



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

DIRECCIÓN DE CARRERA: PECUARIA

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EFFECTOS DE LA DESINFECCIÓN POR INMERSIÓN,
ASPERSIÓN Y NEBULIZACIÓN EN HUEVOS FÉRTILES COBB
500 PARA LA INCUBACIÓN**

AUTORES:

**DIEGO ARMANDO ZAMBRANO MERA
BRYAN ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO**

TUTOR:


M.V. VICENTE INTRIAGO MUÑOZ, Mg. Sc

CALCETA, NOVIEMBRE DE 2021

DERECHOS DE AUTORÍA

DIEGO ARMANDO ZAMBRANO MERA y **BRYAN ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO**, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

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 por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.



Diego A. Zambrano Mera



Bryan A. Zambrano Zambrano

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

MV. VICENTE INTRIAGO MUÑOZ Mg.Sc, certifica haber tutelado el trabajo de titulación **EFFECTOS DE LA DESINFECCIÓN POR INMERSIÓN, ASPERSIÓN Y NEBULIZACIÓN EN HUEVOS FÉRTILES COBB 500 PARA LA INCUBACIÓN**, que ha sido desarrollado por **DIEGO ARMANDO ZAMBRANO MERA** y **BRYAN ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO**, previa a la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



Firmado electrónicamente por:
**VICENTE
ALEJANDRO
INTRIAGO MUNOZ**

MV. VICENTE INTRIAGO MUÑOZ Mg.Sc

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han aprobado el informe de trabajo de titulación **EFFECTOS DE LA DESINFECCIÓN POR INMERSIÓN, ASPERSIÓN Y NEBULIZACIÓN EN HUEVOS FÉRTILES COBB 500 PARA LA INCUBACIÓN**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por **DIEGO ARMANDO ZAMBRANO MERA y BRYAN ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



Firmado electrónicamente por:
**MAURO MANABI
GUILLEN
MENDOZA**

M.V.Z. MAURO GUILLEN MENDOZA, Mg.

MIEMBRO



Firmado electrónicamente por:
**MARCO ANTONIO
ALCIVAR
MARTINEZ**

M.V. MARCOS ALCÍVAR MARTÍNEZ, Mg.

MIEMBRO

Q.F. JOHNNY BRAVO LOOR, PhD

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme lograr esta meta con tanto esfuerzo y perseverancia.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de buena calidad.

A mis padres especialmente a mi querida madre por todos los esfuerzos que realiza para poder seguir con mis estudios y culminarlos de la mejor manera, así mismo agradecer a mis hermanos que siempre estuvieron presente en toda mi carrera universitaria,

A mi gran amigo y hermano Bryan Zambrano por apoyarme y brindarme su ayuda en toda esta etapa, por otro lado, a mi mejor amiga y querida colega Ingrid Cedeño por estar siempre conmigo en los malos y en los buenos momentos, así mismo al resto de mis verdaderos amigos.

A mi estimado tutor y amigo M.V. Vicente Intriago Muñoz por el aporte de sus grandes conocimientos, también a la Universidad por abrirme sus puertas y poder cumplir esta meta y a cada uno de los docentes por sus enseñanzas.

DIEGO ARMANDO ZAMBRANO MERA

DEDICATORIA

A Dios por el valor que me dio para culminar esta esta universitaria.

A mis padres, hermanos y familia que siempre estuvieron presente para brindarme su apoyo.

DIEGO ARMANDO ZAMBRANO MERA

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios por permitirme culminar con éxito esta carrera y por darme fuerzas y valor en cada una de las decisiones que he tomado para bien común y para bien de la comunidad.

A mis padres por los consejos que siempre me brindaron en toda esta etapa universitaria ya que sin aquellas palabras de ellos no hubiera llegado hasta este punto de mi vida.

A mis hermanas y hermanos por la confianza puesta en mí, a mi hermana Germania por su apoyo económico y moral que me brindo en todo este proceso.

A mi compañero de tesis y mejor amigo Diego Zambrano por estar en los buenos y malos momentos, por el apoyo y motivación que siempre me ofrece.

A los profesores que fueron unos guías en todo este proceso de aprendizaje impartiendo conocimiento para ser mejores profesionales.

A mi tutor M.V. Vicente Alejandro Intriago Muñoz por los conocimientos y asesoramiento ofrecido en este proyecto de tesis.

BRYAN ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación producto de una extensa carrera universitaria va dedicado principalmente a Dios por darme salud y sabiduría en toda esta etapa de formación ya que sin él no habría culminado este proceso tan importante para mi vida.

A mis padres, hermanos y hermanas por brindarme su apoyo en todo momento razón importante para llegar hasta esta etapa de superación como profesional.

BRYAN ANDRES ZAMBRANO ZAMBRANO

CONTENIDO GENERAL

CARÁTULA.....	i
DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL.....	ix
CONTENIDO DE TABLAS.....	xii
CONTENIDO DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	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
1.4. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. ESTRUCTURA DEL HUEVO	5
2.1.1. CÁSCARA.....	5
2.1.2. CUTÍCULA	6
2.1.3. POROS	6
2.1.4. MEMBRANA	7
2.1.5. YEMA.....	8
2.1.6. CLARA	9
2.2. MANEJO DE HUEVOS FÉRTIL	10
2.2.1. NIDALES.....	10
2.2.2. HIGIENE DE LOS NIDOS	10
2.2.3. RECOLECCIÓN DE HUEVOS	11
2.2.4. TRANSPORTE DE LOS HUEVOS.....	11
2.2.5. ALMACENAMIENTO DE LOS HUEVOS.....	12
2.2.6. SELECCIÓN DE HUEVOS A INCUBAR	13

2.3. CONTAMINACIÓN DEL HUEVO FÉRTIL	13
2.3.1. CONTAMINANTES BACTERIANOS	14
2.3.1.1. <i>Salmonella ssp</i>	15
2.3.1.2. <i>Escherichia Coli ssp</i>	16
2.3.2. CONTAMINANTES MICÓTICOS	16
2.3.2.1. <i>Penicillium ssp</i>	16
2.3.2.2. <i>Aspergillus spp</i>	17
2.4. INCUBACIÓN ARTIFICIAL.....	17
2.5. CALIDAD DEL POLLITO BB.....	18
2.6. MÉTODOS DE DESINFECCIÓN	19
2.6.1. DESINFECCIÓN POR INMERSIÓN	19
2.6.2. DESINFECCIÓN POR ASPERSIÓN.....	20
2.6.3. DESINFECCIÓN POR NEBULIZACIÓN	20
2.7. TIPOS DE DESINFECTANTES	21
2.7.1. FENOLES	21
2.7.2. AMONIO CUATERNARIO.....	22
2.7.3. GLUTARALDEHÍDO	22
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	24
3.1. UBICACIÓN	24
3.1.1. CONDICIONES CLIMÁTICAS.....	24
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO	24
3.3. MÉTODOS, TÉCNICAS	24
3.3.1. MÉTODO	24
3.3.2. TÉCNICA	25
3.4. FACTORES EN ESTUDIO.....	25
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
3.5.1. TRATAMIENTOS.....	26
3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	26
3.7. VARIABLES A MEDIR	27
3.7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	27
3.7.2. VARIABLES DEPENDIENTES.....	27
3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO	27
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	33
3.9.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	33
3.9.2. PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA (TUKEY).....	33
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35

4.1. CARGA BACTERIANA Y MICÓTICA EN HUEVOS FÉRTILES COBB 500	35
4.1.1. CARGA BACTERIANA EN HUEVOS FÉRTILES	35
4.1.2. CARGA MICÓTICA EN HUEVOS FÉRTILES	37
4.1.2.1. <i>PENICILLIUM</i> EN HUEVOS FÉRTILES	37
4.1.2.2. <i>ASPERGILLUS</i> EN HUEVOS FÉRTILES.....	39
4.2. <i>SALMONELLA</i> EN HUEVOS FÉRTILES.....	41
4.3. HUEVOS CONTAMINADOS.....	42
4.4. CALIDAD DE POLLITOS COBB 500	43
4.5. COSTO DE LA DESINFECCIÓN	44
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
5.1. CONCLUSIONES	45
5.2. RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS.....	51

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 3.1. Condiciones climáticas.....	24
Tabla 3.2. Distribución de los tratamientos con sus respectivos desinfectantes y métodos de desinfección.....	26
Tabla 3.3. Esquema de ADEVA	26
Tabla 3.4. Amonio cuaternario por inmersión	32
Tabla 3.5. Amonio cuaternario por aspersion	32
Tabla 3.6. Amonio cuaternario por nebulización.....	32
Tabla 3.7. Fenol por inmersión.....	32
Tabla 3.8. Fenol por aspersion.....	33
Tabla 3.9. Fenol por nebulización	33
Tabla 4.1. Test de Shapiro Wilk y Test de Levene para las variables en estudio	35
Tabla 4.2. Prueba de Kruskal-Wallis para métodos de desinfección por inmersión, aspersion y nebulización en cuanto a la carga bacteriana	36
Tabla 4.3. Prueba de Kruskal-Wallis para el desinfectante amonio cuaternario y fenol en cuanto a la carga bacteriana.	36
Tabla 4.4. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor A en cuanto a <i>Penicillium</i> en huevos fértiles.....	38
Tabla 4.5. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor B en cuanto a <i>Penicillium</i> en huevos fértiles.....	38
Tabla 4.6. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor A en cuanto a <i>Aspergillus</i> en huevos fértiles.....	40
Tabla 4.7. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor B en cuanto a <i>Aspergillus</i> en huevos fértiles.....	40
Tabla 4.8. Análisis de <i>Salmonella</i> en huevos fértiles.....	42
Tabla 4.9. Análisis de varianza para la variable huevos contaminados.	42
Tabla 4.10. Calidad de pollitos Cobb 500	43

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 4.1. Carga bacteriana de <i>E. Coli</i> en huevos fértiles.....	37
Figura 4.2. Cajas y bigotes de los diferentes métodos de desinfección en huevos fértiles	38
Figura 4.3. Carga micótica de <i>Penicillium</i> con el uso de métodos de desinfección y desinfectantes.	39
Figura 4.4. Carga micótica de <i>Aspergillus</i> por tratamientos.....	41
Figura 4.5. Porcentaje de huevos contaminados por tratamientos durante la incubación.....	43

RESUMEN

Se evaluó tres métodos de desinfección y dos tipos de desinfectantes. Se aplicó un DCA con arreglo factorial 3x2, donde los factores en estudio fueron los siguientes: Factor A: Métodos de desinfección (Inmersión, aspersión, nebulización) Factor B: Tipo de desinfectante (Amonio cuaternario, fenol). Las variables a medir fueron: Carga bacteriana (*E.coli*, *Salmonella*) y micótica (*Penicillium*, *Aspergillus*) en huevos fértiles, porcentaje de huevos contaminados durante la incubación, nivel bacteriano *E.coli* y *Salmonella* en pollitos bb. Los resultados para la variable *E. coli* mostraron que el T1 (Amonio Cuaternario por inmersión) obtuvo el valor bacteriano más alto con 63,25 UFC/gr y el T6(fenol por nebulización) fue el que presentó carga bacteriana más baja con 6 UFC/gr, sin embargo, no se encontraron diferencia significativa entre los tratamientos. La variable *salmonella* en huevos fértiles mostraron que todos los tratamientos presentaron ausencia de microorganismo. Se encontraron diferencia significativa para el factor A en la variable *Penicillium*, siendo el T3 (Amonio cuaternario por Nebulización) el que menos carga de este microorganismo obtuvo, con $1,5 \times 10^2$ UFC/g y el T2(Amonio Cuaternario por Aspersión) el que asumió mayor valor de *Penicillium* $19,75 \times 10^2$; para *Aspergillus* no mostró diferencias entre los factores; en huevos contaminados no presentaron diferencias significativas entre los datos; en niveles bacteriano en pollitos bb no mostraron presencia de estos microorganismos. Se concluye que el método de nebulización con cualquier tipo de desinfectante disminuye la carga bacteriana y micótica en los huevos fértiles sin embargo el método más económico para la desinfección es el de fenol por aspersión.

PALABRAS CLAVE

Microorganismos, contaminación, pollitos bb, amonio cuaternario, fenol

ABSTRACT

Three disinfection methods and two types of disinfectants were evaluated. A DCA was applied with a 3x2 factorial arrangement, where the factors under study were the following: Factor A: Disinfection methods (Immersion, spraying, nebulization) Factor B: Type of disinfectant (Quaternary ammonium, phenol). The variables to be measured were: Bacterial load (*E.coli*, *Salmonella*) and fungal (*Penicillium*, *Aspergillus*) in fertile eggs, percentage of contaminated eggs during incubation, *E.coli* and *Salmonella* bacterial level in bb chicks. The results for the variable *E. coli* showed that T1 (Quaternary Ammonium by immersion) obtained the highest bacterial value with 63.25 UFC / gr and T6 (phenol by nebulization) was the one that presented the lowest bacterial load with 6 UFC / gr, however, no significant difference was found between the treatments. The variable *salmonella* in fertile eggs showed that all treatments presented an absence of microorganisms. A significant difference was found for factor A in the *Penicillium* variable, being T3 (Quaternary Ammonium by Nebulization) the one that obtained the least load of this microorganism, with 1.5×10^2 UFC / g and T2 (Quaternary Ammonium by Aspersión) the one that assumed the highest *Penicillium* value 19.75×10^2 ; for *Aspergillus* it did not show differences between the factors; in contaminated eggs they did not show significant differences between the data; bacterial levels in bb chicks did not show the presence of these microorganisms. It is concluded that the nebulization method with any type of disinfectant reduces the bacterial and fungal load in fertile eggs, however the most economical method for disinfection is the spray phenol.

KEY WORDS

Microorganisms, contamination, bb chicks, Quaternary ammonium, phenol.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Una de las grandes complicaciones de las plantas de incubación es la presencia de huevos contaminados y huevos bomba, problema que está relacionado con el manejo incorrecto de los huevos en granja. Dentro de un programa avícola uno de los problemas gravitantes en la producción de huevos y pollitos libres de contaminación es el manejo adecuado de los procesos de bioseguridad, el tratamiento inadecuado de estos puede reducir la incubabilidad y afectar el rendimiento una vez nacido el pollo (Tandazo, 2012).

Las industrias avícolas busca diversas opciones farmacéuticas frente al uso de desinfectantes en huevos fértiles, esta es una etapa de vital importancia tanto en la elección del desinfectante como en el método en el cual se lo va a utilizar además es también una etapa primordial en el huevo fértil, debido a que de esto dependerá la obtención de huevos con menor carga bacteriana y de la mejor calidad para llevar a incubación y de esta forma no se vean afectados los parámetros productivos al momento de ser criados (Cristancho, 2014).

