., & Formal, S. (2018, January 9). *Una breve historia de la Shigella* | *Ecosal Plus*. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/ecosalplus.esp-0006-2017>
- Lin, W. S., Cheng, C. M., & Van Khanh, T. (2010). A quantitative PCR assay for rapid detection of shigella species in fresh produce. *Journal of Food Protection*, 73(2), 221–233. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.2.221>
- Lindsay, B., Ochieng, J. B., Ikumapayi, U. N., Toure, A., Ahmed, D., Li, S., Panchalingam, S., Levine, M. M., Kotloff, K., Rasko, D. A., Morris, C. R., Juma, J., Fields, B. S., Dione, M., Malle, D., Becker, S. M., Houpt, E. R., Nataro, J. P., Sommerfelt, H., ... Stine, O. C. (2013). Quantitative PCR for detection of *Shigella* improves ascertainment of *Shigella* burden in children with moderate-to-severe diarrhea in low-income countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(6), 1740–1746. <https://doi.org/10.1128/JCM.02713-12>
- Liu, J., Garcia Bardales, P. F., Islam, K., Jarju, S., Juma, J., Mhango, C., Naumanga, Q., Qureshi, S., Sonye, C., Ahmed, N., Aziz, F., Bhuiyan, M. T. R., Charles, M., Cunliffe, N. A., Abdou, M., Galagan, S. R., Gitteh, E., Guindo, I., Jahangir Hossain, M., ... Houpt, E. R. (2024). *Shigella* Detection and Molecular Serotyping With a Customized TaqMan Array Card in the Enterics for Global Health (EFGH): *Shigella* Surveillance Study. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(Supplement_1), S34–S40. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofad574>
- Lonita, E. (2022). *La producción de leche en Ecuador*. Veterinaria Digital. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/la-produccion-de-leche-en-ecuador/>
- Loor Giler, A., Sanchez Castro, C., Robayo Chico, M., Puga Torres, B., Santander Parra, S., & Nuñez Luis. (2025). High contamination of *Salmonella* spp. in raw milk in Ecuador: molecular identification of *Salmonella enterica* serovars Typhi, Paratyphi, Enteritidis and Typhimurium. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 9, 1593266. <https://doi.org/10.3389/FSUFS.2025.1593266/BIBTEX>
- Lu Duofei, Ma Xianxiong, Tao Kaixiong, & Lei Hongwei. (2025). Advancements in the Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutic Implications of Intestinal Bacteria. *Current Issues in Molecular Biology* 2025, Vol. 47, 47(2). <https://doi.org/10.3390/CIMB47020106>
- Lubeck, S. M., Rivas, N. A. C., Rosauer, J., Mpinganjira, S., Malhotra, A., Bastias, M., McQuade, E. R., Kosek, M., Lanata, C. F., Olortegui, M. P., Ochoa, T. J., Platts-Mills, J. A., Vannice, K., & Pavlinac, P. B. (2025). Burden of *Shigella* among children with diarrhea in the Americas: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 19(8), e0013393. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0013393>

Lucumí, P. (2023). *EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA LECHE BOVINA DE PROVEEDORES EN LAS PROVINCIAS DE IMBABURA Y CARCHI EN EL PERIODO 2010 – 2021* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica del Norte]. [https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/14748/2/03 AGP 372 TRABAJO GRADO.pdf?utm_source](https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/14748/2/03_AG_P_372_TRABAJO_GRADO.pdf?utm_source)

MAG. (2024). *Reporte de Coyuntura del Sector Lácteo Ecuatoriano: Indicadores de consumo y producción*. Dirección de Análisis de Información Agropecuaria. <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/situacionales-agricolas-2/situacional-leche>

MAGAP. (2025). *POLÍTICA PÚBLICA DE ESTADO PARA EL SECTOR AGROPECUARIO ECUATORIANO 2025-2034*.

Mayo Clinic. (2025). *Infección por shigela - Síntomas y causas*. Mayo Clinic. <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/shigella/symptoms-causes/syc-20377529>

Ministerio de Salud Pública. (2025). *SUBSECRETARIA DE VIGILANCIA, PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA SALUD. DIRECCIÓN NACIONAL DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA*.

