



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
AGROINDUSTRIA**

MODALIDAD:

(Trabajo de Titulación)

TEMA:

**BIOCIDAS EFICIENTES PARA CONTROL DE *Salmonella* spp,
Escherichia coli y *Aerobios mesófilos* EN HUEVOS DE GALLINA
COMERCIALES DE AVÍCOLA EL JACALITO**

AUTORAS:

**ING. KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA
ING. MARÍA DEL PILAR QUIÑONEZ ALVARADO**

TUTOR:

ING. FRANCISCO MANUEL DEMERA LUCAS, Ms.C.

CALCETA, ENERO 2021

DERECHOS DE AUTORÍA

KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA y QUIÑONEZ ALVARADO MARÍA DEL PILAR, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumimos la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido en el artículo 46 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.



KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA



MARÍA DEL PILAR QUIÑONEZ ALVARADO

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

M.Sc. FRANCISCO MANUEL DEMERA LUCAS, certifica haber tutelado el trabajo de titulación Biocidas eficientes para control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y *Aerobios mesófilos* en huevos de gallina comerciales de Avícola el Jacalito, que ha sido desarrollado por **KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA Y MARÍA DEL PILAR QUIÑONEZ ALVARADO**, previo la obtención del título de Magister en Agroindustrias, de acuerdo al Reglamento de unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Demera Lucas F', is written over a horizontal line.

Ms.C. FRANCISCO MANUEL DEMERA LUCAS

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación Biocidas eficientes para control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y *Aerobios mesófilos* en huevos de gallina comerciales de Avícola el Jacalito, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA Y MARÍA DEL PILAR QUIÑONEZ ALVARADO**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustrias, de acuerdo al Reglamento de la unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



Mg. SOFÍA VELÁSQUEZ CEDEÑO
MIEMBRO



Ph.D. JULIO SALTOS SOLÓRZANO
MIEMBRO



Ph.D. ELY SACÓN VERA
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios en primer lugar, por su gran bondad, misericordia y amor; a mis padres Carlos Neptalí y Flor María, por haberme dado la vida y ser conductores hasta hoy y desde siempre, de los momentos más sentidos de mi formación personal y profesional.

A mi esposo Ing. Patricio Tafur Justicia, por su amor, comprensión, apoyo y respeto que me ofrece en todo momento.

Al Mg. Francisco Demera Lucas, tutor del presente trabajo de titulación; y, a la Ing. Pilar Quiñonez Alvarado, amiga y compañera, quien me ayudó, acompañó, apoyó y escuchó con mucho acierto, cariño y respeto. Su experiencia, talento y profesionalismo permitió el desarrollo y culminación de este trabajo investigativo.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, por fortalecer y afianzar los conocimientos mediante una educación superior de calidad a través de su programa de posgrado con la Maestría en Agroindustrias.



KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la salud y sabiduría para culminar con éxito esta meta que aportara de manera positiva a mi vida personal y profesional

A mi amiga y compañera Ing. Karla Cevallos que fue un apoyo incondicional en todo este proceso.

Al Dr. Héctor Garzón, gran profesional que nos apoyó en el proceso de análisis microbiológicos.

A la Escuela Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López – ESPAM-MFL, institución de educación superior de calidad y excelencia, por haberme brindado los conocimientos que enriquecerán mi mente y vida profesional.



MARÍA DEL PILAR QUIÑONEZ ALVARADO

DEDICATORIA

A mis amadísimos hijos, Tomas Patricio e Ithan Andrés, por ser la luz de mi vida, estímulo e inspiración para la realización de este Trabajo de Titulación. A Dios Todopoderoso, Padre Celestial ruego me los bendiga, cuide, guíe y acompañe toda su vida.

A ti Patricio, amor de mi vida, gracias por tanto y más.

A mis padres Flor y Carlos, quienes con su buen ejemplo y grandioso amor, me han inspirado siempre para cosechar frutos de mi formación profesional y personal.

Está dedicado a ustedes este trabajo venido del esfuerzo, perseverancia, resistencia, comprensión e infinito amor.



KARLA FERNANDA CEVALLOS GARCÍA

DEDICATORIA

A mi madre María Augusta y a mi hermana Aura Isabel que a pesar de las circunstancias estuvieron siempre apoyándome de manera incondicional.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'María del Pilar Quiñonez Alvarado', written in a cursive style.

MARÍA DEL PILAR QUIÑONEZ ALVARADO

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vii
CONTENIDO GENERAL.....	ix
CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS	xi
RESUMEN	xiii
PALABRAS CLAVE.....	xiii
ABSTRACT	xiv
KEY WORDS	xiv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema	1
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo General	4
1.3.2. Objetivos Específicos.....	4
1.3. Hipótesis	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Historia avícola en Ecuador	6
2.2.2 Proceso de producción del huevo.....	10
2.3. Proceso de acondicionamiento y desinfección de huevos de gallina.....	13
2.3.1. Proceso de lavado de huevo	13
2.3.2. Lavado, secado y desinfección del huevo	14
2.4. Contaminación microbiológica por Salmonella spp y E. coli	15
2.4.1. Características de crecimiento y sobrevivencia de Salmonella spp.....	16
2.4. Materiales e insumos	19
2.4.1. Disponibilidad de materia prima.....	19
2.4.2. Desinfectantes químicos.....	19
2.4.3. Materiales de laboratorio	19
2.4.4. Asistencia técnica	20
2.4.5. Bodega para almacenamiento de muestras	20

2.4.6. Cajones de acero galvanizado.....	20
2.4.7. Equipo nebulizador.....	20
2.5. Requisitos microbiológicos del huevo de gallina.....	20
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	22
3.1. Ubicación.....	22
3.2. Duración.....	22
3.3. Factores en estudio.....	22
3.3.1. Niveles del factor	22
3.3.2. Tratamientos.....	23
3.3. Delineamiento experimental.....	25
3.3.1. Diseño experimental	25
3.3.2. Unidad experimental.....	25
3.3.3. Esquema del anova	25
3.4. Manejo de la investigación.....	26
3.4.1. Descripción del experimento.....	26
3.4.2. Diagrama de bloques del experimento	29
3.4.3. Diagrama del manejo del experimento	30
3.5. Variables evaluadas.....	30
3.6. Métodos de análisis	31
3.6.1. Determinación microbiológica de Salmonella spp., Escherichia coli externa y Aerobios.....	31
3.6.2. Determinación microbiológica de Escherichia coli interna	32
3.7. Análisis estadístico.....	33
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1. Carga microbiana del huevo sin aplicación de tratamientos	34
4.2. Análisis microbiológicos	34
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
5.1. Conclusiones.....	42
5.2. Recomendaciones	42
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXOS	47

CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS

TABLAS

Tabla 2.1. Clasificación de huevos frescos de gallina por su masa (peso) unitaria, masa por docena y por 30 unidades en gramos	7
Tabla 2.2. Requisitos microbiológicos de los huevos frescos	21
Tabla 3.1. Detalle de tratamientos para el primer biocida	24
Tabla 3.2. Detalle de tratamientos para el segundo biocida	24
Tabla 3.3. Detalle de tratamientos para el tercer biocida	24
Tabla 3.4. Esquema del ANOVA factorial 3 ²	25
Tabla 3.5. Esquema de ANOVA para DBCA	26
Tabla 4.1. Carga microbiana inicial del huevo	34
Tabla 4.2. Prueba de normalidad	34
Tabla 4.3. ANOVA para la variable Aerobios mesófilos	35
Tabla 4.4. ANOVA para la variable Salmonella	37
Tabla 4.5. Prueba de Dunnet para la variable Salmonella	37
Tabla 4.6. Prueba de Dunnet para la variable Salmonella	39
Tabla 4.7. Prueba de Dunnet para la variable E_coli_externa	39

FIGURAS

Figura 2.1. Partes principales de la estructura del huevo	8
Figura 2.2. Estructura de la cáscara de huevo	9
Figura 2.3. Evolución total de la producción de huevos 2005-2013	11
Figura 2.4. Producción de Huevos Planteles Avícolas 2017	12
Figura 3.1. Diagrama de bloques del manejo del experimento	29
Figura 3.2. Diagrama de flujo del proceso productivo para huevos de gallina comerciales	30

ANEXOS

ANEXO 1. Fichas técnicas de biocidas	48
ANEXO 2. Supuesto del ANOVA de Normalidad y Homogeneidad	52
ANEXO 3. Análisis microbiológico inicial	53
ANEXO 4. Manual de uso del nebulizador Carlitos Premium	55
ANEXO 5. Preparación de los tratamientos	56
ANEXO 6. Selección de muestras y aplicación de biocidas	58

ANEXO 7. Toma de muestras a los 21 y 28 días.....	60
ANEXO 8. Análisis microbiológico final.....	61
ANEXO 9. Preparación de placas Petri film de <i>Aerobios mesófilos</i> , <i>Salmonella</i> spp y <i>E. coli externa</i>	63
ANEXO 10. Preparación de placas petrifilm de <i>E. coli</i> interna.....	64

RESUMEN

La determinación de la eficiencia de la concentración de agentes biocidas en el control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y *Aerobios mesófilos* en huevos de gallina comerciales para alargar el tiempo de vida útil fue el objetivo de la presente investigación. Se realizaron análisis microbiológicos de *Aerobios mesófilos*, *Salmonella* spp y *Escherichia coli* interna y externa, a los huevos de gallina antes de la aplicación de biocidas para determinar la carga microbiana inicial. Los factores de estudio aplicados fueron el tipo de biocida (CID 20, Vanodine y Amonio cuaternario) y su concentración, mientras que la variable bloqueo fueron los días 21 y 28, utilizando un arreglo factorial 3² en Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) manejados independientemente y se aplicaron nueve tratamientos más un testigo. Los biocidas fueron aplicados mediante nebulización a los huevos de gallina de acuerdo con los tratamientos, transcurrido el tiempo de almacenamiento (21 y 28 días) se realizaron análisis microbiológicos en donde se observó reducción significativa en la carga microbiana, siendo los tratamientos T2 (Cid 20: 4 ml/l) y T3 (Cid 20: 5 ml/l) efectivos en la inhibición de *Aerobios mesófilos*, logrando aumentar siete días la vida útil de los huevos de gallina.

PALABRAS CLAVE

Principios activos, nebulización, vida útil, inocuidad, microorganismo.

ABSTRACT

The determination of the efficiency of the concentration of biocidal agents in the control of *Salmonella* spp, *Escherichia coli* and mesophilic aerobes in commercial chicken eggs to extend the useful life time was the objective of the present investigation. Microbiological analyzes of mesophilic aerobes, *Salmonella* spp and *Escherichia coli* internal and external, were performed on chicken eggs before the application of biocides to determine the initial microbial load. The study factors applied were the type of biocide (CID 20, Vanodine and Quaternary Ammonium) and its concentration, while the block variable was on days 21 and 28, using a 32 factorial arrangement in Completely Random Block Design (CRBD) independently managed and nine treatments plus one witness were applied. The biocides were applied by nebulization to the chicken eggs according to the treatments, after the storage time (21 and 28 days), microbiological analyzes were performed where a significant reduction in the microbial load was observed, the treatments being T2 (Cid 20: 4 ml/l) and T3 (Cid 20: 5 ml/l) effective in the inhibition of mesophilic aerobes, managing to increase the useful life of chicken eggs by seven days.

KEY WORDS

Active principles, nebulization, useful life, safety, microorganism

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. Planteamiento y formulación del problema

El huevo es el producto de la ovulación de las gallinas y otras aves de estructura biológica natural con cáscara que proporciona protección al desarrollo de embriones, se caracteriza por tener un alto valor nutritivo y un amplio uso a nivel industrial debido a sus propiedades funcionales (Almeida, et al., 2012).

Es necesario indicar que los huevos de gallina recién obtenidos son estériles por un periodo de tiempo relativamente corto después de salir del ave, se puede en éstos encontrar numerosos y diferentes tipos de microorganismos en su superficie, que bajo determinadas condiciones (temperatura de almacenamiento, frescura del huevo, nivel de contaminación ambiental, manipulación, entre otros) pueden ingresar, multiplicarse y causar su deterioro. Además, una humedad elevada favorece en gran medida el desarrollo de microorganismos en la superficie y la consecuente penetración por las membranas internas (Jay, Loessner, & Golden, 2015).

Dentro del grupo de los microorganismos que pueden contaminar los huevos de gallina en diferentes etapas, desde la producción hasta el consumo, se encuentran dos tipos de contaminaciones representativas como son la transovárica que sucede cuando los huevos son infectados durante su formación en los ovarios de las aves mientras que la transmisión horizontal se produce cuando son expuestos a un ambiente contaminado donde los microorganismos penetran la cáscara del huevo (Reu, et al., 2006).

Entre los tipos de microorganismos contaminantes del huevo de gallina se encuentran bacterias del género: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* y *Staphylococcus* (Jay, et al., 2015), generando patologías como la salmonelosis producida por especies de *Salmonella* spp, la forma de manifestarse en los seres humanos es como una gastroenteritis o enterocolitis aguda, los síntomas aparecen de 6 a 48 horas después de la ingesta

del alimento (huevo) y pueden ser: cefaleas, dolor abdominal, diarreas, náuseas, vomito, fiebre y deshidratación y en ocasiones muerte por falta de tratamiento (Rincon, Ramírez, & Vargas, 2011).

Estudios revelan que la superficie del huevo de gallina es contaminada por *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, a partir de materia fecal o por una mala manipulación o por daños del mismo que puede ser una de las vías de entrada de esos microorganismos que deben ser controlados de forma eficaz (Rodríguez, 2016).