Los contaminantes bacterianos que ocasionan problemas en el huevo fértil, son principalmente las enterobacterias, estas son bacilos gran negativos, aerobios y anaerobios facultativos. Los huevos contaminados que no tienen un proceso embrionario en la incubadora tal vez consigan afectar también al desarrollo de los huevos que están sanos. Si un huevo contaminado llega a explotar o agrietarse en la incubadora o en la nacedora, puede propagar las bacterias a otros huevos o a los pollitos que acaban de nacer, incluso un huevo contaminado puede afectar totalmente la planta de incubación (Argueta, citado por Rodríguez y Cruz, 2017).

Las incubadoras en los últimos años han evolucionado debido a que se ha convertido en un elemento fundamental dentro de los procesos productivos tales como estándares de calidad, higiene y bioseguridad. Los diferentes procesos realizados en la sala de incubación están admitidos por la comunidad científica, en definitiva, los resultados que se obtengan van a depender de propio proceso de incubación, higiene y bioseguridad de la planta (González y Balaguer, 2011).

Las bacterias *Salmonella* y *Escherichia coli*, son microorganismos que han sido aisladas de la cáscara de huevo y esto es evidente por lo que el huevo sale de la gallina por el mismo sitio donde esta excreta sus heces, lo que produce una contaminación vertical cuando los ovarios u oviductos están infectados, u horizontalmente una vez que salieron de la gallina por la tierra, heces y otras fuentes de contaminación en el ambiente (Bain, citado por Serrano, 2017).

Con estos antecedentes, surgen la siguiente interrogante ¿influyen los distintos métodos de desinfección en los huevos fértiles COBB 500 en la disminución de carga bacteriana, micótica y la calidad para la incubación?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La industria avícola en los últimos años se ha desarrollado vertiginosamente a nivel cuantitativo como cualitativo, constituyéndose así la incubación como una de las áreas determinantes con gran desarrollo y cuyo objetivo es producir un pollito saludable y de excelente calidad. Por esto, es fundamental averiguar los agentes que afectan la incubabilidad en aves, por lo que es de gran importancia para el desarrollo del embrión, y de presentarse errores en el proceso, afectan de forma significativa la producción (Herrera, citado por Rodríguez y Cruz, 2017).

Para la identificación de las posibles fuentes de contaminación de *salmonella*, los huevos a incubar son unas de las primeras, dado que la *Salmonella* puede transmitirse verticalmente a través de los mismos huevos, pero que también puede contaminar las membranas de la cáscara en el momento de la puesta y en el proceso de enfriamiento siguiente del huevo (León, 2015).

Según Yáñez (2012) indica que el uso de un desinfectante que sea efectivo, es esencial para minimizar la contaminación sobre la superficie de la cáscara. Las diferentes clases de desinfectantes matan a los microbios de distintas maneras, por lo que hay que ser específico en el uso de este. La aplicación inmediata del desinfectante tan pronto cuando los huevos se recojan es de suma importancia, esto es debido a que entre más tiempo se demoren en aplicar la desinfección más probabilidades existe de que la carga microbiana aumente y puedan entrar en la cáscara mediante los poros y establecerse allí.

La importancia de la presente investigación es establecer el método de desinfección más eficaz en huevos COBB 500 para incubar, con el objetivo de proveer un huevo con buena calidad en el proceso de incubación, ya que las etapas de desinfección es una de las medidas sanitarias primordiales para evitar problemas en el embrión que afectarían a su posterior viabilidad y a la calidad del pollito.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de la desinfección por inmersión, aspersion y nebulización en huevos fértiles COBB 500 para la incubación en la Unidad, Docencia, Investigación y Vinculación planta de incubación ESPAM MFL.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la carga bacteriana *E.coli* y micótica *Penicillium* y *Aspergillus spp*, (UFC/gr.) y mediante la aplicación de los métodos de aspersion, inmersión y nebulización en huevos fértiles COBB 500.

Comprobar cualitativamente la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en huevos fértiles COBB 500 luego de la aplicación de los métodos de aspersion, inmersión y nebulización.

Determinar mediante análisis microbiológicos por presencia o ausencia de las bacterias *E.coli* y *Salmonella spp*, la calidad de pollitos bb.

Establecer el porcentaje de huevos contaminados y el método de desinfección con mayor eficacia en los huevos fértiles COBB 500.

1.4. HIPÓTESIS

Existe diferencias en la carga bacteriana y micótica de los huevos fértiles para la incubación empleando distintos métodos de desinfección.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. ESTRUCTURA DEL HUEVO

La estructura del huevo está diseñada para mantener al embrión del que surgiría el pollito bb después de la eclosión y también dicha estructura ha sido creada por la naturaleza para dar protección y mantener al mismo. Su contenido es de un gran valor nutritivo que es capaz de dar origen por sí mismo a un nuevo ser vivo. Por esta razón, el huevo se encuentra protegido por la barrera física que le proporciona protección de la contaminación del exterior en base a la cascara y de las barreras químicas que le proporcionan los componentes antibacterianos presentes en su contenido (Sandoval, 2009).

Para diferenciar nítidamente sus partes se realiza un corte transversal del huevo: la cascara, el albumen o clara y la yema, están divididos entre sí por medio de membranas que mantienen su integridad. Es importante conocer la estructura del huevo para comprender como debe ser manipulado con el objetivo de garantizar la calidad y seguridad de este alimento. El peso medio de un huevo está en base a los 60 g, de los cuales aproximadamente la clara representa el 60 %, la yema el 30% y la cascara junto a las membranas el 10% del total (Herrera, 2019).

El huevo de gallina tiene un periodo de formación de unas 25 horas de duración, en las que aquel prospera por las diferentes partes del oviducto, siguiendo un cronograma por fases secuencial (Soler y Bueso, 2017).

2.1.1. CÁSCARA

La cascara tiene una gran importancia y es la cubierta exterior del huevo, ya que actúa como barrera bacteriológica y mantiene su integridad física. Está compuesta en su mayor parte, por una matriz cálcica con un entramado orgánico, en el que el elemento de gran importancia es el calcio. Además, se encuentran en su composición otros minerales como magnesio, sodio, boro, aluminio, cobre, hierro y zinc, pero en menores proporciones (Acosta, 2016).

Según Chingal (2015) corrobora que en los huevos de gallina la cascara tiene una coloración siempre uniforme, variando del blanco al marrón en función de la

raza de ponedora. En cuanto a las características bromatológicas y nutricionales el color de la cascara no influye en el huevo: así, aunque la sociedad crea que los huevos morenos son mejores que los huevos blancos, no hay dato científico que avale esta información.

De la alimentación depende principalmente el metabolito mineral de la gallina ya que influye en la calidad o resistencia de la cascara. Además, el estado sanitario, la genética de la gallina y la temperatura ambiental son factores que también intervienen en la calidad de la misma (Nieves, 2014).

2.1.2. CUTÍCULA

La cutícula es una capa proteica muy fina que cubre la superficie del cascarrón que obtura los poros limitando así el movimiento de las partículas, agua y microorganismo a través de la cascara. También, los huevos con cutícula ausente o parcialmente eliminada son más susceptible a la contaminación bacteriana (Niera, 2016).

Estudios han demostrado que entre las 6 a 72 horas después de la puesta han encontrado una cutícula mucho más eficiente. (Muñoz et al., 2015). Además, también depende de la humedad, la temperatura, el PH, la composición química y los tratamientos a los que se hayan sido sometidos (Neira, 2016).

2.1.3. POROS

La capa interior y exterior de la cascara están constituidos de miles de poros que permiten la liberación del dióxido de carbono, la absorción del oxígeno y la humedad. En el instante de la puesta la mayoría de los poros sellan por la cutícula, pero se incrementa el número de poros abiertos al aumentar la edad de las reproductoras (Loayza, 2014).

La capa interna de la cascara está unida a las membranas por numerosas extensiones cónicas afiladas, fibras incrustadas en la membrana denominado poro. Estas estructuras tienen forma de embudo atravesando la cascara (Loayza, 2014).

Los poros tienen superficie ovalada, poseen varios tamaños, son circulares, los más grandes son visibles a simple vista y divididos por espacios irregulares. En cuanto al número de poros de la cascara del huevo, la literatura encontró referencias entre 7 500 a 20 000 poros (Loayza, 2014).

Ciertas investigaciones han demostrado que la cascara es porosa y pueden tener entre 7,000 a 17,000 poros y no es impermeable. La permeabilidad de la cascara influye en la conservación del huevo y en las modificaciones que este experimenta. Pero, existen numerosos poros en la cubierta protectora del huevo que se dejan atravesar del exterior hacia adentro por los microbios, gases y líquidos del ambiente, el cual pueden comunicar al huevo olor y sabor particulares (Valdés, 2009).

La distribución de los poros ocurre de forma irregular, existiendo más abundancia en extremos más anchos y en la línea ecuatorial; escasa en extremo delgado del huevo. Los poros atraviesan la cascara conectando el medio externo con el medio interno, siendo en su entrada de mayor diámetro y más estrechos en la superficie interna (Loayza, 2014).

La longitud de los poros depende del grosor de la cascara del huevo y además no están ramificados, con un promedio de 0,20 mm de longitud, 0,013 mm de diámetro en el extremo externo y 0,006 mm en el extremo interno. Los valores como 15 y 65 μm en el extremo exterior y de 6 a 23 μm en el extremo interior. De la totalidad de los poros solo una pequeña cantidad es decir entre 1 a 100, son penetrados por bacterias, estos poros suelen ser llamados “poros patentes” coincidentemente son algunos que tienen el tamaño que permite tal penetración de bacterias y al ser inapropiadas cerrado por la cutícula (Loayza, 2014).

2.1.4. MEMBRANA

Son dos las membranas que recubren el interior de la cascara: membrana testácea interna y externa. Estas membranas proveen protección contra penetración de bacterias del exterior y rodean el albumen. Cuando el huevo es puesto por la gallina, las membranas testáceas se encuentran fuertemente pegadas entre sí. Después de la puesta, debido a la concentración del volumen del contenido en el interior del huevo al enfriarse (la temperatura del huevo recién

puesto es de 39 °C, la misma que la temperatura de la gallina) penetra aire en el polo grueso, esto se da por la mayor concentración de poros y se separa en esta zona las membranas para formar la cámara de aire (Sandoval, 2009).

La membrana interna tiene una fina estructura de fibras de queratina entrelazadas y la presencia de lisozima en la matriz albuminosa impide la entrada de algunos microorganismos y retarda la entrada de otros. La membrana externa es mucho más porosa y sirve como asentamiento para la formación de la cáscara. Ambas membranas se forman alrededor de la parte comestible del huevo en el istmo, que es la porción del oviducto situada entre el magno y el útero o glándula cascarógena que, tal y como dice su nombre, es el lugar donde se forma la cáscara del huevo (Sandoval, 2009).

La cámara de aire es el espacio vacío formado entre la albúmina (clara) y la cáscara en el extremo más ancho del huevo. Se empieza a formar una vez que se produce la contracción del contenido del huevo al enfriarse después de la puesta. En el caso de que el huevo sufriera un proceso de incubación, esta cámara se haría mayor debido a la evaporación y absorción de material por parte del embrión (Gómez y Valero, 2006).

Este espacio de aire es vital para el desarrollo del embrión: permite la evaporación dentro de una estructura rígida, es útil al polluelo para su movilidad y sirve para respirar cuando rompe la membrana interior antes de eclosionar además es importante supervisar el tamaño de esta cámara de aire durante la incubación es vital para poder hacer alguna modificación en este período (Gómez y Valero, 2006).

2.1.5. YEMA

La yema o vitelo del huevo tiene forma esférica constituida por un disco germinal rodeado de la membrana vitelina de naturaleza proteica. Es una emulsión de grasa en agua, con una cifra aproximada al 50 % en extracto seco. Su composición es principalmente lipídica (dos tercios) y proteico (un tercio), con otros componentes minoritarios (Chingal, 2015).

El contenido de glúcidos libres y combinados es similar al encontrado en la clara. En cuanto a los elementos minerales, los más abundantes son el calcio, el potasio y el fósforo (Chingal, 2015).

En lo concerniente al color de la yema este varía desde el amarillo claro al anaranjado rojizo; este color se debe a los carotenoides que contiene, que varían con la alimentación del ave; así, los huevos de aves alimentadas con maíz tienen yemas bastante amarillentas. La mayoría de los pigmentos carotenoides de la yema no se traducen directamente en vitamina A; esto es, las yemas más coloreadas, no son necesariamente más ricas en vitamina A (Chingal, 2015).

Las proteínas de la yema son esencialmente la fosvitina y la lipovitelinina, también se encuentran la lipovitelina, de baja densidad y unas proteínas globulares, las livetinas, procedentes del plasma sanguíneo (Samayoa, 2005).

2.1.6. CLARA

La clara es un líquido transparente ligeramente blanquecino compuesto en su mayoría por agua y proteínas como la ovoalbúmina, la conalbúmina y le ovomucoide. En la clara se distingue el albumen denso y el fluido (Castro, 2017).

El albumen como también se le conoce tiene una estructura de gel tras la puesta, pero poco a poco se fluidifica, sobre todo antes de las primeras 48 horas. Esto es debido a una evolución del complejo ovomucina-lisozima y no a una hidrólisis de las proteínas (Samayoa, 2005).

La albúmina en los huevos crudos es opalescente y no aparece blanca hasta que es batida o cocida. Una apariencia verdosa o amarillenta cuando está cruda puede ser indicadora de riboflavina. Una clara densa se debe a la presencia de dióxido de carbono el cual no tuvo tiempo de escapar a través del cascarón, e indica un huevo muy fresco (Samayoa, 2005).

Para conservar los huevos frescos se pueden mantener en atmósfera de dióxido de carbono (4 % de CO₂) y a 10 °C lo que retrasa la elevación del Ph y la licuefacción de la clara. Se puede también mantener la calidad de los huevos conservándolos a -1 °C y con un 90 % de humedad relativa (Samayoa, 2005).

Existe una transferencia de pequeñas moléculas entre la clara y la yema: De la yema a la clara: Hay un paso de aminoácidos libres y de hierro; De la clara a la yema: Hay difusión de agua y paso de iones divalentes. Las proteínas además del agua son las principales constituyentes de la clara, que componen cerca de un 85 % del total del peso seco (Samayoa, 2005).

Los valores relativos en porcentaje de proteínas totales son, poco diferentes de los valores en porcentaje del extracto seco. La principal proteína de la clara del huevo que representa más de la mitad del total, es la ovoalbúmina (Samayoa, 2005).

2.2. MANEJO DE HUEVOS FÉRTIL

2.2.1. NIDALES

Es de gran importancia proporcionar muchos nidos, situando entre cuatro a cinco hembras por nido, que va a depender de la edad que tengan las aves, ya sea en nidos convencionales o mecánicos, también se debe, manejar un diseño que incite a su utilización, a la gallina le atrae más los lugares semi recluso y con poca iluminación (Solano, 2016).

