

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE AGROPECUARIA

Tema: “**Identificación de la bacteria *Escherichia spp* en 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: Moreno Diaz Jordan Patricio

TUTOR: Ing. Ibarra Rosero Edison Marcelo, MSc.

Tulcán, 2026.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que el estudiante Moreno Diaz Jordan Patricio con el número de cédula 0450097993 ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Identificación de la bacteria *Escherichia 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 el Reglamento de la Unidad de Integración Curricular, Titulación e incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



Ing. Ibarra Rosero Edison Marcelo, MSc.

TUTOR

Tulcán, septiembre 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, Moreno Diaz Jordan Patricio con cédula de identidad número 0450097993 declaro que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



Moreno Diaz Jordan Patricio

AUTOR

Tulcán, septiembre de 2026

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, Moreno Díaz Jordan Patricio declaro ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Identificación de la bacteria *Escherichia 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.



Moreno Díaz Jordan Patricio

AUTOR

Tulcán, septiembre de 2026

AGRADECIMIENTO

Como no agradecer a Dios por la gran oportunidad de haber pasado por muchas aventuras desde el inicio hasta el fin de mi carrera en compañía de las personas que amo.

A mis angelitos que hoy están en el cielo, y de manera muy especial a mis papitos, Elizabeth y Patricio, por ser mi fuente de amor, fortaleza y sabiduría. Gracias por sus consejos, por creer siempre en mí, por acompañarme en cada paso y por ser mi ancla en los momentos difíciles, su amor y sus enseñanzas han sido una guía constante durante este camino. Este logro también es de ustedes, porque cada esfuerzo realizado lleva consigo una parte de todo lo que me enseñaron.

A mis amigos, quienes tuve la dicha de conocer y compartir durante esta etapa de mi vida, especialmente a mis compañeros de este recorrido, Darío y Marylin. Me llevo no solo grandes aprendizajes, sino también el valor de haber coincidido con personas que hicieron especial este recorrido.

De manera especial, expreso mi más sincero agradecimiento al MSc. Marcelo Ibarra, tutor de mi tesis, por estar presente cuando fue necesario, demostrando que la amistad también puede convertirse en un respaldo fundamental durante la formación profesional. Asimismo, agradezco al MSc. Martín Campos por su apoyo, por su amistad, orientación y acompañamiento constante durante el desarrollo de este trabajo.

A todos los docentes de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, mi más profundo agradecimiento por compartir sus conocimientos, experiencias y enseñanzas, las cuales contribuyeron significativamente a mi formación académica y profesional. Cada enseñanza recibida forma parte del profesional en el que hoy me estoy convirtiendo.

Finalmente, agradezco de corazón a todas las personas que me brindaron su apoyo, motivación y confianza durante este camino. De manera especial, a mis familiares, a mi novia, por su acompañamiento incondicional, sus palabras de aliento y por estar presentes en cada momento. A todos ustedes gracias.

“No lo pienses, hazlo ya”

Sergio Luque

DEDICATORIA

Dedico con gran sentimiento a mi familia que sin duda fueron un gran soporte para levantarme todos los días con el mismo propósito.

Elizabeth mi mamita la mujer más maravillosa del mundo gracias por protegerme y levantarme cuando ya me vía perdido y sobre todo cuando no sabía cómo resolver los problemas que más me atormentaban solo me queda decir gracia madre de mi vida.

Patricio mi papito el hombre más trabajador que nunca dudo de mí, él sabía que lo único que no debo de perder es mis ganas de salir adelante y la fe en Dios para que en un futuro me sienta orgulloso de mi mismo.

Ustedes son los que han cuidado de mi todo este tiempo, quienes me han acompañado, aconsejado y son esas personitas tan especiales que me da orgullo de decir que son mi mas grande regalo y orgullo de que Diosito me los haya puesto en mi camino y sean esa campá y esa espada que todo hijo necesita.

Gracias por sus sacrificios, por cada uno de sus gestos de amor, sinceridad paciencia que me ayudo a entregarme y tener fortaleza en este maravilloso logro, que ustedes sean mis pilares y el ejemplo más bonito, noble, único hace que este objetivo sea un símbolo de orgullo.

Los amo con todo mi corazón.

“El futuro pertenece a aquellos que creen en la belleza de sus sueños”

Eleanor Roosevelt

ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
I. EL PROBLEMA	17
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	18
1.3 JUSTIFICACIÓN	18
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	19
1.4.1. Objetivo General	19
1.4.2. Objetivos Específicos	19
1.4.3. Preguntas de Investigación	20
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	21
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	21
2.2. MARCO TEÓRICO	23
2.2.1. Importancia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	23
2.2.2 Morfología y Propiedades Tintoriales de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	24
2.2.3. Fisiología y Metabolismo	24
2.2.4. Clasificación Serológica	25
2.2.5. Vía de transmisión de la bacteria	25
2.2.6. Factor de Riesgo	26
2.2.7. Zoonosis	27
2.2.8. Inocuidad Alimentaria	27
2.2.9. Producción ganadera en el Ecuador	27
2.2.10. Producción lechera en el Ecuador	28
2.2.11. Calidad e inocuidad de la leche	28

2.2.12. Detección Microbiológica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	29
2.2.13. PCR Cuantitativa (qPCR)	31
III. METODOLOGÍA	32
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	32
3.1.1. Enfoque	32
3.1.2. Tipo de Investigación	32
3.2. IDEA A DEFENDER Ó HIPÓTESIS.....	32
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	33
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	35
3.4.1. Localización de la investigación	35
3.4.2. Descripción y caracterización de la investigación	35
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
3.5.1. Prevalencia.....	38
3.5.2. Análisis de factores de riesgo atribuidos a la enfermedad.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1. RESULTADOS	41
4.1.1. Prevalencia total de <i>Escherichia coli</i> O157:H7., mediante análisis microbiológico en muestras de leche de la ciudad de Tulcán.	41
4.1.2. Prevalencia Real de <i>Escherichia coli</i> O157:H7., mediante técnicas moleculares qPCR.....	41
4.1.3. Prevalencia por parroquias de la ciudad de Tulcán.	42
4.1.4. Análisis de los factores de riesgo asociados a la <i>Escherichia coli</i> O157:H7.	43
4.2. DISCUSIÓN	51
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
5.1. CONCLUSIONES.....	54
5.2. RECOMENDACIONES	54
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

VII. ANEXOS 60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica.....	24
Tabla 2. Matriz de operacionalización de variables.....	34
Tabla 3. Comparación de los resultados de las muestras microbiológicas con qPCR.....	42
Tabla 4. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Ubicación y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	43
Tabla 5. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Tipo de ordeño y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	44
Tabla 6. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Tipo de agua y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	44
Tabla 7. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Limpia el sitio de ordeño y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	45
Tabla 8. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Aseo de manos y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	45
Tabla 9. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Uso de overol y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	46
Tabla 10. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Limpieza de ubres y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	46
Tabla 11. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Condiciones de ordeño y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	46
Tabla 12. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Despunte y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	47
Tabla 13. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Prueba de mastitis y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	47
Tabla 14. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Recipientes únicos para el ordeño y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	48
Tabla 15. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Ternero en el ordeño y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	48
Tabla 16. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Contaminación cruzada y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	49
Tabla 17. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Sellante después del ordeño y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	49
Tabla 18. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Sistema tanque de frío y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	50
Tabla 19. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Método de enfriamiento y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	50
Tabla 20. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Lavado de utensilios y presencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de las parroquias Tufiño y Urbina.....	35
Figura 2. Cálculos para el Odds ratio y un intervalo de confianza del 95 % para el Odds ratio.	40
Figura 3. Resultados de la qPCR para la detección del gen en muestras de leche cruda.	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas.....	60
Anexo 2. Encuesta de determinación de factores de riesgo a las buenas prácticas de ordeño.	62
Anexo 3. Pruebas de Escherichia coli O157:H7., por qPCR.	64

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo identificar la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en leche cruda y determinar los factores de riesgo asociados en sistemas de producción bovina de las parroquias de Urbina y Tufiño, cantón Tulcán, Carchi. Se analizaron 384 muestras de leche cruda provenientes de 105 hatos ganaderos, además, se aplicó un cuestionario estructurado a los propietarios de las unidades productivas para recopilar información sobre prácticas de manejo, higiene y ordeño. Las muestras recolectadas fueron trasladadas al Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi para su análisis microbiológico, que incluyó una etapa de enriquecimiento en caldo Brain Heart Infusion (BHI), seguida de aislamiento presuntivo en agar MacConkey con sorbitol. Los resultados positivos al análisis microbiológico se confirmaron mediante PCR tiempo real (qPCR), este último realizada en los laboratorios de investigación de la Universidad de Las Américas. Mediante el análisis microbiológico se identificaron 45 muestras positivas, correspondientes al 11,71 %; sin embargo, la confirmación molecular mediante qPCR determinó 22 muestras positivas, alcanzando una prevalencia real de 5,72 % (22/384). Por parroquia, la prevalencia obtenida mediante cultivo fue de 6,49 % en Urbina y 5,21 % en Tufiño, sin evidencia de asociación estadísticamente significativa con la ubicación ($p = 0,7819$). El análisis de 17 variables mediante la prueba de chi-cuadrado de independencia y Odds Ratio no identificó factores de riesgo con asociación estadísticamente significativa. No obstante, la utilización de agua no potable y la ausencia de un adecuado aseo de manos presentaron valores de OR superiores a 1. Los resultados evidencian la presencia de *E. coli* O157:H7 en leche cruda de las unidades productivas estudiadas y resaltan la importancia de fortalecer las prácticas de higiene y manejo durante la producción y recolección de leche.

Palabras Claves: *Escherichia coli* O157:H7, leche cruda, bovinos, prevalencia, factores de riesgo, qPCR.

ABSTRACT

The present study aimed to identify the presence of *Escherichia coli* O157:H7 in raw milk and determine the associated risk factors in bovine production systems in the parishes of Urbina and Tufiño, Tulcán canton, Carchi province, Ecuador. A total of 384 raw milk samples from 105 cattle herds were analyzed. In addition, a structured questionnaire was administered to the owners of the production units to collect information on management, hygiene, and milking practices. The collected samples were transported to the Veterinary Diagnostic Laboratory of the Universidad Politécnica Estatal del Carchi for microbiological analysis, which included an enrichment stage in Brain Heart Infusion (BHI) broth, followed by presumptive isolation on sorbitol MacConkey agar. Positive samples from the microbiological analysis were confirmed by real-time polymerase chain reaction (qPCR) at the research laboratories of the Universidad de Las Américas. Microbiological analysis identified 45 positive samples, corresponding to 11.71%; however, molecular confirmation by qPCR identified 22 positive samples, resulting in a prevalence of 5.72% (22/384). By parish, the prevalence obtained through microbiological culture was 6.49% in Urbina and 5.21% in Tufiño, with no statistically significant association between prevalence and location ($p = 0.7819$). The analysis of 17 variables using the chi-square test of independence and Odds Ratio (OR) did not identify statistically significant risk factors. Nevertheless, the use of non-potable water and inadequate hand hygiene presented OR values greater than 1. These findings demonstrate the presence of *E. coli* O157:H7 in raw milk from the production units studied and highlight the importance of strengthening hygiene and management practices during milk production and collection.

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, raw milk, cattle, prevalence, risk factors, qPCR.

INTRODUCCIÓN

La producción de leche cruda es una actividad importante en el sector ganadero de Tulcán, en la provincia de Carchi (Ecuador), donde los animales lecheros forman parte de los sistemas de producción agropecuarios. La producción de leche está estrechamente relacionada con la salud, la alimentación, el alojamiento y el manejo de las vacas, así como con las técnicas de ordeño utilizadas. En este sentido, la presencia de agentes patógenos en el ganado es fundamental, ya que algunos de ellos pueden ser expulsados por los animales y detectarse posteriormente en el entorno de las explotaciones ganaderas (Salazar et al., 2016).