Para evitar lo anterior, algunos estudios indican que se han aplicado medidas de control sanitario, entre las cuales el uso de biocidas mejora la higiene de procesamiento y ayudan a mantener o mejorar la vida de anaquel y la inocuidad alimentaria de los huevos de gallina (López, Reyes, Franco, Matías, & Juarez, 2014), ofreciendo al consumidor un alimento seguro.

Una de las alternativas para la disminución o eliminación de agentes microbianos en el huevo es mediante la utilización de biocidas de origen biológico comercial, entre los que se estudiará la eficiencia de combinación de alquildimetilbenzilamoniocloruro, Glutaraldehído, formaldehído, glyoxal, e isopropanol con nombre comercial (Cid 20); combinación de yodo, ácido hidroyónico y alcohol etoxilato con nombre comercial Vanodine y Cloruro de alquildimetil-bencil-amonio con nombre comercial Amonio cuaternario 20% Maymó, identificando entre ellos aquel que permita destruir, contrarrestar, neutralizar y/o impedir la acción microbiana o, ejercer el control de cualquier organismo nocivo para el fin deseado, por medios físicos como parte del proceso de desinfección o esterilización.

Debido a esto, surge la siguiente interrogante: ¿La aplicación de agentes biocidas y su adecuada concentración, permitirá el control de *Salmonella spp*, *Escherichia coli* y Aerobios mesófilos en huevos de gallina comerciales en avícola El Jacalito de Santo Domingo?

1.2. Justificación

En la búsqueda de alternativas para eliminar los microorganismos en huevos se han utilizado sustancias como los biocidas, es por ello que esta investigación identificó la acción bactericida de tres biocidas los que comercialmente se conocen como CID 20, combinación de Alquildimetilbenzilamoniocloruro, Glutaraldehído, Formaldehido, Glyoxal e Isopropanol; Vanodine, combinación de Yodo, Ácido hidroyónico y Alcohol Etoxilato y Amonio cuaternario-20% Maymó que contiene cloruro de alquil-dimetil-bencil-amonio.

López, Grande, Lucas, & Gálvez (2010) manifiesta que estos productos tienen la capacidad de destruir, neutralizar, impedir la acción o ejercer control sobre *Salmonella* spp y *Escherichia coli* mediante la oxidación de las proteínas que modifican la permeabilidad de la membrana de estos microorganismos y generan entrecruzamiento que la hacen rígida y alteran la presión intracelular produciendo la muerte del microorganismo.

En concordancia con el Plan Toda una Vida emitido por el Concejo Nacional de Planificación CNP (2017), fundamentado en el Eje 2 que expresa que la economía debe estar al servicio de la sociedad y el Objetivo 5: “Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistribuida y solidaria” resaltan la importancia del aprovechamiento correcto de los recursos naturales del país sin afectar el equilibrio con el medio ambiente para la producción de alimentos innovadores y de calidad, en correlación participativa entre proveedores, productores y comunidad.

En este sentido a través del Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN (2013), se establece la NTE INEN 1973:2013 para huevos comerciales y ovoproductos, en donde consta los requisitos microbiológicos de los huevos frescos en recuento de *Escherichia coli* interna, *Escherichia coli* externa y *Salmonella* spp, que representan parámetros de inocuidad del producto final.

En la actualidad los consumidores no sólo piden, si no que exigen una seguridad alimentaria en los productos que consumen y sobre todo desde ciertas alarmas y

crisis alimentarias que se han ido desarrollando en los últimos años. Esta exigencia junto con el mayor compromiso del campo avícola y la importancia de posicionarse dentro del mercado con un producto más seguro, genera en la industria alimentaria y empresas del sector la necesidad de adoptar medidas extras de control y seguridad.

Es importante destacar que las medidas preventivas en la crianza de las aves y en el procesamiento y manejo comercial de ovoproductos y sus derivados, en conjunto con una educación sanitaria, permite la reducción considerable del grado de contaminación principalmente por *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.

Según Ribas (2006), para el control del riesgo ambiental debe estimarse el posible impacto sobre la estructura y función de los ecosistemas para cada agente toxico individual, también la evidencia del riesgo de contaminación ambiental por productos químicos. Los resultados pueden expresarse en forma cualitativa y cuantitativa con la valoración del nivel de incertidumbre de la determinación o estimación.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la concentración de agentes biocidas para el control de *Salmonella spp*, *Escherichia coli* y *Aerobios mesófilos* en huevos de gallina comerciales de Avícola El Jacalito.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Identificar la carga microbiana inicial en huevos de gallina sin aplicación de desinfectantes para su contraste con la normativa nacional vigente.
- Determinar la adecuada concentración del biocida que permita el control de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.
- Establecer el mejor biocida que permita el incremento de vida útil (*Aerobios mesófilos*) del huevo de gallina comercial.

1.3. Hipótesis

La concentración adecuada de agentes biocidas permite el control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y *Aerobios mesófilos* en huevos de gallina comerciales en avícola El Jacalito.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Historia avícola en Ecuador

Según la Superintendencia de Control del Poder de Mercado (SCPM, 2014), la avicultura con un carácter empresarial se inició en el Ecuador en el año 1957 con el establecimiento de la planta de incubación artificial llamada Avícola Helvética. En 1958, empezó la producción de huevos comerciales y la venta de pollitas importadas en la finca “La Estancia” ubicada en Puenbo, localidad cercana a la ciudad de Quito, a partir de 1970 esta actividad cobra mayor importancia debido a la aparición de nuevas y mayores empresas ubicadas principalmente en las provincias de Pichincha, Guayas y Manabí.

De acuerdo al informe ejecutivo de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (INEC, 2017), la producción de huevos de aves criadas en campo, la región Sierra es la que más aporta con 46,79%, seguido de la Costa con el 42,53% y el Oriente con el 10,65%; mientras que en planteles avícolas la región Sierra tiene una producción de 87,67% y la Costa 12,33%, destacando de esta manera que la mayor concentración de producción de huevos en planteles avícolas se encuentran en la región Sierra.

2.2. El huevo

El huevo de gallina (*Gallus gallus*) es desde la antigüedad un alimento muy importante para el hombre y su consumo es casi generalizado en todo el mundo en la actualidad, lo que ha dado lugar a una actividad de carácter económico, y sus operadores conforman un sector específico en el conjunto de la producción ganadera y la industria alimentaria (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

La Norma NTE INEN 1973:2013, define al huevo como el óvulo completamente evolucionado de las especies aviares. La misma norma establece y clasifica al huevo de gallina, en función de su masa (peso) unitaria, masa por docena y por treinta unidades en gramos, clasificándola de acuerdo a la Tabla 2.1. Los huevos

de otras especies que no se consideran en la clasificación de la norma técnica, se deben comercializar de acuerdo a su proveniencia, sin considerar pesos y tamaños.

Tabla 2.1.

Clasificación de huevos frescos de gallina por su masa (peso) unitaria, masa por docena y por 30 unidades en gramos

Tipo (tamaño)	Masa unitaria en g		Masa por docena		Masa por 30 huevos en g	
	Mínimo (\geq)	Máximo ($<$)	Mínimo (\geq)	Máximo ($<$)	Mínimo (\geq)	Máximo ($<$)
I SUPERGIGANTE	76	---	912	---	2280	---
II GIGANTE	70	76	840	912	2100	2280
III EXTRAGRANDE	64	79	768	840	1920	2100
IV GRANDE	58	64	696	768	1740	1920
V MEDIANO	50	58	600	696	1500	1740
VI PEQUEÑO	46	50	552	600	1380	1500
VII INICIAL	---	46	---	552	---	1380

Fuente: Norma NTE INEN 1973:2013

El huevo es el alimento que proporciona en forma mejor balanceada los nutrientes que el hombre necesita, la proteína que contiene es de alta calidad, dado que posee todos los aminoácidos esenciales para la vida y salud del organismo. Además, contiene grasa óptima principalmente la yema, la que es fuente concentrada de energía para el proceso metabólico del organismo. El huevo es también un excelente proveedor de hierro, fósforo, minerales y vitaminas. Dado a su agradable sabor y a las innumerables formas de prepararlo en las comidas, es un alimento universal, porque es consumida en todas las regiones del mundo (López, Reyes, Franco, Matías, & Juárez, 2014).

2.2.1. Estructura

En su trabajo de tesis, Neira (2016) hace referencia importante acerca de la estructura del huevo, en donde menciona que su contenido básico es una yema central rodeada por el albumen o clara y todo envuelto por una cáscara externa que lo protege. Las proporciones medias de estos componentes son yema 31%, albumen 58% y cáscara 11%. En la Figura 2.1, se indica las partes principales de la estructura del huevo, las que cumplen la función de protección contra microorganismos patógenos que modifican la calidad.

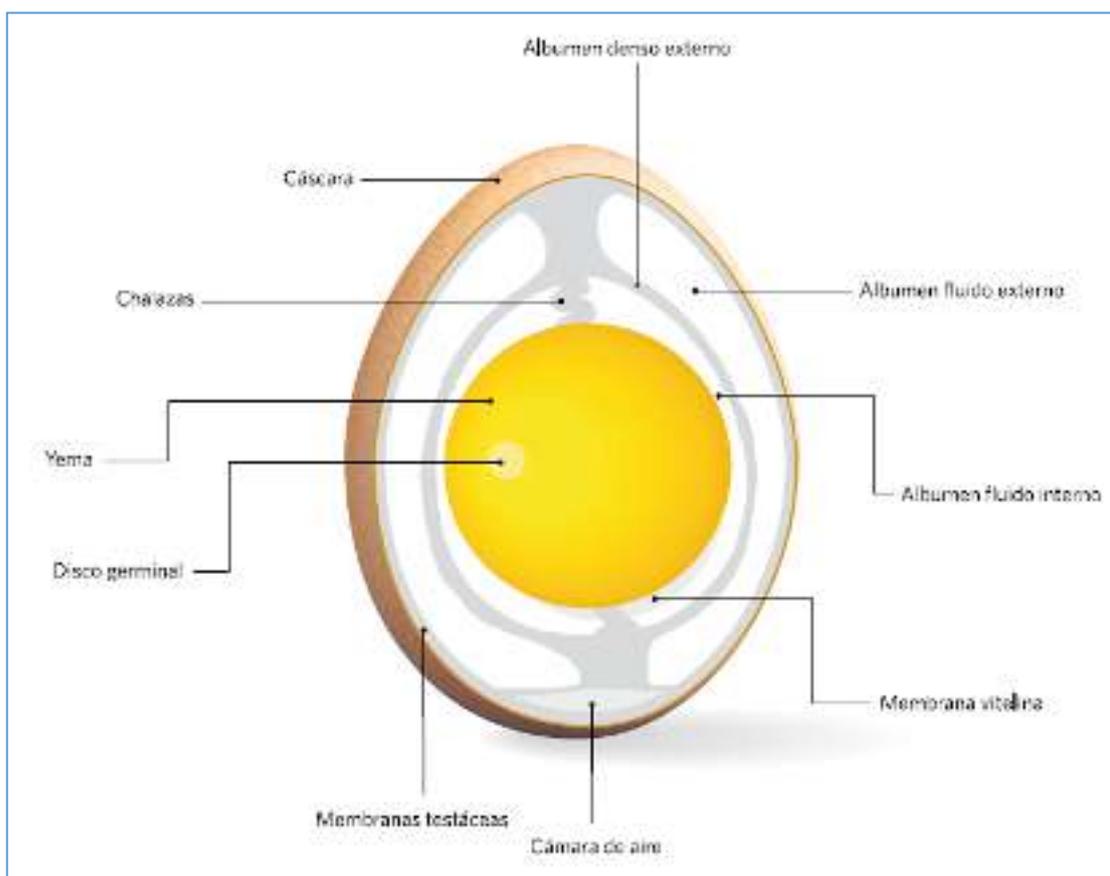


Figura 2.1. Partes principales de la estructura del huevo. Adaptado del Instituto de Estudios del Huevo, 2009. El gran libro del huevo

Según el Instituto de Estudios del Huevo (2009), describe las características y función de cada parte estructural de la siguiente manera:

- La cáscara se sitúa sobre las membranas testáceas (interna y externa) y está cubierta por la cutícula orgánica como muestra la Figura 2.2. Constituye una estructura compleja formada por: capa mamilar, con núcleos anclados a la membrana testácea realizándose la calcificación; capa en empalizada constituida por columnas de carbonato cálcico; cutícula cubre los poros otorgándole un aspecto brillante, presentando entre 7000 y 15000 poros que permiten el intercambio gaseoso con el exterior.