Nieto, D., Berisso, R., Demarchi, O., & Scala, E. (2022). *Manual de Buenas Prácticas de Ganadería Bovina para la Agricultura Familiar* (Estudio). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. www.fao.org

Núñez, L., Lóor-Giler, A., Robayo-Chico, M., Puga-Torres, B., Hernández-Alomía, F., Santander-Parra, S., Piantino Ferreira, A., & Muslin, C. (2025). *Escherichia coli O157:H7, a Common Contaminant of Raw Milk from Ecuador: Isolation and Molecular Identification*. *Foods*, 14(3), 410. <https://doi.org/10.3390/FOODS14030410/S1>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2025, December 18). *Puerta de entrada a la producción y los productos lácteos*. FAO. <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/quality-and-testing>

Organización Mundial de la Salud. (2022, March 24). *Infecciones por Shigella sonnei extensamente resistente – Europa*. World Health Organization. <https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON364>

- Organización Mundial de la Salud. (2023). *La importancia de la inocuidad de los alimentos*.
- Organización Mundial de la Salud. (2024). *Nutrición y seguridad alimentaria*. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/food-safety>
- Organización Panamericana de la Salud. (2023). *Enfermedades transmitidas por alimentos*. OPS. <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>
- Organización Panamericana de la Salud. (2025). *Alerta Epidemiológica Emergencia y diseminación de Shigella sonnei con resistencia extrema a los antibióticos. Riesgo potencial para Latinoamérica y el Caribe*. www.paho.org
- Oueslati, S., Ennouri, H., Bamri, H., Othmen, M. Ben, & Oueslati, R. (2011). Differential Distribution of Pathogens from Raw Milk and Place of Shigella by Mode of Milking Distribution Différentielle Des Germes Pathogènes Du Lait Cru et Place de Shigella Selon Le Mode de Traite. In *African Journal of Food Science and Technology* (Vol. 2, Number 8). <http://www.interesjournals.org/AJFST>
- Pfeiffer, D. U. (2021). *Veterinary Epidemiology-An Introduction*. <https://share.google/iaw7D2gnuXOkUoL97>
- Puga-Torres, B., Aragón Vásquez, E., Ron, L., Álvarez, V., Bonilla, S., Guzmán, A., Lara, D., & De la Torre, D. (2022). Milk Quality Parameters of Raw Milk in Ecuador between 2010 and 2020: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Foods* 2022, Vol. 11, 11(21). <https://doi.org/10.3390/foods11213351>
- Quirola Salazar, K. F., & Burneo Valdivieso, J. I. (2025). *Determinación de antibióticos en leche cruda bovina. Tesis Digital*. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/29.500.19856/73698>
- Reta, M. A., Bereda, T. W., & Alemu, A. N. (2016). Bacterial contaminations of raw cow's milk consumed at Jigjiga City of Somali Regional State, Eastern Ethiopia. *International Journal of Food Contamination* 2016 3:1, 3(1), 4-. <https://doi.org/10.1186/s40550-016-0027-5>
- Rodríguez, E. C., Bautista, A. M., Montaña, L. A., Ovalle, M. V., & Correa, F. P. (2021). Laboratory-based surveillance of Shigella spp. from human clinical cases in Colombia, 1997-2018. *Biomédica*, 41(1), 65–78. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5113>