Con los nidos de dos pisos, es necesario abrir primeramente solo el piso superior, esto se realiza para que la gallina tienda a utilizar todos los nidos, por lo contrario, solo van a utilizar la parte inferior del nido. Los nidos tienen que tener una buena ventilación, por lo que se deben realizar en las paredes laterales agujeros que permitan el paso del aire (Solano, 2016).

Para Jiménez (2018) la gran parte de los problemas que suelen afectar en la variabilidad de la incubabilidad, son ocasionados por una gestión incorrecta en los métodos del manejo del huevo previo a ser incubados, es por ende que los nidales son el punto de inicio para comenzar a medir y hablar del pollito de buena calidad. Los niveles de puesta en el piso tienen que ser los mínimos posibles y tendremos que encontrar niveles inferiores al 1 %.

2.2.2. HIGIENE DE LOS NIDOS

Ross, citado por Jiménez (2018) reportaron que cuando el huevo es puesto, su primer contacto va a ser con el nido, y para ello es recomendable utilizar un

material de nido de excelente calidad, el material del nido debe estar almacenado en un depósito que contenga cubierta, con buena ventilación y protegido con mallas anti-pájaros para evitar la contaminación.

Deben ser desinfectados con fármacos de larga duración, sobre todo con paraformaldehído con una dosis de 20 gr por nido, a los 15 días se rellena la cantidad de cama del nido y se coloca de nuevo el desinfectante con la misma cantidad de dosis que al inicio, a los 30 días se debe cambiar completamente la cama del nido y suplantar por una nueva (Roos, citado por Jiménez, 2018).

2.2.3. RECOLECCIÓN DE HUEVOS

Una gran incubación empieza desde la recolecta de los huevos en las granjas y se deben realizar en un tiempo determinado para poder evitar cualquier tipo de contaminación. La recolecta de huevos fértil debe realizarse con el mayor cuidado posible y seguir con cautela las instrucciones de sanidad y bioseguridad de la granja. Después de la selección de los huevos en buen estado, basada en parámetros como frescura, apropiado peso y ausencia de daños externos; se continúa a desinfectarlos y ubicarlos en bandejas, procurando una uniformidad en el tamaño del huevo (Vaca, citado por Rodríguez y Cruz, 2017).

Solano (2016) manifestó que los huevos deben ser recogidos unas 6 a 7 veces cada día, tener en cuenta que en temperaturas altas se debe aumentar el número de recolectas por días, para esto el personal debe desinfectar las manos y es recomendable utilizar guantes de látex procurando disminuir la carga microbiana. Evitar recolectar los huevos en baldes o cestos, esta colecta se debe realizar en bandejas y estas tienen que estar limpias y desinfectadas cada vez que se realice la recolección de los huevos.

2.2.4. TRANSPORTE DE LOS HUEVOS

La transferencia de los huevos a la planta de incubación tiene que ser muy cuidadosa para salvaguardar la calidad de los estos. No se aprobado con seguridad que el transporte, llegue afectar el porcentaje de incubabilidad, sin embargo, es necesario tener varias pautas para que los huevos estén en buen estado para ser incubados (Morales, 2014).

Esta misma autora reporta que los camiones que realizan el traslado de los huevos, tienen que tener condiciones óptimas para que no se produzca ningún daño al embrión, por ende, una adecuada ventilación, humedad y temperatura son muy importantes para que no afecte el porcentaje de incubabilidad de estos.

Solano (2016) indicó que la temperatura en los vehículos debe ser superior de 22 - 26 °C pero esto si es que los huevos son incubados horas después de la llegada de los huevos a la incubadora. La humedad relativa debe estar aproximadamente entre 60 – 70 %. Es importante tener en cuenta que las horas de transporte de los huevos afectan a la incubabilidad.

2.2.5. ALMACENAMIENTO DE LOS HUEVOS

El cuarto frío es el lugar donde se almacenan los huevos, antes de trasladarlos a la incubadora. El enfriamiento muy rápido del huevo destruye al embrión, mientras que un enfriamiento paulatino y lento, permite que el embrión tenga un buen desarrollo. Luego de este enfriamiento intermedio, se llevan los huevos a la temperatura de almacenaje idónea en el tiempo que permanecerán allí (Wang, citado por Cristancho, 2015).

Butcher (2009) en un estudio de manejo de huevos fértiles para incubar demostró que los huevos fértiles almacenados más de 25 días mantenidos en una óptima temperatura y humedad fracasaron en la incubación. Incluso después de 7 días de almacenamiento se produjo un significativo porcentaje de incubabilidad.

Este mismo autor manifestó que para lograr un significativo porcentaje de nacimientos, los huevos no deben permanecer por más de tres días en el cuarto de almacenaje, y estos tienen que estar a una temperatura de 18.3 °C y a una humedad relativa de 78 % aproximadamente.

Los huevos deben almacenarse con el extremo grande hacia arriba, y si estos no se incuban periódicamente en un tiempo de 4 a 6 días cambie la posición y de ahí en adelante será recomendado voltearlos diariamente hasta que sean incubados. Antes de ingresar los huevos para ser incubados, permita que los huevos frescos se calienten paulatinamente a temperatura ambiente para así

lograr que exista mucha humedad que llevará a enfermedades y a una alta mortalidad de embriones (Quituzaca, 2015).

2.2.6. SELECCIÓN DE HUEVOS A INCUBAR

Tullett (2010) manifestó que los huevos óptimos para incubar son los que habitualmente son naturalmente limpios, con una forma oval educada y que se recogen de nidales limpios. Cuando la granja de reproducción y la planta de incubación tienen insuficiencia de huevos, hay una práctica no recomendable, que radica en echar mano de cualquier cosa que parezca un huevo.

Evitar los huevos que estén muy grandes o demasiados pequeños, por lo que esto va afectar el porcentaje de incubabilidad, también se debe evitar incubar huevos que tengan la cáscara delgada y agrietadas ya que se verá afectado por retención de humedad y causaran problemas en el desarrollo del pollito, además de esto los huevos que tenga excesivas deformaciones no se deben incubar, y no limpiar los huevos que se encuentren muy sucios (Reyes, 2019).

Los huevos que tenga forma ovoidea son aquellos que eclosionan mejor, los huevos que estén arrugados, fisurados, con agujeros hechos por la misma gallina, excesivamente puntiagudo, que tengan oscuro el polo, estos huevos van a tener un porcentaje bajo de incubabilidad (Solano, 2016).

Posadas *et al*, citado por Vargas (2015) reportó que el color de la cáscara no tiene una gran influencia en el porcentaje de incubabilidad, sin embargo, el huevo tiene que estar uniforme en toda la superficie y corresponder con el color de la especie dada, además un huevo de alto valor biológico debe tener una correcta forma, en la que se observara notoriamente los polos finos y gruesos.

2.3. CONTAMINACIÓN DEL HUEVO FÉRTIL

García (2013) reportó en una conferencia de jornadas profesionales de avicultura que la contaminación bacteriana del huevo incubable es un factor de gran importancia en la producción de pollos, porque de esto va a depender el porcentaje de pollitos nacidos y que puedan afectar a la calidad de los pollitos. Por ende, el uso de desinfectantes para disminuir la contaminación del huevo

previo a la incubación es una práctica puntual para optimizar el rendimiento productivo.

Este mismo autor menciona que cuando el huevo es puesto la temperatura está alrededor de a 40 °C y dependiendo de la temperatura externa, logra bajar a temperatura ambiente en aproximadamente 4-6 horas. Es entonces en este lapso cuando se forma la cámara de aire, lo que crea una presión favorable al ingreso de bacterias a través de los poros de la cascara. Por aquello, para lograr que la desinfección posea una mayor eficacia, es necesario realizar la desinfección entre las dos horas de puesta del huevo.

Según Gracia 2015) reportó que unos de los factores más importante de contaminación se dan principalmente en el ponedero, cuando se a origina la contaminación de la superficie del huevo, esta empieza a disminuir paulatinamente de forma natural. Esto es debido a la a acción antibacteriana de las proteínas y lípidos que conforman la cutícula y a que la cáscara no es un medio imponderable para el desarrollo bacteriano. Cuando el huevo es puesto, la cutícula surge como una capa gruesa de líquido viscoso, y a medida que pasa los minutos esta capa se seca, pero debe pasar aproximadamente unas 6 horas tras la puesta del huevo, para que la cutícula tenga una barrera física eficaz contra las bacterias (García, 2015).

2.3.1. CONTAMINANTES BACTERIANOS

García (2015) señaló que los huevos limpios por lo general poseerán una carga bacteriana entre 3×10^2 a 3×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC/cm²).

Según Jimenéz (2018) en su trabajo de tesis con el tema 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 Fusagasugá, Gundinamarca para el manejo de muestra se realizó el correspondiente muestreo, se preparó el agar McConkey para la detección de microorganismos coliformes y el Sabouraud para la detección de hongos, posteriormente se tomaron los huevos y se realizó una impronta sobre el medio de cultivo donde fue sellado y marcado, las muestras del agar McConkey fueron llevadas a laboratorio a una temperatura de 37° C, en un tiempo de 48 horas.

El Sabouraud se llevó al laboratorio a una temperatura ambiente, en un tiempo de 5 días. En este tiempo se determinó el crecimiento de colonias y para la identificación de cada coliformes y hongo se realizó una prueba bioquímica, para la identificación de los coliformes presentes en el proyecto por el sistema BBL, ENTEROTUBE II y el sistema API 20 E, los cuales se usan para el reconocimiento de bacterias Gram negativas, se incubo a 36° C durante 24 horas. Para los hongos se usó el sistema API 20 C, en donde se incubo a 35°C durante 2 horas.

2.3.1.1. *Salmonella ssp*

Para la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología (2011) este género pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* que son bacilos gram negativos y son anaerobios facultativos, que no son formadores de esporas y que habitualmente son móviles por flagelos peritricos, no fermentan sacarosa ni lactosa, pero si fermentan glucosa, manitol y maltosa. En condiciones ambientales distintas, son viables y llegan a morir a una temperatura aproximadamente de 70 °C y sobreviven a la refrigeración y congelación. Están determinados por 3 tipos de antígenos los cuales son: El antígeno somático (O), el flagelar (H) y el antígeno de virulencia (Vi).

En las perspectivas por el control de *salmonella* se ha realizado énfasis en ciertas medidas frecuentes como la desinfección de huevos fértiles, el control de roedores e insectos, el control de tráfico, la educación y capacitación del personal. Últimamente se ha buscado cortar la cadena de transmisión de los microorganismos a través del establecimiento de medidas de bioseguridad, buenas prácticas de manufactura (BPM), análisis de peligros y control en puntos críticos (Hazard Analysis and Critical Control Point HACCP), así como un manejo preciso de la cadena de frío (Suárez y Mantilla, 2000).

Para la identificación de las posibles fuentes de contaminación de *salmonella*, los huevos a incubar son unas de las primeras, dado que la *salmonella* puede transmitirse verticalmente a través de los mismos, pero que también puede contaminar las membranas de la cáscara en el momento de la puesta y en el proceso de enfriamiento siguiente del huevo, hay que tener en cuenta que un par

de huevos infectados puede difundir con facilidad la contaminación a toda la planta de la incubadora, por ende la granja de donde se traen los huevos debe contar con garantías que proporcionen un estado sanitario de los mismos (León, 2015).

Una ruta posible de contaminación de los huevos es por la penetración de *Salmonella* spp. Por medio de la cáscara del huevo y de sus membranas después de la contaminación de la cáscara exterior. La contaminación externa puede ser el resultado de una infección de la cloaca o de la contaminación fecal (Gantois *et al.*, 2009, citado por Chumbi, 2017)

2.3.1.2. *Escherichia Coli* ssp

(*E. coli*) es del género *Escherichia*, los cuales son Gram negativos, catalasa positivos y oxidasa negativos, no esporulante, inmóviles o móviles mediante flagelos peritricos, anaeróbico facultativo y de necesidades nutricionales sencillas (Blanco *et al.*, y Barnes *et al.*, citado por Gibert, 2010). Esta especie bacteriana es predominante del microbiota normal del aparato digestivo de la gran parte de animales y por lo tanto se excreta por las heces al exterior.

Para Canet (2016) *E.coli* es una bacteria mesófila, la temperatura de crecimiento se sitúa entre 7 °C, la congelación tiene poco efectos sobre la población en el alimento, esta es bacteria es eliminada a temperaturas altas de hasta 70 °C. También el pH y la actividad de agua alcanzan influir en la proliferación de *E. coli*.

En un estudio realizado en granjas de reproductoras de distintas edades (30, 45 y 56 semanas) la media de la contaminación de las esterillas del ponedero por *Escherichia coli* fue superior de 4 log UFC/esterilla (104 UFC de *E. coli*/esterilla), oscilando entre 3,4 y 5,4 log UFC/esterilla (García, 2015).

2.3.2. CONTAMINANTES MICÓTICOS

2.3.2.1. *Penicillium* ssp

Es un hongo filamentoso hialina, saprófito. Las colonias son de rápido crecimiento y se observan macroscópicamente al principio blanco y al pasar de los días tienen un color azulado, verde, gris o tonos rosados, y también puede

presentar gotas de exudado. Microscópicamente presenta hifas hialinas septadas, los conidióforos tienen ramas secundarias, denominadas métulas son de forma cilíndrica, con paredes lisas y portan de 3 a 6 fiáldes en formas de matraz (Colección de fichas de Agentes Biológicos, 2016).

Martínez (2003) reportó en un estudio que unos de las grandes complicaciones que ocasiona las *Penicillium ssp* en los animales y en el hombre radica en la posible fabricación de micotoxinas con distintos efectos tóxicos, en alimentos. Los *Penicillium ssp*, pueden considerarse hongos colonizadores tanto en condiciones de campo como de almacenamiento. Las principales toxinas que elaboran esta especie son la ocratoxina y la citrinina. La única especie de *Penicillium ssp* considerada patógena para los animales y el hombre es *P. marneffeii*.

2.3.2.2. *Aspergillus spp*

Este hongo causa la *aspergilosis*, por lo cual es una enfermedad que provoca grandes pérdidas económicas en la industria avícola, *Aspergillus* es un hongo de crecimiento muy rápido que se desarrolla con poca humedad, los hongos se encuentran en todos los lados del ambiente. Este género pertenece a la división *Deuteromycota* y deriva de la clase *Hiphomycetes*, agrupa aproximadamente 180 especies, encontradas en sustratos de suelo, alimentos, aire, etc (Vadillo, citado por Gómez, 2009).

El *Aspergillus spp* es un patógeno oportunista saprofito, estructurados por hifas septadas, se le halla en el suelo, en los vegetales, los piensos y, de forma secundaria, en la atmósfera. La *aspergilosis* se contrae a partir de fuentes ambientales, por inhalación o por ingestión. La capacidad inmunitaria del portador es un preciso fundamento en el desarrollo de la infección (Hernández *et al.*, 2010).

