



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

CARRERA DE PECUARIA

**TESIS PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO**

TEMA:

**EFEECTO DEL GLUTARALDEHÍDO Y AMONIO CUATERNARIO
EN EL CONTROL DE *Escherichia coli* EN LA PLANTA
INCUBADORA “ESPAM MFL”**

AUTORES:

**JUAN DIEGO ÁLVAREZ BERMÚDEZ
RAÚL EDUARDO RODRÍGUEZ ALCÍVAR**

TUTOR:

Q.F. JOHNNY DANIEL BRAVO LOOR Mg.

CALCETA, NOVIEMBRE 2017

DERECHOS DE AUTORÍA

Juan Diego Álvarez Bermúdez y Raúl Eduardo Rodríguez Alcívar, 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 hemos 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.

JUAN D. ÁLVAREZ BERMÚDEZ
131357691-8

RAÚL E. RODRÍGUEZ ALCÍVAR
131303072-6

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Mg. Johnny Daniel Bravo Loor, certifica haber tutelado la tesis EFECTO DEL GLUTARALDEHÍDO Y AMONIO CUATERNARIO EN EL CONTROL DE *Escherichia coli* EN LA PLANTA INCUBADORA “ESPAM MFL” que ha sido desarrollada por, Juan Diego Álvarez Bermúdez y Raúl Eduardo Rodríguez Alcívar, previa a la obtención del título de Médico Veterinario de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

QF. JOHNNY D. BRAVO LOOR, MG.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos miembros del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO**, la tesis titulada EFECTO DEL GLUTARALDEHÍDO Y AMONIO CUATERNARIO EN EL CONTROL DE Escherichia coli EN LA PLANTA INCUBADORA “ESPAM MFL”, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Juan Diego Álvarez Bermúdez y Raúl Eduardo Rodríguez Alcívar, previa a la obtención del título de Médico Veterinario de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Mg.Sc PATRICIA M. ZAMBRANO GAVILANES
MIEMBRO

Mg.Sc. ALEX J. ROCA CEDEÑO
MIEMBRO

DR. DERLYS H. MENDIETA CHICA
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A Dios por el don de la vida, a mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento a mis hermanos y familiares. Es por ello que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida.

JUAN D. ÁLVAREZ BERMÚDEZ

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A Dios Todopoderoso por darme la vida, a mi mamá, quien a lo largo de mi vida me ha apoyado siempre y a todas las personas que de una u otra manera me han apoyado para mi realización profesional

RAÚL E. RODRÍGUEZ ALCÍVAR

DEDICATORIA

A mis padres, Juan Álvarez y Carmen Bermúdez por ser mi apoyo incondicional cada día de mi vida

A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.

JUAN D. ÁLVAREZ BERMÚDEZ

DEDICATORIA

A mi madre le dedico el fruto de este trabajo, porque siempre me ha apoyado en mi vida estudiantil.

RAÚL E. RODRÍGUEZ ALCÍVAR

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL	ix
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS	x
RESUMEN	xi
PALABRAS CLAVE	xi
ABSTRACT	xii
KEYS WORDS	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. OBJETIVOS	4
1.4. HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. GLUTARALDEHÍDO	5
2.2. SANIDAD EN LA PLANTA DE INCUBACIÓN	6
2.3. ESCHERICHIA COLI EN LOS POLLOS DE ENGORDE	10
2.4. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE BACTERIA ESCHERICHIA COLI EN EL LABORATORIO	11
2.5. AMONIO CUATERNARIO BIOSENTRY 904	13
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	15

3.1. UBICACIÓN.....	15
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO	15
3.3. FACTORES EN ESTUDIO	15
3.4. TRATAMIENTOS.....	15
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16
3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL	16
3.7. VARIABLES A MEDIR.....	16
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
3.10. PROCEDIMIENTO	17
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	25
5.1. CONCLUSIONES	25
5.2. RECOMENDACIONES	25
BIBLIOGRAFÍA.....	27
ANEXOS.....	32

CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 3.1.1. DATOS METEOROLÓGICOS Y CARACTERÍSTICAS ANUALES DEL LUGAR.....	15
CUADRO 3.4. TRATAMIENTO Y CONCENTRACIONES USADAS PARA LA INVESTIGACIÓN.....	15
CUADRO 3.5. DISEÑO DEL EXPERIMENTO Y SUS REPETICIONES.....	16
CUADRO 3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ADEVA).....	17
CUADRO 4.1. PREVALENCIA DE <i>E. COLI</i> (UFC) ANTE LA ACCIÓN DEL GLUTARALDEHIDO (ACCIÓN RESIDUAL A LAS 48 HORAS)	21
CUADRO 4.2. EFECTO DE ACCIÓN INMEDIATA DE LAS DISTINTAS CONCENTRACIONES DE GLUTARALDEHÍDO EN <i>E. COLI</i> (UFC) DURANTE LAS SEMANAS DE ESTUDIO.....	21

RESUMEN

Esta investigación se efectuó en la Planta de Incubación ESPAM MFL de Calceta se evaluó el efecto bactericida contra *Escherichia coli*. del glutaraldehído al 2% (T1), 3% (T2) , y 4% (T3) de concentración frente a amonio cuaternario 1.6% “Biosentry 904” (T0). Se aplicaron los tratamientos bactericidas en dicha planta mediante aspersión con bomba de mochila. Las muestras se tomaron mediante el método del hisopado, en el laboratorio de microbiología se sembró en Agar Mc Conkey mediante la técnica de estría cruzada, los resultados revelaron una vez realizado el Análisis de Varianza la inexistencia de diferencias estadísticas aunque el (T1) presentó crecimiento de bacterias en incubadora y cuarto de selección de pollo 3365.5 ufc/ml y 5461 ufc/ml respectivamente, y el (T2) en la nacedora con cantidades de 2476.5 ufc/ml, el (T3) no reportó presencia de la bacteria en todas las repeticiones, esto evidencia que en lo que respecta a la efecto residual el glutaraldehído al 4% logró mayor eficacia bactericida sobre la *Escherichia coli*, en contraste con el T0, glutaraldehído al 2%, y 3%. También se realizó un cultivo de *Escherichia coli* en Agar Mc Conkey para la aplicación por inundación de los respectivos tratamientos y se evaluó el modo de respuesta inmediata. La prueba Tukey arrojó diferencias significativas 0,05 entre el T0 y las concentraciones de glutaraldehído y a pesar que entre éstos no hubo diferencias estadísticas, se confirma que el T4 numéricamente fue el mejor, lo que lo constituye en un producto que puede ser utilizado como bactericida.

PALABRAS CLAVE

Acción residual, Acción inmediata, bactericida, hisopado.

ABSTRACT

This investigation was carried out in the incubation plant spam MFL of sock was evaluated the bactericidal effect against *Escherichia coli*. From Glutaraldehyde to 2% (T1), 3% (T2), and 4% (T3) of concentration against Quaternary ammonium 1.6% "biosentary 904" (T0). The bactericide treatments were applied in this plant by means of a backpack pump spray. The samples were taken using the swab method, in the microbiology laboratory was sown in Mc Conkey Agar using the cross striation technique, the results revealed once the analysis of variance was made the absence of statistical differences Although (T1) showed growth of bacteria in incubator and chicken selection room 3365.5 CFU/ml and 5461 CFU/ml respectively, and (T2) in the hatcher with amounts of 2476.5 CFU/ml, the (T3) did not report the presence of the bacterium in all repetitions, this evidence that in regard to the residual effect the Glutaraldehyde to 4% achieved greater bactericidal efficacy over *Escherichia coli*, in contrast to T0, Glutaraldehyde to 2%, and 3%. A culture of *Escherichia coli* was also performed on Mc Conkey Agar for the flood application of the respective treatments and the immediate response mode was assessed. The Tukey test showed significant differences 0.05 between T0 and glutaraldehyde concentrations and although there were no statistical differences, it is confirmed that T4 numerically was the best, which constitutes a product that can be used as bactericide.

KEYS WORDS

Residual action, immediate action, bactericide, swab.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La contaminación microbiana en la superficie de las incubadoras es frecuentemente fuente de infección para los embriones en proceso de incubación. Es una práctica obligatoria usar un biocida que controle a estos microorganismos sin afectar al embrión. El glutaraldehído es un biocida de amplio espectro de acción, no corrosivo y biodegradable (Takahashi, 2011)

Las incubadoras están bajo constante amenaza de contaminación por microorganismos patógenos como bacterias y hongos. Existen numerosos factores, como incubar huevos recibidos de diferentes granjas, persona, medio de transporte, roedor, etc, que estén infectados, puede actuar como vector para esos patógenos. Sin un control adecuado los patógenos se multiplicarán y expandirán en la incubadora (Ordovás, 2012).