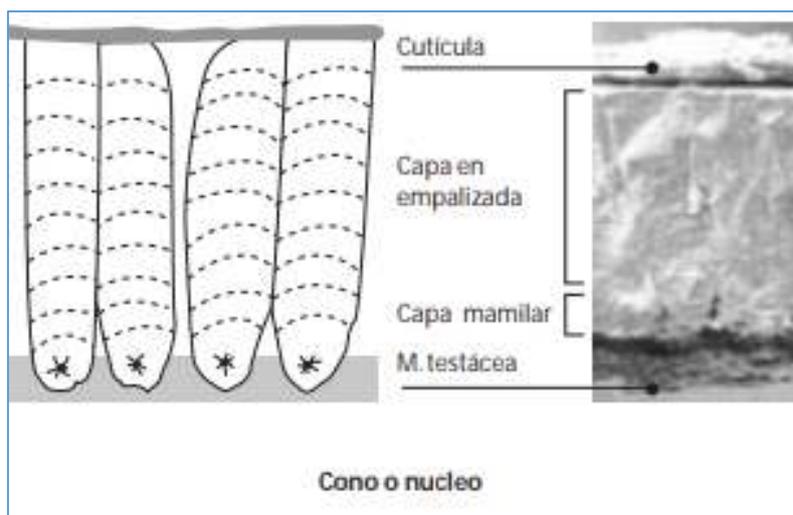


Figura 2.2. Estructura de la cáscara de huevo. Adaptado del Instituto de Estudios del Huevo, 2009. El gran libro del huevo

- El albumen inicialmente presenta cuatro zonas diferenciadas en un huevo fresco: densa interna, en forma de filamentos responsables de asegurar la suspensión de la yema en el centro del huevo; interna fluida; densa externa, masa gelatinosa que rodea la anterior y se extiende a ambos extremos del huevo; fluida externa, que está en contacto con las membranas testáceas y se visualiza al abrir el huevo.
- Las membranas ejercen un papel protector contra la contaminación microbiana, siendo la membrana externa la que tiene la función de soporte de la verdadera estructura cristalina que se constituye como cáscara.
- La cutícula del huevo es una estructura vesicular amorfa de naturaleza proteica (queratina) que actúa a modo de tapón sellante de los poros de la cáscara y que a los pocos minutos de puesto el huevo comienza a perderse. A esto se suma el que la cutícula a través de su poder impermeabilizante impide el acceso de los microorganismos.
- Las membranas testáceas, compuestas por fibras que actúan a modo de filtro, compuestas de un núcleo proteico y revestido de una cubierta de glucoproteínas. La membrana interna es la que mayor resistencia ofrece al paso de los microorganismos, posiblemente debido a que se halla recubierta por una fina membrana limitante. Poseen capacidad hidrofóbica, es decir, reduce la disponibilidad de agua para los microorganismos y se crea un ambiente poco favorable para su multiplicación.

- El albumen o clara (saco albuminoideo), actúa mediante dos barreras frente al ataque microbiano: la barrera física mediante dos mecanismos la viscosidad de sus proteínas que dificulta el movimiento de las bacterias, manteniendo la distancia entre cáscara y yema, siendo el resultado de la interacción de dos proteínas del albumen: la lisozima C y la ovomucina y, la barrera química, en donde la clara que cuenta con proteínas que impiden la multiplicación de microorganismos invasores por mecanismos de acción tóxica que recae sobre la proteasa, lisozima y acción bloqueante de cationes, proteínas y vitaminas.

2.2.2 Proceso de producción del huevo

Neira (2016) menciona que la industria avícola mundial ha cambiado más durante los últimos 50 años que ningún otro sector de la ganadería. El consumo total principalmente de huevos ha aumentado considerablemente durante estas décadas y continúa aumentando a medida que crece la población humana. El éxito de la industria avícola global puede atribuirse a diversos factores:

- Innovaciones técnicas y sustitución del trabajo manual.
- Ambiente controlado: temperatura optimizada y programas de iluminación para facilitar la producción a lo largo de todo el año.
- Reducción de la mortalidad e incremento del rendimiento, debido fundamentalmente a la mejora de las condiciones higiénicas de producción.
- Mejor nutrición: formulación de piensos equilibrados adaptados a las necesidades específicas de cada sistema productivo.
- Mejora del potencial genético, tanto en aves productoras de carne como en ponedoras.

La producción de huevos es una actividad económica que se desarrolla en todos los países del mundo, como potencias productoras China y otros grandes países de Asia, donde se producen más de la mitad de los huevos para el consumo mundial. Su importancia radica en la medida del crecimiento de la población y su desarrollo económico va acompañado de un mayor consumo de alimentos de origen animal. América del Norte y del Sur son también grandes productoras, así

como la Unión Europea, donde sitúa una posición relevante (Instituto de Estudios del Huevo, 2009).

Castaño (2012), menciona en su informe que el huevo ha tenido un posicionamiento a nivel mundial como un alimento habitual y básico para los humanos, en especial el huevo de las gallinas, ya que esta especie, fue domesticada hace millones de años, todo con el fin de poder tener un consumo regular de la misma. La industria avícola: criadores, reproductores, productores de huevos, han ido enfocándose de manera continuada al mercado, compitiendo para conseguir la aceptación de unos consumidores cada vez más críticos y exigentes.

La producción de huevos destinados a la venta, autoconsumo y otros usos a nivel nacional en el período 2005 al 2013; de acuerdo al último Estudio de Mercado Avícola enfocado a la Comercialización del Pollo en Pie emitido por la Superintendencia de Control del Poder de Mercado (2015) indica que en el 2010 se registró mayor producción de huevos, esto es 54'562.406 unidades, aportando una tasa de crecimiento del 19,1% con relación al 2009; en el 2011 la producción cae drásticamente en -11,8%, es decir 48'150.090 unidades con un leve ascenso en el 2012; sin embargo recae en el 2013 para ubicarse en -10,5% con 42'468.055 unidades producidas (Figura 2.3).

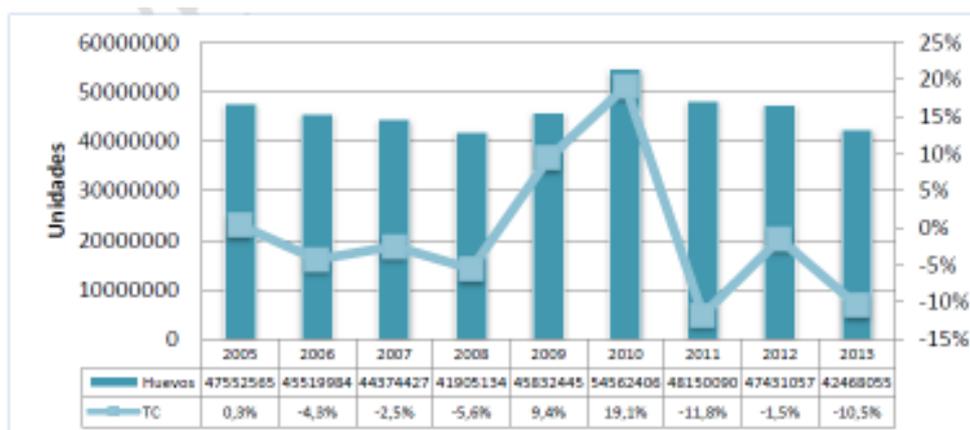


Figura 2.3. Evolución total de la producción de huevos 2005-2013. Adaptado del Instituto Nacional de Estadística y Censo, 2013. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria (ESPAC)

Las estadísticas nacionales presentadas en la figura 2.4, hacen referencia a la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC del Instituto

Nacional de Estadísticas y Censos INEC (2017), en cuanto a la producción en planteles avícolas la región Sierra tiene una producción de 87,67%, la Costa un 12,33 % y el Oriente con una escasa participación, destacando de esta manera que la mayor concentración de producción de huevos en planteles avícolas se encuentra en la región Sierra.

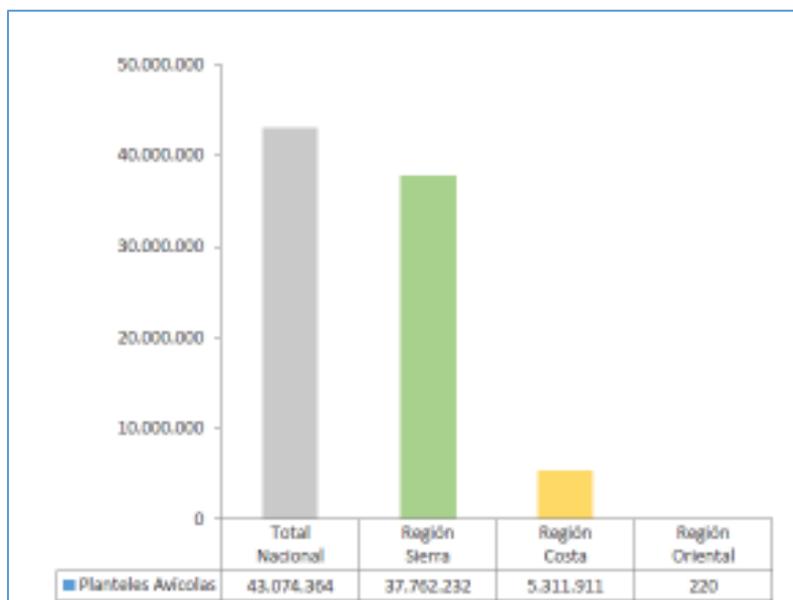


Figura 2.4. Producción de Huevos Planteles Avícolas. Adaptado del Instituto Nacional de Estadística y Censo INEC, 2017.

Por ello, la misión de productores, empresarios y representantes de la industria avícola se dirige a ser exigentes consigo mismo, no solo para satisfacer las necesidades de alimentos del país, sino para producir pollo, carne y huevos con altos estándares de calidad, a costos asequibles para toda la comunidad.

Consideran que esto facilitará la competencia de sus productos en el mercado internacional y a la vez se convierta en una actividad sostenible en el tiempo. Con la actual producción de maíz ni los industriales, ni toda la cadena podrá lograr el objetivo.

2.3. Proceso de acondicionamiento y desinfección de huevos de gallina

Actualmente para los consumidores de productos alimentarios los puntos de atención e interés son las características de apariencia, peso, costo, durabilidad y empaque del producto, influenciados por sus necesidades, las cuales son cambiantes, así como por los objetivos particulares de cada uno de los consumidores. Para dar respuesta satisfactoria a estas demandas, las empresas toman decisiones estratégicas para su organización como es la implementación de sistemas de calidad (López, et al., 2014).

2.3.1. Proceso de lavado de huevo

El tratamiento de un huevo sucio puede hacerse de dos formas, por raspado y por lavado, el raspado tiene el inconveniente de que, si bien elimina la suciedad, también daña la cutícula exterior del huevo, debido a esto, es más conveniente el método de lavado, siempre y cuando se respeten las siguientes condiciones:

- La solución a utilizar debe ser detergente e higienizante, a base de compuestos de cloro, yodo o amonio cuaternario, en la proporción de 250 ppm.
- En el caso del cloro 5 mL o comercialmente al 5% de cloro activo, por cada litro de agua y de 200 ppm. En el caso de los otros desinfectantes, la temperatura de la solución siempre deberá estar entre los 38 y los 40°C, siempre superior a la temperatura del huevo, el tiempo de lavado no deberá exceder de los tres minutos, la solución debe renovarse con gran frecuencia tras 3 o 4 veces de lavado.
- La dureza del agua debe ser adecuada, desde el punto de vista bacteriológico y químico; sobre todo, se ha de prestar atención a la concentración de hierro, ya que ésta nunca debe exceder de 5 ppm (Ramos, 2009).

Lógicamente, el tener que proceder a un lavado no sólo encarece el producto, sino que, además, aumenta el riesgo de dañar la calidad del huevo.

2.3.2. Lavado, secado y desinfección del huevo

Este debe realizarse en condiciones cuidadosamente controladas de manera que se reduzcan al mínimo los daños a la cáscara y se impida la contaminación del contenido del huevo. No deben ser sumergidos antes o durante el lavado, el agua utilizada para el lavado debería ser idónea y no debería perjudicar a la inocuidad e idoneidad del huevo, teniendo cuidado de que la temperatura, el pH y la calidad del agua, así como la temperatura del huevo sean adecuados (López, et.al., 2014).

Si se utilizan productos de limpieza tales como detergentes e higienizadores, deben ser idóneos, para el proceso de lavado de huevos, se deberían secar para reducir al mínimo la humedad en la superficie de la cascara ya que puede dar lugar a la formación del moho, después del lavado debería existir un saneamiento eficaz de la cascara y cuando corresponda un aceitado ulterior de la misma, usando un aceite comestible. El proceso de limpieza empleado no debería dañar o contaminar los huevos, la limpieza incorrecta de los huevos puede dar lugar a un nivel mayor de contaminación del que existía antes de la limpieza (OMS, 2009).

A veces se utilizan temperaturas más bajas por un tiempo mayor y se añaden combinaciones de detergentes y germicidas, para mejorar las características de conservación. Después del lavado los huevos se secan con aire calentando o con aire natural, después de la limpieza y el secado se les puede proporcionar una capa de aceite o de plástico para cerrar los poros de la cascara, de tal modo que el aire, el vapor de agua y las bacterias no puedan penetrar y contaminar el interior (Call W. Hall, 2007).

El proceso de lavado consiste en diversas etapas, prelavado, lavado con la ayuda de un surfactante/detergente, desinfección y secado por aire, lo cual puede tomar menos de 30 segundos. Por lo tanto, la efectividad de la capacidad del surfactante para penetrar y eliminar eficazmente la suciedad y la materia fecal es fundamental para la recuperación de los huevos de plato. Un detergente eficaz también puede ayudar a eliminar las bacterias, mientras que un desinfectante adecuado junto con un ambiente de procesamiento limpio posterior al lavado, ayudará a mantener el estado higiénico de los huevos (May, 2011).

El proceso de esterilización en la industria alimentaria es fundamental para garantizar la inocuidad de los alimentos, evitar que puedan causar toxiinfecciones alimentarias y conseguir una mayor vida comercial del producto. Es importante conocer las materias activas biocidas disponibles, formulaciones, características e idoneidad de aplicación en casos concretos. El objetivo principal es atacar a los elementos vitales del microorganismo, lograr su destrucción y, por tanto, causar la lisis de la célula. En la industria alimentaria, debe conseguir la eliminación de los microorganismos patógenos, y la reducción hasta niveles considerados aceptables de los microorganismos alterantes (Betelgeux, 2007).