2.4. INCUBACIÓN ARTIFICIAL

Según Cortázar (2009) la incubación artificial es el proceso mediante el cual se convierte el contenido de un huevo fértil en un embrión y dará como resultado un pollito de buena o mala calidad dependiendo de elementos como humedad,

temperatura, volteo y ventilación, lo cual serán factores determinantes en la eficacia de conversión del huevo.

Por otro lado la incubación natural se basa en el mismo proceso, con la variante de que la gallina empollan los huevos sentándose sobre ellos para darles calentura y favorecer el desarrollo del embrión, sin embargo este proceso natural tiene un porcentaje de incubabilidad muy baja, es por ende que se recurre a utilizar incubación artificial ya que de esta manera se obtendrá un mayor porcentaje de incubabilidad lo que va a contribuir con una mayor perspectiva económico-productiva (Vargas, 2015).

Para las granjas avícolas la incubación se ha transformado en una práctica muy importante (Lin *et al.*, 2017). En las aves reproductoras se ha suprimido la incubación natural, debido a que la incubación natural es completamente negativa para el tipo de sistemas intensivos de producción actuales (Hocking, 2009; Cristancho, 2015).

Astudillo y Zhingre (2016) mencionaron que cuando ocurre alteraciones antes y durante el proceso de incubación, se va a tener como resultados que haya contaminación, lo que conlleva a un pollito de mala calidad, por esto es necesario que la incubación artificial se la realice de forma muy minuciosa posible para no tener errores que perjudiquen a la planta de la incubadora y obtener excelentes resultados de incubabilidad.

2.5. CALIDAD DEL POLLITO BB

La calidad de pollito bb es una variable en la producción en el cual se pueden realizar monitoreos, cuantificar y mejorar estándares en todas sus etapas de crianza. Un pollito bb cuando tiene características físicas y serológicas excelentes, es considerado un pollito de buena calidad (Carmona, citado por Astudillo Y Zhingre, 2016).

Cervantes citado por (Astudillo y Zhingre, 2010) mencionó que para medir la calidad de pollito tomo referencia de tres características primordiales las cuales son:

El estado físico, la cual está determinada por el promedio mínimo de peso, que el pollito esté debidamente hidratado y libre de deformidades, etc.

La siguiente característica es la condición microbiológica, lo que quiere decir que el animal este libres de hongos y bacterias patógenas.

Y por último la condición serológica, esta característica se refiere a que el pollito tenga niveles apropiados de anticuerpo maternos para poder defenderse de las enfermedades que se presente en la etapa de crianza. (Pachón, citado por Astudillo y Zhingre, 2016).

2.6. MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

2.6.1. DESINFECCIÓN POR INMERSIÓN

Este método consiste en lavar los huevos en una lavadora cuya temperatura debe ser superior a la de los huevos y la recomendada es de 44- 48 °C, el agua con el cual se va a lavar los huevos debe contener un detergente – desinfectante, es necesario realizar este proceso en una lavadora que no recircule el agua, tener en cuenta que no se debe lavar más de 200 huevos por cada 4 litros de capacidad y el tiempo de inmersión debe ser máximo de 2 minutos con 30 segundos (Tierzucht, citado por Tandazo 2012).

Soares (2008) indicó que el manejo de soluciones para inmersión requiere de algunos equipos, teniendo en cuenta que debe utilizarse una temperatura determinada de lavado que varía entre 38-40 °C. Esta temperatura es diferente a la que menciona Tandazo en su investigación de la influencia en la desinfección de huevos fértiles de gallinas ponedoras pesadas de la línea ROSS 308 en el proceso de incubación, ya que la desinfección por inmersión se realizó a una temperatura de 44 -48 °C.

El método de inmersión tiene por objeto que el antibiótico logre penetrar el interior del huevo, este procedimiento se lo realiza con un lavado previo de los huevos para poder asegurar que ningún microorganismo penetre en el huevo a la misma vez que el antibiótico. La inmersión se la realiza durante unos diez minutos con la precaución de que los productos para el lavado y para la desinfección con antibióticos no causen antagonismo (Callejos, 2010).

2.6.2. DESINFECCIÓN POR ASPERSIÓN

Para Solano (2016) la desinfección por asperjado se tiene que realizar con un desinfectante que no afecte la incubabilidad, este asperjado debe ser con gota gruesa para lograr humedecer toda la superficie de los huevos, también procurar que el agua con lo con el cual se va realizar el proceso no esté contaminada que contenga un pH neutro y que se encuentre con niveles bajos de magnesio e hierro, y lo más importante que el agua este a una temperatura adecuada ya que si está por niveles incorrectos podría ocasionar un shock en los embriones.

Cuando se desinfecta los huevos la fumigación es el método que proporciona muchas ventajas por lo que nos va a permitir desinfectar mayor cantidad de huevos simultáneamente y por ello este método va a minimizar la cantidad de microorganismos, sin embargo se recomienda que esta desinfección se realice entre las 6 horas de puesta del huevo, una de la desventajas que este método va a tener es que el huevo queda humedecido y podría conllevar a que el huevo se contamine, otra limitante es el tamaño de las gotas, ya que los poros talvez queden bloqueados, minimizando el intercambio de gases y por ende pérdida de peso durante la incubación, lo que va dar lugar a una bajo porcentaje de nacimientos (García, citado por Jiménez, 2018).

Para Callejo (2010) la desinfección por aspersión sobre los huevos para incubar bien realizada, asegura la reducción de la carga bacteriana de la cáscara, esto ayudará a que no exista la contaminación en la sala de incubación con agentes patógenos potenciales, como es el caso de la *salmonella*, impidiendo la penetración en la parte interna del huevo. La fumigación se la puede realizar con una mezcla de 60 ml de formaldehído al 40% y 30 g de MnO_4K por cada metro cúbico de la cámara.

2.6.3. DESINFECCIÓN POR NEBULIZACIÓN

Yáñez (2012) señaló que esta desinfección se fundamenta en el método tradicional de exposición a una cámara con gas de forma de nido creado a partir de formalina. El gas producido por la mezcla no ocasiona daños considerados en los huevos cuando se emplea y de no ser así el formaldehído puede ser el promotor del aumento de la mortalidad embrionaria precoz durante el proceso

de incubación, la única desventaja es que posee poco poder residual frente a la recontaminación por aquello es puntual no ubicar el huevo en las bandejas sucias.

Después que los huevos sean desinfectados, se ubican en las cestas o canastillas plásticas o en las cajas de cartón y son trasladados a la bodega de la granja. Los huevos son transportados a una bodega central cada dos días en un transporte totalmente cerrado y de ahí mismo son enviados a la Planta de Incubación cada tres a cuatro veces por semana de la misma forma, en un vehículo completamente cerrado. Se puede trabajar efectuando desinfecciones ya sea simples, dobles o triples (Maica, 2007).

Para la desinfección por este método se pueden elaborar cámaras de madera, ventanas de vidrio, bloque de cemento entre otros, se puede utilizar productos como lo es el Niclodin que es granulado capaz de eliminar bacterias, esporas, virus y hongos, se lo utiliza a porciones de 10, 15 y hasta 20 g por cada fumigada por un tiempo entre 10-20 minutos (Tom, citado por Tandazo, 2012).

2.7. TIPOS DE DESINFECTANTES

2.7.1. FENOLES

Estos compuestos tienen una acción anti séptica, bactericida y fungicida, también se ha demostrado que tiene efectos en el metabolismo de algunas sustancias vitales, como el succinato de sodio y la glucosa. Los fenoles son venenos protoplasmáticos que coagulan las proteínas y son agentes reductores ante la presencia de oxígeno, los fenoles son muy estables y tienen un poder penetrante considerable (Loayza, 2014).

Los fenoles se tornan lechoso con el agua y tienen un olor específico. Estos compuestos son muy efectivos contra los agentes bacterianos y son también seguros contra hongos y muchos virus. Sus usos más frecuentes en las unidades comerciales de producción animal incluyen: salas de incubación, saneamiento de equipos y alfombrillas para los pies (Ricaurte, 2014).

2.7.2. AMONIO CUATERNARIO

Su acción bactericida es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y la rotura de la membrana celular. Los cuaternarios de tercera generación, tienen un incremento en la actividad biocida, mayor detergencia y un incremento en la resistencia bacteriana al uso constante de una sola molécula.

Una de las ventajas de los amonios cuaternarios es que se biodegradan más eficientemente que los fenoles, también en bajas concentraciones son muy eficaces contra microorganismos tales como bacterias, hongos y virus. Cuando los amonios cuaternarios son usados como desinfectantes su uso industrial, doméstico y clínico termina en aguas residuales (Jiménez, 2018).

Los compuestos de amonio cuaternario de la segunda generación (cloruro de etilbencilo) y los de tercera generación (mezcla de primera y segunda generación, Cloruro de Benzalconio y el Cloruro de Alquil Dimetil Etil Bencil Amonio) son compuestos que en presencia de agua dura permanecen más activos (Jiménez, 2018).

Su acción bactericida es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y la rotura de la membrana celular. Los cuaternarios de tercera generación, tienen un incremento en la actividad biocida, mayor detergencia y un incremento en la resistencia bacteriana al uso constante de una sola molécula (Jiménez, 2018).

Se comprobó que en un estudio realizado utilizar amonios cuaternarios de quinta generación, formol y anfóteros microbicidas en la desinfección de huevos fértiles se loro una diferencia significativa en el tratamiento manejado con amonios cuaternario consiguiendo un 97% de desinfección (Cristancho, 2015).

2.7.3. GLUTARALDEHÍDO

El glutaraldehído es un derivado del formol que en solución sirve para desinfectar y esterilizar plásticos, metales, vidrio y gomas. Los objetos se deben sumergir durante 10 min para lograr la desinfección, y durante 30 min para una

esterilización completa. Además, el glutaraldehído es el único esterilizante eficaz a temperaturas bajo cero (Sumano y Ocampo, 2006).

El glutaraldehído además del amplio espectro de acción es también un compuesto activo no es carcinogénico ni irrita la piel a las concentraciones de uso. Otra característica es que tiene el potencial de ser biodegradable y, por lo tanto, no contribuye a la contaminación del suelo ni de las aguas pluviales cuando se utiliza en las granjas y se desecha al medio ambiente. Además, el glutaraldehído no es corrosivo y, por lo tanto, no ataca el material metálico de incubadoras y granjas (Takahashi y Fava, 2011).

El glutaraldehído se utiliza para desinfección de alto nivel de equipamiento médico, utilizado en instalaciones de atención de la salud como biocida industrial para controlar microbios molestos y peligrosos en pozos petroleros, torres de refrigeración y plantas de pulpa y papel, para desinfectar instalaciones de aves de corral y porcinos. Si bien el glutaraldehído es generalmente confundido con el formaldehído y comparte el nombre de la familia química de los “aldehídos”, sus propiedades químicas y toxicológicas difieren significativamente (Martindale, 2003).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Planta de incubación ESPAM-MFL ubicada en el campus politécnico, sitio El Limón, cantón Bolívar, provincia de Manabí, situada geográficamente entre las coordenadas 0° 49' 23" latitud sur; 80° 11' 01" latitud oeste y una altitud de 15 m.s.n.m.

3.1.1. CONDICIONES CLIMÁTICAS

Tabla 3.1. Condiciones climáticas.

CONDICIONES CLIMÁTICAS	VALORES
Precipitación media anual:	565 mm
Temperatura media anual:	27 °C
Humedad relativa anual:	83.3 %
Heliofania	497.5 (Horas sol)
Evaporación anual:	591.1 mm

Estación Meteorológica de la ESPAM MFL 2020.

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

La investigación tuvo una duración de doce semanas de las cuales siete de ellas fueron en la U.D.I.V planta de incubación ESPAM MFL y en el laboratorio de microbiología lo cual correspondía desde el inicio de la desinfección de los huevos fértiles COBB 500 del primer tratamiento, hasta la última entrega de análisis de los pollitos bb y las cinco semanas restantes fueron para analizar los datos de la investigación.

3.3. MÉTODOS, TÉCNICAS

3.3.1. MÉTODO

En la investigación se presentan el método inductivo que es una representación de razonamiento en la que se pasa del conocimiento de argumentos particulares a un conocimiento más generalizado, que manifiesta lo que hay de común en los fenómenos individuales. Su fundamento es la repetición de hechos y fenómenos de la realidad, hallando los rasgos normales en un conjunto definido, para

alcanzar conclusiones de los aspectos que lo caracterizan (Rodríguez y Pérez, 2017).

3.3.2. TÉCNICA

Las técnicas son la observación y la de fichaje, la observación es la que permite la organización, coherencia y economía durante el desarrollo de la investigación, esta técnica una distribución y una coherencia dependiente al método que se utiliza (Ramos, 2008). La técnica de fichaje consiste en la recolección de los datos que se van obtenido de la investigación a través de un instrumento llamado ficha, esto permite ahorrar mucho dinero, espacio y tiempo (Campos y Lule, 2012).

3.4. FACTORES EN ESTUDIO

Métodos de desinfección (aspersión, inmersión, nebulización).

Tipos de desinfectantes (amonio cuaternario, fenol).

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño que se aplicó en la investigación es un DCA (Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 3x2), siendo el factor A (métodos de desinfección) factor B (tipos de desinfectantes) con seis tratamientos y cuatro repeticiones por cada tratamiento.

$$\gamma_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ij} \quad [3.1]$$

γ : Observación de las distintas cargas bacterianas y micótica

i : ésimo Factor A y factor B

μ : Media poblacional

α_i : Efecto de factor A i : 1...3

β_j : Efecto de factor B j : 1...2

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efecto de interacción de los factores A y B

ϵ_{ij} : Error experimental con media cero y varianza común

3.5.1. TRATAMIENTOS

Tabla 3.2. Distribución de los tratamientos con sus respectivos desinfectantes y métodos de desinfección.

TRATAMIENTOS	MÉTODOS	DESINFECTANTE	REPETICIONES	TOTAL DE HUEVOS POR TRATAMIENTOS
T1	M.I.	Amonio cuaternario	4	408
T2	M.A.	Amonio cuaternario	4	408
T3	M.N.	Amonio Cuaternario	4	408
T4	M.I.	Fenólico	4	408
T5	M.A.	Fenólico	4	408
T6	M.N.	Fenólico	4	408

M.I: Método de inmersión

M.A: Método de aspersion

M.N: Método de nebulización

Tabla 3.3. Esquema de ADEVA

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Total	23
Factor A (Métodos de desinfección)	2
Factor B (Tipos de desinfectantes)	1
Interacción AxB	5
Error experimental	18

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

La investigación consta de seis tratamientos y cada tratamiento con cuatro repeticiones, dando un total de 24 unidades experimentales, cada unidad experimental conformada por 102 huevos fértiles que corresponden a las unidades observacionales, obteniendo en total de 2448 huevos de la línea Cobb 500 en toda la investigación.