El género *Escherichia*, que contiene bacterias capaces de colonizar el intestino de las vacas, es uno de los microorganismos relacionados con el tracto gastrointestinal. *Escherichia coli* se encuentra en la microbiota intestinal del ganado vacuno y, en determinadas condiciones, algunas de sus variantes pueden ser virulentas. Entre ellas se encuentra la *Escherichia coli* O157:H7, que forma parte del grupo de las *E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC) y está reconocida como un importante agente zoonótico. El ganado vacuno, en particular los animales aparentemente sanos, constituye uno de los principales reservorios de la *E. coli* O157:H7; sin embargo, no todas las cepas de *E. coli* prevalentes en el ganado vacuno presentan características relacionadas con la enfermedad en los seres humanos (Ferens & Hovde, 2011).

En las vacas, la *E. coli* O157:H7 se encuentra principalmente en el sistema gastrointestinal y puede persistir en el intestino sin generar signos clínicos evidentes. Esta característica permite que animales aparentemente sanos actúen como portadores, liberando la bacteria al medio ambiente a través de sus heces. La excreción fecal es una de las vías más comunes por las que los microorganismos llegan al entorno de una explotación ganadera, contaminando el suelo, los corrales, la cama, el agua, las superficies y otros materiales que están en contacto con los animales. En consecuencia, el papel del ganado como portador intestinal desempeña un papel esencial en la epidemiología de la *E. coli* O157:H7 en los sistemas de producción lechera (Stein & Katz, 2017).

La excreción de la *E. coli* O157:H7 por parte del ganado varía según el animal y con el tiempo. Algunos ejemplares excretan cantidades inusualmente elevadas de la bacteria en momentos concretos, una condición conocida como «superexcretadores» o «superdispersores». Estos animales pueden provocar un aumento de la contaminación en la explotación y contribuir a la propagación de la bacteria entre el ganado. Además, la prevalencia de la *E. coli* O157:H7 en el ganado puede variar en función de las características de los animales y de factores ambientales. Se ha demostrado que la prevalencia de esta bacteria aumenta durante los meses más cálidos y varía según el grupo de edad, siendo los terneros destetados y las novillas los más susceptibles (Ferens & Hovde, 2011).

La prevalencia de *Escherichia spp.* en el ganado vacuno también se ha relacionado con las prácticas de manejo de las vacas en las explotaciones lecheras. Las heces de los animales pueden contaminar el entorno al liberar gérmenes intestinales. Cuando la materia fecal entra en contacto con la ubre, las extremidades, el suelo o las superficies de ordeño, pueden darse circunstancias que permitan la transferencia de bacterias a los lugares implicados en la extracción de la leche. Por consiguiente, la limpieza de las vacas y el entorno en el que se alojan antes y durante el ordeño son variables importantes a la hora de determinar el riesgo de contaminación microbiana de la leche y su riesgo de transmisión al humano (Mesele et al., 2023).

La contaminación de la leche por la bacteria *Escherichia* se produce principalmente a través de una vía fecal-ambiental durante el proceso de ordeño. Durante este procedimiento, una vaca portadora puede eliminar gérmenes a través de sus heces, contaminando así su entorno. A continuación, el microbio puede propagarse a la superficie corporal del animal, especialmente si las normas de higiene son deficientes en la parte trasera de la vaca o en la ubre. El contacto entre estas superficies y las manos del ordeñador, el equipo o los recipientes puede facilitar la transmisión de la bacteria a la leche. Por consiguiente, la relación entre la prevalencia de *E. coli* en el intestino de los terneros y las condiciones higiénicas del ordeño es fundamental para comprender la contaminación de la leche cruda (Smith, 2014).

La salud de las vacas también puede influir en el riesgo de contaminación durante el ordeño. La limpieza de la ubre y los pezones antes del ordeño es un paso fundamental para reducir la carga microbiana en la superficie exterior de la glándula mamaria.

Del mismo modo, la presencia de heces en el entorno inmediato de los animales podría favorecer la interacción entre las vacas y las bacterias de origen intestinal. En este sentido, la higiene de los animales, la limpieza de las instalaciones, la disponibilidad y la calidad del agua, así como las técnicas de ordeño, están íntimamente relacionadas con las condiciones microbiológicas de la leche producida por las vacas (Acharya Tankeshwar, 2025).

El contacto entre el ganado, la acumulación de materia fecal, las condiciones de los corrales, la disponibilidad de agua y la gestión de los animales pueden influir en el potencial de exposición a la bacteria. Además, la prevalencia de animales portadores sin signos clínicos dificulta su identificación basándose únicamente en su estado de salud. Por consiguiente, la identificación de *Escherichia spp.* en muestras de la producción bovina requiere un análisis de las interacciones entre los animales, su entorno y los procedimientos de gestión aplicados en las explotaciones (Perez et al., 2026).

En el ganado vacuno, es necesario analizar la presencia de *E. coli* O157:H7, teniendo en cuenta que la mayoría de los animales portadores pueden presentar un cuadro clínico normal. Esta situación permite que la bacteria se propague de forma asintomática por las explotaciones, principalmente a través de las heces y la consiguiente contaminación ambiental. Además, la supervivencia del microorganismo en los corrales y su transmisión a los animales puede contribuir a perpetuar los ciclos de contaminación dentro de las unidades de producción. Por consiguiente, el estudio de *Escherichia spp.* en los sistemas de producción lechera requiere correlacionar la presencia de la bacteria con la salud de las vacas y las características de su gestión (Acharya Tankeshwar, 2025)

I. EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción de leche actividad pecuaria en el Carchi, en especial en la ciudad de Tulcán de la provincia del Carchi, Ecuador. Sin embargo, los problemas higiénicos del ganado lechero constituyen una barrera importante para garantizar la calidad del producto y la salud de los consumidores. En este contexto, la contaminación de la leche por bacterias del género *Escherichia spp* es un problema creciente, ya que estas bacterias, en particular algunas cepas patógenas como *Escherichia coli* O157:H7, pueden causar importantes problemas de salud pública y pérdidas económicas en la cadena de producción (AECOSAN, 2022).

El ganado puede tener *Escherichia spp* a nivel intestinal, lo que permite su transmisión a la leche durante el ordeño debido a métodos de manejo y condiciones sanitarias ambientales insuficientes. Factores como la salud de los animales, la limpieza del equipo de ordeño, la calidad del agua utilizada, la alimentación y la existencia de enfermedades bovinas como la mastitis contribuyen a aumentar el riesgo de contaminación. Sin embargo, en los cantones mencionados no se sabe nada de la asociación entre los problemas sanitarios del ganado y la prevalencia de *Escherichia spp*. en la leche cruda (Ahmed Khafagy, 2017).

El manejo inadecuado por parte de los ganaderos aumenta la prevalencia de gérmenes, reduciendo el bienestar de las vacas, requiriendo tratamientos costosos y aumentando las pérdidas por bacterias. Esta actividad no solo sustenta a numerosas familias, sino que también contribuye al desarrollo económico local. Sin embargo, la calidad de la leche cruda es una preocupación creciente debido a los riesgos asociados a la contaminación microbiológica, especialmente por patógenos como *Escherichia coli* O157:H7. Esta bacteria es conocida por su potencial para causar enfermedades graves en los seres humanos, incluyendo infecciones gastrointestinales severas, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, que pueden tener consecuencias fatales, especialmente en poblaciones vulnerables como niños y ancianos (Loor-Giler et al., 2025)

Además, su presencia en la leche podría estar relacionada con problemas de salud en el ganado, como infecciones del tracto digestivo y mastitis, así como con malas circunstancias de manipulación y normas sanitarias insuficientes en las instalaciones de producción.

La producción de leche cruda es una actividad económica clave en la ciudad de Tulcán, que sirve de sustento a las familias y al crecimiento económico local. Sin embargo, la calidad microbiológica de la leche cruda es una preocupación clave, particularmente dada la posibilidad de presencia de bacterias del género *Escherichia spp*, algunas de las cuales son patógenas y representan un peligro sustancial para la salud pública (Aguilar, 2015).

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

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

1.3 JUSTIFICACIÓN

La ganadería lechera constituye una actividad importante en la provincia de Carchi, especialmente en el cantón Tulcán, donde contribuye significativamente a la economía agrícola local. Según Ipiales Oscar y Cuichán Maritza (2024), Carchi cuenta con aproximadamente 28 392 vacas lecheras y una producción de 285 074 litros de leche al día. Asimismo, Benítez Bueno & Estrada Puetate (2025) señalan que el cantón Tulcán produce alrededor de 122 400 litros diarios, lo que representa aproximadamente el 30 % de la producción provincial. Estas cifras evidencian la importancia de la producción lechera en la zona y la necesidad de mantener adecuadas condiciones de manejo, higiene y salud durante el ordeño para preservar la calidad microbiológica de la leche cruda.

La calidad microbiológica de la leche puede verse influenciada por la salud de los animales y por las prácticas empleadas durante su manejo y ordeño. En este contexto, resulta importante investigar la presencia de bacterias del género *Escherichia spp*. en la leche cruda, debido a que el ganado bovino constituye un reservorio de determinadas especies y cepas de este género, particularmente *Escherichia coli*, que se encuentra principalmente en el tracto gastrointestinal y puede ser eliminada al ambiente mediante las heces (Sanz, 2021).

La contaminación de la leche puede producirse cuando existe contacto con materia fecal durante el ordeño o la manipulación del producto. Entre las principales fuentes potenciales se encuentran una higiene deficiente de las ubres y de las manos del ordeñador, así como la contaminación de equipos, utensilios y superficies que entran en contacto con la leche. Por ello, determinar la presencia de *Escherichia spp.* y su relación con las condiciones de manejo permitirá identificar posibles fuentes de contaminación asociadas con la gestión del ganado y el proceso de obtención de la leche (Wang et al., 2013).

En este sentido, el análisis de los factores de riesgo permitirá establecer qué prácticas de manejo y ordeño podrían estar relacionadas con la presencia de *Escherichia spp.* en la leche cruda. Entre estos factores se consideran la limpieza de la ubre, las condiciones del lugar de ordeño, la higiene de las manos del ordeñador, la limpieza de utensilios y equipos, la calidad del agua, la presencia del ternero durante el ordeño, así como las condiciones de almacenamiento y enfriamiento de la leche. El análisis conjunto de estas variables permitirá identificar aquellas que presentan mayor relación con la contaminación y que, por tanto, requieren especial atención dentro de las explotaciones lecheras (Elmoslemany et al., 2010).