En todas las áreas de la planta de incubación debe cuidarse mucho la limpieza y desinfección para prevenir el ingreso de microorganismos patógenos y se deberán vaciar y limpiar al mismo tiempo todas las máquinas y equipos para eliminar todos los residuos (Faucitano, 1993).

Una parte importante del mantenimiento de la incubadora son los procedimientos de limpieza y desinfección para impedir la contaminación biológica creciente. El buen diseño de la planta y el control de los movimientos entre las áreas limpias y sucias serán sin duda de gran ayuda para mantener limpia la planta de incubación. Es más fácil limpiar una planta ordenada, en cuyas áreas de trabajo no existan equipos ni materiales fuera de lugar. (Aviagen, 2013)

En la septicemia neonatal producida por *E.coli*. Los pollos son afectados en las primeras 24 a 48 horas después de la eclosión. La tasa de mortalidad se encuentra elevada durante los primeros diez días y puede alcanzar el 5-6%. El saco vitelino no está absorbido. El bazo está agrandado (Dinev, 2014)

Torres (2005), señala que la desinfección química constituye un factor importante en el control sanitario, hasta el punto de constituirse una práctica imprescindible si se quiere tener alguna rentabilidad.

En la Planta de Incubación de la ESPAM MFL se realizan constantemente controles de ambiente para evaluar la eficacia de los desinfectantes que se utilizan (Biosentry 904 amonio cuaternario y Lidex al 2% glutaraldehído), sin embargo la prevalencia de *Escherichia coli* en el año 2015 en los meses de Enero a Septiembre tuvo marcada incidencia con un promedio de 981,075 ufc/ml, resultados obtenidos por el Laboratorio de Microbiología de la ESPAM-MFL luego de realizadas las desinfecciones con los productos normalmente realizado en dicha planta.

Se plantea con esta investigación disminuir la prevalencia de *Escherichia coli* en la planta de incubación mediante la aplicación de glutaraldehído al 2%, 3%, y 4% para disminuir riesgos de contaminación. Es una práctica obligatoria usar un biosida que controle los microorganismos patógenos sin afectar al embrión. En base a estos inconvenientes, se plantea la siguiente interrogante:

¿La aplicación del glutaraldehído como desinfectante en los procesos embrionarios reducirá la incidencia de *Escherichia coli* en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Planta de Incubación ESPAM MFL?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Dentro de las producciones pecuarias (aves, cerdos, ganado) los estándares de higiene pueden parecer óptimos y que el personal considere como normales, sin embargo, en muchos casos el desarrollo de microorganismos en el medio ambiente, genera niveles de desafío de enfermedades que las vacunaciones y medicación no son suficientes para controlarlas (Cobb, Vantress, 2013).

Las aguas provenientes de las plantas de beneficio generan un alto impacto ambiental, teniendo en cuenta la gran cantidad de materia orgánica que tienen como son: plumón, sangre, deyecciones, cascaras de huevo. Existe

reglamentación muy estricta acerca del manejo de estos residuos para minimizar el impacto ambiental.

González (2010), refiere que el amplio espectro de acción del glutaraldehído, es un compuesto activo no carcinogénico, no 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, no ocasiona daños para la salud de quienes están en contacto con este medio. Además, el glutaraldehído no es corrosivo y, por lo tanto, no ataca el material metálico de incubadoras y granjas.

Se busca evaluar la eficacia del glutaraldehído a diferentes concentraciones como desinfectante contra la bacteria *Escherichia coli* que se presenta con mayor frecuencia en las valoraciones anteriores. Además se busca disminuir la cantidad de ufc de *Escherichia coli* en esta planta, ya que esta bacteria afecta al pollito tanto su desarrollo embrionario como en su rendimiento a nivel de granjas, creando así una incalculable pérdida económica por la muerte del embrión y la baja calidad del pollo bb (Cobb, 2002).