- Rodríguez, E. C., de Microbiología, G., & Redes en Salud, D. (2020). Laboratory-based surveillance of *Shigella* spp from human clinical cases in Colombia, 1997 to 2018. *Biomedica*, 41(1), 1–37. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5113>
- Rojas, R. D., Morales, Z. E., Alsufyani, W. A., Herbst, C. H., AlBalawi, S. M., Alsukait, R., & Alomran, M. (2021). Environmental Risk Factors and Health: An Umbrella Review of Meta-Analyses. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2021, Vol. 18, Page 704, 18(2), 704. <https://doi.org/10.3390/IJERPH18020704>
- Romero, S. N. (2018). *La revolución en la toma de decisiones estadísticas: el p-valor* (Vol. 14, Number 3).
- Ruiz, M. L. (2019). *Prueba de chi-cuadrado (χ^2): qué es y cómo se usa en estadística*. <https://psicologiyaymente.com/miscelanea/prueba-chi-cuadrado>
- Sanders, E. R. (2012). Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. *Journal of Visualized Experiments (JoVE)*, (63), e3064. <https://doi.org/10.3791/3064>
- Sanders, E. R. (2022). Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. *Journal of Visualized Experiments*, (63). <https://doi.org/10.3791/3064>
- Shialer, N. (2019, February 18). *Transporte de Muestras Microbiológicas | PDF | Laboratorios | Química*. https://es.scribd.com/document/651601803/P-LM-E0-14-GN-Proc-Transporte-de-muestras-al-laboratorio?utm_source
- Taneja, N., & Mewara, A. (2016). Shigellosis: Epidemiology in India. *The Indian Journal of Medical Research*, 143(5), 565–576. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.187104>
- Tenecela Valencia, E. M., & Ortiz Tejedor, J. G. (2023). Análisis bacteriológico de leche cruda expendida en Tarqui-Ecuador. *Anatomía Digital*, 6(3), 116–131. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i3.2619>
- Tenny, S., & Hoffman, M. R. (2023). Odds Ratio. *Encyclopedia of Genetics, Genomics, Proteomics and Informatics*, 1388–1388. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6754-9_11771
- Valdivia, A., Yasmary, R. F., & Agustín, B. R. (2021). *Calidad higienico de la leche*.
- Villalobo, E. (2011). Pathogens in Milk | *Shigella* spp. *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition*, 99–103. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00396-4>

Ward, M. M. (2013). Estimating disease prevalence and incidence using administrative data: Some assembly required. *Journal of Rheumatology*, 40(8), 1241–1243. <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.130675>

VII. ANEXO

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FOREIGN AND
NATIVE LANGUAGES CENTER

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAME: Puenayán Puenayán Luis Dario				
DATE: Martes, 29 de abril de 2026				
Topic: "Identification of Shigella spp. in raw milk and risk factors in Tulcán city".				
MARKS AWARDED QUANTITATIVE AND QUALITATIVE				
VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☒	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
De	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☒	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 ☒	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
TOTAL/AVERAGE 9 - 10: EXCELLENT 7 - 8,9: GOOD 5 - 6,9: AVERAGE 0 - 4,9: LIMITED TOTAL 9				



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL
CARCHI- FOREIGN AND NATIVE LANGUAGES
CENTER**

**Informe sobre el Abstract de Artículo Científico
o Investigación.**

Autor: Puenayán Puenayán Luis Dario

Fecha de recepción del abstract: Viernes, 24 de abril de 2026

Fecha de entrega del informe: Martes, 29 de abril de 2026

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Tras revisar el abstract presentado, se concluye que ofrece una traducción adecuada del tema al idioma inglés. De acuerdo con la rúbrica de evaluación aplicada a la traducción, se le asigna una calificación de 9, por lo que el trabajo queda validado.

Atentamente



**MA. Martha Viveros
RESPONSABLE CIDEN**

Anexo 2. Encuesta de determinación de factores de riesgo a las buenas prácticas de ordeño.



ENCUESTA DE BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO (ANTES, DURANTE Y DESPUÉS DEL ORDEÑO)

Datos del productor:

Nombre: _____

Nombre de la finca/UPA: _____

Fecha: ____/____/____

Tipo de ordeño:

Manual

Mecánico

♦ **A. Antes del ordeño**

¿De dónde proviene el agua de utiliza para lavar los instrumentos (baldes, cantinas, pezoneras, mangueras, etc.)?

- a) Agua potable
- b) Agua No potable

¿Limpia el sitio de ordeño antes de comenzar?

- a) Si
- b) No

¿Se lava las manos antes de ordeñar?

- a) Si
- b) No

¿Utiliza overol al momento de ordeñar?

- a) Si
- b) No

¿Limpia, revisa los pezones y la ubre antes de empezar a ordeñar?