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Identificar la bacteria *Escherichia spp* en leche cruda mediante técnicas microbiológicas y moleculares, y los factores de riesgo asociados en la ciudad de Tulcán.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de *Escherichia coli* O157:H7., mediante análisis microbiológicos en muestras de leche bovina recolectadas en la ciudad de Tulcán.
- Determinar la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7., en leche cruda de la ciudad Tulcán mediante la confirmación por qPCR de las muestras positivas obtenidas por análisis microbiológico.
- Identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de *Escherichia coli* O157:H7.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Cuál es la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de leche cruda bovina recolectadas en la ciudad de Tulcán mediante análisis microbiológicos?
- ¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 en leche cruda bovina de la ciudad de Tulcán mediante la confirmación por qPCR de las muestras positivas obtenidas por análisis microbiológico?
- ¿Qué factores de riesgo relacionados con las prácticas de manejo, higiene y ordeño están asociados con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en la leche cruda bovina de la ciudad de Tulcán?
- ¿Existe una relación estadísticamente significativa entre los factores de riesgo identificados y la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en la leche cruda bovina de la ciudad de Tulcán.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En la investigación denominada “Una investigación epidemiológica sobre la aparición de *Escherichia coli* enterohemorrágica en leche cruda”. Desarrollada por Vanitha et al. (2018) El estudio evaluó la presencia de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) en leche cruda mediante PCR multiplex, utilizando 125 muestras de leche y muestras de estiércol, pelo y ubre de las vacas, además de utensilios, manos del ordeñador, agua, suelo y pienso. Se detectó EHEC en el 8,8 % de las muestras de leche cruda, identificándose como principales fuentes de contaminación el estiércol (19,84 %), los hisopos de ubre (16,67 %) y el pelaje de las vacas (15 %). Entre los genes de virulencia encontrados, predominó *stx2* (73,33 %), seguido de *stx1* (53,33 %), *eaeA* y *hlyA* (36 % cada uno). Los principales factores de riesgo estuvieron relacionados con la calidad del agua, una higiene inadecuada de la ubre y las manos del ordeñador, y la limpieza insuficiente de los utensilios de ordeño. Los resultados evidencian que las vacas y su entorno pueden constituir fuentes importantes de contaminación de la leche cruda, por lo que se recomienda fortalecer las prácticas higiénicas durante el ordeño.

Según Patiño Burbano (2013) en su investigación “Detección de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*, en muestras de leche bovina del sistema de producción doble propósito colombiano”. El estudio evaluó la presencia de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* en 600 muestras de leche cruda bovina, mediante métodos microbiológicos tradicionales y PCR multiplex. Los resultados mostraron una prevalencia de 3,7 % (22/600) para *E. coli* O157:H7, 0,8 % para *Salmonella* spp. y 0,3 % para *L. monocytogenes*. La PCR multiplex presentó mayor sensibilidad que el método convencional para detectar *E. coli* O157:H7, con una sensibilidad de 1 UFC/ml, además de reducir el tiempo de detección de *Salmonella* a 10 horas. Asimismo, la presencia de *E. coli* O157:H7 estuvo relacionada significativamente con la ubicación geográfica, evidenciando que su presencia en la leche cruda representa un riesgo potencial para la salud pública.

Blanco et al. (2016) mencionan una investigación denominada "Prevalencia, factores de riesgo asociados y patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de *Escherichia coli* y *Escherichia coli* O157 aisladas de leche de vaca y productos lácteos y prácticas de higiene en ciudades seleccionadas de la región de Oromia, Etiopía". El estudio evaluó la prevalencia, factores de riesgo y resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* y *E. coli* O157:H7 en leche y productos lácteos de West Shewa, Etiopía. Se analizaron 556 muestras de leche y productos lácteos, además de 145 cuestionarios sobre prácticas higiénicas. Se encontró *E. coli* en el 33,8 % de las muestras, mientras que *E. coli* O157:H7 presentó una prevalencia de apenas 0,2 %. La contaminación fue mayor en la leche de tanque a granel (47,4 %) que en la leche de ubre (34,7 %) y otros productos lácteos. Entre los factores relacionados con la contaminación se identificaron los recipientes utilizados, el lavado de las ubres, la limpieza y las prácticas de manipulación de la leche. Además, los aislados analizados presentaron multiresistencia a los antimicrobianos y los recuentos de coliformes superaron las recomendaciones internacionales. Los autores concluyeron que las deficientes prácticas higiénico-sanitarias durante la producción y manipulación de la leche pueden representar un riesgo para la salud pública, por lo que recomiendan mejorar la higiene en toda la cadena láctea y promover el uso adecuado de antimicrobianos.

La investigación "*Escherichia coli* O157:H7, un contaminante común de la leche cruda de Ecuador: aislamiento e identificación molecular". desarrollada por Loor-Giler et al. (2025) estudio evidencia un importante riesgo para la salud pública por la contaminación de la leche y productos lácteos con *Escherichia coli* O157:H7 en Ecuador, especialmente en leche cruda de Manabí y Pichincha. Los resultados resaltan la necesidad de fortalecer las medidas de bioseguridad y seguridad alimentaria, principalmente en pequeños productores. Además, la qPCR demostró ser un método rápido, sensible y rentable para detectar este patógeno. El análisis también identificó cepas hiperpatógenas y resistencia a antimicrobianos, por lo que se recomienda mantener una vigilancia continua para prevenir la aparición de cepas multiresistentes.

Según Ka Praja et al. (2026) en su investigación "Desarrollo de una estrategia terapéutica basada en siRNA dirigida al factor de virulencia *lpfA* de *Escherichia coli* O157:H7 zoonótico". El estudio tuvo como objetivo diseñar compuestos de ARNip capaces de silenciar el gen de virulencia *lpfA* de *Escherichia coli* O157:H7, un

patógeno zoonótico asociado a enfermedades gastrointestinales graves. Mediante herramientas bioinformáticas se identificaron 10 candidatos a siRNA, con una eficiencia de silenciamiento prevista entre 93,73 % y 94,66 %. Además, presentaron estructuras estables y una adecuada unión al ARNm, destacando un candidato con una energía de $-26,5$ kcal/mol. Estos resultados sugieren que los siRNA podrían reducir la expresión del gen *lpfA* y constituyen una base para futuras investigaciones sobre terapias dirigidas a factores de virulencia de *E. coli* O157:H7.

La investigación "Caracterización molecular de la resistencia múltiple a los medicamentos en *Escherichia coli* O157:H7 a partir de heces de terneros y leche de vaca en Bangladesh". desarrollada por Samad et al. (2026) *Escherichia coli* O157:H7 es una bacteria zoonótica de importancia para la salud pública, cuyo principal reservorio es el ganado bovino, desde donde puede eliminarse mediante las heces y contaminar alimentos de origen animal. En un estudio realizado en Bangladés con 290 muestras de ganado lechero, el 20 % resultó positivo, con una mayor frecuencia en las muestras fecales (24,8 %) que en la leche (7,5 %). Las cepas aisladas presentaron genes de virulencia como *stx2* y *eae* y, además, el 50 % mostró multiresistencia a antimicrobianos. Los resultados evidencian el riesgo de transmisión de *E. coli* O157:H7 desde el ganado y los productos lácteos hacia las personas, destacando la necesidad de mejorar la higiene, realizar vigilancia y promover el uso responsable de antimicrobianos bajo el enfoque de «Una sola salud».

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Importancia de *Escherichia coli* O157:H7

La *Escherichia coli* O157:H7 es una bacteria Gram-negativa productora de toxina Shiga que representa un patógeno alimentario significativo con implicaciones globales para la salud pública. Este microorganismo se caracteriza por su capacidad de contaminar alimentos de origen animal, siendo identificado en diversos productos como carne de res, pescado y potencialmente en leche cruda, aunque estudios recientes en Etiopía no encontraron aislados en muestras de leche pasteurizada. La prevalencia de *E. coli* O157:H7 varía significativamente según el tipo de alimento y las prácticas de higiene; en un estudio realizado en Hawassa y Yirgalem, Sidama Region, Etiopía, se encontró una prevalencia general de 3.7% en alimentos de origen animal, con tasas de aislamiento del 6.25% en pescado y 5.6% en carne de res, siendo la

carne de carnicerías más contaminada (7.6%) que las muestras de matadero (3.4%) (Chala et al., 2025)

2.2.2 Morfología y Propiedades Tintoriales de *Escherichia coli* O157:H7

Bacilo recto de aproximadamente 1–3 µm de longitud y 0.5 µm de ancho, que se presenta de forma individual o en pares al microscopio tras la tinción de Gram. Su pared celular está compuesta por una capa delgada de peptidoglicano y una membrana externa rica en lipopolisacáridos que no retienen el violeta cristal, tiñéndose de rosa/rojo con safranina. Esta cepa patógena posee flagelos peritríquicos, que le permiten movilidad, y pilis de tipo 4 (conocidos como HCP, hemorrhagic coli pili), estructuras delgadas filamentosas polares implicadas en la adherencia a células epiteliales, formación de biopelículas, invasión, rol en la hemaglutinación y motilidad de tipo "twitching". Estas propiedades tintoriales y morfológicas son claves para su identificación en laboratorio —no fermenta sorbitol en agar MacConkey modificado— y para su gran capacidad patogénica, destacándose su implicación en cuadros de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (Vegano, 2020). En la tabla 1 se evidencia la taxonomía de la bacteria *Escherichia coli* O157:H7.

Tabla 1. Clasificación taxonómica

Nombre	Descripción
Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Grammaproteobacteria
Orden	Enterobacterales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	Escherichia

Fuente: (Rodríguez, 2021)

2.2.3. Fisiología y Metabolismo

Patógeno facultativamente anaerobio con una fisiología adaptativa que le permite colonizar el intestino y sobrevivir en ambientes adversos. En condiciones intestinales, puede fermentar simultáneamente múltiples azúcares derivados del moco, como arabinosa, fucosa, N-acetilglucosamina, galactosa, hexuronatos, manosa y ribosa, lo que optimiza su crecimiento y colonización. Además, emplea tanto respiración aeróbica (a través de la ATP sintasa y el citocromo bd bajo condiciones de oxígeno limitado) como anaeróbica (usando reductasas de nitrato y fumarato), lo que le confiere gran flexibilidad metabólica en microambientes variables del intestino. La utilización de L-malato derivado del huésped y de la microbiota como señal y sustrato

para la respiración anaeróbica mediante fumarato mejora su capacidad de adherencia y activación de genes LEE, reforzando así su virulencia. En respuesta a ambientes ácidos (como el estómago o alimentos acidulados), O157:H7 activa sistemas de resistencia al ácido basados en descarboxilaciones de aminoácidos y bombas de protones dependientes de ATP, manteniendo su pH intracelular y promoviendo la supervivencia frente a bajos niveles de pH. En conjunto, su capacidad para metabolizar diversos carbohidratos, adaptarse a múltiples rutas respiratorias y resistir entornos hostiles permite a *E. coli* O157:H7 colonizar con eficacia, sobrevivir en el tracto gastrointestinal y facilitar la expresión de sus factores de virulencia (Fabich et al., 2008).

2.2.4. Clasificación Serológica

Se clasifica serológicamente mediante la detección de tres tipos principales de antígenos: somático (O), flagelar (H) y capsular (K). En este caso, el antígeno O se corresponde con el serogrupo O157, identificado en la polisacárida somática del lipopolisacárido (LPS), mientras que el antígeno H corresponde al flagelo tipo 7 (H7), formando así el serotipo O157:H7, característico de las cepas enterohemorrágicas productoras de toxinas Shiga (STEC). Dentro de H7 se han identificado variantes serológicas específicas, como H7a,c y H7a,b, pero las cepas de *E. coli* O157:H7 clínicamente relevantes portan exclusivamente el subtipo H7a,c. En términos epidemiológicos, existen cerca de 186 grupos O y 53 tipos H en *E. coli*; solo un número limitado —entre 100 y más de 100 serotipos STEC— se asocian con enfermedades, siendo O157:H7 el más predominante en Norteamérica. Esta clasificación serológica es esencial tanto para la identificación en laboratorio mediante aglutinación de antisueros como para la vigilancia epidemiológica de brotes alimentarios y sanitarios (Ratiner et al., 2003).

2.2.5. Vía de transmisión de la bacteria

Se transmite principalmente por vía fecal-oral, con una dosis infectiva muy baja (entre 50 y 100 UFC), lo que facilita su propagación. Las principales fuentes de infección en humanos incluyen carne de res cruda o mal cocida (especialmente hamburguesas de carne molida), leche y productos lácteos no pasteurizados, así como vegetales frescos o brotes contaminados con heces. También es común la transmisión siguiente al contacto directo o indirecto con animales portadores (como bovinos, ovinos y cerdos) o sus superficies contaminadas. Igualmente se ha documentado la

transmisión persona a persona, especialmente en contextos de cuidado infantil o instituciones cerradas, donde la higiene es deficiente. Brotes han sido vinculados no solo a carne y lácteos, sino también a agua no tratada y actividades recreacionales en agua contaminada. Estas múltiples vías de transmisión subrayan la importancia de medidas preventivas como la cocción adecuada, la pasteurización, el lavado de frutas y verduras, la higiene al manipular animales o excretas, y el refuerzo de prácticas de higiene personal (Puligundla & Lim, 2022).