Una de las alternativas es la utilización de biocidas de origen biológico comercial como combinación de alquildimetilbenzilamoniocloruro, Glutaraldehído, formaldehído, glyoxal, e isopropanol ; combinación de yodo, ácido hidroyónico y alcohol etoxilato y Cloruro de alquil-dimetil-bencil-amonio conocidos comercialmente como Cid 20, Vanodine y Amonio cuaternario 20% Maymó., mismos que impiden la acción microbiana y permiten el control de cualquier organismo nocivo para el fin deseado, por medios físicos como parte del proceso de desinfección o esterilización.

2.4. Contaminación microbiológica por *Salmonella* spp y *E. coli*

El Código de Prácticas de Higiene para huevos y subproductos emitido por el Codex Alimentarius, Organización Mundial de la Salud (OMS, 2009) y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2009), manifiesta que los peligros microbiológicos pueden introducirse tanto del ambiente de la producción primaria como de las mismas aves reproductoras y ponedoras. La *Salmonella enteritidis* (SE) y *E. coli*, pueden transmitirse tanto verticalmente de las aves reproductoras a las aves ponedoras comerciales como horizontalmente de otras gallinas ponedoras, del pienso y/o del medio ambiente y de ellos a los huevos.

Factores como aumento de la población, hábitos alimenticios y la globalización influyen en el aumento de la producción de esta proteína animal. La *Salmonella* spp. es el microorganismo causante de toxiinfecciones alimentarias principalmente por el consumo de carne de pollo, huevos y subproductos. Datos estadísticos

revelan que entre el 50-90% de la cáscara del huevo están contaminadas por *Salmonella* (Loaiza, Sánchez, Henao, & Cardona-Castro, 2011).

Investigaciones realizadas reportan que las bacterias del género *Salmonella* son las causantes de alrededor de 93 800 000 de enfermedades gastrointestinales, siendo la *Salmonella* spp la que ocasiona en todo el mundo alrededor de 155 000 muertes; en América Latina, Asia y África se han reportado entre 200 a 500 casos de salmonelosis por cada 100 000 habitantes al año, en donde la principal fuente de contaminación es el consumo de alimentos de origen animal (Quesada, Reginatto, Ruíz, Colantonio, & Burrone, 2016).

Otras investigaciones indican que los huevos pueden contaminarse por microorganismos pertenecientes al género *Escherichia*, debido que al momento de la ovoposición se contaminan por el paso a través de la cloaca de la gallina y que bajo ciertas condiciones ambientales externas la carga microbiana aumenta en la superficie del huevo (Rincón, Ramírez, & Vargas, 2011).

E. coli es una de las bacterias más representativas de la microbiota del intestino humano y animal. Este microorganismo se identifica como un indicador de la calidad y la seguridad alimentaria además de ser, algunos de sus tipos, importantes patógenos causantes de diarreas en humanos (*E. coli* enteropatógena, *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterohemorrágica y *E. coli* enteragregativa (Puig, Espino, & Leyva, 2011).

2.4.1. Características de crecimiento y sobrevivencia de *Salmonella* spp

- **Crecimiento**

- Temperatura. - el género *Salmonella* puede crecer entre 7-49°C, su crecimiento se ve reducido a < 15°C (Lake, Hudson, & Cressey, 2002). Las temperaturas más bajas a las que se ha señalado su existencia de crecimiento son de 5,3 a 6,2 °C. No toleran elevadas concentraciones de sal. *Salmonella* puede ser destruida a las temperaturas de pasteurización de la leche (Linder, 1995).

- pH: *Salmonella* crece a un pH que varía de 4 a 9, la tolerancia al ácido de esta bacteria depende del tipo y tamaño del ácido al cual se expone el microorganismo, y por factores como la temperatura y sustancias como los nitritos (Lake, et al, 2002). Para que su crecimiento sea óptimo, *Salmonella* necesita de un pH entre 6,6 y 8,2 (Parra, Durango, & Máttar, 2002).
- Condiciones atmosféricas. - *Salmonella* se clasifica como anaerobio facultativo (Ellermeier y Schlauch, 2006). El crecimiento bajo atmósferas de nitrógeno es ligeramente menor a las condiciones aeróbicas. Puede crecer de 8-11 °C con concentraciones de 20-50% de CO₂, su crecimiento se ve retardado cuando hay un 80% de CO₂ en el aire (Lake, Hudson y Cressey, 2002).
- Actividad de agua (aw). - *Salmonella* puede multiplicarse en aw que van desde 0.94-0.995 y puede persistir en alimentos con aw inferiores a 0.94 como chocolate, nueces y mantequillas (Lake, Hudson, & Cressey, 2002).

- **Sobrevivencia**

Salmonella crece en alimentos con alto contenido de proteína como el pollo y el huevo, así como en superficies de la industria de alimentos. La habilidad de este microorganismo para sobrevivir en la cadena agroalimentaria se debe en parte a su capacidad para responder efectivamente a los cambios medioambientales (Humphrey, 2004).

- Temperatura: *Salmonella* puede sobrevivir por largos periodos a temperatura de refrigeración, especialmente en alimentos que tengan grasa (Citado Oscar, 2009).
- pH: En la tabla 6 se presentan los rangos de pH donde puede crecer *Salmonella* en función del tipo de ácido empleado. Es importante señalar en función de la serovariedad *S. Typhimurium* es la más resistente hasta ahora reportada (Puig, Espino, & Leyva, 2011).

- **Inactivación**

- Temperatura. -La muerte de la *Salmonella* puede presentarse en los procesos de congelación, pero puede permanecer viable durante este proceso, por lo que debe tenerse en cuenta que la congelación no garantiza su muerte.
- Cloruro de sodio. - Concentraciones superiores a 9% de cloruro de sodio resultan bactericidas para *Salmonella*.
- Actividad de agua. - El número de *Salmonella* disminuye a medida que disminuye el aw de los alimentos. Valores bajos de aw parecen tener un efecto protector sobre *Salmonella* (Lake, Hudson, & Cressey, 2002)
- Conservantes. - *Salmonella* inhibe su crecimiento en presencia de 0,1% de ácido acético a pH 5,1. Concentraciones de ácido láctico del 5% sobre la piel de pollo, resultan eficaces para inhibir a *S. enteritidis* después de 4 horas de tratamiento.
- Radiación. - La resistencia de *S. Typhimurium* a la radiación gama se redujo cuando se aumentó la dosis de radiación y reduciendo las condiciones de almacenamiento en refrigeración (Spoto, Gallo, Alcarde, Amaral, Blumer, Melges y Domarco, 2000).

- **Fuentes de transmisión**

Parra, Durango y Máttar (2002), hace referencia a las fuentes de transmisión por *Salmonella*, indicando las siguientes.

- Humanos. - La excreción de *Salmonella Typhimurium* en pacientes después de haber sufrido salmonelosis puede durar hasta 110 días. Por otra parte, se produce contaminación fecal-oral de persona a persona y han ocurrido brotes de salmonelosis en centros de salud por la falta de atención al lavado de las manos. En contraste con el alto riesgo de *Salmonella* no tifoidea por los trabajadores de asistencia de salud y las personas que manipulan alimentos, la transmisión de neonatos y lactantes a través de madres y otros miembros de la familia (Parra, Durango y Máttar, 2002).
- Animal. - La enfermedad se presenta en todos los animales y ocurre a nivel mundial. Los animales son a la vez importantes como reservorios de la

infección humana, la cual es adquirida por vía oral al ingerir bebidas y comidas contaminadas, especialmente aves y huevos. Muchas infecciones en animales pasan asintomáticas y pueden infectarse al recibir concentrados contaminados con *Salmonella*.

- Alimentos: La carne de pollo y otros tipos de carne (res, pavo) provenientes de animales infectados son un importante vehículo de salmonelosis. Cualquier alimento susceptible de contaminación de origen fecal puede transmitir la infección, la dosis infectiva suele ser muy elevada y depende de la virulencia de la cepa.
- Medio ambiente: La *Salmonella* proveniente de las heces de animales puede permanecer en pastos y aguas, contaminando de esta manera otros animales, los insectos puede ser un vehículo de contaminación al posarse sobre las heces contaminadas y llevarlas a múltiples lugares. Este ciclo favorece la diseminación de *Salmonella*, llegando de esta manera al hombre.

2.4. Materiales e insumos

2.4.1. Disponibilidad de materia prima

La materia prima principal para la aplicación del proceso de esterilización la constituye los huevos de gallina comerciales obtenidos de la planta Avícola El Jacalito.

2.4.2. Desinfectantes químicos

Se utilizarán biocidas obtenidos en el mercado, específicamente los almacenes químicos autorizados y que garanticen la legalidad del producto. Estos son: Cid 20, Vanodine y Amonio Cuaternario 20% - Maymó.

2.4.3. Materiales de laboratorio

Para la determinación de la carga microbiana antes y después del proceso de esterilización, las muestras tomadas de los diferentes tratamientos serán

analizadas en el Laboratorio de la Planta de Tratamiento de Agua de la Empresa Pública Municipal de Agua Potable y Alcantarillado (EPMAPA, S.A), ubicada en la ciudad de Santo Domingo, coordenadas se encuentra en la latitud -0.267739 y longitud -79.111718, en el hemisferio sur.

2.4.4. Asistencia técnica

Para la selección de los huevos que serán objeto del estudio, el gerente de la avícola El Jacalito, autorizará realizar un recorrido por las instalaciones para conocer el proceso de producción de huevos de gallina en todas las etapas.

2.4.5. Bodega para almacenamiento de muestras

La empresa destinara un lugar específico que reúna las condiciones de higiene, limpieza, ventilación y libre de roedores para almacenar los huevos que serán objeto del estudio.

2.4.6. Cajones de acero galvanizado

Para el acondicionamiento de los huevos a los que han aplicado los diferentes tratamientos se utilizaran cajones de acero galvanizado que se encuentren adecuados para el seguimiento en los días establecidos.

2.4.7. Equipo nebulizador

Los diferentes tratamientos serán aplicados utilizando un equipo nebulizador marca Carlitos Premium (Reg. San. 5283-DME-0818) que se adquirirá en el mercado, específicamente en la industria farmacéutica.

2.5. Requisitos microbiológicos del huevo de gallina

La tabla 2.2 establece la normativa NTE INEN 1973:2013 de carga microbiológica de *Aerobios mesófilos*, *E. coli* externa, *E. coli* interna y *Salmonella* spp., para huevos de gallina comerciales.

Tabla 2.2.

Requisitos microbiológicos de los huevos frescos

Parámetro	Límite por g/ml				Método de ensayo
	N	c	m	M	
Recuentos aerobios mesófilos	5	2	10 ⁴	5 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-5
E. coli ufc/g ** externa	5	2	<50	50	NTE INEN 1529 - 8
E. coli ufc/g ** interno	5	2	Ausencia	---	
<i>Samonella</i> spp en 25 g **	5	0	Ausencia	---	NTE INEN 1529 -15

*Parámetros de vida útil del producto

** Parámetros de inocuidad del producto

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación

El estudio se efectuó en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, en Avícola El Jacalito, ubicada en el Km 14 de la vía Santo Domingo – Las Mercedes, coordenadas 0°12'00.6" S 79°05'14.3" W.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de la Planta de Tratamiento de Agua de la Empresa Pública Municipal de Agua Potable y Alcantarillado (EPMAPA, S.A), ubicada en la ciudad de Santo Domingo, coordenadas latitud -0.267739 y longitud -79.111718, en el hemisferio sur.

3.2. Duración

La presente investigación se desarrolló a partir del mes de noviembre del 2019 hasta el mes de julio del 2020, en donde se realizaron actividades como: revisión bibliográfica, visitas de campo para la recolección de datos, obtención de biocidas en el mercado, fase de experimentación, tabulación de datos mediante programas estadísticos y obtención de resultados finales.

3.3. Factores en estudio

Los factores que se estudiaron en la investigación son los siguientes:

- Factor A: Tipos de biocidas
- Factor B: Concentración de biocidas

3.3.1. Niveles del factor

Los niveles para el factor A: Tipos de biocidas (ver Anexo 1):

a₁: Cid 20 (Alquildimetilbenzilamoniocloruro, Glutaraldehído, Formaldehido, Glyoxal e Isopropanol)

a₂: Vanodine (Yodo, Ácido hidroyónico y Alcohol Etoxilato)

a₃: Amonio cuaternario (cloruro de alquil-dimetil-bencil-amonio)

Para el factor B: Concentración de biocidas, se utilizaron las dosificaciones que se indican en las fichas técnicas respectivas.

b₁: 3 ml/l agua

b₂: 4 ml/l agua

b₃: 5 ml/l agua

b₄: 0,75 ml/l agua

b₅: 0,80 ml/l agua

b₆: 0,90 ml/l agua

b₇: 0,75 ml/l agua

b₈: 1,25 ml/l agua

b₉: 2,50 ml/l agua

Para el testigo:

x: Sin biocida

3.3.2. Tratamientos

De la combinación de los diferentes niveles de cada factor, se obtuvieron los siguientes tratamientos como se muestran en las tablas 3.1, 3.2 y 3.3:

Tabla 3.1.*Detalle de tratamientos para el primer biocida*

TRATAMIENTOS	CODIFICACIÓN	FACTORES EN ESTUDIO		BLOQUES	
		TIPO DE BIOCIDA (A)	CONCENTRACIÓN DE BIOCIDA (B) ml/l agua		
T1	a1b1	Cid 20	3,0	1	2
T2	a1b2	Cid 20	4,0	1	2
T3	a1b3	Cid 20	5,0	1	2
T10 (TESTIGO)	x	-	-	1	2

Fuente: Cevallos & Quiñonez, 2020

Tabla 3.2.*Detalle de tratamientos para el segundo biocida*

TRATAMIENTOS	CODIFICACIÓN	FACTORES EN ESTUDIO		BLOQUES	
		TIPO DE BIOCIDA (A)	CONCENTRACIÓN DE BIOCIDA (B) ml/l agua		
T4	a2b4	Vanodine	0,75	1	2
T5	a2b5	Vanodine	0,80	1	2
T6	a2b6	Vanodine	0,90	1	2
T10 (TESTIGO)	x	-	-	1	2

Fuente: Cevallos & Quiñonez, 2020

Tabla 3.3.*Detalle de tratamientos para el tercer biocida*

TRATAMIENTOS	CODIFICACIÓN	FACTORES EN ESTUDIO		BLOQUES	
		TIPO DE BIOCIDA (A)	CONCENTRACIÓN DE BIOCIDA (B) ml/l agua		
T7	a3b7	Amonio cuaternario	0,75	1	2
T8	a3b8	Amonio cuaternario	1,25	1	2
T9	a3b9	Amonio cuaternario	2,50	1	2
T10 (TESTIGO)	x	-	-	1	2

Fuente: Cevallos & Quiñonez, 2020

3.3. Delineamiento experimental

3.3.1. Diseño experimental

Esta investigación fue de tipo experimental, se utilizó un arreglo factorial 3^2 en Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA). Se utilizaron dos bloques correspondientes a los días de almacenamiento 21 y 28, manejados independientemente (ver Anexo 2).