3.7. VARIABLES A MEDIR

3.7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Métodos de desinfección (aspersión, inmersión, nebulización).

Tipos de desinfectantes (amonio cuaternario, fenol).

3.7.2. VARIABLES DEPENDIENTES

Carga bacteriana *E.coli* en huevos fértiles (UFC/gr).

Carga bacteriana *Salmonella* en huevos fértiles (Presencia/ Ausencia)

Carga micótica *Penicillium* y *Aspergillus* en huevos fértiles (UFC/gr).

Porcentaje de huevos contaminados durante la incubación (%).

Carga bacteriana *E.coli* en pollitos bb (UFC/gr).

Carga bacteriana *Salmonella* en pollitos bb (Presencia/ Ausencia)

3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO

En este trabajo de investigación se estudiaron la cantidad de 2448 huevos que se sometieron a desinfección por métodos de aspersión, inmersión y nebulización con dos desinfectantes, es decir se desinfectaron 408 huevos por cada tratamiento, más 5 huevos sin desinfectar que se enviaron al laboratorio de Microbiología como grupo control, los procedimientos se realizaron en la Unidad, Docencia, Investigación y Vinculación planta de incubación ESPAM MFL y en el laboratorio de microbiología de la ESPAM MFL.

La primera semana de ejecución de trabajo se colocó dos agares, uno se ubicó dentro de la planta de incubación de la ESPAM MFL donde se realizó la desinfección por inmersión y aspersión de huevos y el otro agar se ubicó dentro de un área cerrada donde se realizó la desinfección por nebulización, para observar si hay contaminación en el ambiente.

Luego se llevó a cabo la recepción del primer lote de 1229 huevos fértiles la cual se desinfectaron con amonio cuaternario (BioSentry® 904) por tres métodos de desinfección a excepción de cinco huevos que se tomó al azar y fueron enviados en una funda hermética al laboratorio de la microbiología de la ESPAM MFL. La incubación se la realizó a una temperatura de 37.5 °C y una humedad entre 55-60 %. Cabe destacar que el orden que entraron a incubar con referencia a la

rotulación fue al azar. Para estos procedimientos se utilizaron medidas de bioseguridad básicas como es tener ropa de trabajo adecuada, guantes, mascarillas, botas, lo cual permitió que no existiera ningún tipo de problemas y que los tratamientos realizados fueron ejecutados exitosamente. La aplicación de los tratamientos fue:

T1 – Desinfección por método de inmersión con amonio cuaternario (BioSentry® 904), este proceso se realizó sumergiendo las bandejas de los huevos fértiles en un recipiente con el agua y el desinfectante a unas dosis de 4 cc por litro de agua, los 102 huevos fértiles se sumergieron por dos minutos (Tierzucht, 2010) en el recipiente a una temperatura de 33 °C, después de la aplicación del método de desinfección se tomó muestra al azar de 5 huevos fértiles desinfectados, luego se los introdujo en una funda hermética y se los trasladó al laboratorio para realizar los análisis pertinentes y el resto de los huevos fértiles se enviaron a incubar. De la misma manera se realizó este procedimiento para todas las repeticiones.

T2 – Desinfección por método de aspersion con amonio cuaternario (BioSentry® 904), este método consistió en diluir el desinfectante con el agua a una dosis de 4 cc por litro de agua a temperatura ambiente en una bomba de aspersion, seguidamente se procedió a rociar con gota gruesa los 102 huevos fértiles colocados en las bandejas para la incubación, una vez desinfectados los huevos se extrajeron cinco de estos al azar y se los introdujo en una funda hermética para llevarlos al laboratorio para realizar los análisis correspondientes y los huevos fértiles restantes se llevaron a incubar. De igual manera se realizó este procedimiento para todas las repeticiones.

T3 – Desinfección por método de nebulización, con amonio cuaternario (BioSentry® 904) este protocolo se efectuó ubicando los 102 huevos fértiles en un cuarto cerrado con la máquina de termonebulización en la cual se agregó la mezcla del desinfectante a una dosis de 4 cc x litro de agua, luego permanecieron los huevos durante 10 minutos (Tandazo, 2012) en la cámara con el gas para la desinfección, después de esto se retiró cinco huevos al azar y se los introdujo en una funda hermética para trasladarlos al laboratorio para el

análisis microbiológico y el resto de huevos fértil se llevaron a la incubadora. De la misma forma se procedió a realizar este procedimiento para el resto de las repeticiones.

En la segunda semana de ejecución se recepto el siguiente lote de 1224 huevos fértiles la cual se desinfectaron con Fenol (BioSentry® BioPhene), y los tratamientos fueron los siguientes:

T4– Desinfección por método de inmersión con Fenol (BioSentry® BioPhene) este procedimiento se realizó sumergiendo la bandeja de los huevos fértiles en un recipiente con el agua y el desinfectante a unas dosis de 4 cc por litro de agua, los 102 huevos fértiles se sumergieron por dos minutos (Tierzucht, 2010) en el recipiente a una temperatura de 33 °C, después de la aplicación del método de desinfección y el desinfectante se tomó la muestra al azar de cinco huevos fértiles desinfectados, se lo introdujo en una funda hermética y se los trasladó al laboratorio para realizar los análisis pertinentes y el resto de los huevos fértiles se enviaron a incubar. Así mismo se realizó este procedimiento para todas las repeticiones.

T5 – Desinfección por método de aspersión con Fenol (BioSentry® BioPhene), este método consistió en mezclar el desinfectante con el agua a una dosis de 4 cc por litro de agua a temperatura ambiente en una bomba de aspersión, seguidamente se procedió a rociar con gota gruesa las bandejas con los 102 huevos fértil para la desinfección, una vez desinfectados los huevos se extrajo cinco de estos al azar y se los introdujo en una funda hermética para llevarlos al laboratorio para realizar los análisis correspondientes y los huevos fértil restantes se llevaron a incubar. Así mismo se realizó este procedimiento para todas las repeticiones.

T6 – Desinfección por método de nebulización con Fenol (BioSentry® BioPhene), este protocolo se efectuó ubicando los 102 huevos fértiles en un cuarto cerrado con la máquina de termonebulización en la cual se agregó la mezcla del desinfectante a una dosis de 4 cc x litro de agua, luego permanecieron los huevos durante 10 minutos (Tandazo, 2012) en la cámara con el gas para la desinfección previamente dicha, después de esto se retiraron

cinco huevos al azar y se los introdujo en una funda hermética para trasladarlos al laboratorio para el análisis microbiológico y el resto de huevos fértil se llevaron a la incubadora. Bajo este mismo procedimiento se realizó la desinfección para todas las repeticiones.

A los 12 días de incubación de los huevos fértiles se realizó la ovoscopia para descartar los huevos que no presentaron desarrollo embrionario, el mismo que se les aplicó la embriodiagnos, para medir porcentaje de huevos contaminados durante la incubación para esto se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Huevos contaminados} = \frac{\text{Numero de huevos contaminados}}{\text{Cantidad de huevos ingresados a incubar}} \times 100 \text{ [3.2]}$$

A los 19 días de incubación se realizó la trasferencia de huevos fértiles hacia la maquina nacedera, la cual tenía una temperatura de 37. 2°C y una de humedad de 70% cuando inicia y llega hasta 90 % cuando los pollitos empiezan a nacer.

El monitoreo de la máquina de incubación y de la nacedora se realizó cada hora para observar que no haya ningún descontrol de la temperatura y de la humedad, es importante resaltar que los huevos fértiles una vez ingresados a incubar no se le aplicó ningún tipo de desinfectante.

Finalmente, terminada la etapa de incubación se tomaron muestras de 20 pollitos bb por tratamiento es decir 5 pollitos bb al azar por cada réplica y se enviaron al laboratorio para realizar pruebas microbiológicas para la determinación de bacterias.

Todas las muestras fueron enviadas y realizadas por el laboratorio de microbiología de la ESPAM MFL, lo cual dichos resultados fueron remitidos a los postulantes.

Para determinar la eficacia económica de cada tratamiento se procedió a registrar los valores correspondientes a los materiales y productos empleados en cada tratamiento, mismos que se detallan a continuación.

En el tratamiento 1 que fue amonio cuaternario por inmersión se utilizó 80 ml de producto dando un costo por ml de \$0.0284 y el total de \$2.27, la bandeja de

aluminio tuvo un gasto de \$0.07 debido a la relación vida útil de la bandeja y el costo por semana es decir se dividió \$35.00 que costó el recipiente para 10 años de vida útil, dando como resultado \$3.50 por año luego se procedió a dividir para 53 semanas que trae el año arrojando un total de \$0.07 por semana y finalmente se suma este valor por el costo total del producto siendo \$2.34 por este tratamiento tal y como se muestra en la tabla 3.4.

En la tabla 3.5., se observa el tratamiento 2 que fue amonio cuaternario por aspersión, se empleó 4 ml del desinfectante con un total de \$0.1136, el atomizador que se utilizó para desinfectar los huevos fértiles tiene una vida útil de 3 años la cual se procedió a realizar el mismo cálculo del tratamiento anterior dando un costo por semana de \$0.03 observando un total por tratamiento de \$0.15 ctvs.

El tratamiento 3 que fue amonio cuaternario por nebulización, se utilizó la misma cantidad del desinfectante anterior y por ende tiene el mismo costo que es de \$0.1136 tal y como se lo demuestra en la tabla 3.6, en este tratamiento se empleó la maquina termonebulizadora que tiene una vida útil de 5 años, el cual tiene un costo por semana para esta desinfección de \$0.75, dando un total por tratamiento de \$0.87 ctvs.

Tratamiento 4 que fue fenol por inmersión, se empleó una cantidad de 80 ml del desinfectante con un valor por ml de 0.0227 dando un total de \$1.816, la bandeja de aluminio tuvo un gasto de \$0.07 por esta semana debido a la relación vida útil por semana el cual se observa el total por tratamiento de \$1.89 tal y como se corrobora en la tabla 3.7.

Como lo indica en la tabla 3.8 el tratamiento 5 que fue fenol por aspersión, se empleó 4 ml del producto dando un total de \$0.0908 junto con el atomizador que tiene una vida útil de 3 años y su costo es de \$0.03 por semana, el cual se observa el total por tratamiento de \$0.13.

Tratamiento 6 que fue fenol por nebulización, se empleó 4 ml de este desinfectante con un total de \$0.0908, en este tratamiento se empleó la maquina termonebulizadora que tiene una vida útil de 5 años, el cual tiene un costo por

semana para esta desinfección de \$0.70, dando un total por tratamiento de \$0.80 ctvs tal y como se observa en la tabla 3.9.

Tabla 3.4. Amonio cuaternario por inmersión

Tipo de desinfectante			M. de desinfección	Total del tratamiento
Amonio cuaternario			Inmersión	
Can.	V. Uni	Total	Bandeja de aluminio	
80 ml	0.0284	\$2.27	\$0.07	\$2.34

Tabla 3.5. Amonio cuaternario por aspersión

Tipo de desinfectante			M. de desinfección	Total del tratamiento
Amonio cuaternario			Aspersión	
Can.	V. Uni	Total	Atomizador	
4 ml	0.0284	\$0.1136	\$0.03	\$0.15

Tabla 3.6. Amonio cuaternario por nebulización

Tipo de desinfectante			M. de desinfección	Total del tratamiento
Amonio cuaternario			Nebulización	
Can.	V. Uni	Total	Termonebulizadora	
4 ml	0.0284	\$0.1136	\$0.75	\$0.87

Tabla 3.7. Fenol por inmersión

Tipo de desinfectante			M. de desinfección	Total del tratamiento
Fenol			Inmersión	
Can.	V. Uni	Total	Bandeja de aluminio	
80 ml	0.0227	\$1.816	\$0.07	\$1.89

Tabla 3.8. Fenol por aspersión

Tipo de desinfectante			M. de desinfección	Total del tratamiento
Fenol			Aspersión	
Can.	V. Uni	Total	Atomizador	
4 ml	0.0227	\$0.0908	\$0.03	\$0.13

Tabla 3.9. Fenol por nebulización

Tipo de desinfectante			M. de desinfección	Total del tratamiento
Fenol			Nebulización	
Can.	V. Uni	Total	Termonebulizadora	
4 ml	0.0227	\$0.0908	\$0.70	\$0.80

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis de datos de los distintos métodos de desinfección en huevos fértiles Cobb 500 para la incubación fueron evaluados por medio del software estadístico INM SPSS versión 21., estos se sometieron a la prueba de normalidad (Test de Shapiro Wilk) y a las pruebas de homogeneidad de varianza (Test de Levene). Después de estas pruebas se procedió a aplicar los siguientes análisis:

3.9.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Permitió obtener las diferencias significativas estadísticas en las variables de estudio.

3.9.2. PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA (TUKEY)

Se utilizó para determinar la diferencia de las medias de los tratamientos, al 5% de probabilidad.

En caso de que no cumplieran con los supuestos de normalidad se realizaban pruebas no paramétricas mediante Kruskal-Wallis.

A demás se complementó la información con el uso de tablas y figuras.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante las pruebas de normalidad (Test de Shapiro Wilk) y por las pruebas de homogeneidad de varianzas y homocedasticidad (Test de Levene) como se observa en la tabla 4.1., se logró determinar lo siguiente:

Que, para las variables en estudio, como son *E. coli*, *Aspergillus* y *Penicillium* se procedió a aplicar pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, debido a que su significancia fue menor que el 0,05 tanto en la prueba de normalidad (Test de Shapiro Wilk) y a la de homogeneidad de varianza (Test de Levene); mientras que para el porcentaje de huevos contaminados se procedió a aplicar prueba paramétrica de análisis de varianza (ANOVA), ya que su significancia fue mayor que el 0,05. En cuanto a las variables carga bacteriana *Salmonella* en huevos fértiles y carga bacteriana *Salmonella* en pollitos bb, se las determinó por parámetros cualitativos de ausencia o presencia.

Tabla 4.1. Test de Shapiro Wilk y Test de Levene para las variables en estudio

Variables	Shapiro-Wilk			Test Levene			
	Estadístico	gl	Sig.	F	gl1	gl2	Sig.
<i>E. Coli</i> en huevos fértiles	0,617	12	0,001	4,388	5	18	0,009
<i>Aspergillus</i> en huevos fértiles	0,953	12	0,467	3,547	5	18	0,021
<i>Penicillium</i> en huevos fértiles	0,647	12	0,001	5,240	5	18	0,004
% Huevos contaminados	0,566	12	0,180	3,240	5	18	0,290

4.1. CARGA BACTERIANA Y MICÓTICA EN HUEVOS FÉRTILES COBB 500

4.1.1. CARGA BACTERIANA EN HUEVOS FÉRTILES

Para esta variable en estudio se procedió a aplicar prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis donde determinó que la distribución de carga bacteriana de *E.coli* es la misma entre las categorías del Factor A y Factor B determinándose así que estos factores no influyeron en dicho parámetro con una significancia de 0,580 y 0,291, respectivamente tal y como se lo puede observar en las tablas 4.2., y 4.3. Es decir que para la carga bacteriana en cuanto a *E. Coli* los métodos desinfección y tipos de desinfectantes no influyen sobre la carga microbiana en los huevos fértiles.