2.2.6. Factor de Riesgo

Los factores de riesgo en la leche cruda relacionados con *Escherichia coli* O157:H7 se deben principalmente a prácticas inadecuadas de higiene durante el ordeño, almacenamiento y transporte, así como a la ausencia de procesos de pasteurización. Estudios realizados en Ecuador han evidenciado una alta prevalencia de esta bacteria en leche sin pasteurizar, lo que indica que la contaminación fecal proveniente de animales portadores es una fuente importante. Otros factores incluyen el uso de agua no tratada para la limpieza de equipos, la falta de refrigeración adecuada y la manipulación sin medidas sanitarias, que favorecen la supervivencia y multiplicación del patógeno. Debido a que *E. coli* O157:H7 puede causar enfermedades graves como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, la implementación de Buenas Prácticas Ganaderas, controles microbiológicos y la pasteurización obligatoria son esenciales para garantizar la inocuidad de la leche cruda (tlover tonet, 2023).

2.2.6.1 Factores de riesgo de *Escherichia coli* O157:H7.

Los factores de riesgo asociados a la infección por *Escherichia coli* O157:H7 están relacionados principalmente con prácticas alimentarias y condiciones higiénicas deficientes. Entre los más importantes se encuentran el consumo de carne de res cruda o insuficientemente cocida, leche y productos lácteos no pasteurizados, así como vegetales frescos contaminados durante el cultivo o procesamiento. Otros factores incluyen la exposición directa a animales portadores (especialmente bovinos) en granjas o ferias, el contacto con superficies contaminadas y la ingesta de agua no tratada. La baja dosis infectiva (menos de 100 células) incrementa el riesgo incluso ante una mínima contaminación, lo que explica la frecuencia de brotes en entornos donde no se aplican medidas estrictas de higiene y control alimentario. Estos factores subrayan la necesidad de educación sanitaria, buenas prácticas de

manipulación de alimentos y sistemas de control en la cadena agroalimentaria para reducir la incidencia de esta infección (Cai et al., 2022).

2.2.7. Zoonosis

Es considerada una zoonosis porque su principal reservorio son los rumiantes, especialmente el ganado bovino, que porta la bacteria de manera asintomática en su intestino. Estos animales eliminan el microorganismo a través de las heces, contaminando el ambiente, el agua y los alimentos durante el sacrificio o la manipulación de productos cárnicos. Además de bovinos, otros animales como ovinos, caprinos y cérvidos también pueden actuar como reservorios, contribuyendo a la diseminación en sistemas agropecuarios y entornos naturales. La transmisión al ser humano ocurre principalmente por contacto directo con animales infectados, superficies contaminadas en granjas o zoológicos, o indirectamente mediante alimentos y agua contaminados con heces animales. Esta característica zoonótica convierte a *E. coli* O157:H7 en un patógeno de importancia tanto veterinaria como en salud pública, requiriendo estrategias integradas de control bajo el enfoque "Una Salud" (Tankeshwar, 2025).

2.2.8. Inocuidad Alimentaria

Es un aspecto crítico debido a su alta virulencia y baja dosis infectiva, que puede causar enfermedades graves como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Esta bacteria se asocia principalmente con alimentos de origen animal, como carne de res mal cocida y leche no pasteurizada, así como vegetales frescos contaminados durante el cultivo o procesamiento. Las prácticas de inocuidad incluyen la cocción completa de carnes (alcanzando temperaturas internas seguras), la pasteurización de lácteos, el lavado y desinfección de frutas y verduras, y la prevención de la contaminación cruzada en superficies y utensilios de cocina. Además, la implementación de sistemas como HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) en la industria alimentaria es fundamental para reducir el riesgo de brotes. Estas medidas son esenciales porque *E. coli* O157:H7 puede sobrevivir en ambientes fríos y ácidos, lo que aumenta su persistencia en alimentos y entornos de procesamiento (Xicohtencatl-Cortes et al., 2009).

2.2.9. Producción ganadera en el Ecuador

En Ecuador, la producción ganadera desempeña un papel relevante en la dinámica de *Escherichia coli* O157:H7 como zoonosis y vector alimentario. Un estudio reciente

sobre leche cruda de las provincias de Manabí y Pichincha detectó una alta prevalencia de la cepa O157:H7 (72,8 % y 54,3 %, respectivamente) mediante métodos de enriquecimiento y confirmación por qPCR, lo que evidencia que la ganadería lechera es un importante reservorio de este patógeno. Asimismo, en mercados municipales de Quito se reportaron hallazgos de *E. coli* O157 en muestras de carne molida de res, demostrando la contaminación en puntos de venta locales. Estas investigaciones subrayan los riesgos sanitarios en la cadena productiva ganadera ecuatoriana, donde la falta de prácticas adecuadas de higiene durante el ordeño, transporte y comercialización favorece la transmisión de O157:H7. Por tanto, resulta indispensable implementar acciones integrales desde la finca hasta el consumidor —como el uso de leche pasteurizada, controles microbiológicos regulares y capacitación en Buenas Prácticas Ganaderas— para disminuir la carga bacteriana y proteger la inocuidad alimentaria en el país (Lloor-Giler et al., 2025).

2.2.10. Producción lechera en el Ecuador

La producción lechera en Ecuador representa un sector clave de la economía agropecuaria, pero también constituye una fuente potencial de contaminación por *Escherichia coli* O157:H7. Investigaciones recientes han demostrado una alta prevalencia de esta bacteria en leche cruda proveniente de las provincias de Manabí y Pichincha, con tasas de aislamiento superiores al 50 %, confirmadas mediante técnicas moleculares como PCR en tiempo real. Esta situación se relaciona con prácticas inadecuadas de higiene durante el ordeño, almacenamiento y transporte, lo que favorece la persistencia del patógeno en la cadena láctea. La presencia de *E. coli* O157:H7 en leche sin pasteurizar implica un riesgo significativo para la salud pública, dado que su consumo puede causar infecciones graves como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Por ello, se recomienda la implementación estricta de Buenas Prácticas Ganaderas, la pasteurización obligatoria y controles microbiológicos periódicos para garantizar la inocuidad de los productos lácteos en el país (García & Alvarado, 2022).

2.2.11. Calidad e inocuidad de la leche

La calidad e inocuidad de la leche frente a *Escherichia coli* O157:H7 es un tema prioritario en salud pública, ya que la leche cruda puede actuar como vehículo de transmisión de este patógeno. Estudios realizados en Ecuador han reportado una alta prevalencia de *E. coli* O157:H7 en muestras de leche sin pasteurizar, lo que evidencia

deficiencias en las prácticas de ordeño, almacenamiento y transporte. La presencia de esta bacteria compromete la calidad microbiológica del producto y representa un riesgo grave para el consumidor, dado que su ingestión puede causar colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Para garantizar la inocuidad, se recomienda la pasteurización obligatoria, la implementación de Buenas Prácticas Ganaderas y controles microbiológicos periódicos en toda la cadena láctea. Estas medidas son esenciales para cumplir con estándares internacionales de calidad y reducir la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos (Loor-Giler et al., 2025).

2.2.12. Detección Microbiológica de *Escherichia coli* O157:H7

El cultivo microbiológico es un método convencional para detectar *Escherichia coli* O157:H7 en alimentos, productos lácteos y otras matrices. El proceso suele incluir una fase de enriquecimiento de la muestra, seguida de la inoculación en medios de cultivo selectivos y diferenciales que favorecen el aislamiento de *E. coli* O157:H7 frente a otras bacterias presentes en la muestra. Las colonias sospechosas pueden someterse posteriormente a pruebas bioquímicas y serológicas para validar su identificación. En el análisis de la leche cruda, el enriquecimiento aumenta la concentración de bacterias presentes antes del aislamiento, lo que incrementa las posibilidades de detectar el microbio. Aunque este método lleva más tiempo que otros procedimientos moleculares, presenta una ventaja significativa: produce células bacterianas vivas, que pueden utilizarse posteriormente para la validación y caracterización moleculares. Los estudios realizados con leche cruda emplearon el enriquecimiento bacteriano seguido de medios selectivos para extraer *E. coli* O157:H7, que posteriormente se verificaron mediante qPCR. Como resultado, la investigación microbiológica y la seguridad alimentaria siguen dependiendo en gran medida de los cultivos (Loor-Giler et al., 2025).

2.2.12.1. Etapa de pre - enriquecimiento bacteriano

El método BHI (*Brain Heart Infusion*) es un medio de cultivo enriquecido ampliamente utilizado para el aislamiento y crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 debido a su alta concentración de nutrientes, que favorece la proliferación de bacterias exigentes y patógenas con un 80 a 95 % de sensibilidad y especificidad del 85%. Este medio contiene extractos de cerebro y corazón, peptonas y carbohidratos que proporcionan un ambiente óptimo para la recuperación de células dañadas por

procesos de estrés, como refrigeración o desinfección, lo que lo convierte en una herramienta clave en análisis microbiológicos de alimentos y muestras clínicas. En estudios sobre *E. coli* O157:H7, el BHI se emplea tanto para el enriquecimiento previo antes de pruebas confirmatorias (como PCR o cultivos selectivos) como para mantener la viabilidad de la bacteria en condiciones experimentales, asegurando una alta tasa de recuperación y detección (Loor-Giler et al., 2025).

2.2.12.2. Etapa de aislamiento selectivo y diferencial

El agar MacConkey con sorbitol (SMAC) es un medio de cultivo selectivo y diferencial ampliamente utilizado en microbiología clínica para la detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), particularmente el serotipo O157:H7, que se asocia con colitis hemorrágica y síndrome hemolítico urémico (SHU). A diferencia de la mayoría de las cepas de *E. coli*, el serotipo O157:H7 no fermenta sorbitol, lo que permite su diferenciación en este medio. En ensayos clínicos, el SMAC demostró una sensibilidad del 100%, especificidad del 85% y precisión del 86% en la detección de *E. coli* O157:H7 en cultivos de heces, permitiendo el reconocimiento fácil del patógeno como colonias incoloras no fermentadoras de sorbitol, en contraste con la flora fecal normal que fermenta sorbitol y aparece de color rosa en el medio. Sin embargo, el SMAC presenta limitaciones importantes, ya que solo detecta de manera confiable el serotipo O157:H7 y no identifica otros serotipos patógenos de STEC que fermentan sorbitol, como O26, O103 y O111. Debido a estas limitaciones, algunos laboratorios han adoptado métodos complementarios que combinan el cultivo en SMAC con pruebas de detección de toxina Shiga mediante ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), lo que permite una detección más sensible de todos los serotipos de STEC patógenos. A pesar de sus limitaciones, el SMAC sigue siendo un método simple, económico, rápido y confiable para la detección de *E. coli* O157:H7, especialmente en el cultivo de muestras de heces con sangre (tlover tonet, 2023).