3.3.2. Unidad experimental

Se necesitaron un total de 200 huevos de un peso entre 58 y 64g escogiendo aquellos de tamaño grande de acuerdo a la norma INEN NTE 1973:2013, conteniendo cada uno 20 huevos por cada tratamiento.

3.3.3. Esquema del Anova

El esquema de ANOVA de un factor y factorial 3^2 se detallan en las tablas 3.4. y 3.5.

Tabla 3.4.

Esquema del ANOVA factorial 3^2

FUENTE DE VARIACIÓN	Gl
Total	19
Tipo de biocida (A)	2
Concentración de biocida (B)	2
A*B	4
Error	11

Fuente: Cevallos & Quiñonez, 2020

Tabla 3.5.

Esquema de ANOVA para DBCA

FUENTE DE VARIACIÓN	GI
Total	19
Tratamiento	9
Bloques	1
Error	9

Fuente: Cevallos & Quiñonez, 2020

3.4. Manejo de la investigación

A continuación, se detalla el procedimiento en el cual se describe el experimento de la investigación, en diagrama de bloque y por procesos (Figura 3.1. y Figura 3.2.).

3.4.1. Descripción del experimento

Selección de huevos

Se tomaron en las condiciones de bodega (T ambiente 23°C) después de los 21 días de vida útil (Coogan, y otros, 2004) y se ubicaron en cubetas de cinco espacios, dispuestas para 20 huevos cada una.

Toma de muestras

Las unidades experimentales fueron evaluadas mediante toma de muestras al azar, debido a que todos fueron seleccionados bajo las mismas condiciones de manipulación, con un total de tres huevos para la determinación microbiológica de acuerdo a los análisis propuestos (sin aplicación de biocidas).

Análisis microbiológico inicial

Se tomaron muestras de la superficie de los huevos de gallina y se realizaron los análisis microbiológicos determinando la carga microbiana inicial de *Salmonella*

spp- NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1), *Escherichia coli* (interna y externa) - NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4), y *Aerobios mesófilos* - NTE INEN 1529-5 (ISO-4833). Estas muestras correspondieron a un huevo por determinación microbiológica, es decir, tres por cada unidad experimental (ver Anexo 3).

Adecuación de condiciones de almacenamiento

Los huevos esterilizados fueron almacenados en condiciones propias del sector de humedad de 95%, temperatura ambiente 23°C y presión atmosférica de 1014,0 Pa.

Adecuación de huevos en cajones

Los cajones se fabricaron con acero galvanizado (Carbono: $\leq 0,180$, Manganeso: $\leq 1,20$, Fósforo: $\leq 0,120$, Azufre: $\leq 0,045$; Silicio: $\leq 0,50$ y Titanio: $\leq 0,300$) (PALSA, 2020) con dimensiones de 40 cm de ancho, 40 cm de largo y 25 cm de altura, de tal forma que se colocaron en su interior una cubeta con el objeto de estudio (huevos). En una de sus paredes consta un orificio de diámetro de 10mm por el cual se conectó la manguera del nebulizador Carlitos Premium (Reg. San. 5283-DME-0818) (ver Anexo 4), donde fueron aplicados cada tratamiento. En el interior se adecuó una rejilla móvil elaborada de varilla lisa de 8mm de diámetro, la que sostuvo la cubeta de huevos.

Preparación de los tratamientos

Los tratamientos se prepararon de acuerdo a lo señalado en la Tabla 3.1 y las mezclas fueron colocadas en el equipo nebulizador para luego nebulizar a las muestras que se adecuaron en los cajones dispuestos, el tiempo de exposición para cada biocida fue de cinco minutos (ver Anexo 5).

Aplicación de los tratamientos

Se aplicaron tres tipos de biocidas: Cid 20 (Marca CID LINES), Vanodine*FAM (Marca Evans Vanodine International) y Amonio Cuaternario 20% - Maymó (Marca

Maymó), en diferentes concentraciones en un rango de 0,75–5 ml/l de agua mediante el método de desinfección por nebulización (ver Anexo 6).

Tiempo de acción del biocida

Se requirieron cinco minutos de acción de los tratamientos sobre el objeto de estudio (huevos) y se esperaron diez minutos para la toma de muestras.

Toma de muestras

Fueron tomadas al azar a partir de las unidades experimentales, debido a que todos recibieron los tratamientos planteados, con un total de cuatro para la determinación microbiológica de acuerdo a los análisis propuestos (ver Anexo 7).

Análisis microbiológico final

Se tomaron muestras de las superficies externas e internas de los huevos de gallina después de la aplicación de los diferentes tratamientos, acorde al acápite 3.7.1 numeral 4 y se realizaron los análisis microbiológicos, determinándose la carga microbiana final de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* (interna y externa) y *Aerobios mesófilos* a los días 21 y 28 después de aplicados los tratamientos (ver Anexo 8).

3.4.2. Diagrama de bloques del experimento

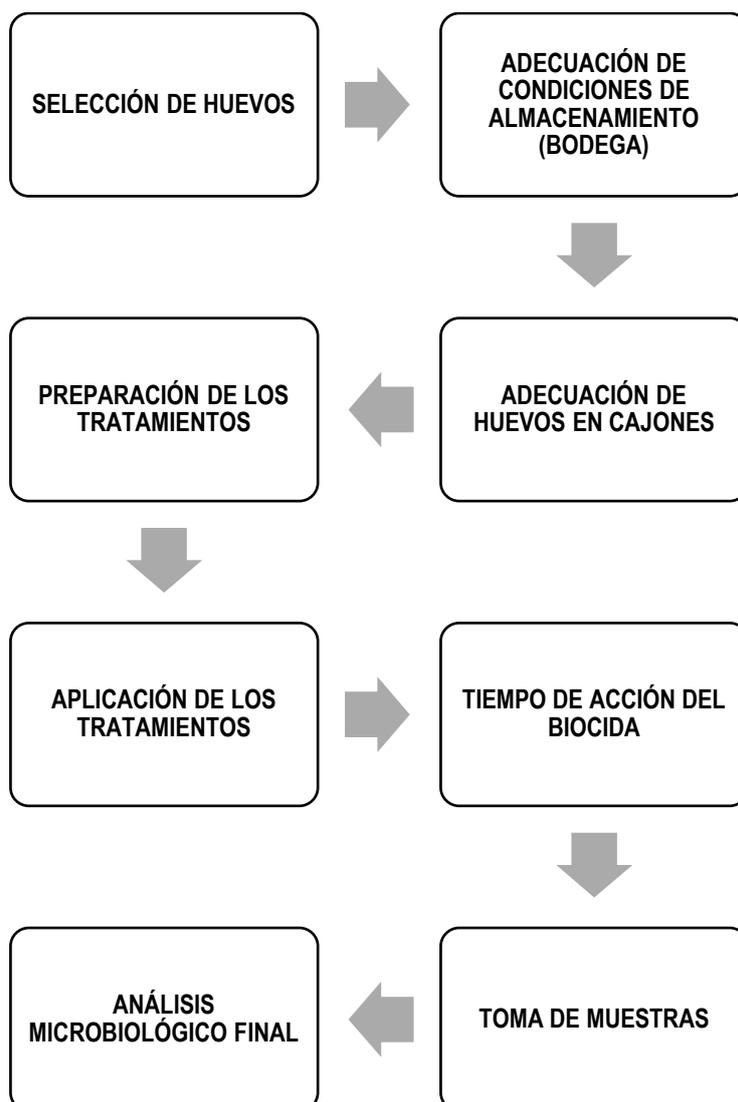


Figura 3.1. Diagrama de bloques del manejo del experimento

3.4.3. Diagrama del manejo del experimento

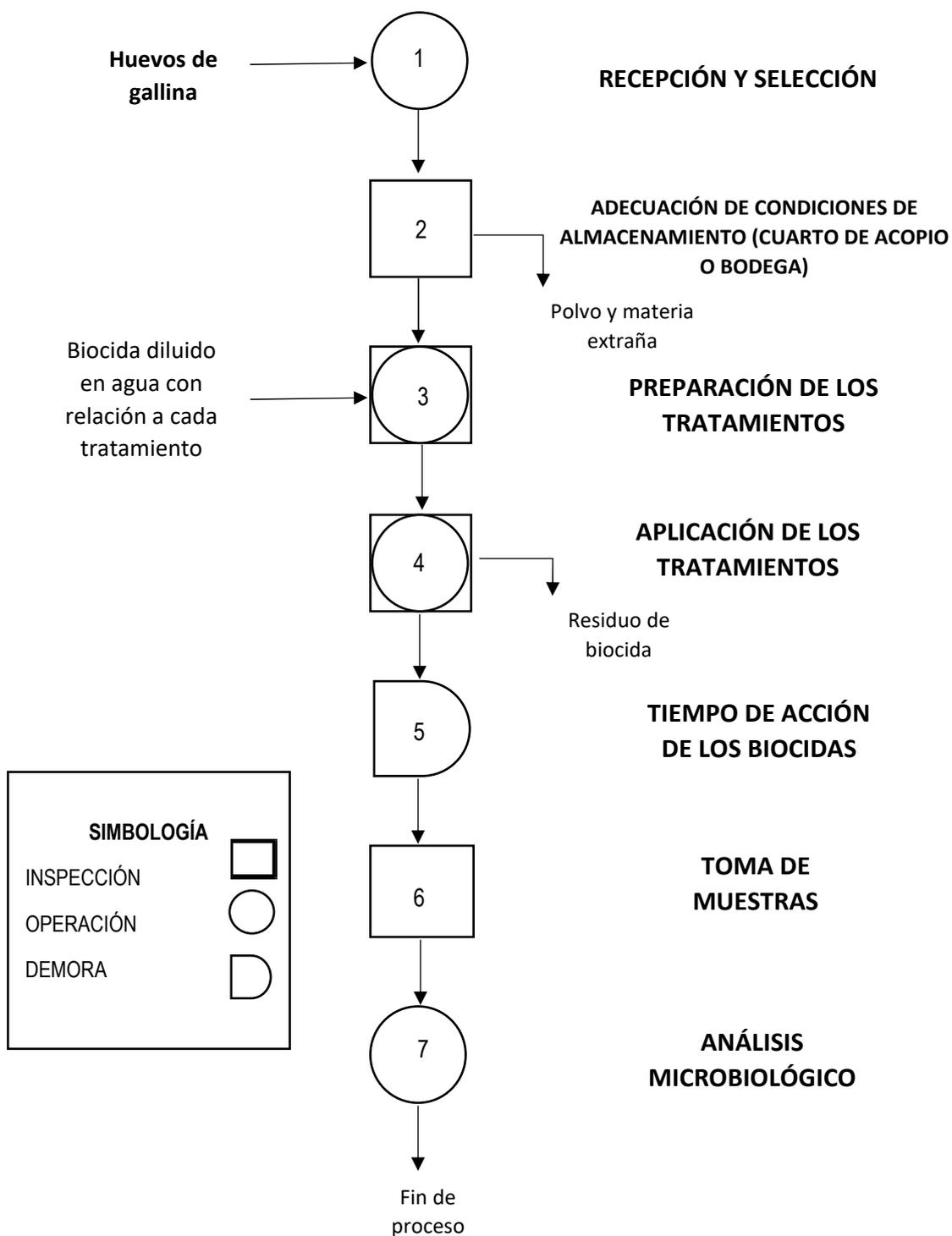


Figura 3.2. Diagrama de flujo del proceso productivo para huevos de gallina comerciales

3.5. Variables evaluadas

- *Salmonella* spp. - NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1)
- *Escherichia coli* (*externa*). - NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)
- *Aerobios mesófilos* – NTE INEN 1529-5 (ISO-4833)
- *Escherichia coli* (*interna*). – NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)

3.6. Métodos de análisis

3.6.1. Determinación microbiológica de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* externa y *Aerobios*

1. Preparación del agar peptona: Se pesó 5 g de peptona y se diluyó en 500 ml de agua destilada.
2. Preparación de muestras: Se distribuyó en 30 tubos de ensayo, 10 ml de agua peptonada. Se sellan cada uno con su tapa rosca respectiva.
3. Esterilización de tubos: Se esterilizó la solución peptonada contenida en los tubos de ensayos, colocándolos dentro del autoclave de laboratorio, a 121 °C por 30 minutos. Se espera el tiempo suficiente hasta que baje la presión y temperatura del autoclave (BIOFASE_MODELO-101 KPa) para posteriormente sacar los matraces del equipo.
4. Manejo de las muestras: Se frotó con un hisopo estéril cada muestra (huevos identificados de acuerdo a tratamiento aplicado), de izquierda a derecha, de arriba hacia abajo, con movimientos circulares alrededor del objeto de estudio, para posteriormente introducir el hisopo en el tubo de ensayo. El procedimiento se repitió por cada tratamiento.
5. Siembra: Al transcurrir 30 minutos, se tomó con una micropipeta 1 ml de la muestra y se sembró cuidadosamente en el centro de las placas Petri Film-3M de determinación microbiológica rápida, de acuerdo al microorganismo estudiado.
6. Incubación de placas Petri Film-3M: Una vez lista las placas, se las llevó a la incubadora de laboratorio por un tiempo de 24 horas a 35 °C, tiempo y temperatura que favoreció para el crecimiento microbiano.