Tabla 4.2. Prueba de Kruskal-Wallis para métodos de desinfección por inmersión, aspersión y nebulización en cuanto a la carga bacteriana

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de E_Coli_Huevos_Fértiles es la misma entre las categorías de Factor_A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,580	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .

Tabla 4.3. Prueba de Kruskal-Wallis para el desinfectante amonio cuaternario y fenol en cuanto a la carga bacteriana.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de E_Coli_Huevos_Fértiles es la misma entre las categorías de Factor_B.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	,291 ¹	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

¹Se muestra la significancia exacta para esta prueba.

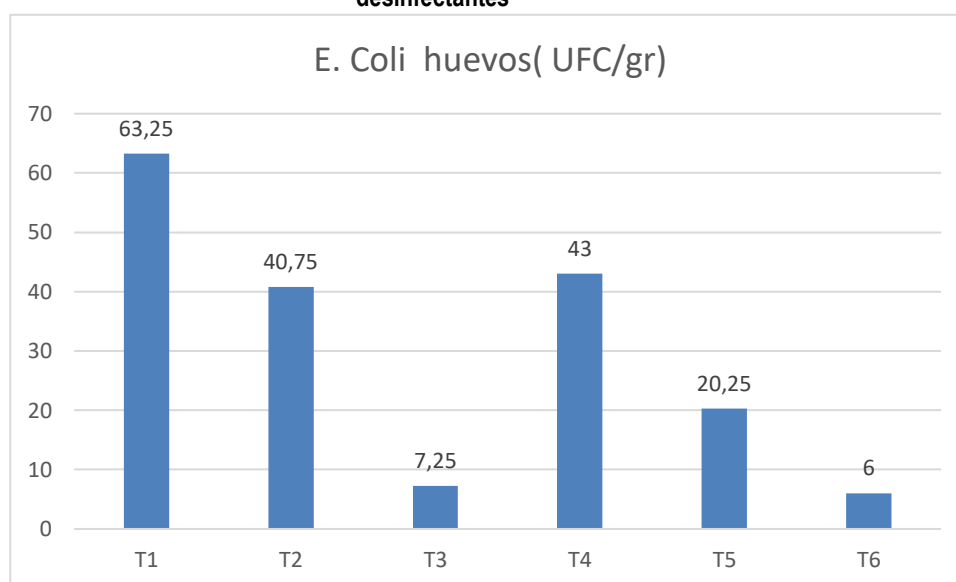
En la figura 4.1., se observa que el tratamiento que más carga bacteriana de *E. coli* obtuvo fue el T1 (método de inmersión con desinfectante amonio cuaternario) con un 63,25 UFC/gr y el que menos carga microbiana presentó fue el T6 (método de nebulización con desinfectante fenólico) con 6 UFC/gr. Estos resultados al compararlo con el testigo en estudio al cual no se le aplicó ningún método de desinfección y tipo de desinfectante con un valor de 33 UFC/gr el T6 está por debajo de este.

Cristancho (2015) indica que la industria avícola busca distintas alternativas frente al uso de desinfectantes en huevos fértiles, algunos de estos con efectos positivos y otros negativos y algunas veces con muy baja efectividad; además de ser una etapa de vital importancia tanto en la elección del desinfectante como en el método de uso del mismo, todo esto es una etapa primordial para el huevo fértil.

Este mismo autor reporta en su investigación valores de *E. coli* de 6,3 UFC/gr utilizando diferentes tipos de desinfectantes como lo son formol, germicida y

solución microbicida, valor el cual se asemeja al reportado en la presente investigación, sin embargo, por otro lado, García, (2015) indica que los huevos puestos en cama deberían tener una mayor contaminación respecto a los ponederos, sin embargo, no es cierto tener una correlación clara entre su aspecto y la carga bacteriana en su superficie; así en el caso de los huevos limpios normalmente tendrán una carga bacteriana de menos de 3×10^2 UFC/gr, sin embargo este autor declara que existen casos donde la contaminación puede llegar a 10^5 UFC/gr.

Figura 4.1. Carga bacteriana de *E. Coli* en huevos fértiles con tres métodos de desinfección y dos tipos de desinfectantes



4.1.2. CARGA MICÓTICA EN HUEVOS FÉRTILES

4.1.2.1. *PENICILLIUM* EN HUEVOS FÉRTILES

En cuanto a la calidad micótica en huevos fértiles se determinó que para la variable *Penicillium* en huevos fértiles influye significativamente el Factor A (métodos de desinfección) es decir que para este factor hay diferencias significativas (0,05) tal y cual lo demuestra la prueba de Kruskal-Wallis en la tabla 4.4., lo cual indica rechazar la hipótesis nula es decir indica que son diferentes los resultados al aplicar un diferente método de desinfección; mientras que el Factor B no influye debido a que su significancia es mayor que el 0,05 como se indica en la tabla 4.5.

Tabla 4.4. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor A en cuanto a *Penicillium* en huevos fértiles

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Penicillium_huevos_fértiles</i> es la misma entre las categorías de Factor_A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,030	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05

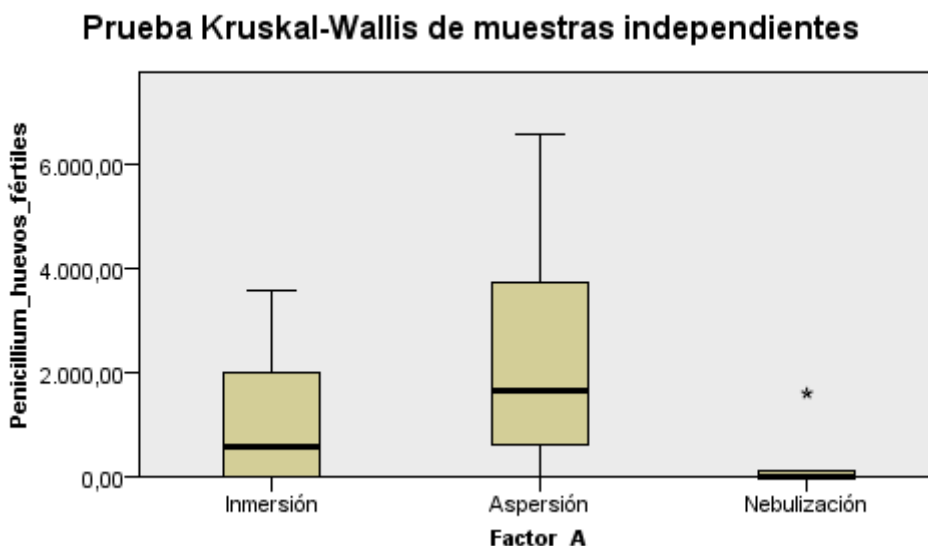
Tabla 4.5. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor B en cuanto a *Penicillium* en huevos fértiles

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Penicillium_huevos_fértiles</i> es la misma entre las categorías de Factor_B.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,116	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05

De igual manera dicha información se corrobora mediante la figura 4.2., de cajas y bigotes el método, con el que los huevos menor presencia de *Penicillium* presentó fue el método de nebulización.

Figura 4.2. Cajas y bigotes de los diferentes métodos de desinfección en huevos fértiles

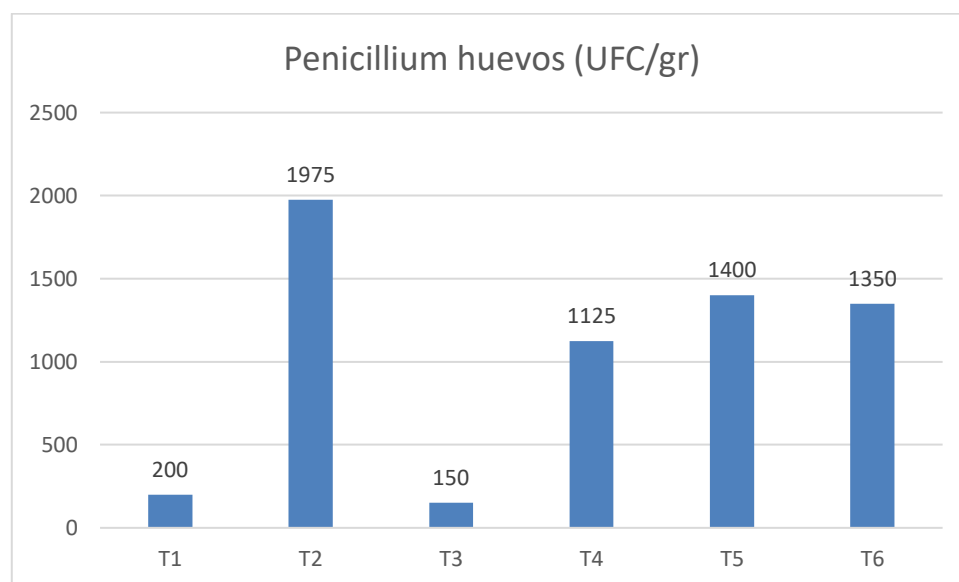


En la figura 4.3., se observa que el tratamiento que más *Penicillium* obtuvo fue el T2 (método de inmersión con desinfectante amonio cuaternario) con un $19,75 \times 10^2$ UFC/gr y el que menos carga de *Penicillium* fue el T3 (método de nebulización con amonio cuaternario) con $1,5 \times 10^2$ UFC/gr estos valores al

compararlos frente al testigo dan como resultado una eficiencia aceptable ya que este presentó 22×10^2 UFC/gr, por tal razón Jiménez (2018) indica que la clasificación de los huevos de alta calidad y fertilidad con bajo índice de contaminación, han sido los factores determinantes para la obtención de pollos en buen estado con bajo porcentaje de mortalidad, por lo que en el mercado existe una amplia gama de desinfectantes para el huevo fértil, dando resultados adecuados, como lo son los fenoles, los amonios cuaternarios, los glutaraldehidos y combinaciones.

Este mismo autor en su investigación utilizó diferentes tipos de métodos y desinfectante determinando así valores de $9,6 \times 10^2$ UFC/gr valor que se asemeja al T3 de la presente investigación.

Figura 4.3. Carga micótica de *Penicillium* con el uso de métodos de desinfección y desinfectantes.



4.1.2.2. ASPERGILLUS EN HUEVOS FÉRTILES

En cuanto a la calidad micótica en huevos fértiles se determinó que para la variable *Aspergillus* la distribución es la misma entre el Factor A y Factor B determinándose así que para esta variable en estudio los métodos de desinfección y el tipo de desinfectante no influyeron debido a que la significancia fue mayor que el 0,05 en ambos factores, tal y como se muestra las tablas 4.6., y 4.7.

Tabla 4.6. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor A en cuanto a *Aspergillus* en huevos fértiles

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Aspergillus</i> _Huevos_Fértiles es la misma entre las categorías de Factor_A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,223	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Tabla 4.7. Prueba de Kruskal-Wallis para el Factor B en cuanto a *Aspergillus* en huevos fértiles

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Aspergillus</i> _Huevos_Fértiles es la misma entre las categorías de Factor_B	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,495	Retener la hipótesis nula.

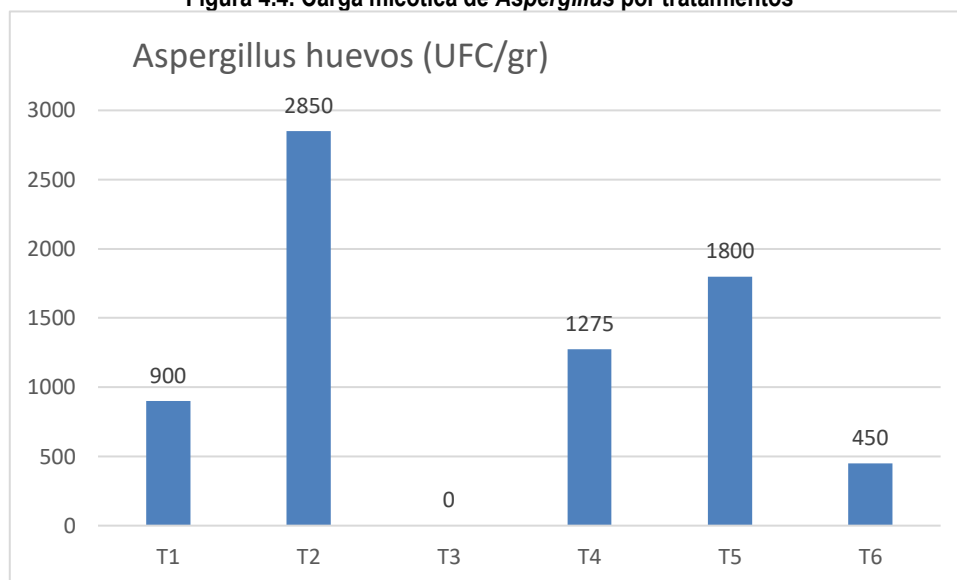
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

En la figura 4.4., se observa que el tratamiento que más *Aspergillus* obtuvo fue el T2 (método de inmersión con desinfectante amonio cuaternario) con un $28,5 \times 10^2$ UFC/gr y el que no obtuvo carga microbiana presente fue el T3 (método de nebulización con amonio cuaternario) resultados que al compararse con el testigo son inferiores a los del T2 y T3 siendo este 37×10^2 UFC/gr.

Los parámetros que influyen sobre esta variable son: la temperatura apropiada de almacenamiento de los huevos antes de su incubación, la desinfección de los huevos que vienen de granjas, la calidad de la cáscara de los huevos, la temperatura de la incubadora (Ricaurte y Lisette, 2005).

Este mismo autor indica que dentro de su investigación no se presentó presencia de este hongo.

Mientras que Boerjan (2015) manifiesta que los pollitos de un día de nacidos con signos de aspergilosis están infectados con las esporas de las especies de *Aspergillus*, entre las cuales *Aspergillus fumigatus* es la más común.

Figura 4.4. Carga micótica de *Aspergillus* por tratamientos

4.2. SALMONELLA EN HUEVOS FÉRTILES

Mediante análisis de laboratorios se logró determinar que todos los huevos fértiles presentaron ausencia de *Salmonella* tal y como se lo demuestra en la tabla 4.8., de igual manera el testigo al cual no se le aplicó ningún tipo de desinfectante y ningún método de desinfección no presentó *Salmonella*.

Los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella* son bacilos gramnegativos, incluidos con el grupo de enterobacterias; los huevos pueden contaminarse por transmisión vertical, desde los ovarios y oviductos infectados durante la formación del huevo (Rincón, Ramírez, y Vargas, 2011).