2.2.12.3. Control positivo.

El control positivo de *Escherichia coli* O157:H7 es un componente esencial en los procedimientos de detección y diagnóstico microbiológico, ya que permite validar la sensibilidad y especificidad de los métodos de cultivo y detección molecular utilizados en laboratorios clínicos. Los controles positivos deben consistir en cepas de referencia de *E. coli* O157:H7 confirmadas, preferiblemente con genotipo stx2, eae, fliCH7 y ehxA, que son los marcadores de virulencia más frecuentemente asociados

con enfermedad hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH). En el cultivo en agar MacConkey con sorbitol (SMAC), el control positivo debe producir colonias incoloras no fermentadoras de sorbitol, permitiendo verificar que el medio selectivo y diferencial funciona correctamente para la identificación presuntiva de este patógeno. Adicionalmente, los controles positivos son fundamentales para validar técnicas de detección molecular como PCR multiplex para la amplificación de genes de virulencia (*stx1*, *stx2* y *rfbO157*), así como para ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) que detectan la toxina Shiga producida por el microorganismo. Es importante que los laboratorios mantengan cepas de control positivo viables, preferiblemente conservadas a -70°C , para garantizar la confiabilidad de los resultados diagnósticos y permitir la detección consistente de *E. coli* O157:H7 en muestras clínicas de pacientes con diarrea hemorrágica y complicaciones asociadas al síndrome urémico hemolítico (Washington, 2015).

2.2.13. PCR Cuantitativa (qPCR)

La reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) es una técnica molecular de alta sensibilidad y especificidad para la detección y cuantificación de *Escherichia coli* O157:H7, permitiendo amplificar y monitorear el ADN bacteriano durante el proceso de amplificación mediante fluorescencia en tiempo real con una sensibilidad de del 90-99% y una especificidad del 95-100%. El qPCR presenta ventajas significativas sobre la PCR convencional, con un tiempo de operación de 30 a 40 minutos para la amplificación y detección de resultados, en comparación con aproximadamente tres horas requeridas por la PCR convencional incluyendo electroforesis. La especificidad del ensayo se logra mediante el uso de marcadores genéticos únicos como el marco de lectura abierto (ORF) Z3276, que es un gen de fimbrias específico de *E. coli* O157:H7, permitiendo detectar tan solo algunas copias del genoma bacteriano sin reactividad cruzada con otras cepas no O157 o patógenos como *Salmonella* y *Shigella*. Adicionalmente, el qPCR puede combinarse con el tratamiento de monoazida de propidio (PMA) para la detección selectiva de células vivas, inhibiendo casi completamente la amplificación de ADN de células muertas mientras mantiene prácticamente sin afectar la amplificación de ADN de células vivas, lo que evita lecturas falso-positivas por presencia de ADN residual (Yepes-Pérez et al., 2022).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

La investigación adopta un enfoque mixto, ya que combina elementos cualitativos y cuantitativos. La prevalencia de la infestación por la bacteria *Escherichia coli* O157:H7 en la leche cruda se examinaría en la investigación cuantitativa; la investigación cualitativa ha revisado previamente los datos sobre variables de riesgo obtenidos a partir de entrevista a los productores.

3.1.2. Tipo de Investigación

La investigación corresponde a un estudio de campo, con enfoque cuantitativo, debido a que la información y las muestras fueron obtenidas directamente en las condiciones habituales de recolección de leche a nivel de finca. La toma de muestras se realizó en los vehículos recolectores de leche durante su recorrido y permanencia a pie de finca, permitiendo evaluar la leche en condiciones reales de recolección y transporte.

De manera complementaria, se recopiló información relacionada con las características y prácticas de los sistemas de producción mediante entrevistas estructuradas dirigidas a los propietarios de las fincas involucradas. Para este componente, se retornó a las unidades productivas con el propósito de aplicar las entrevistas y obtener información directamente de los responsables de la producción.

3.2. IDEA A DEFENDER Ó HIPÓTESIS

H₀: La presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en la leche cruda recolectada a pie de finca no está asociada significativamente con las condiciones y prácticas de manejo, y ordeño.

H₁: La presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en la leche cruda recolectada a pie de finca está asociada significativamente con las condiciones y prácticas de manejo, y ordeño

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

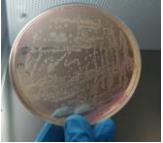
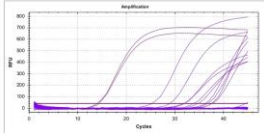
Variable dependiente

La presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en la leche cruda en la población ganadera de la ciudad de Tulcán, determinada mediante ensayos microbiológicos y moleculares.

Variables independientes

Factores de riesgo asociados a las condiciones y prácticas de manejo, y ordeño de las fincas.

Tabla 2. Matriz de operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumentos
Variable dependiente: Prevalencia microbiológica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7.	Muestras de leche de Acopios de las UPAs	-Medio de cultivo Nutritivo BHI (Brain Heart Infusion agar) -Medio cultivo selectivo MacConkey con Sorbitol agar	- En el control positivo, se debe observar la formación de colonias incoloras, debido a la incapacidad del microorganismo para fermentar el sorbitol. 	-Tubos de 50 ml estériles con tapa azul -Cajas Petri estériles
Prevalencia molecular de <i>Escherichia coli</i> O157:H7.	Muestras de leche positivas a <i>Escherichia coli</i> O157:H7 en cultivo microbiológico	qPCR	-Los resultados positivos se pueden observar mediante las curvas de amplificación generadas en tiempo real. 	
Variable Independiente: Factores de riesgo	-Ubicación -Tipo de ordeño -Calidad del agua -Lugar de ordeño -Higiene deficiente -Contaminación fecal -Presencia de animales enfermos.	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 se desarrolló en las parroquias rurales de Tufiño y Urbina, pertenecientes al cantón Tulcán, provincia del Carchi, Ecuador. Estas parroquias fueron consideradas como áreas de estudio debido a que en ellas se identificaron resultados positivos en las muestras de leche recolectadas mediante vehículos tanqueros a pie de finca. Posteriormente, se realizaron visitas a las unidades productivas para complementar la información mediante entrevistas a los propietarios de las fincas.

La parroquia Tufiño se caracteriza por presentar un territorio con una marcada variación altitudinal, que se extiende aproximadamente entre los 2.920 y 4.720 m s. n. m., mientras que su cabecera parroquial se encuentra alrededor de los 3.200 m s. n. m. Las condiciones climáticas corresponden a un ambiente frío de alta montaña, con temperaturas que generalmente fluctúan entre 6 y 11 °C.

Por su parte, la parroquia Urbina se encuentra en un rango altitudinal aproximado de 2.760 a 3.005 m s. n. m., con un clima predominantemente frío y temperaturas reportadas entre 10 y 11 °C. La actividad productiva de la parroquia está vinculada principalmente con la agricultura y la ganadería, incluyendo la producción de ganado bovino y pastos, como se representa en la figura 1.

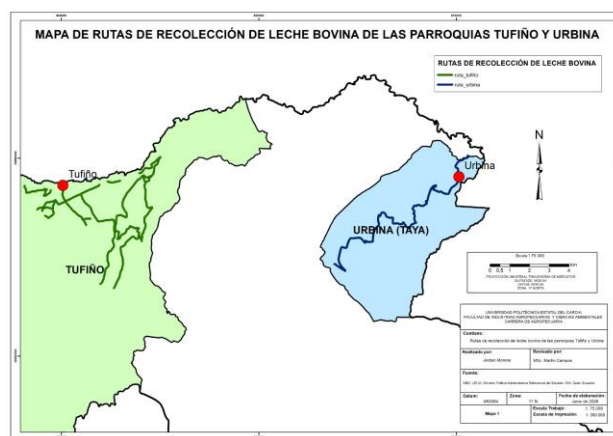


Figura 1. Ubicación geográfica de las parroquias Tufiño y Urbina

Fuente: (ArcGis Pro, 2026)

3.4.2. Descripción y caracterización de la investigación

La investigación se desarrolló en varias etapas. Inicialmente, se realizó la socialización del proyecto con los productores participantes, explicando los objetivos y

procedimientos del estudio. Posteriormente, se efectuó la toma de muestras de leche directamente en los vehículos recolectores, a pie de finca, durante el proceso habitual de recolección. A partir de los resultados obtenidos, se retornó a los predios seleccionados para realizar el levantamiento de información mediante entrevistas a los propietarios, considerando aspectos relacionados con las prácticas de manejo, ordeño, almacenamiento y recolección de la leche. Finalmente, las muestras fueron sometidas a análisis microbiológico para la identificación de microorganismos de interés y, posteriormente, a diagnóstico molecular mediante técnicas de extracción de ADN y amplificación específica, con el propósito de confirmar la presencia de los agentes identificados.

3.4.2.1. Procedimiento para la toma de muestras

La toma de muestras se realizó de acuerdo con los protocolos establecidos de bioseguridad, utilizando el equipo de protección personal (EPP) correspondiente. Como elementos básicos de protección se emplearon guantes desechables, overol resistente a fluidos, gorro para la contención del cabello y mascarilla de protección respiratoria.

Las muestras de leche fueron recolectadas directamente del tanque de almacenamiento de los vehículos recolectores, una vez finalizada la jornada de ordeño y durante el proceso de recolección a pie de finca. Para cada unidad de muestreo se recolectaron aproximadamente 50 mL de leche en frascos estériles de 50 mL.

Una vez obtenida la muestra, se procedió a su identificación mediante un código previamente establecido, registrando además la información correspondiente al propietario y la ubicación de la unidad productiva. Posteriormente, los frascos fueron colocados en una gradilla y transportados en condiciones de refrigeración, utilizando una nevera portátil o caja térmica de poliestireno expandido (espumaflex/espumaplast), hasta el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario (LDV) de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC), donde se realizó el análisis microbiológico.

3.4.2.2. Entrevista

Posteriormente a la identificación de las unidades productivas de interés, se realizaron visitas a los predios correspondientes para efectuar el levantamiento de información mediante entrevistas directas a los propietarios o responsables de las fincas. Para este propósito, se utilizó un cuestionario estandarizado, presentado en el Anexo 2, que incluyó variables relacionadas con las prácticas de manejo, ordeño, higiene, almacenamiento y recolección de la leche, consideradas potencialmente relacionadas con la calidad microbiológica del producto.

3.4.2.3. Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico microbiológico se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario (LDV) de la UPEC. Para el enriquecimiento inicial de las muestras se utilizó caldo *Brain Heart Infusion* (BHI). El medio se preparó mediante la disolución de 37 g de medio deshidratado en 1.000 mL de agua destilada. Posteriormente, el medio preparado se distribuyó en recipientes autoclavables y se esterilizó a 121 °C durante 15 minutos, a una presión de 15 psi.

Una vez que el medio alcanzó una temperatura adecuada, se distribuyeron 36 mL de BHI en recipientes individuales. Previamente, cada muestra de leche fue homogeneizada mediante inversión y se transfirieron 4 mL al recipiente que contenía el medio de enriquecimiento. Las muestras fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, con agitación constante a 200 rpm.

Después del período de enriquecimiento, se realizó la siembra en agar MacConkey con sorbitol, utilizado como medio diferencial para la detección presuntiva de *Escherichia coli* O157:H7. El medio se preparó de acuerdo con las indicaciones del fabricante, disolviendo 51,5 g del medio deshidratado en 1.000 mL de agua destilada. Posteriormente, el medio fue esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 minutos y 15 psi.

Una vez preparado y enfriado el medio, se distribuyó en cajas Petri estériles de 100 mm de diámetro. A partir de los cultivos enriquecidos en BHI, se realizó la siembra sobre el agar MacConkey con sorbitol. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas. Las colonias que presentaron características compatibles con *E. coli* O157 fueron seleccionadas para los análisis posteriores, incluyendo el diagnóstico molecular.

Una vez obtenidas las colonias bacterianas, estas fueron conservadas en medio BHI suplementado con glicerol y almacenadas a -20 °C hasta el momento de la extracción de ADN. Para la extracción, se tomó 1 mL del cultivo bacteriano y se transfirió a un tubo Eppendorf de 2 mL. La suspensión fue centrifugada durante 5–10 minutos a una velocidad de 3.000–4.000 rpm, con el propósito de concentrar las células bacterianas y obtener un pellet. Posteriormente, se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en 500 µL de solución TE.