7. Conteo de microorganismos: Se procedió con el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cada una de las placas incubadas.
8. Registro de datos obtenidos: Se registraron los datos en UFC, los que fueron ingresados en el programa estadístico SPSS de diseño experimental para el análisis e interpretación de resultados (ver Anexo 9).

3.6.2. Determinación microbiológica de *Escherichia coli* interna

1. Preparación de muestras: De la solución peptonada preparada con anterioridad, se tomó 10 ml que se diluyeron en 90 ml de agua destilada. Se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 100 ml. Posteriormente se taparon con torundas de algodón y gasas estériles, sellando finalmente con papel aluminio pegado con cinta maskin.
2. Esterilización de matraces: Se esterilizó la solución peptonada contenida en los matraces, colocándolos dentro del autoclave de laboratorio, a 121 °C por 30 minutos. Se espera el tiempo suficiente hasta que baje la presión y temperatura del autoclave para posteriormente sacar los matraces del equipo.
3. Manejo de las muestras: Se tomó cada unidad experimental (huevos de acuerdo a los tratamientos aplicados), rompiendo con un aza de platino previamente esterilizada de tal forma que se forme un orificio en la parte superior, que permita mezclar la clara y yema con un asa estéril (flameada en llama de un mechero de bunzen). Se tomaron cinco gramos de la mezcla y se procedió a verter en el matraz con la sustancia esterilizada. El procedimiento se repitió por cada tratamiento.
4. Siembra: Al transcurrir 30 minutos, se tomó con una micropipeta 1 ml de la muestra y se sembró cuidadosamente en el centro de las placas Petri Film-3M de determinación microbiológica rápida, de acuerdo al microorganismo estudiado.
5. Incubación de placas Petri Film: Una vez lista las placas, se las llevó a la incubadora (Marca Faithful – Modelo DH4000BII) de laboratorio a una temperatura de 35 °C por un tiempo de 30 minutos, parámetros que favorecieron el crecimiento microbiano.

6. Conteo de microorganismos: Se procedió con el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cada una de las placas incubadas.
7. Registro de datos obtenidos: Se registraron los datos en UFC, los que serán ingresados en el programa estadístico SPSS de diseño experimental para el análisis e interpretación de resultados (ver Anexo 10).

3.7. Análisis estadístico

El análisis de los datos se los efectuó por medio del programa de Microsoft Office Excel 2010 y SPSS 21 versión libre. Para el análisis estadístico de las variables en estudio se utilizó software SPSS versión 21 (libre) y se efectuó pruebas de los supuestos del ANOVA de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad (Lavene).

Se realizaron las siguientes pruebas para el análisis estadístico de las variables en estudio:

- a) A todas las variables en estudio se les aplicaron las siguientes pruebas: de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad (Levene), las variables que cumplieron con todos los parámetros indicados anteriormente, para ello se procedió a realizar las pruebas que se indica en el literal b.
- b) En caso de que las variables no cumplieron los supuestos del ANOVA se procedió a realizar pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis.
- c) Análisis de varianza (ANOVA): Se lo efectuó con el propósito de establecer la diferencia significativa estadística tanto para los factores AxB de todas las variables en estudios.
- d) Prueba de diferencias honestamente significativa de Tukey (HSD): Se realizó para establecer la diferencia significativa entre tratamientos, bloques y niveles. Se analizará al 5% de probabilidad del error, de acuerdo a los grados de libertad (gl) del error experimental.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Carga microbiana del huevo sin aplicación de tratamientos

En la Tabla 4.1 se observa que la baja carga microbiana que presentó el huevo se debe a la aplicación adecuada de las Buenas Prácticas Avícolas (BPA) una vez que se realizó la postura y posterior recolección en la granja Avícola El Jacalito, cumpliendo sus parámetros de acuerdo a la norma INEN NTE 1973:2013.

Tabla 4.1.

Carga microbiana inicial del huevo

Parámetro	Método de ensayo	Recuento (UFC)
Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5 (ISO-4833)	2 x 10 ³
E. coli (externa)	NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)	4
E. coli (interno)	NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)	Ausencia
<i>Samonella</i> spp	NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1),	1

Fuente: norma INEN NTE 1973:2013.

4.2. Análisis microbiológicos

Tres variables cumplieron con los supuestos del ANOVA mediante la prueba de Kolmogórov-Smirnov (supuesto de normalidad) y Levene (supuesto de homogeneidad) fueron *Aerobios mesófilos*, *Salmonella* y *E. coli externa* debido a que la significancia fue mayor al 0,05. (Tabla 4.2.)

Tabla 4.2.

Prueba de normalidad

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogórov-Smirnov			Prueba de Levene		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Aeróbios_mesófilos	0,509	20	0,06	0,433	20	0,07
Salmonella	0,527	20	0,07	0,351	20	0,09
E_coli_externa	0,527	20	0,06	0,351	20	0,08

a. Corrección de la significación de Lilliefors

b. E_coli_interna es una constante y se ha desestimado.

Como se observa en Tabla 4.3, no existe diferencia estadística significativa para los bloques y tratamientos debido a que su p_valor es mayor a 0,05, expresando que los biocidas causan el mismo efecto en los bloques y tratamientos.

Tabla 4.3.

ANOVA para la variable *Aerobios mesófilos*

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: <i>Aerobios mesófilos</i>					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	527674575,000	19			
Bloque	50276205,000	1	50276205,000	2,757	0,131 ^{NS}
Tratamientos	313249325,000	9	34805480,556	1,908	0,175 ^{NS}
Error	164149045,000	9	18238782,778		

NS: No significativo

R cuadrado = 0,689 (R cuadrado corregida = 0,343)

Según (Patiño, Pérez, Torres, Rosas, & Giselle, 2018), los microorganismos *aerobios mesófilos* presentan resistencia a los efectos de biocidas y presentan resistencia para ser eliminados por completo debido a que se encuentran en el ambiente y se desarrollan a temperatura de 35-37°C, siendo esta temperatura la óptima para aumentar la velocidad de crecimiento. Estos microorganismos no son sensibles a la concentración de biocida usada y debido a esto el microorganismo incrementa su tolerancia. Esta resistencia puede producirse principalmente por propiedades naturales del organismo o adquiridas que dan origen a genes de resistencia transferidos por elementos móviles de un organismo a otro.

En concordancia con lo establecido a la Norma NTE INEN 1973:2013, la cantidad presente de *Aerobios mesófilos* en los huevos en condiciones normales de almacenamiento, tanto a los 21 como a los 28 días, los valores de este estudio se encuentran dentro de los parámetros aceptables (Anexo 6), demostrando que los huevos pasaron 21 (límite máximo que indica la norma) a 28 días, dando un total de siete días más de vida útil.

Estadísticamente todos los tratamientos son iguales, pero el testigo presenta $2,0 \times 10^3$ UFC de *Aerobios mesófilos* a los 28 días, mientras que los tratamientos T2 (Cid

20, 4ml/l agua) y T3 (Cid 20, 5ml/l agua) no tuvieron presencia de microorganismos. Es importante destacar que con la aplicación del T3 prevaleció la acción del biocida con ausencia de dichos microorganismos en los días 21 y 28.

La efectividad del biocida CID 20 se debe a los principios activos por el que está compuesto, en mayor proporción por el formaldehído y glutaraldehído. Según (Sánchez & Sáenz, 2005), los aldehídos tienen un amplio espectro de actividad contra microorganismos y virus y son eficaces contra todo tipo de gérmenes. El formaldehído y glutaraldehído son bactericidas y bacteriostáticos.

El formaldehído actúa mediante la alquilación de los grupos químicos de las proteínas y ácidos nucleicos de las bacterias, virus y hongos. Actúa sobre las proteínas por desnaturalización, sobre los ácidos nucleicos y las proteínas por alquilación.

En concordancia con este estudio, la eficacia de acción del formaldehído para la reducción y/o eliminación de bacterias necesitó de 6 a 12 horas y para la eliminación de esporas de 2 a 4 días, aún a altas concentraciones. Por esta razón, en el día 28 el resultado fue ausencia para el T2 (tratamiento 2) y T3 (tratamiento 3).

Según (RENALOA, 2014), en alimentos perecederos manipulados correctamente pueden desarrollar recuentos elevados y perder calidad si son almacenados por un periodo de tiempo prolongado debido a que en el medio ambiente están presentes microorganismos *Aerobios mesófilos*, los cuales afectan las condiciones del huevo conforme avanzan los días.

En la Tabla 4.4 se puede evidenciar que no existe diferencia significativa para los bloques, por lo que el p_valor es mayor a 0,05, mientras que los tratamientos presentaron un p_valor de 0,002.

Tabla 4.4.ANOVA para la variable *Salmonella*

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: <i>Salmonella</i>					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	4,550	19			
Bloque	0,050	1	0,050	1,000	0,343 ^{NS}
Tratamientos	4,050	9	0,450	9,000	0,002 ^{**}
Error	0,450	9	0,050		

NS: No significativo

**: Altamente significativo

R cuadrado = 0,901 (R cuadrado corregida = 0,791)

En la tabla 4.5 se muestra que los tratamientos presentaron diferencia estadística significativa en comparación con el testigo, para ello se realizó la prueba de Dunnett.

Tabla 4.5.Prueba de Dunnett para la variable *Salmonella*

(I)Tratamientos	(J)Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95% Límite superior
T1	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T2	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T3	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T4	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T5	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T6	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T7	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T8	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86
T9	T10	-1,50*	0,224	0,000	-0,86

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,050.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Los tratamientos de este estudio presentaron ausencia de *Salmonella* en comparación con el testigo que presentó 1 ufc y 2 ufc a los 21 y 28 días respectivamente. Todos los tratamientos aplicados fueron efectivos para la eliminación de este microorganismo. A continuación, se detalla el mecanismo de acción de cada uno de los biocidas utilizados:

Según (Chacón & Rojas, 2020), los derivados del amonio cuaternario funcionan como tensioactivos (molécula con una parte polar y otra no polar), que les permite unirse de forma irreversible a fosfolípidos y proteínas de la membrana, e incluso, la porción hidrofóbica puede insertarse dentro de ésta, lo cual provoca una alteración de su permeabilidad y una disfunción de la cadena respiratoria. De acuerdo a la ficha técnica del producto este actúa como fungicida, bactericida y viricida.

Al usar Vanodine como tratamiento este demostró menos eficacia que al usar el Cid 20, lo que concuerda con (Forsythe & Hayes, p., 2002) que los compuestos yodóforos destruyen rápidamente un amplio espectro de bacterias, pero son menos activos que otros biocidas como los hipocloritos, glutaraldehídos y amonio cuaternario.

De acuerdo a la ficha técnica (Zoetis, 2017) de Vanodine*Fam con Reg. N° 2A – 6407-AGROCALIDAD, indica que sus características son: enérgico bactericida, viricida y fungicida de amplio espectro, acción inmediata, poder residual y alta estabilidad. No es tóxico ni corrosivo; tampoco irrita la piel y las mucosas. No se inactiva en presencia de materia orgánica como otros desinfectantes y su acción detergente permite remover las costras (de mugre, leche y grasa) y penetrar profundamente en grietas, hendiduras y rugosidades. Se puede usar indistintamente como aspersion y atomización en superficies, ambientes, áreas y animales.

El biocida antes mencionado es un desinfectante yodado, el cual contiene en gran proporción yodo. Según (Sánchez & Sáenz, 2005), el yodo tiene una poderosa actividad germicida, ataca bacterias grampositivas y gramnegativas, micobacterias, esporas, hongos, virus, quistes y protozoos. De acuerdo a la Agencia Española de

Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS, 2011), el yodo produce la muerte de los microorganismos por oxidación e inactivación molecular.

En la tabla 4.6. se muestra que no existe diferencia significativa para los bloques p_valor 0,343, mientras que para los tratamientos si existe diferencia estadística significativa p_valor 0,000.

Tabla 4.6.

Prueba de Dunnet para la variable Salmonella

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: E_coli_externa					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	47,000	19			
Bloque	0,200	1	0,200	1,000	0,343 ^{NS}
Tratamientos	45,000	9	5,000	25,000	0,000 ^{**}
Error	1,800	9	0,200		

NS: No significativo

** : Altamente significativo

a. R cuadrado = ,962 (R cuadrado corregida = ,919)

En la tabla 4.7. se evidencia que los tratamientos presentaron diferencia estadística significativa, para ello se realizó la prueba de Dunnet.