Los huevos recién puestos no suelen estar contaminados, sí bien algunos microorganismos pueden tener acceso a éstos a través del oviducto, los microorganismos presentes en el huevo proceden principalmente del tracto intestinal de las aves, del lugar de postura, entre otros, las bacterias que poseen mayor facilidad de penetrar al interior del huevo son bacterias gram negativas móviles y no móviles, encontrándose frecuentemente *Pseudomonas sp.* en un 60% y en un 43% *Salmonella Enteritidis*. Al interpretar dicho argumento de autor antes mencionado se determinó que los métodos empleados y desinfectante ayudan a no permitir presencia de salmonella en los huevos fértiles (Chumbi, 2017).

Este mismo autor en su investigación determinó que no obtuvo presencia de *salmonella* en los huevos, en la cual determinó la presencia de *salmonella* en huevos de gallina de traspatio.

Tabla 4.8. Análisis de *Salmonella* en huevos fértiles

Tratamientos	<i>Salmonella</i>
T1	Ausencia
T2	Ausencia
T3	Ausencia
T4	Ausencia
T5	Ausencia
T6	Ausencia

4.3. HUEVOS CONTAMINADOS

Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se determinó que los factores en estudio no influyen en el porcentaje de huevos contaminados debido a que su significancia es mayor que el 0,05 tal y cual se lo explica en la tabla 4.9., esto puede deberse a los métodos empleados y desinfectantes, los cuales no obtuvieron significancia alguna.

Tabla 4.9. Análisis de varianza para la variable huevos contaminados.

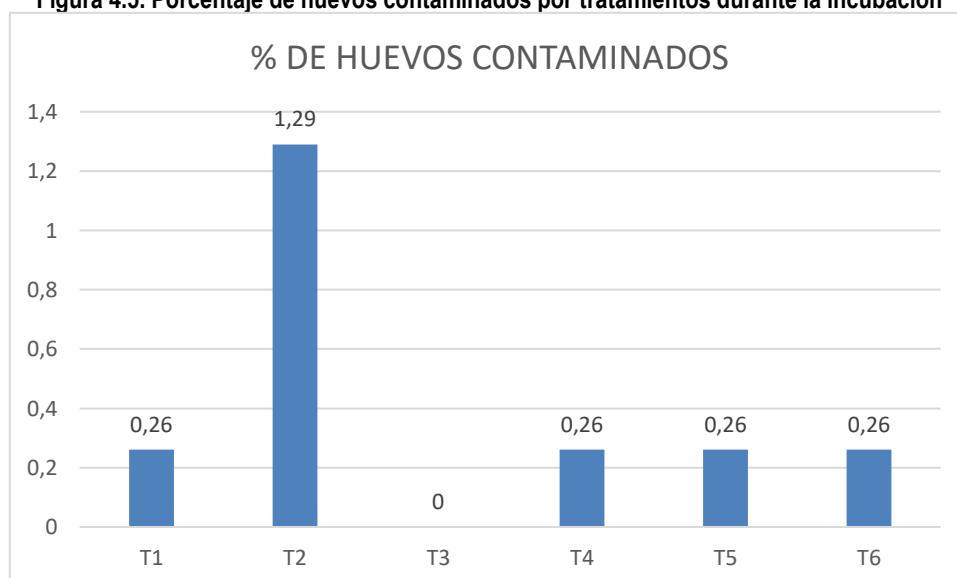
Origen	Gl	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Sig.
Total	23	10,211			
Factor_A	2	1,857	0,928	2,739	0,092
Factor_B	1	0,398	0,398	1,174	0,293
Factor_A * Factor_B	2	1,857	0,928	2,739	0,092
Error	18	6,100	0,339		

En la figura 4.5., se observa que el tratamiento que mayor porcentaje de huevos contaminados durante la incubación presento fue el T2 (método de inmersión con desinfectante amonio cuaternario) con un 1,29%; mientras que el tratamiento que no presentó huevos contaminados fue el T3 (método de nebulización con amonio cuaternario) es por tal razón que Yuño *et al.*, (2013) manifiesta que la calidad de los huevos fértiles ha sido estudiada bajo diversos aspectos en relación con la edad de los reproductores, la alimentación las condiciones de almacenamiento, el tamaño y la calidad de cáscara del huevo; es por eso que se

pudo comprobar frente al testigo que el mejor tratamiento para esta variable fue el T3 el cual no presentó huevos contaminados durante la incubación.

De igual manera Vite y Mendoza (2021) reportan en su investigación porcentajes de huevos contaminados durante la incubación de 11,76% y 4,9% valores que se encuentran superiores a los reportados en la investigación, lo cual indica que al implementar métodos de desinfección con diferentes tipos de desinfectantes reduce el porcentaje de huevos contaminados.

Figura 4.5. Porcentaje de huevos contaminados por tratamientos durante la incubación



4.4. CALIDAD DE POLLITOS COBB 500

Tabla 4.10. Calidad de pollitos Cobb 500

Tratamientos	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>
T1	Ausencia	Negativo
T2	Ausencia	Negativo
T3	Ausencia	Negativo
T4	Ausencia	Negativo
T5	Ausencia	Negativo
T6	Ausencia	Negativo

En la tabla 4.10., se demuestra que mediante análisis de laboratorio se determinó que ninguno de los pollitos nacidos presentó presencia de *E. coli* ni presencia de *Salmonella*, estos resultados fueron semejantes al testigo al cual no se le aplicó ninguno de los factores en estudio dando este como negativo en cuanto a *E. coli* y ausencia de *Salmonella* por tal razón Galíndez y Blanco, (2017) mencionan

que es indispensable el manejo que debe recibir el huevo desde el momento de postura hasta el proceso de incubación, ya que de esto va a depender la calidad del pollito que posteriormente va a nacer.

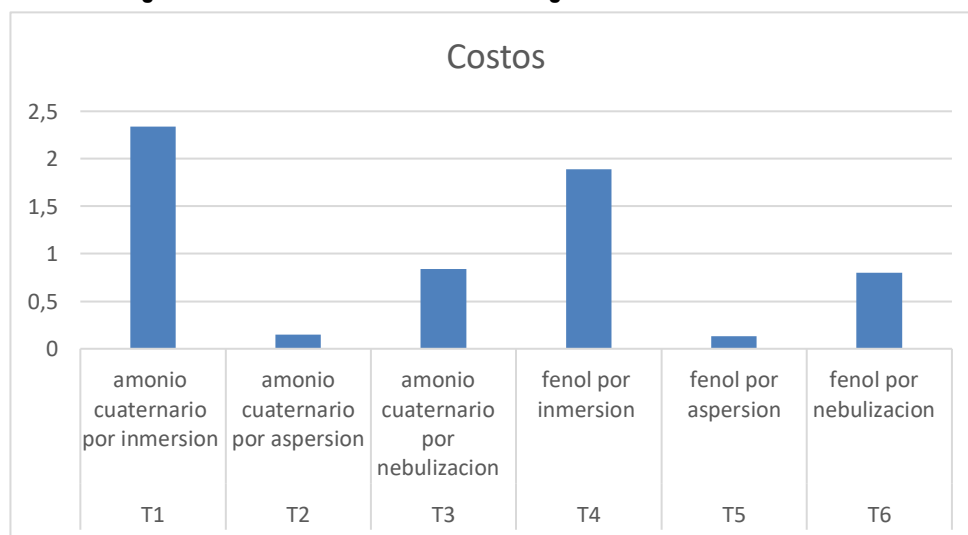
Estos mismos autores mencionan en su investigación que no hubo efecto significativo en cuanto a la calidad de pollitos, mismos resultados se relacionan a la investigación planteada, es decir los métodos de desinfección (aspersión, inmersión, nebulización) y desinfectantes utilizados (amonio cuaternario, fenólico) no influyen sobre la calidad de pollitos.

4.5. COSTO DE LA DESINFECCIÓN

En la figura 4.6 se muestra que el método más económico para la desinfección de huevos fértiles es el de aspersión por amonio cuaternario debido a su bajo costo del atomizador y su vida útil respectivamente, para este desinfectante el método con mayor costo es el de inmersión ya que se utilizó 80 ml del producto para sumergir los huevos fértiles en una bandeja de aluminio.

Para el desinfectante fenol el método con menor costo es el de aspersión igual que el producto antes mencionado con la misma técnica de desinfección y el que tiene mayor valor económico es el de inmersión tal y como se lo demuestra en la tabla 4.6 de esta investigación.

Figura 4.6. Costos de los tratamientos según el método de desinfección



CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Los niveles de carga bacteriana fueron iguales entre los tratamientos aplicando tres métodos de desinfección y dos desinfectantes diferentes.

La carga micótica fue diferente estadísticamente para los distintos métodos de desinfección, mostrando mejores resultados para la técnica de nebulización.

Todos los tratamientos presentaron ausencia de *Salmonella* al aplicar los tres métodos de desinfección.

La calidad del pollito aplicando los métodos de desinfección fue favorable ya que en los tratamientos no se obtuvo carga microbiana de *E. coli* y ausencia de *salmonella*.

El método de desinfección por nebulización con amonio cuaternario es eficaz para reducir la contaminación de los huevos fértiles COBB 500, sin embargo, es la técnica más costosa.

El método más económico para la desinfección de huevos fértiles es el de fenol por aspersion y el que tiene mayor costo es el de amonio cuaternario por inmersión.

5.2. RECOMENDACIONES

Utilizar el método de nebulización, ya que este presenta características favorables para bajar las cargas microbiológicas de los huevos fértiles y favorece la calidad microbiológica de pollitos al nacer.

Utilizar el desinfectante amonio cuaternario, debido a que este presentará un menor porcentaje de huevos contaminados durante la incubación.

Combinar la aplicación de amonio cuaternario con el método de nebulización para bajar los niveles de contaminación en los huevos fértiles, prevenir huevos contaminados y mejorar la calidad microbiológica de los pollitos.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, F. (2016). Caracterización de *salmonella* (*salmonella spp*) en huevos frescos de gallinas mediante la utilización del sistema microgen gn a en la parroquia cotaló. Cascara. Tesis. Médico Veterinario. UTA. Ambato-Tungurahua, EC. P 58.
- ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología). (2011). Análisis microbiológico de los alimentos. (En línea). Consultado 18 de ene 2020. <https://bit.ly/2sVEkxt>
- Astudillo, B y Zhingre, M. (2016). Evaluación de la calidad microbiológica, serológica al día de recepción y el rendimiento zootécnico en dos líneas genéticas de pollos de engorde. (En línea). Tesis. MVZ. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Cuenca. <https://bit.ly/2TXOVmW>
- Boerjan, M. (2015). Asperigillus en la planta de incubación. *Revista científica veterinaria*, 1 - 15.
- Callejo, A. (2010). Manejo del huevo fértil antes de la incubación. [Http://ocw.upm.es/pluginfile.php/449/mod_label/intro/Tema_07_71_Manejo_d el_huevo_fertil_antes_de_la_incubacion.pdf](Http://ocw.upm.es/pluginfile.php/449/mod_label/intro/Tema_07_71_Manejo_d_el_huevo_fertil_antes_de_la_incubacion.pdf)
- Campos, G. y Lule, N. (2012). La observación, un método para el estudio de la realidad. *Revista Xihmai VII* 13, 5.
- Canet, J. (2016). *Escherichia Coli*: características, patogenicidad y prevención (I). (En línea). <https://bit.ly/2tGw0SU>
- Castro, H. (2017). Evaluación del efecto de la edad de la gallina, de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la penetración bacteriana en huevo e influencia de la aplicación de recubrimiento de aceite sobre la calidad del huevo durante el almacenamiento. Tesis. Ing. De Alimentos. UCR. Ciudad Universitaria Rodrigo Facia. CR. p. 101.
- Chingal, R. (2015). Evaluación física, química y microbiológica de huevos comerciales de gallina, durante su almacenamiento (32 días), bajo diferentes condiciones ambientales. (En línea). Quito. EC. Formato PDF. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6434/1/T-UCE-0008-095.pdf>
- Chumbi, C. (2017). Determinación de la presencia de salmonella spp en huevos de gallina de traspatio comercializados en la ciudad de loja. Tesis. M.V.Z. *Universidad Nacional de Loja*, 1-67.
- Cortázar, J. (2008). Aspecto - calidad del pollito recién nacido. (En línea). Consultado 30 Dic. 2019. <https://bit.ly/2RoLgg6>
- Cristancho, C. (2015). Comparación de tres protocolos de desinfección en huevo fértil, su relación con la disminución en la carga bacteriana y viabilidad del pollo de engorde. (En línea). Tesis. MV. Universidad de la salle. Bogotá CO. Consultado, 26 de oct. 2019. Formato HTML. <https://n9.cl/t4yd>

- DATABIO (Colección de fichas de Agentes Biológicos). (2016). *Penicillium ssp.* (En línea). Consultado 25 ene 2020. Disponible en: <https://bit.ly/30Rcajl>
- ESPAM MFL (Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López). 2010. Estación Meteorológica de la ESPAM MFL.
- Galíndez, R., & Blanco, F. (2017). Eclosión, muerte embrionaria y calidad de pollitos en cuatro razas de gallinas reproductoras venezolanas. *Revista Científica*, XXVII, 57 - 60.
- García, J. (2013). Desinfección del huevo incubable. In Jornadas profesionales de Avicultura (5, 2013). Universidad Agrícola. Consultado 15 ene 2020. <https://bit.ly/37tiErs>
- García, J. (2015). Huevo incubable: Contaminación y consecuencias. *Revista aviNews*. (En línea). Consultado 12 de ene. 2020. <https://bit.ly/3aHR2Be>
- Gibert, (2010). Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras. Tesis doctoral. Universidad complutense de Madrid. España. (En línea). Consultado 25 ene 2020. <https://bit.ly/2NZAsTx>
- Gómez, F. (2009). *Aspergilosis Aviar*. Monografía. MVZ. Universidad Autónoma Agraria. México. (En línea). Consultado 25 ene 2020. <https://bit.ly/2GjMt1Z>
- Gómez, J. y Valero, J. 2006. Estructura del huevo. (En línea). CR. Consultado, 25 de ene. 2020. Formato PDF. [//www.muticus-pina.com/subm/huevo.pdf](http://www.muticus-pina.com/subm/huevo.pdf)
- González, C y Balaguer, J. (2011). Bioseguridad en la sala de incubación. (En línea). Consultado, 26 de oct. 2019. Formato pdf. <https://bit.ly/2qNIN59>
- Hernández, A; Santoscoy, E. Lezama, J; Cervantes, R y Quiroz, J. (2010). *Revista Scielo*. (En línea). Consultado 25 ene 2020. <https://bit.ly/2RrQPdE>
- Herrera, A. (2019). Alteraciones biológicas del huevo fértil sobre los parámetros de incubación y el rendimiento productivo en pollos Cobb 500. Tesis. Médico Veterinario. ESPAM MFL. Calceta-Manabi, EC. P 57.
- Hocking P. 2009. *Biology of Breeding Poultry*. Poultry Science Symposium Series, 29, 179-240.
- Jiménez, D. (2018). Manejo del huevo antes de ser incubado. *Revista aviNews*. (En línea). Consultado el 30 dic. 2019. <https://bit.ly/2ROvSIL>
- Jiménez. C. (2018). 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 Fusagasugá, Cundinamarca. (En línea) Tesis. Zootecnista. UDEC. Colombia. Consultado 11 dic. 2019. <https://bit.ly/38IMGbb>
- León, O. (2015). Medidas para una planta de incubación libre de salmonellas. *Revista. Selecciones Avícolas*. (En línea). Consultado 18 de ene 2020. <https://bit.ly/2RPVMMj>