La suspensión bacteriana se sometió a un tratamiento térmico en un termobloque a 95 °C durante 1 minuto. Posteriormente, las muestras fueron congeladas a -20 °C durante toda la noche; como alternativa, se empleó congelación a -80 °C durante 10 minutos. Después del tratamiento de congelación, las muestras fueron centrifugadas a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4 °C, con el fin de separar los restos celulares del material genético liberado.

Finalmente, se recuperaron 200 µL del sobrenadante y se transfirieron a tubos Eppendorf de 2 mL previamente rotulados. Los extractos de ADN obtenidos fueron almacenados a -20 °C hasta su utilización en los análisis moleculares posteriores.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1. Prevalencia

La prevalencia se define como la proporción de la población que padece una enfermedad en un momento determinado (prevalencia puntual) o a lo largo de un período de tiempo determinado. La prevalencia aumenta cuando se descubren nuevos casos de la enfermedad (incidencia) y disminuye cuando un paciente recibe tratamiento o fallece. En muchas circunstancias, la prevalencia periódica ofrece una imagen más realista de la prevalencia general, ya que abarca a todas las personas que padecían la enfermedad entre dos fechas: los casos antiguos y nuevos (incidentes), así como los que se curaron o fallecieron durante ese tiempo (Hunt & Kaloshin, 2023).

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

Fuente: (Hunt & Kaloshin, 2023).

3.5.2. Análisis de factores de riesgo atribuidos a la enfermedad

Se aplicó la prueba de chi-cuadrado de independencia (χ^2) para determinar la existencia de asociación estadísticamente significativa entre las variables categóricas evaluadas. La hipótesis nula (H_0) estableció la independencia entre las variables, mientras que la hipótesis alternativa (H_1) planteó su dependencia. Se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$; valores de $p \leq 0,05$ se interpretaron como evidencia de asociación estadísticamente significativa, mientras que valores de $p > 0,05$ indicaron que no existió evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula.

3.5.2.1. Odds ratio

El análisis de la asociación entre una exposición y un desenlace se sustenta en el uso del odds ratio (OR), un indicador que compara la probabilidad del evento en el grupo expuesto con la del grupo no expuesto, permitiendo estimar la fuerza y dirección de la relación entre ambas condiciones (Norton et al., 2018).

En los estudios de casos y controles, el *odds ratio* (OR) se utiliza como medida principal para determinar si una exposición está asociada con la ocurrencia de un desenlace. Valores altos del OR indican que el evento es más común entre los individuos expuestos, mientras que valores bajos sugieren que la exposición podría reducir la probabilidad del desenlace (Norton et al., 2018).

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.

$$\text{Odds ratio} = \frac{(\text{Odds del evento en el grupo expuesto})}{(\text{odds del evento en el grupo no expuesto})}$$

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

		Event	
		Yes	No
Exposure	Yes	a	b
	No	c	d

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

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

$$\text{Upper 95\% CI} = e^{[\ln(\text{OR}) + 1.96 \sqrt{(1/a) + (1/b) + (1/c) + (1/d)}]}$$

$$\text{Lower 95\% CI} = e^{[\ln(\text{OR}) - 1.96 \sqrt{(1/a) + (1/b) + (1/c) + (1/d)}]}$$

Figura 2. Cálculos para el Odds ratio y un intervalo de confianza del 95 % para el Odds ratio.

Fuente:(Norton et al., 2018).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Prevalencia total de *Escherichia coli* O157:H7., mediante análisis microbiológico en muestras de leche de la ciudad de Tulcán.

Tras la evaluación de 384 muestras de leche cruda obtenidas de 105 hatos ganaderos, en las parroquias de Urbina y Tufiño, se identificaron 45 muestras positivas representa 11.71%, del total analizado, proporción que indica la circulación del patógeno en la cadena de producción de leche cruda.

$$\textit{Prevalencia}_{\text{(cultivo microbiológico)}} = \frac{45}{384} \times 100\% = 11,71\%$$

4.1.2. Prevalencia Real de *Escherichia coli* O157:H7., mediante técnicas moleculares qPCR.

Tras el aislamiento primario y la selección fenotípica en medios selectivos, las muestras sospechosas fueron sometidas a confirmación molecular mediante qPCR. De las 45 muestras positivas al cultivo microbiológico, 22 fueron confirmadas como positivas por qPCR, lo que correspondió a una prevalencia confirmada de 5,72% (22/384) en las muestras de leche cruda analizadas.

Las curvas de amplificación del control positivo y de las muestras confirmadas como positivas evidenciaron el comportamiento esperado del ensayo, respaldando la especificidad de la detección molecular.

$$\textit{Prevalencia}_{\text{(qPCR)}} = \frac{22}{384} \times 100\% = 5.72\%$$

En la Figura 3 se observa el comportamiento de las muestras analizadas mediante la técnica molecular qPCR para la detección de *Escherichia coli* O157. Las curvas que presentan un incremento progresivo de la fluorescencia y una clara tendencia

ascendente durante los ciclos de amplificación corresponden a resultados positivos para la presencia de la bacteria. Por otro lado, las curvas que permanecen en la parte inferior de la gráfica, sin presentar un incremento significativo de la fluorescencia, corresponden a resultados negativos.

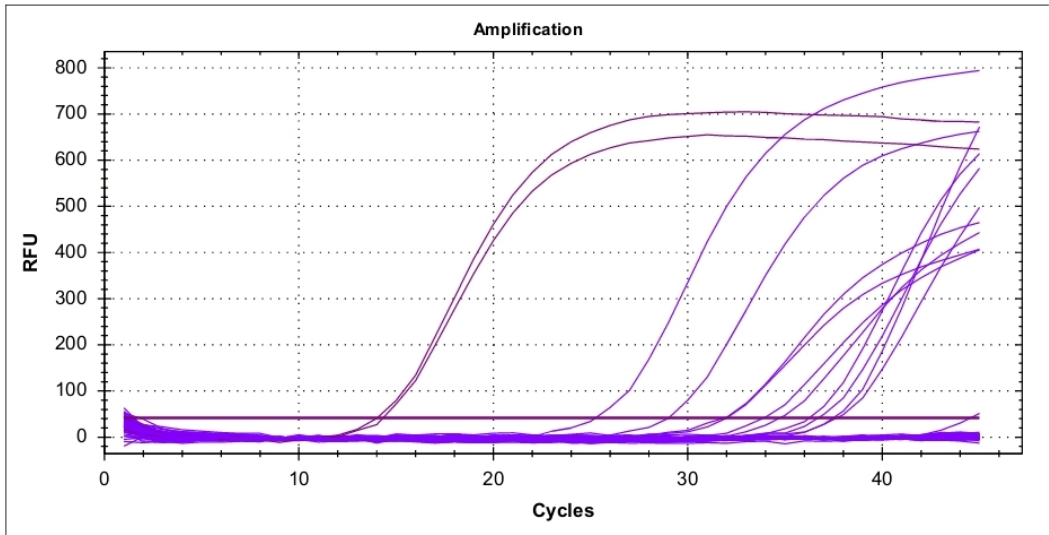


Figura 3. Resultados de la qPCR para la detección del gen en muestras de leche cruda.

4.1.2.1. Comparación de los resultados de análisis microbiológicas vs. qPCR para el diagnóstico de *Escherichia coli* O157:H7

La comparación de los resultados microbiológicos vs. qPCR permitieron identificar que 22 muestras fueron positivas a los dos ensayos y 23 fueron positivas al cultivo microbiológico per negativas a qPCR como muestra la tabla 3.

Tabla 3. Comparación de los resultados de las muestras microbiológicas con qPCR

Cultivo selectivo MacConkey con sorbitol	qPCR	Total
+	+	22
+	-	23
	Total	45

4.1.3. Prevalencia por parroquias de la ciudad de Tulcán.

La evaluación se llevó a cabo sobre una población de 384 muestras bovinos, pertenecientes 154 a la Parroquia de Urbina y 230 a la Parroquia de Tufiño.

Del total se obtuvieron 45 resultados positivos al cultivo microbiológico, por lo que el índice de prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 es 11.71% (45/384); de los cuales

10 fueron positivos en la parroquia de Urbina, con una prevalencia 6.49% y en la parroquia de Tufiño se identificaron 12 positivos con una prevalencia del 5.21%.

$$Prevalencia = \frac{10}{154} \times 100\% = 6.49\% \text{ Parroquia de Urbina}$$

$$Prevalencia = \frac{12}{230} \times 100\% = 5.21\% \text{ Parroquia de Tufiño}$$

4.1.4. Análisis de los factores de riesgo asociados a la *Escherichia coli* O157:H7.

4.1.4.1. Ubicación

La variable ubicación no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, debido a que se obtuvo un P-valor 0,7819. En el análisis de OR se obtuvo un valor 1,14, lo que indica que esta variable se comporta como un factor de riesgo para la presencia del microorganismo, en donde la parroquia Tufiño presenta un riesgo 1,14 veces más que en la parroquia Urbina, como se observa en la tabla 4.

Tabla 4. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Ubicación y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Ubicación	Tufiño	12	48	0,7819ns	1,14 (0,45 a 2,89 IC: 95%)
	Urbina	10	35		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.2 Tipo de ordeño

La variable tipo de ordeño no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,1896. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,46; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Tipo de ordeño y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

Tipo de ordeño		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Manual		18	56	0,1896ns	0,46 (0,15 a 1,42 IC: 95%)
	Mecánico	4	27		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.3 Fuente de agua para limpieza de instalaciones y equipos

La variable fuente de agua utilizada para la limpieza de las instalaciones y equipos no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,7184. Sin embargo, el análisis de OR mostró un valor de 1,23, lo que indica que, de acuerdo con los criterios establecidos, esta variable se comportó como un factor de riesgo. En este sentido, Los hatos productivos que utilizaron agua no potable presentaron 1,23 veces más probabilidad de presentar *Escherichia coli* O157:H7 en comparación con aquellas que utilizaron agua potable, como se observa en la tabla 6.

Tabla 6. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Tipo de agua y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

Tipo de agua		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
No potable		5	22	0,7184ns	1,23 (0,42 a 3,59 IC: 95%)
	Potable	17	61		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.4 Limpieza del sitio de ordeño

La variable limpieza del sitio de ordeño no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,1031. Por otra parte, el análisis de OR mostró un valor de 0,46; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 7.

Tabla 7. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Limpia el sitio de ordeño y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Limpia el sitio de ordeño	No Limpia	11	26	0,1031ns	0,46 (0,18 a 1,17 IC: 95%)
	Limpia	11	57		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.5 Aseo de manos

La variable aseo de manos no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,7145. Por otra parte, el análisis de OR mostró un valor de 1,29, lo que indica que, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable presentó un comportamiento compatible con un factor de riesgo. En este sentido, las unidades productivas en las que no se realizó un adecuado aseo de manos presentaron 1,29 veces más probabilidad de presentar *Escherichia coli* O157:H7 en comparación con aquellas en las que se realizó un adecuado aseo de manos, como se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Aseo de manos y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Aseo de manos	No se lava	3	14	0,7145ns	1,29 (0,36 a 4,58 IC: 95%)
	Se lava	19	69		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.6 Uso de overol

La variable uso de overol no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,4318. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,64; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 9.

Tabla 9. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Uso de overol y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Uso de overol	No utiliza	17	57	0,4318ns	0,64 (0,22 a 1,87 IC: 95%)
	Utiliza	5	26		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.7 Limpieza de ubres

La variable limpieza de ubres no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,8508. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,90; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 10.