Tabla 4.7.

Prueba de Dunnet para la variable E_coli_externa

(I)Tratamientos	(J)Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95% Límite superior
T1	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T2	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T3	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T4	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T5	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T6	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T7	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T8	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72
T9	T10	-5,00*	0,447	0,000	-3,72

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,200.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Todos los tratamientos de este estudio lograron inhibir el crecimiento de *E. coli* externa mientras que el testigo presentó en 4 ufc y 6 ufc en el día 21 y 28 respectivamente. Por esta razón, es importante la desinfección de huevos con el uso adecuado de biocidas que eviten el desarrollo de estos microorganismos.

El problema de la superficie del huevo se centra en la contaminación a partir de la materia fecal de las gallinas o por una mala manipulación. Una vez que la cáscara se contamina, puede ser una de las vías de entrada de estos microorganismos en la mayoría de los hogares. Evidentemente, este es un peligro que debería ser controlado de manera eficaz (López, Reyes, Franco, Matías, & Juárez, 2014).

Además, las mejoras en la higiene de procesamiento y el lavado posterior pueden ayudar a elevar o mantener la vida de anaquel y la inocuidad alimentaria de los huevos. En este sentido los resultados de la presente investigación demostraron la importancia del uso de biocidas con la finalidad de eliminar o reducir microorganismos patógenos presentes a causa de la contaminación fecal y la mala manipulación de los huevos.

En el Anexo 7 se puede evidenciar que no existe presencia de *E. coli* (interna) en los días 21 y 28, tanto para los tratamientos como para el testigo, estos resultados demuestran que la Avícola El Jacalito aplica Buenas Prácticas Avícolas durante la producción de huevos de gallinas.

Estos resultados concuerdan con (Instituto de Estudios del Huevo, 2009) que manifiesta que los factores que determinan la inocuidad del huevo de gallina son la integridad y limpieza de la cáscara, es decir, que esté libre de fisuras o roturas y de suciedad. Cuando la cáscara no cumple estos requisitos es posible que los microorganismos que están adheridos a la superficie penetren al interior del huevo.

Otro parámetro es la temperatura, se debe evitar cambios bruscos principalmente de bajas a altas, debido a que se puede producir condensación del agua en la superficie de la cáscara lo que favorece el ingreso de microorganismos junto con el agua a través de los poros de ésta.

La ovoposición constituye otra causa de contaminación por las heces de la gallina y, es durante este proceso que la cutícula que recubre la superficie externa de la cáscara del huevo, es una importante barrera contra de la entrada de bacterias (*Escherichia coli*), levaduras y hongos al interior del mismo (Rojas, 2017).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

En el estudio se evidenció una carga microbiana inicial en huevos de gallina que no se aplicaron tratamientos de biocidas, estos valores fueron *Aerobios mesófilos* 2×10^3 UFC; *E. coli* externa 4 UFC; *Salmonella* spp. 1 UFC y *E. coli* externa ausencia, los mismos que cumplieron con lo estipulado en la Norma NTE INEN 1973:2013.

Todos los biocidas a las concentraciones utilizadas permitieron inhibir el crecimiento de *Salmonella* spp. y *E. coli*, siendo una alternativa para el control de microorganismos.

El biocida que permitió el incremento de la vida útil del huevo de gallina fue Cid 20 (Alquildimetilbenzilamoniocloruro 12,3 % w/v, Glutaraldehído 11,6 % w/v; Formaldehído 21,0 % w/v) en las concentraciones de 4 y 5 ml/l de agua, logrando con esto aumentar siete días más de vida útil.

5.2. Recomendaciones

Emplear Cid 20 a una concentración de 4 ml/l agua que permite prolongar la vida útil del huevo de gallina.

Manejar adecuadamente los huevos de gallina con la implementación de las Buenas Prácticas Avícolas, desde su postura hasta su comercialización.

Realizar un estudio microbiológico después del día 7 de vida útil alcanzado en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- AEMPS. (2011). *Nota Informativa sobre Productos Desinfectantes*. Madrid.
- Almeida, L., Fernandez, M. L., López, M., Lucas, R., Marín, A., Gálvez, A., & Grande, M. J. (2012). Resistencia a biocidas en cepas de *Salmonella* spp. aislada de huevo. *Anales - Vol. 25*, 159-172.
- Argilagos, G. B. (2010). Agentes bacterianos asociados a brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) en Camagüey, Cuba, durante el período 2000-2008. *REDVET*, 1-17.
- Betelgeux. (2007). Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria. *Especialistas en higiene y seguridad alimentaria, cosmética y farmacéutica.*, 1-10.
- Cantor Villamil, W. H. (2015). *Alternativas de desinfección de huevos comerciales como herramienta para reducir la contaminación causada por Salmonella y sus repercusiones en el ser humano*. Fusgasugá.
- Castaño, A. (2012). *Reducción de costos en la alimentación de gallinas ponedoras*. Antioquia.
- Celex. (2008). *Reglamento (CE) No 589/2008 de la Comisión*. Unión Europea.
- Chacón, L., & Rojas, K. (2020). Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos. *Acta Médica Costarricense*, 7-12.
- CNP. (2017). *Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021- Toda una Vida*. Quito.
- Coogan, T., Jorgensen, F., Lappin-Scott, H., Benson, C., Woodward, M., & Humphrey, T. (2004). Flagella and curlifimbriare important for the growth of salmonella enterica serovars in hen egg. *Microbiology 2004*, 1063-1071.
- Denyer, S. P. (1995). Mecanismos de acción de los biocidas antibacterianos. *Elsevier*, 227-245.
- Ecuador, A. C. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*. Quito.
- Europeas, C. d. (2008). *Reglamento (CE) N° 589/2008*.
- FAO. (2009). Producción de alimentos de origen animal. En O. d. Alimentación, *Codex Alimentarius* (pág. 347). Roma.
- Huevo, C. A. (2002). *Lecciones sobre el huevo 1° Edición*. Madrid: Torre Angulo Arte Gráfico S.A.
- Humphrey, T. (2004). Salmonella, stress responses and food safety. *Nature Reviews Microbiology*, 504-509.

- INEC. (2017). *Encuesta de superficie y Producción Agropecuaria Continua*.
- INEN. (2013). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1973:2013. Quito.
- Instituto de Estudios del Huevo. (2002). *Lecciones sobre el huevo 1° Edición*. Madrid: TorreAngulo Arte Gráfico S.A.
- Instituto de Estudios del Huevo. (2009). *El gran libro del huevo*. España: Editorial Everest S.A.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2017). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. Ecuador.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2015). *Modern food microbiology*. Las Vegas: Springer Science.
- Lake, R., Hudson, A., & Cressey, P. (2002). *Risk profile: Salmonella (non typhoid) and poultry (whole and pieces)*. New Zealand.
- Lines, C. (2020). *Cid Lines*. Obtenido de <https://www.cidlines.com/es-ES/cid-20>
- Loaiza, J., Sánchez, M., Henao, S., & Cardona-Castro, N. (2011). Detección de bacterias contaminantes en huevos para consumo en Medellín y su área Metropolitana. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, vol. 6, num. 2, 20-28.
- López, C., Grande, J., Lucas, R., & Gálvez, A. (2010). Resistencia a biocidas de diferentes cepas de Escherichia coli. *Anales - Vol. 23(1)*, 121-136.
- López, M., Reyes, B., Franco, B., Matías, R., & Juárez, S. (2014). Inocuidad en el proceso de lavado de huevo de una empresa Avícola. *Instituto Tecnológico de Tehuacán, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Libramiento Tecnológico*, 117-134.
- Neira, C. (2016). *Microbiota en huevos y derivados: identificación y desarrollo*. Oviedo.
- OMS. (2009). Producción de alimentos de origen animal. En OMS, & FAO, *Codex Alimentarius* (pág. 347). Roma.
- PALSA. (Agosto de 2020). www.e-palsa.com. Obtenido de http://www.e-palsa.com/index.php?controller=attachment&id_attachment=80
- Parra, M., Durango, J., & Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones. *Revista MVZ*, 187-200.

- Patiño, D., Pérez, L., Torres, M., Rosas, D., & Giselle, D. F. (2018). Uso de biocidas y mecanismos de respuesta bacteriana. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 1-17.
- Pérez, M., Amaro, A., & Castro, N. (2013). *Manual integrado de la normatividad y método de detección y medición de microorganismos en alimentos como vegetales y frutas frescas, productos del mar y cárnicos de animales terrestres*. Querétaro.
- Puig, Y., Espino, M., & Leyva, V. (2011). Resistencia antimicrobiana en Salmonella y E. coli aisladas de alimentos: revisión de la literatura. *Panorama Cuba y Salud*, 30-38.
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruíz, A., Colantonio, L., & Burrone, M. (2016). Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 32-44.
- Reu, D. K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including Salmonella enteritidis. *International Journal of Food Microbiology*, 253-260.
- Revista Técnica Maíz y Soya. (Mayo de 2019). *Posicionamiento del sector avícola*. Obtenido de <http://www.maizysoya.com/lector.php?id=20190507&tabla=articulos>
- Ribas O., B. (2006). Biocidas: Datos sobre su evaluación para la salud, industria alimentaria e impacto ambiental. *Instituto de Salud Carlos III, Académico Numerario de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 99-127.
- Rincón, D., Ramírez, R., & Vargas, J. (2011). Transmisión de Salmonella entérica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, vol. 43, num. 2, 167-177.
- Rodríguez J., S. (2016). *Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saneamiento (POES) - condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses*. Guayaquil.
- Rojas, A. (2017). *Evaluación microbiológica de huevo fértil con dos procesos de desinfección y el uso de cuatro productos comerciales en la granja Guacata en el municipio de Fagasugá, Cundinamarca*. Cundinamarca.

- Sánchez, L., & Sáenz, E. (2005). Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana*, 82-103.
- SCPM. (2014). *Estudio de Mercado Avícola enfocado a la Comercialización del Pollo en Pie*. Quito.
- Superintendencia de Control del Poder de Mercado. (2015). *Estudio de Mercado Avícola enfocado a la Comercialización del Pollo en Pie*. Loja.
- Villamil, W. H. (2015). *Alternativas de desinfección en huevos comerciales como herramienta para reducir la contaminación causada por Salmonella y sus repercusiones en el ser humano*. Cundinamarca.
- Wessels, S., & Igmer, H. (2013). Modes of action of three disinfectant active substances: a review. *PublMed.gov*, 456-467.

ANEXOS

ANEXO 1. Fichas técnicas de biocidas



Cid 20

Your real hope in hygiene warzones

- the most trusted disinfectant
- very economical
- long-lasting activity
- results in healthy & profitable business

Increase your benefits by protecting your livestock

CID LINES

www.cidlines.com

Your real hope in hygiene warzones

There is no simple measure that can prevent animals, human and economical suffering caused by epidemic diseases. But there is hope! Cid 20. Since Cid 20 was introduced in 1989 as a terminal disinfectant the number of loyal users is increasing worldwide.

All the meat and livestock sectors including the poultry, cattle and the feed and food processing companies are fighting the outbreak of infectious diseases in their operating environment. A sound and preventative hygiene programme is vital to achieve the important first step towards a productive disease free environment.

Using Cid 20 as your trusted partner against bacteria, viruses and fungi spores you can be sure that the results will lead to a healthy and profitable business.

The well balanced formula of Cid 20 creates an effective solution against bacteria... etc.

Cid 20, the most trusted disinfectant

The well balanced formula of Cid 20 creates an extremely effectiveness against bacteria, spores, viruses and fungi. But there are even more reasons to choose Cid 20 as your most trusted ally:

Cid 20 is:

1. Excellent to disinfect your animal houses, materials, surfaces, transport equipment for poultry, dairy and beef cattle, hatcheries and processing plants.
2. Very economical cost-in-use
3. A fast and long-lasting activity
4. Can be used at low temperatures (4°C) without decreasing it's action.
5. Contains only compounds that are more than 80% biodegradable
6. Effective in hard water
7. Suitable for use in fogging machine, without any need to add fog-enhancers
8. Not corrosive
9. Guaranteed 3 years shelf life
10. CID LINES have many years of experience in Emergency Disease control.

Cid 20 applications

- Animal houses
- Cow bedding
- Animal husbandry equipment
- Milking Parlours
- Hatcheries
- Animal transport and transport equipment
- Storage room and processing rooms for feed and food
- Food transport
- Boat and wheel dips
- Cooling pads

Cid 20 directions for use

- Clean at first the surfaces thoroughly
- Disinfect:
 1. By spraying or floating: 0.25 - 1 % or 1:400 - 1:100 or 2.5 ml/l - 10.0 ml/l Cid 20
 2. or by fogging: 1.5 l Cid 20 + 1 l water /1000 m³

Composition of Cid 20

Cid 20 is based on 5 different active ingredients:

1. Quaternary ammonium compound
Alkyldimethylbenzylammoniumchloride: 61.5g/L
2. Aldehydes
Glutaraldehyde: 58 g/L, Formaldehyde: 84 g/L
Glyoxal: 10.8 g/L
3. Alcohol
Isopropanol: 40g/L

Stabilizing agents, buffering agents, surfactants, sequestering agents, fog enhancers, foam enhancers and corrosion inhibitors.