- a) Si
- b) No

♦ **B. Durante el ordeño**

¿El lugar donde ordeña está techado, seco y sin animales sueltos alrededor?

- a) Sí
- b) No

¿Tira los primeros chorros de leche (despunte) en un recipiente?

- a) Si
- b) No

¿Hace prueba de mastitis?

- a) Si
- b) No

¿Los baldes o bidones solo los utiliza exclusivamente para el ordeño?

- a) Sí
- b) No

Calle Antisana y Av. Universitaria
Telf: (06) 2980837 - 2984435
info@upec.edu.ec
www.upec.edu.ec
Tulcán - Ecuador



Si dispone de vacas enfermas, ¿las ordeña al final de la rutina para evitar contaminación cruzada?

- a) Si
- b) No

♦ **C. Después del ordeño**

¿Les aplica un sellador o desinfectante a los pezones después de ordeñar? (como yodo)

- a) Si
- b) No

¿Al finalizar el ordeño, la cantina se transfiere inmediatamente a un método de enfriamiento?

- a) Si
- b) No

¿Cuál es el método de enfriamiento que utiliza para la leche en su producción?

- a) Enfriamiento por agua y hielo (bañera de enfriamiento).
- b) Enfriamiento en tanques de almacenamiento refrigerados.

¿Lava y desinfecta los utensilios apenas termina de ordeñar?

- a) Si
- b) No

¿Limpia el área de ordeño después de su uso?

- a) Si
- b) No

Anexo 3. Pruebas de *Shigella* spp., por qPCR

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev
A01	Texas Red		Unkn-1		22,58	29,82	6,826
A03	Texas Red		Unkn-2		23,22	31,14	6,700
A10	Texas Red		Unkn-1		35,56	29,82	6,826
A12	Texas Red		Unkn-2		32,54	31,14	6,700
B01	Texas Red		Unkn-1		24,12	29,82	6,826
B03	Texas Red		Unkn-2		24,47	31,14	6,700
B10	Texas Red		Unkn-1		29,40	29,82	6,826
B12	Texas Red		Unkn-2		27,44	31,14	6,700
C01	Texas Red		Unkn-1		28,30	29,82	6,826
C03	Texas Red		Unkn-2		35,73	31,14	6,700
C10	Texas Red		Unkn-1		26,13	29,82	6,826
C12	Texas Red		Unkn-2		21,71	31,14	6,700
D01	Texas Red		Unkn-1		25,87	29,82	6,826
D03	Texas Red		Unkn-2		35,14	31,14	6,700
D10	Texas Red		Unkn-1		30,20	29,82	6,826
D12	Texas Red		Unkn-2		29,39	31,14	6,700
E01	Texas Red		Unkn-1		36,08	29,82	6,826
E03	Texas Red		Unkn-2		42,75	31,14	6,700
E10	Texas Red		Unkn-1		25,26	29,82	6,826
E12	Texas Red		Unkn-2		28,26	31,14	6,700
F01	Texas Red		Unkn-1		40,02	29,82	6,826
F03	Texas Red		Unkn-2			0,00	0,000
F10	Texas Red		Unkn-1		28,94	29,82	6,826
F12	Texas Red		Unkn-2		28,50	31,14	6,700
G01	Texas Red		Unkn-1		21,33	29,82	6,826
G03	Texas Red		Unkn-2		28,23	31,14	6,700
G05	Texas Red		Pos Ctrl		30,94	30,94	0,000

	A	B	C	D	E	F	H	I	J
1		Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev
29		G08	Texas Red		Pos Ctrl		29,61	29,61	0,000
30		G10	Texas Red		Unkn-1		38,83	29,82	6,826
31		G12	Texas Red		Unkn-2		37,76	31,14	6,700
32		H01	Texas Red		Unkn-1		21,74	29,82	6,826
33		H03	Texas Red		Unkn-2		28,01	31,14	6,700
34		H05	Texas Red		NTC			0,00	0,000
35		H08	Texas Red		NTC			0,00	0,000
36		H10	Texas Red		Unkn-1		42,71	29,82	6,826
37		H12	Texas Red		Unkn-2		43,96	31,14	6,700