Tabla 10. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Limpieza de ubres y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Limpieza de ubres	No limpia	6	21	0,8508ns	0,90 (0,32 a 2,53 IC: 95%)
	Limpia	16	62		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.8 Condiciones de ordeño

La variable condiciones de ordeño no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,5610. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,74; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 11.

Tabla 11. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Condiciones de ordeño y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Condición de ordeño	No techado	15	51	0,5610ns	0,74 (0,28 a 1,97 IC: 95%)
	Techado	7	32		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.9 Despunte

La variable despunte no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,8508. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,90; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 12.

Tabla 12. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Despunte y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Despunte	No realiza	6	21	0,8508ns	0,90 (0,32 a 2,53 IC: 95%)
	Realiza	16	62		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.10 Prueba de mastitis

La variable prueba de mastitis no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,1411. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,48; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 13.

Tabla 13. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Prueba de mastitis y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Prueba de mastitis	No realiza	15	42	0,1411ns	0,48 (0,18 a 1,26 IC: 95%)
	Realiza	7	41		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.11 Recipientes para el ordeño

La variable recipientes para el ordeño no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,3492. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,57; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 14.

Tabla 14. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Recipientes únicos para el ordeño y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Recipientes únicos para el ordeño	No son únicos	5	12	0,3492ns	0,57 (0,19 a 1,78 IC: 95%)
	Son únicos	17	71		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.12 Ternero en el ordeño

La variable presencia del ternero durante el ordeño no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,3492. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 1,74, lo que indica que, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable presentó un comportamiento compatible con un factor de riesgo. En este sentido, las unidades productivas en las que el ternero no estuvo presente durante el ordeño presentaron 1,74 veces más probabilidad de presentar *Escherichia coli* O157:H7 en comparación con aquellas en las que el ternero estuvo presente durante el ordeño, como se observa en la tabla 15.

Tabla 15. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Ternero en el ordeño y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Ternero en el ordeño	No esta	17	71	0,3492ns	1,74 (0,56 a 5,39 IC: 95%)
	Esta	5	12		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.13 Contaminación cruzada

La variable contaminación cruzada no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,9220. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,95; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 16.

Tabla 16. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Contaminación cruzada y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Ordeño de vacas enfermas al final	No se ordeñan al final	9	33	0,9220ns	0,95 (0,37 a 2,44 IC: 95%)
	Se ordeñan al final	13	50		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.14 Sellante después del ordeño

La variable uso de sellante después del ordeño no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,9414. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,97; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 17.

Tabla 17. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Sellante después del ordeño y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Aplicación de sellador	No aplica	10	37	0,9414ns	0,97 (0,38 a 2,44 IC: 95%)
	Aplica	12	46		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.15 Sistema tanque de frío

La variable sistema de tanque de frío no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,2716. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,52; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 18.

Tabla 18. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Sistema tanque de frio y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
La leche va directamente al tanque de frio	No va directamente Va directamente	5	11	0,2716ns	0,52 (0,17 a 1,63 IC: 95%)
		17	71		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.16 Método de enfriamiento

La variable método de enfriamiento de la leche no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,3641. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,64; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 19.

Tabla 19. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Método de enfriamiento y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Método de enfriamiento	No tiene tanque de enfriamiento	10	29	0,3641ns	0,64 (0,25 a 1,64 IC: 95%)
	Tiene tanque de enfriamiento	12	54		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.1.4.17 Lavado de utensilios

La variable de lavado de utensilios no presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 P-valor 0,0651. Asimismo, el análisis de OR mostró un valor de 0,39; por lo tanto, de acuerdo con los criterios establecidos para el análisis, esta variable no fue considerada un factor de riesgo para la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, como se observa en la tabla 20.

Tabla 20. Odds Ratio y Chi Cuadrado para la variable Lavado de utensilios y presencia de *Escherichia coli* O157:H7

		<i>Escherichia coli</i> O157:H7		Chi-cuadrado	Odds ratio
		Positivo	Negativo	P-valor	
Lava y desinfecta los utensilios	No lava y desinfecta	8	15	0,0651ns	0,39 (0,14 a 1,06 IC: 95%)
	Lava y desinfecta	14	68		

Nota: *: asociación estadística significativa; **: asociación estadística altamente significativa; ns: no asociación estadística

4.2. DISCUSIÓN

El presente estudio identificó una prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 de 5,72% (22/384 muestras) mediante confirmación molecular por qPCR en leche cruda procedente de hatos ganaderos de las parroquias Urbina y Tufiño, en Tulcán, Ecuador. Este resultado se encuentra dentro del rango descrito en diferentes estudios internacionales, aunque es considerablemente inferior a las prevalencias recientemente reportadas en otras regiones del Ecuador. Loo-Giler et al. (2025) reportaron prevalencias de 72,8% en Manabí y 54,3% en Pichincha, lo que evidencia una importante variabilidad geográfica en la contaminación de leche cruda por este microorganismo.

En el contexto latinoamericano, la prevalencia observada en Tulcán fue superior a la reportada por Patiño Burbano (2013) en Colombia, quien encontró 3,7% de *E. coli* O157:H7 en sistemas de producción de doble propósito, y se encuentra dentro del rango descrito en otros países. En Brasil, Vendramin et al. (2014) reportaron una prevalencia de 31,1% de STEC en leche cruda mediante métodos moleculares, mientras que Shrestha et al. (2024) reportaron 1,1% en Nepal. Estas diferencias pueden estar relacionadas con las características de los sistemas productivos, las condiciones ambientales, las prácticas de manejo, la población estudiada y, particularmente, con las metodologías empleadas para la detección del microorganismo.

Además, un aspecto metodológico relevante del presente estudio fue la diferencia entre la detección presuntiva mediante cultivo en agar MacConkey con sorbitol y la confirmación molecular. Mientras que el cultivo identificó 45 muestras positivas (11,71%), la confirmación mediante qPCR permitió establecer 22 muestras positivas (5,72%). Esta diferencia evidencia que la utilización exclusiva de características fenotípicas puede conducir a una sobreestimación de la presencia de *E. coli* O157:H7, debido a que la incapacidad para fermentar sorbitol no constituye una

característica exclusiva de este serotipo. En este sentido, la confirmación molecular proporciona mayor especificidad para la identificación del microorganismo. Resultados similares fueron descritos por Murphy et al. (2007), quienes demostraron la presencia de aislados de *E. coli* O157 no virulentos entre aquellos obtenidos mediante procedimientos microbiológicos. Asimismo, Patiño Burbano (2013) señaló una mayor capacidad de detección de las técnicas moleculares frente a los métodos microbiológicos convencionales.

Por otro lado, la prevalencia observada fue similar entre Urbina (6,49%; 10/154) y Tufiño (5,21%; 12/230), sin diferencia estadísticamente significativa ($p=0,7819$). El Odds Ratio de 1,14 indica únicamente una diferencia pequeña en la ocurrencia observada entre ambas localidades, pero no permite establecer que la ubicación en una parroquia determinada constituya un factor de riesgo para la presencia de *E. coli* O157:H7. La similitud encontrada entre ambas parroquias podría estar relacionada con características compartidas de los sistemas de producción, incluyendo condiciones ambientales, características climáticas de la zona altoandina y prácticas de manejo ganadero. Ambas localidades forman parte de una importante zona de producción lechera de Carchi, donde predominan sistemas de pequeña y mediana escala.

En lo que respecta a los factores de riesgo asociados, de las 17 variables evaluadas mediante la prueba de Chi-cuadrado y Odds Ratio no identificó ninguna variable que pudiera considerarse un factor de riesgo estadísticamente significativo para la presencia de *E. coli* O157:H7 en los 105 hatos estudiados. Dos variables presentaron OR superiores a 1: ausencia de aseo de manos ($OR=1,29$; $p=0,7145$), y utilización de agua no potable ($OR=1,23$; $p=0,7184$).

De estas variables, la relacionada con el agua utilizada durante el ordeño merece especial consideración desde el punto de vista epidemiológico ya que el agua constituye un elemento fundamental durante el ordeño, debido a que puede entrar en contacto con las ubres, manos, utensilios, superficies y equipos utilizados para la obtención y manipulación de la leche. Por esta razón, su calidad microbiológica puede desempeñar un papel relevante en la contaminación de la leche cuando se emplea agua de fuentes no controladas o con calidad sanitaria deficiente. Ribeiro et al. (2019), por ejemplo, detectaron STEC en muestras de agua utilizada en salas de ordeño en Brasil, evidenciando que este recurso puede constituir una fuente potencial de contaminación en los sistemas lecheros.

De manera similar, la ausencia de aseo de manos presentó un OR de 1,29 ($p=0,7145$). Aunque desde una perspectiva de buenas prácticas de ordeño la higiene de las manos es relevante para evitar la transferencia de microorganismos, teniendo esta variable una asociación significativa con el tipo de agua utilizada.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Mediante el análisis microbiológico de 384 muestras de leche cruda, se identificaron 45 muestras con características compatibles con *Escherichia coli* O157, correspondientes a una prevalencia presuntiva de 11,71 %. La confirmación mediante qPCR estableció 22 muestras positivas, equivalente a una prevalencia real de 5,72 %.
- La prevalencia confirmada mediante qPCR fue de 6,49 % en Urbina y 5,21 % en Tufiño. La diferencia entre ambas parroquias no fue estadísticamente significativa ($p = 0,7819$), por lo que, bajo las condiciones y población estudiadas, no se evidenció una asociación entre la ubicación de la unidad productiva y la presencia de *E. coli* O157.
- De las 17 variables evaluadas relacionadas con las prácticas de manejo, higiene y ordeño, ninguna presentó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de *E. coli* O157. La utilización de agua no potable (OR = 1,23) y la ausencia de un adecuado aseo de manos (OR = 1,29) presentaron valores de OR superiores a 1, confirmando estas dos variables como factores de riesgo asociados a *E. coli* O157.

5.2. RECOMENDACIONES

- Promover el control de la calidad microbiológica del agua utilizada durante el ordeño y la limpieza de instalaciones, equipos y utensilios, considerando que el agua constituye un elemento que puede entrar en contacto directo o indirecto con la leche.
- Fortalecer las Buenas Prácticas de Ordeño en las unidades productivas de Urbina y Tufiño, con especial énfasis en la higiene de las manos, limpieza de las ubres, condiciones del sitio de ordeño y limpieza de utensilios y equipos que entran en contacto con la leche.