CID LINES
Innovative hygiene solutions

Waterpoortstraat 2, 8900 Ieper • Belgium
T +32(0)57 21 78 77 • F +32(0)57 21 78 79
info@cidlines.com • www.cidlines.com

Ilustración 1. Ficha técnica Cid 20

Vanodine* Fam

DESINFECTANTE IODOFORO-BACTERICIDA-VIRICIDA FUNGICIDA-DETERGENTE REMOVEDOR DE GRASA

Compuesto de amplio espectro, acción inmediata, poder residual y gran estabilidad, formulado para inactivar todo tipo de microorganismos en explotaciones avícolas, porcinas, ganaderas, equinas, industriales, clínicas y para potabilizar agua de consumo

Características de la fórmula de Vanodine* Fam:
 Efectivo bactericida, viricida y fungicida de amplio espectro.
 Acción inmediata sobre materia orgánica.
 Eficazmente estable en presencia de materia orgánica a diferentes pH.
 No es tóxico, ni corrosivo. No interfiere ni mucosa, ni altera el rasgo.
 Su acción detergente y desinfectiva permite una rápida eliminación y fácil renovación de materia orgánica.
 Puede ser usado en agua fría o caliente (no más de 40°C).
 No lo actúan los aguas duras.
 Puede ser utilizado en suspensión o atomización de superficies.

FORMULA
 Cada 100 lit de Vanodine* Fam contiene:
 Complejo iodo-estano (Iodo-estano-iodo-estano-estano-estano)
 que desinfecta más de 100 millones de... 74 %
 Ácido isobutírico... 12,5 %
 Surfactante... 80 %
 Espesante... 4 g.

USO VETERINARIO

CONSERVACION
 Para lavado y desinfección de aguas, baños, piscinas y bañeros sanitarios.
 DILUCIÓN 1:250 = 1 litro de Vanodine* Fam en 250 litros de agua (200 lit de Vanodine* Fam en 200 litros de agua).
 Para desinfección y limpieza de instalaciones, cubetas, jeringas, siringas y hospitales veterinarios, desinfección de incubadoras, vehículos para transporte de animales.
 DILUCIÓN 1:200 = 1 litro de Vanodine* Fam en 200 litros de agua (200 lit de Vanodine* Fam en 200 litros de agua).
 Para lavado y desinfección de agua (plomería, comederos, bebederos para agua etc.). Para esterilización de instrumentos de cirugía e higiene y para lavar animales con fines de sanificación.
 DILUCIÓN 1:500 = 1 litro de Vanodine* Fam en 500 litros de agua (400 lit de Vanodine* Fam en 200 litros de agua).
 Para lavado y desinfección de instalaciones, equipo de procesamiento, espasadoras, bandejas (después de recubrir) y alimentos vegetales cuando se requiere.
 DILUCIÓN 1:1200 = 1 litro de Vanodine* Fam en 1200 litros de agua (187 lit de Vanodine* Fam en 200 litros de agua).
 Para desinfectar y potabilizar el agua de consumo.
 DILUCIÓN 1:2000 = 1 litro de Vanodine* Fam en 2000 litros de agua (180 lit de Vanodine* Fam en 200 litros de agua).

ADVERTENCIA
 Vanodine* Fam es un producto de uso veterinario que si decoremos indica pérdida de la actividad generada de la misma. Evite que se utilicen situaciones que así permitan su efecto desinfectante. Está en una versión rosa de Vanodine* Fam sobre los desinfectantes comunes.
 Mantener fuera del alcance de los niños.
 Manténgalo en lugar fresco a temperaturas inferiores a 35 °C.

Contenido Neto: 20 litros

Ilustración 2. Ficha técnica Vanodine*Fam

AMONIO CUATERNARIO





AMONIO CUATERNARIO MAYMÓ 20%

DESCRIPCIÓN
Solución desinfectante de uso zoonosanitario.

ACCIÓN
Indicado para las especies de microorganismos (bacterias y hongos) habituales en el ámbito ganadero.

USO
Plagada de uso en el entorno ganadero para la desinfección de establos, jaulas, salas de espera y establos en general.
Para la desinfección en general, utilizar de 1 a 2 ml de Amonio Cuaternario Maymó 20% por litro de agua, con una exposición de 90 a 30 segundos, respectivamente.
Utilizar en ausencia de animales. Plan de seguridad antes de la entrada de los animales al recinto tratado: 1 hora.

FORMATO
Envases de 1 L, 5 L y 25 L

COMPOSICIÓN
Por 100 ml de producto:
Cloruro de alquil-bencil-
dimetil-amonio 20 g.

Un producto de
LABORATORIOS MAYMÓ, S.A.

Laboratorios Maymó, S.A.
Via Augusta 302
08017 Barcelona
Tel: 932 370 220
comercial@maymo.es
www.maymo.es

✓ VENTAJAS

- Altamente eficaz y de rápida acción
- En solución no es corrosivo para los materiales
- Versátil y sencillo de usar
- Soluble y estable en agua en cualquier proporción

Ilustración 3. Ficha técnica Amonio cuaternario Maymó 20%

ANEXO 2. Supuesto del ANOVA de Normalidad y Homogeneidad

Tabla 4.1. Prueba de normalidad

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogórov-Smirnov			Prueba de Levene		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Aeróbios_mesófilos	0,509	20	0,06	0,433	20	0,07
Salmonella	0,527	20	0,07	0,351	20	0,09
E_coli_externa	0,527	20	0,06	0,351	20	0,08

a. Corrección de la significación de Lilliefors

b. E_coli_interna es una constante y se ha desestimado.

ANEXO 3. Análisis microbiológico inicial



Santo Domingo, 11 de agosto del 2020

Quien suscribe, Dr. Héctor Leonardo Garzón Jaramillo portador de C.I. 1709950925 con cargo Analista de Laboratorio de Control de Calidad de la Empresa Pública Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Santo Domingo (EPMAPA-SD), certifica que:

La Ing. Karla Fernanda Cavallos García e Ing. María del Pilar Quiñonez Alvarado realizaron los análisis microbiológicos en las instalaciones del Laboratorio de Control de Calidad como parte del Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Magister en Agroindustrias con el tema: **Biocidas eficientes para control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y aerobios mesófilos en huevos de gallina comerciales de Avícola El Jacalito.**

A continuación, se presentan los resultados obtenidos del análisis microbiológico en huevos de gallina comerciales antes de la aplicación de los biocidas:

Fecha de análisis: 09 de marzo del 2020

Parámetro	Método de ensayo	Recuento (UFC)
Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5 (ISO-4833)	2×10^2
<i>E. coli</i> (externa)	NTE INEN 1529-6 (ISO 6887-4)	4
<i>E. coli</i> (interna)	NTE INEN 1529-6 (ISO 6887-4)	Ausencia
<i>Salmonella</i> spp	NTE INEN 1529-16 (ISO 6579-1)	2





SISTEMA PÚBLICO MUNICIPAL
DE AGUA POTABLE
Y ALCANTARILLADO

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a la Ing. Karla Fernanda Cavallos García e Ing. María del Pilar Quiñonez Alvarado hacer uso del presente documento en lo que estimen conveniente.

Atentamente,




Dr. Héctor Garzón

Analista de Laboratorio de Control de Calidad EPMAPA-SD

C.I. 1709950925



ANEXO 4. Manual de uso del nebulizador Carlitos Premium

MANUAL DE USUARIO

STANDARD NEBULIZADOR

Por favor, lea las instrucciones cuidadosamente antes de utilizar el producto.

1. ¿Cuál es el nebulizador?

El sistema nebulizador compresor de aire medicinal es un dispositivo médico diseñado para entregar la medicación prescrita por un médico a las vías respiratorias de los pulmones. El compresor nebulizador y aire en un mismo proporciona una niebla de aerosol para la inhalación por el paciente para el tratamiento médico solamente.

2. ¿Cómo funciona el nebulizador?

Esta unidad es compacta, fácil de manejar y cómodo de llevar. Utiliza un lubricante no petrolera, bomba de pistón de un solo cilindro para crear la presión del aire.

El aire fluye a través del filtro de aire en la unidad del compresor de aire del nebulizador, la boquilla de salida a través del nebulizador.

El flujo de aire principal dentro y fuera de la unidad de compresor de aire se ilustra en la figura 1.

ANEXO 5. Preparación de los tratamientos



Ilustración 1. Biocidas: Cid 20, Vanodine y Amonio cuaternario (Laboratorio de Química del IST- Calazacón)



Ilustración 2. Preparación de materiales de laboratorio (Laboratorio de Química del IST-Calazacón)



Ilustración 3. Preparación de las soluciones de Biocidas (Cid 20, Vanodine y Amonio cuaternario)



Ilustración 4. Soluciones de biocidas listas en diferentes concentraciones

ANEXO 6. Selección de muestras y aplicación de biocidas



Ilustración 1. Cajones de acero galvanizado colocados en bodega de la avícola



Ilustración 2. Biocidas, equipo nebulizador, materiales de laboratorio y cajón de acero galvanizado que contiene las cubetas de huevos.



Ilustración 3. Colocación de soluciones de biocidas en el recipiente nebulizador



Ilustración 4. Proceso de nebulización a las cubetas de huevos

ANEXO 7. Toma de muestras a los 21 y 28 días



Ilustración 1. Salmonella spp



Ilustración 2. E. coli externa

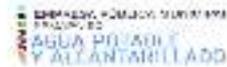


Ilustración 3. E. coli interna



Ilustración 4. Aerobios mesófilos

ANEXO 8. Análisis microbiológico final



Santo Domingo, 11 de agosto del 2020

Quien suscribe, Dr. Héctor Leonardo Garzón Jaramila portador de C.I. 1709950926 con cargo Analista de Laboratorio de Control de Calidad de la Empresa Pública Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Santo Domingo (EPMAPA-SD), certifica que:

La Ing. Karla Fernanda Cevallos García e Ing. María del Pilar Quiñones Alvarado realizaron los análisis microbiológicos en las instalaciones del Laboratorio de Control de Calidad como parte del Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Magister en Agroindustrias con el tema: **Biocidas eficientes para control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y aerobios mesófilos en huevos de gallina comerciales de Avícola El Jacalito.**

A continuación, se presentan los resultados obtenidos:

Fecha de análisis: 15 de marzo del 2020

DÍA 21					
Tratamiento	Descripción	Aerobios mesófilos (UFC)	Salmonella (UFC)	E. coli (interna) (UFC)	E. coli (externa) (UFC)
T1	a1b1	1.0×10^4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T2	a1b2	2.0×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T3	a1b3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T4	a2b4	2×10^4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T5	a2b5	2.0×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T6	a2b6	2×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T7	a3b7	1×10^4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T8	a3b8	1×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T9	a3b9	1×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T10	Sin desinfectar	2.0×10^3	1	Ausencia	4



Fecha de análisis: 26 de marzo del 2020

DIA 28					
Tratamiento	Descripción	Aerobios mesófilos (UFC)	Salmonella (UFC)	E. coli (interna) (UFC)	E. coli (externa) (UFC)
T1	a1b1	1.0×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T2	a1b2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T3	a1b3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T4	a2b4	2×10^3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T5	a2b5	1.0×10^3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T6	a2b6	2×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T7	a3b7	1×10^4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T8	a3b8	1×10^2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T9	a3b9	1×10	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T10	Sin desinfectar	2.0×10^3	2	Ausencia	6

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a la Ing. Karla Fernanda Cevallos García e Ing. María del Pilar Quiñonez Alvarado haber uso del presente documento en lo que estimen conveniente.

Atentamente,




Dr. Héctor Garzón J.

Analista de Laboratorio de Control de Calidad EPMAPA-SD

C.I. 1709950925

ANEXO 9. Preparación de placas Petri film de *Aerobios mesófilos*, *Salmonella* spp y *E. coli externa*



Ilustración 1. Aerobios mesófilos

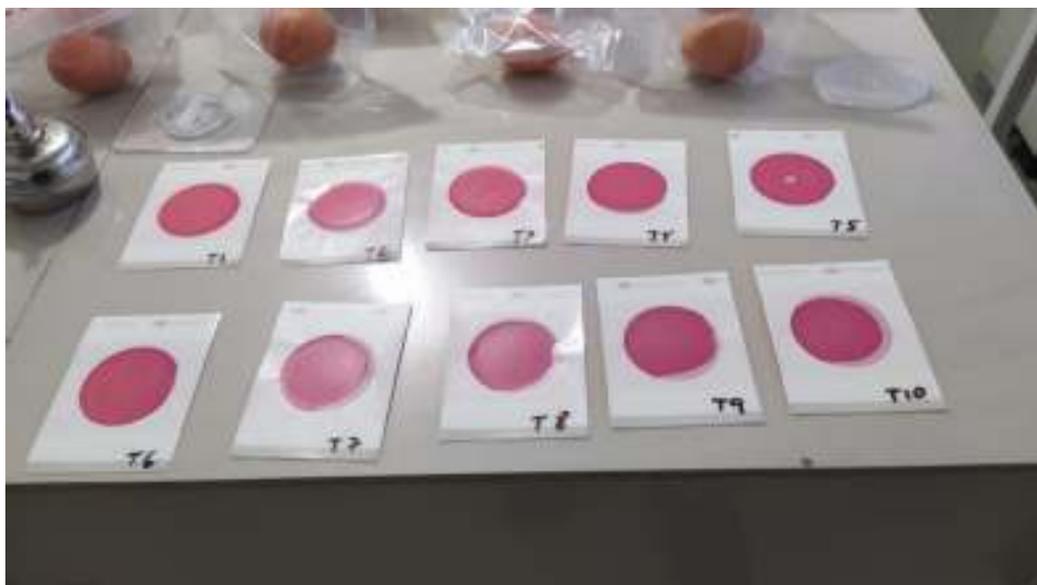


Ilustración 2. Salmonella spp.



Ilustración 2. E. coli externa

ANEXO 10. Preparación de placas petrifilm de *E. coli* interna



Ilustración 1. E. coli interna