- Lin Y; Druyan S; Brake J. 2017. Thermal treatments prior to and during the beginning of incubation affects development of the broiler embryo and yolk sac membranes, and live performance and carcass characteristics. *Poultry Science*. 96 (6): 1939-1947. <https://doi.org/10.3382/ps/pew467>
- Loayza, M. (2014). Efectos de los desinfectantes comerciales en la incubabilidad de los huevos fértiles por edades de las reproductoras de línea Cobb 500 en el departamento de Tacna-2013. Tesis. Médico Veterinario y Zootecnia. UNJBG. Tacna, PE. P 57.
- López, M; Reyes, B; Franco, B; Matías, R y Juárez, S. (2014). Inocuidad en el proceso de lavado de una empresa avícola. (En línea). Consultado el 30 ene 2020. <https://bit.ly/3aaQfaE>.
- Martindale. (2003). Guía Completa de consulta Farmacoterapéutica (Vol. 1). Brasilia: Trillas.
- Martínez, (2003). Estudio de especies micotóxicas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx. (en línea). Tesis. Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. España. Consultado 25 ene 2020: <https://bit.ly/2t0UTbu>.
- Morales, C. (2014). Comparación de parámetros de incubación de huevos fértiles procedentes de Perú y Brasil. (En línea). Tesis. Ing Zootecnista. Universidad Nacional Agraria la Molina. Consultado 28 dic. 2019. <https://bit.ly/2RS5NZg>
- Muñoz, A; Dominguez, N; Jimenez, C; Rodriguez, A; (2015). Importance of eggshell cuticle composition and maturity for avoiding trans-shell Salmonella contamination in chicken eggs. (En línea). ES. Consultado, 18 de ene. 2020. Formato HTML. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515001103>
- Neira, C. (2016). Microbiota en huevos y derivados: Identificación y desarrollo. Master universitario en biotecnología alimentaria. Universidad de Oviedo. ES. P. 83.
- Nieves, A. (2014). Control y manejo de huevos y pollos recién nacidos en la explotación avícola. 5 ed. España. Printed in Spain. P. 189.
- Ojeda, J. (2009). Uso de Formol en la incubadora. (En línea). ES. Consultado, 25 de ene. 2020. Formato HTML. <https://www.engormix.com/avicultura/foros/uso-formol-incubadora-t8246/>
- Quituzaca, I. (2015). Instalación y evaluación de una incubadora modelo para la facultad de ciencias pecuarias. (En línea). Tesis. Ing Zootecnista. ESPOCH. Riobamba- EC. Consultado 11 dic. 2019. <https://bit.ly/2Gm8M7h>
- Rodríguez, J y Pérez, J. (2017). Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. EAN. 82; 1-26. <https://www.redalyc.org/pdf/206/20652069006.pdf>

- Ramos, E. (2008). Métodos y técnicas de investigación. Recuperado el 09 de Mayo del 2021: <https://cutt.ly/9bOgN3l>
- Reyes, L. (2019). Influencia del tiempo de almacenamiento de huevos, en gallinas reproductoras de la línea cobb 500, previo a la incubación, sobre los parámetros de incubabilidad. (En línea). Tesis. Ing. Zootecnista. UNT. Perú. Consultado 29 dic. 2019. <https://bit.ly/2RN55gc>
- Ricaurte, G., & Lisette, S. (2005). Embriodiagnos y ovoscopia: Análisis y control de calidad de los huevos incubables. *Revista Electrónica de Veterinaria*, VI, 1 - 26.
- Ricaurte, S. (2014). Bioseguridad en granjas avícolas. (En línea). EC. Consultado, 13 de jul. 2021. Formato PDF. Disponible en https://www.adiveter.com/ftp_public/A31307.pdf
- Rincón, D., Ramírez, R., & Vargas, J. (2011). Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia. *Revista de la Universidad Industrial de Santander*, 43, 1 - 12.
- Rodríguez, G y Cruz, A. (2017). Factores que afectan la incubabilidad de huevo fértil en aves de corral. CR. *Revista de Nutrición Animal Tropical*. Vol. 11. P 11. Consultado, 25 de oc. 2019. (En línea). <https://cutt.ly/me06A6R>
- Samayoa, E. (2005). Análisis cuantitativo comparativo del huevo como fuente de proteínas esenciales en la alimentación del ser humano. Tesis. Químico farmacéutico. USAC. Guatemala. p. 66.
- Sandoval, M. (2009). El gran libro del huevo. Estructura del huevo. 1 ed. España. EVEREST, S.A. p. 168.
- Serrano, M. (2017). Comparación de las condiciones de producción y la calidad microbiológica, fisicoquímica y sensorial de huevos provenientes de gallinas de pastoreo y de gallinas confinadas en sistema convencional. Tesis. Lc en Ingeniería de alimentos. Facultad de Ciencias Agroalimenticias. Costa Rica. (En línea). Consultado 8 ene 2020. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/4347/1/41865.pdf>
- Soares. E. (2007). Huevos fértiles-Calidad y manejo. (En línea). Consultado 31 Dic. 2019. <https://bit.ly/2Go3N5P>
- Soares, R. (2008). El manejo sanitario del huevo incubable. *Revista. Selecciones Avícolas*. p19-21. (En línea). Consultado 31 Dic. 2019. <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2008/6/3980-el-manejo-sanitario-del-huevo-incubable.pdf>
- Solano, C. (2016). Manejo de huevos fértiles para incubación. (En línea). Consultado 11 dic. 2019. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_aves/produccion_avicola/108Manejo_huevos.pdf

- Soler R; Bueso J. (2017). Análisis de las alteraciones de la cáscara del huevo de gallina. *Revista Iberoamericana Interdisciplinaria de Métodos, Modelización y Simulación*. 10; 137-147. Web https://www.researchgate.net/publication/335464837_Analisis_de_las_alteraciones_de_la_cascara_del_huevo_de_gallina. Consultada 01/09/2020.
- Suárez, M y Mantilla, J. (2000). Presencia de Salmonella serovariedad Enteritidis en productos de origen avícola y su repercusión en salud pública. *IATREIA*. 13 (4). CO. PDF.
- Sumano, H. y Ocampo, L. (2006). *Farmacología Veterinaria*. 8 ED. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A de C.V. A.
- Takahashi, D y Fava, C. (2011). Uso de glutaraldehído en la desinfección de incubadoras. (En línea). AR. Consultado, 25 de ene. 2020. Formato HTML. <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/uso-glutaraldehido-desinfeccion-incubadoras-t29190.htm>
- Tandazo, W. (2012). Influencia en la desinfección de huevos fértiles de gallinas ponedoras pesadas de la línea ROOS 308 en el proceso de incubación. Tesis. Ing. Agrónomo. Universidad técnica estatal de Quevedo. Quevedo-EC. (En línea). Consultado, 25 de oct. 2019. <https://cutt.ly/Ze06PL2>
- Tierzucht, L. (2010). Desinfección de huevo fértil. *Revista Poultry News*
- Tullett, S. (2010). Investigación de las prácticas de incubación. (En línea) Consultado 30 Dic. 2019. <https://bit.ly/2TZOylj>
- Valdés, J. (2009). La cáscara del huevo: ¿desecho o valor agregado para la salud humana y la producción avícola? Una experiencia cubana. *CU. Rev Cubana Aliment Nutr* 2009. Vol. 1. p. 102
- Vargas, J. (2015). Evaluación de parámetros productivos en la incubación de huevos considerados como no aptos (por su peso y forma) procedentes de reproductoras pesadas, en la provincia de Pastaza cantón Mera parroquia Madre Tierra. (En línea). Tesis. Mg Producción Animal. ESPOCH. EC. Consultado 29 dic. 2019.:[/bit.ly/2TYviGP](https://bit.ly/2TYviGP)
- Vite, L y Mendoza, J. (2021). Periodos de precalentamiento en huevos fértiles cobb 500 en parámetros de incubación al nacimiento. Tesis.M.V. *ESPAM MFL*, 1 - 90.
- Yáñez, J. (2012). Manejo del huevo fértil en aves reproductoras. Monografía. MVZ. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. Consultado, 25 de oc. 2019. (En línea). <https://url2.cl/NFTSP>
- Yúño, M., Bakker, M., Cepeda, R., & Marinelli, C. (2013). Características físicas del huevo incubable y pollitos nacidos de reproductores pesados cobb 500 en incubadoras con diferente humedad relativa. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 9, 291.

ANEXOS

Anexo N° 1: Agar para control de ambiente



Anexo N° 2: Desinfección de huevos por inmersión



Anexo N° 3: Desinfección de huevos por aspersión



Anexo N° 4: Desinfección de huevos por nebulización



Anexo N° 5: Recolección de muestras



Anexo N° 6: Ovoscopia de los huevos fértiles



Anexo N° 7: Nacimientos de los pollitos bb



Anexo N° 8: Vacunación de pollitos



Anexo Nº 9 Análisis de control de ambiente.



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN TESIS			
ESTUDIANTES:	Bryan Andrés Zambrano Zambrano Diego Armando Zambrano Mera	C.I:	1313604470 1314765056
DIRECCIÓN:	Tosagua	Nº DE ANÁLISIS	<u>001</u>
TELÉFONO:	0930097746 0959638454	CORREO	zambrano_corr2@hotmail.com diegomera_1998@outlook.com
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Control de ambiente	FECHA DE RECIBIDO Y ANÁLISIS	25-enero-2021
CANTIDAD RECIBIDA:	4 muestras	FECHA DE MUESTREO	26-enero-2021
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	27-enero-2021




MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	
Control de Ambiente	Det. de bacteria por ufc/cm Det. de Hongos ufc/cm ³	9.5 ufc/cm³ Presencia de: penicillium Spp	Positivo Positivo
Muestra de Nebulización			

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	
Control de Ambiente	Det. de bacteria por ufc/cm Det. de Hongos ufc/cm ³	----- -----	Negativo Negativo
Muestra de Inmersión y Aspersión			

OBSERVACIÓN:

- El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
- Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia.
- Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.

Anexo Nº 10 Análisis de la muestra sin desinfectar.

			
Laboratorio de Microbiología	ESPAMMFL ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ	Laboratorio de Microbiología	
REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN TESIS			
ESTUDIANTES:	Bryan Andrés Zambrano Zambrano Diego Armando Zambrano Mera	C.I.:	1313604470 1314765056
DIRECCIÓN:	Tosagua	Nº DE ANÁLISIS	<u>002</u>
TELÉFONO:	0930097746 0959638454	CORREO	zambrano_corr2@hotmail.com diegomera_1998@outlook.com
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Huevos comerciales	FECHA DE RECIBIDO Y ANÁLISIS	1-febrero-2021
CANTIDAD RECIBIDA:	5 huevos	FECHA DE MUESTREO	4-febrero-2021
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	5-febrero-2021

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	ACEPTABLE	NO ACEPTABLE	RESULTADOS		MÉTODO DE ENSAYO
Muestra sin desinfección (Testigo)	Determinación de <i>E. coli</i> , ufc/g externa	<50	50	39	Aceptable	NTE INEN 1529-5
	Determinación de <i>Salmonella ssp</i> / 25 g	Ausencia	----	Ausencia	Aceptable	NTE INEN 1529-29

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	
Muestra sin desinfección (Testigo)	Determinación de <i>Aspergillus</i> ufc/g	37x10 ²	Positivo
	Determinación de <i>Penicillium</i> ufc/g	22x10 ²	Positivo

Anexo Nº 11 Análisis de las muestras con desinfección.

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN TESIS			
ESTUDIANTES:	Bryan Andrés Zambrano Zambrano Diego Armando Zambrano Mera	C.I.:	1313604470 1314765056
DIRECCIÓN:	Tosagua	Nº DE ANÁLISIS	<u>002</u>
TELÉFONO:	0930097746 0959638454	CORREO	zambrano_corr2@hotmail.com diegomera_1998@outlook.com
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Huevos comerciales	FECHA DE RECIBIDO Y ANÁLISIS	2-febrero-2021
CANTIDAD RECIBIDA:	5 huevos por tratamientos	FECHA DE MUESTREO	5-febrero-2021
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	8-febrero-2021

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	ACEPTABLE	NO ACEPTABLE	RESULTADOS		MÉTODO DE ENSAYO
T₁R₁ MÉTODO DE INMERSIÓN	Determinación de <i>E. coli</i> , ufc/g externa	<50	50	33	Aceptable	NTE INEN 1529-5
	Determinación de <i>Salmonella ssp</i> / 25 g	Ausencia	----	Ausencia	Aceptable	NTE INEN 1529-29

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	
T₁R₁ MÉTODO DE INMERSIÓN	Determinación de <i>Aspergillus ufc/g</i>	----	Negativo
	Determinación de <i>Penicillium ufc/g</i>	----	Negativo

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	ACEPTABLE	NO ACEPTABLE	RESULTADOS		MÉTODO DE ENSAYO
T₁R₂ MÉTODO DE INMERSIÓN	Determinación de <i>E. coli</i> , ufc/g externa	<50	50	1	Aceptable	NTE INEN 1529-5
	Determinación de <i>Salmonella ssp</i> / 25 g	Ausencia	----	Ausencia	Aceptable	NTE INEN 1529-29

Anexo N° 12 Análisis de los pollitos bb.



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS
T ₁ R ₁ Pollos BB (hígado, vaso y corazón)	Determinación de <i>E. coli</i>	Negativo
	Determinación de <i>Salmonella</i>	Negativo

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS
T ₂ R ₁ Pollos BB (hígado, vaso y corazón)	Determinación de <i>E. coli</i>	Negativo
	Determinación de <i>Salmonella</i>	Negativo

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS
T ₂ R ₂ Pollos BB (hígado, vaso y corazón)	Determinación de <i>E. coli</i>	Negativo
	Determinación de <i>Salmonella</i>	Negativo

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS
T ₂ R ₃ Pollos BB (hígado, vaso y corazón)	Determinación de <i>E. coli</i>	Negativo
	Determinación de <i>Salmonella</i>	Negativo

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS
T ₂ R ₄ Pollos BB (hígado, vaso y corazón)	Determinación de <i>E. coli</i>	Negativo
	Determinación de <i>Salmonella</i>	Negativo