- Implementar programas periódicos de vigilancia microbiológica y molecular de la leche cruda en los sistemas de producción estudiados, utilizando métodos de cultivo
- como herramienta de aislamiento presuntivo y técnicas moleculares para la confirmación de los resultados.
- Realizar estudios posteriores con un mayor número de unidades productivas y muestreos en diferentes períodos del año, con el propósito de evaluar posibles variaciones temporales y ambientales en la presencia de *E. coli* O157.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acharya Tankeshwar. (2025). *Escherichia coli: Properties and Identification* • Microbe Online. <https://microbeonline.com/e-coli-disease-properties-pathogenesis-and-laboratory-diagnosis/>
- AECOSAN. (2022, April 18). *Toxiinfección por Escherichia coli* .
- ArcGis Pro. (2026). *Tulcán, Ecuador - ArcGis Pro*. <https://www.esri.com/es-es/arcgis/products/arcgis-pro/overview>
- Benítez Bueno, G. B., & Estrada Puetate, D. A. (2025). *Adopción del Blockchain en la cadena de suministro del sector Lácteo de la provincia del Carchi*. Universidad Politécnica Estatal del Carchi-Biblioteca General "Luciano Coral." <https://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/2870>
- Blanco, V. M., Maya, J. J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, J. S., Motoa, G., Pallares, C. J., Rosso, F., Matta, L., Celis, Y., Garzon, M., & Villegas, M. V. (2016). Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(9), 559–565. <https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2015.11.017>
- Cai, S. S., Zhang, L. Q., Zhang, Q., Ye, B. C., & Zhou, Y. (2022). Acetylation of NarL K188 and K192 is involved in regulating *Escherichia coli* anaerobic nitrate respiration. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2022 106:21, 106(21), 7209–7221. <https://doi.org/10.1007/S00253-022-12185-6>
- Carriel García, N. S., & Vera Alvarado, S. N. (2022). *Análisis de la incidencia de Escherichia coli O157:H7 en carne molida de res en Latinoamérica desde el 2018 al 2021*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/65517>
- Chala, G., Israel, W., Gebeyehu, A., Mulugeta, W., Ngusie, G., & Belay, S. (2025). Identification, and Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from Animal-Derived Foods in Hawassa and Yirgalem, Sidama Region, Ethiopia. *Journal of Food Protection*, 88(10). <https://doi.org/10.1016/J.JFP.2025.100614>

- Elmoslemany, A. M., Keefe, G. P., Dohoo, I. R., Wichtel, J. J., Stryhn, H., & Dingwell, R. T. (2010). The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. *Preventive Veterinary Medicine*, 95(1–2), 32–40. <https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2010.03.007>
- Fabich, A. J., Jones, S. A., Chowdhury, F. Z., Cernosek, A., Anderson, A., Smalley, D., McHargue, J. W., Hightower, G. A., Smith, J. T., Autieri, S. M., Leatham, M. P., Lins, J. J., Allen, R. L., Laux, D. C., Cohen, P. S., & Conway, T. (2008). Comparison of carbon nutrition for pathogenic and commensal *Escherichia coli* strains in the mouse intestine. *Infection and Immunity*, 76(3), 1143–1152. <https://doi.org/10.1128/IAI.01386-07;CTYPE:STRING:JOURNAL>
- Ferens, W. A., & Hovde, C. J. (2011). *Escherichia coli* O157:H7: Animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(4), 465–487. <https://doi.org/10.1089/FPD.2010.0673>
- Hunt, B. R., & Kaloshin, V. Y. (2023). Prevalence. *Handbook of Dynamical Systems*, 3(C), 43–87. [https://doi.org/10.1016/S1874-575X\(10\)00310-3](https://doi.org/10.1016/S1874-575X(10)00310-3)
- Ipiates Oscar y Cuichán Maritza. (2024). *Boletín técnico*.
- Ka Praja, R., Naulita Turnip, O., Rosalina, R., Raya Kampus UPR Tunjung Nyaho Jalan Hendrik Timang, P., Raya, P., & Tengah, K. (2026). Development of siRNA-Based Therapeutic Strategy Targeting Virulence Factor *lpfA* of Zoonotic *Escherichia coli* O157:H7. *Biology*, 15(1), 159–165. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2026.151.159-165>
- Loor-Giler, A., Robayo-Chico, M., Puga-Torres, B., Hernandez-Alomia, F., Santander-Parra, S., Piantino Ferreira, A., Muslin, C., & Nuñez, L. (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>
- Mesele, F., Leta, S., Amenu, K., & Abunna, F. (2023). Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in lactating cows and dairy farm environment and the antimicrobial susceptibility pattern at Adami Tulu Jido Kombolcha District, Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/S12917-023-03565-9>
- Norton, E. C., Dowd, B. E., & Maciejewski, M. L. (2018). Odds Ratios—Current Best Practice and Use. *JAMA*, 320(1), 84–85. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2018.6971>
- Patiño Burbano, R. E. (2013). *Detección de Salmonella spp, Escherichia coli O157 : H7 y Listeria monocytogenes, en muestras de leche bovina del sistema de producción doble propósito colombiano*. <https://doi.org/10.11144/JAVERIANA.10554.3424>
- Perez, H. G., Seidel, D. S., & Callaway, T. R. (2026). Preharvest Animal Management Controls and Intervention Options for Reducing *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* Shedding in Cattle: A Critical Analysis. *Foodborne Pathogens and Disease*. <https://doi.org/10.1177/15353141251386418>

- Puligundla, P., & Lim, S. (2022). Biocontrol Approaches against *Escherichia coli* O157:H7 in Foods. *Foods* 2022, Vol. 11, Page 756, 11(5), 756. <https://doi.org/10.3390/FOODS11050756>
- Ratiner, Y. A., Salmenlinna, S., Eklund, M., Keskimäki, M., & Siitonen, A. (2003). Serology and genetics of the flagellar antigen of *Escherichia coli* O157:H7a,7c. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(3), 1033–1040. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1033-1040.2003;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION>
- Rodríguez. (2021). FICHA-ESCHERICHIA COLI (*E. coli*) | Apuntes de Medicina | Docsity. <https://www.docsity.com/es/docs/ficha-escherichia-coli-e-coli/10500498/>
- Salazar, D., Villafuerte, W., Cuichán, M., Orbe, D., & Márquez, J. (2016). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2016 Dirección responsable de la información estadística y contenidos: DIRECCIÓN DE ESTADÍSTICAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES Ing. María José Murgueitio Directora de Estadísticas Agropecuarias y Am....
- Samad, M. A., Karim, M. R., Mahmud, M. A., Sagor, M. S., Hossain, M. S., Uddin, A. S. M. A., Hasan, M., Hossen, A., & Akter, M. N. (2026). Molecular characterization of multi-drug resistance *Escherichia coli* O157:H7 from calf feces and cow milk in Bangladesh. *Scientific Reports* 2026 16:1, 16(1), 9940-. <https://doi.org/10.1038/s41598-026-36237-3>
- Sanz, L. (2021). Autora: Laura Sanz López Tutora: Irma Caro Canales Nutrición humana y dietética.
- Smith, D. R. (2014). Cattle production systems: Ecology of existing and emerging *Escherichia coli* types related to foodborne illness. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2(Volume 2, 2014), 445–468. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ANIMAL-022513-114122/CITE/REFWORKS>
- Stein, R. A., & Katz, D. E. (2017). *Escherichia coli*, cattle and the propagation of disease. *FEMS Microbiology Letters*, 364(6), fnx050. <https://doi.org/10.1093/FEMSLE/FNX050>
- tllover tonet. (2023). *Escherichia coli: Introduction, Morphology, Pathogenicity, Lab.* <https://medicallabnotes.com/escherichia-coli-introduction-morphology-pathogenicity-lab-diagnosis-treatment-prevention-and-keynotes/>
- Vanitha, H. D., Sethulekshmi, C., & Latha, C. (2018). An epidemiological investigation on occurrence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in raw milk. *Veterinary World*, 11(8), 1164–1170. <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2018.1164-1170>
- Vegano Alfredo. (2020). Morfología y aspecto microscópico de la colonia de *Escherichia coli*, características básicas y pruebas para la identificación de la bacteria *E. coli*. Imágenes de *Escherichia coli*. Tratamiento antibiótico de infecciones por *E. coli*. | Be Able. <https://agencebeable2.com/es/bacteria-escherichia-coli/>
- Wang, Zhao, Huanling, Chen, & Su. (2013). Un ensayo de PCR en tiempo real simple y rápido para la detección de especies de *Shigella* y *Escherichia coli* en leche

cruda. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer*, 1007.

Washington. (2015). *FSIS Directive 10,010.1 Revision 4 - Sampling Verification Activities for Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli (STEC) in Raw Beef Products*, Spanish Translation.

Xicohtencatl-Cortes, J., Monteiro-Neto, V., Saldaña, Z., Ledesma, M. A., Puente, J. L., & Girón, J. A. (2009). The type 4 pili of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 are multipurpose structures with pathogenic attributes. *Journal of Bacteriology*, 91(1), 411–421. <https://doi.org/10.1128/JB.01306-08>;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Yepes-Pérez, M., Carrero, K., Vásquez, N., Correa, E., Yepes-Pérez, M., Carrero, K., Vásquez, N., & Correa, E. (2022). Validación de PCR convencional para detectar *E. coli* O157. *Información Tecnológica*, 33(2), 3–12. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642022000200003>

VII. ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas.



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FOREIGN
AND NATIVE LANGUAGES CENTER

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAMES: Jordan Patricio Moreno Diaz DATE: Wednesday, September 23rd, 2026 Topic: "Identificación de la bacteria Escherichia spp en leche cruda y factores de riesgo en la ciudad de Tulcán"				
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 - 8,5: GOOD 5 - 6,5: AVERAGE 0 - 4,5: LIMITED TOTAL 9				



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

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

Autores: Cinthya Fernanda Nazate Tipaz

Fecha de recepción del abstract: viernes, 18 de septiembre del 2026

Fecha de entrega del informe: miércoles, 23 de septiembre del 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 evaluar el resumen presentado, se concluye que la traducción al inglés es adecuada y fiel al contenido. De acuerdo con la rúbrica aplicada para su valoración, se le asigna una calificación de 9, por lo que el trabajo queda aprobado.

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) Si
- 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) Si
- b) No

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



¿Se permite la interacción directa entre la vaca y el ternero durante el momento del ordeño?

- a) Si
- b) No

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 *Escherichia coli* O157:H7., por qPCR.

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev
A01	Cy5		Unkn-01		33,48	34,67	1,696
A03	Cy5		Unkn-01		35,87	34,67	1,696
A10	Cy5		Unkn-02		34,28	33,19	1,542
A12	Cy5		Unkn-02		32,10	33,19	1,542
B01	Cy5		Unkn-03		34,14	35,31	1,664
B03	Cy5		Unkn-03		36,49	35,31	1,664
B05	Cy5		Unkn-04			0,00	0,000
B08	Cy5		Unkn-04			0,00	0,000
B10	Cy5		Unkn-05		35,05	34,83	0,302
B12	Cy5		Unkn-05		34,62	34,83	0,302
C01	Cy5		Unkn-06			0,00	0,000
C03	Cy5		Unkn-06		34,49	34,49	0,000
C05	Cy5		Unkn-07			0,00	0,000
C08	Cy5		Unkn-07			0,00	0,000
C10	Cy5		Unkn-08		38,99	38,99	0,000
C12	Cy5		Unkn-08			0,00	0,000
D01	Cy5		Unkn-09		37,30	37,41	0,164
D03	Cy5		Unkn-09		37,53	37,41	0,164
D05	Cy5		Unkn-10			0,00	0,000
D08	Cy5		Unkn-10			0,00	0,000
D10	Cy5		Unkn-11		33,88	33,88	0,000
D12	Cy5		Unkn-11			0,00	0,000
E01	Cy5		Unkn-12			0,00	0,000
E03	Cy5		Unkn-12		34,21	34,21	0,000
E05	Cy5		Unkn-13			0,00	0,000
E08	Cy5		Unkn-13			0,00	0,000
E10	Cy5		Unkn-14		31,64	34,71	4,34
E12	Cy5		Unkn-14		37,78	34,71	4,34
F01	Cy5		Unkn-15		35,42	35,42	0,000
F03	Cy5		Unkn-15			0,00	0,000
F05	Cy5		Unkn-16		22,36	21,82	0,71
F08	Cy5		Unkn-16		21,29	21,82	0,71
F10	Cy5		Unkn-17			0,00	0,000
F12	Cy5		Unkn-17		44,48	44,48	0,000
G01	Cy5		Unkn-18		35,01	34,33	0,96
G03	Cy5		Unkn-18		33,65	34,33	0,96
G05	Cy5		Pos Ctrl		15,08	15,08	0,000
G08	Cy5		Pos Ctrl		14,71	14,71	0,000
G10	Cy5		Unkn-19			0,00	0,000
G12	Cy5		Unkn-19			0,00	0,000
H01	Cy5		Unkn-20		32,76	32,60	0,21
H03	Cy5		Unkn-20		32,45	32,60	0,21
H05	Cy5		Neg Ctrl			0,00	0,000
H08	Cy5		Neg Ctrl			0,00	0,000