Obtener un producto inocuo puede beneficiar a los productores de la zona, ya que la calidad del pollito depende de las buenas prácticas realizadas dentro de las plantas incubadoras en cuanto a controles de microorganismos y desinfección ambiental dentro y fuera de establecimiento lo que garantiza la oferta de un producto inocuo para el consumo humano.

Con la ejecución de este trabajo se plantea mejorar las condiciones de desinfección en la planta de incubación de la ESPAM MFL, mediante la efectivización del uso de glutaraldehído a concentración apropiada de tal manera que permita reducir considerablemente la incidencia de contaminación principalmente *Escherichia coli* que ha sido el agente más frecuente en muestreos anteriores.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. . OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del glutaraldehído como bactericida de *E. coli* mediante el método de hisopado y cultivo en la unidad de docencia y vinculación planta de incubación ESPAM MFL

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comprobar el efecto bactericida de tres concentraciones de Glutaraldehído *in vitro* e *in vivo* en diferentes áreas de la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Planta de Incubación ESPAM MFL.

Determinar la concentración de Glutaraldehído más eficiente *in vivo* e *in vitro* contra *E. coli* frente a otro desinfectante de uso común (amonio cuaternario).

Estimar el crecimiento de Unidades Formadoras de Colonias (ufc/ml) de la bacteria *E. coli* en las muestras para el control microbiológico en esta Planta Incubadora, para cada método empleado.

1.4. HIPÓTESIS

La utilización del Glutaraldehído tiene mayor efecto bactericida contra *Escherichia coli* en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Planta de Incubación ESPAM MFL

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. GLUTARALDEHÍDO

Sumano y Ocampo (2006) revelan que 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.

Sánchez y Sáenz (2005) manifiestan que el glutaraldehído pentanodial es un aldehído saturado, aceptado como desinfectante de alto nivel y esterilizante químico, en particular para desinfección a temperatura baja y esterilización de endoscopios y equipos quirúrgicos. En solución acuosa el glutaraldehído es ácido, poco estable y no posee actividad esporicida. Sin embargo, cuando la solución es alcalina (pH 7,5 a 8,5) se activa y posee actividad esporicida.

Los mismos autores afirman que su actividad biocida se debe a la alteración del ARN, ADN y síntesis de proteínas. El glutaraldehído ofrece amplia eficacia, es libre de formaldehído y es biodegradable, no es carcinogénico, ni persistente ni se bioacumula.

El glutaraldehído se utiliza para desinfección de alto nivel de equipamiento médico, utilizado en instalaciones de atención de la salud como biosida 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)

El mismo autor menciona que el glutaraldehído tiene una acción antiséptica y desinfectante para todos los microorganismos incluidas las bacterias gram+ y gram-, el *Mycobacterium tuberculosis*, las esporas, los hongos, y los virus (como el de la hepatitis B o el del VIH), por lo que en realidad llega a tener una

acción esterilizante. Actúa reaccionando con el grupo amino de las proteínas formando un complejo irreversible.

De acuerdo a Vignoli (2009) el glutaraldehído es esporicida para tiempos de acción de 6 a 10 horas. Es el desinfectante más utilizado en la esterilización de equipos de endoscopia y de tratamiento respiratorio, ya que no corroe metales y gomas, ni deteriora lentes

El glutaraldehído es fácilmente biodegradable, lo que significa que se descompone en moléculas más simples (incluyendo dióxido de carbono y agua) mediante la acción natural del oxígeno, la luz solar, las bacterias y el calor y es utilizado con mayor frecuencia en una solución acuosa con una concentración que varía entre 50% a menos de 1% (Takahashi, 2011)

Las excelentes propiedades desinfectantes del glutaraldehído han hecho que en multitud de ocasiones haya sido el desinfectante de elección en los centros sanitarios, prevaleciendo estas características por encima de otros argumentos como el de la seguridad y la salud en el trabajo. Las soluciones acuosas ligeramente ácidas son relativamente estables, aspecto que puede incrementarse con la adición de productos específicos como metanol. En medio alcalino, en cambio, la reactividad es más alta, pudiendo llegar a ser violenta a pH elevados (González, 2010).

2.2. SANIDAD EN LA PLANTA DE INCUBACIÓN

Un programa de higiene debe ser diseñado para controlar contaminación y sus resultados deben ser revisados regularmente usando procedimientos de monitoreo microbiológico. Además de huevos infectados y plumón, hay otras fuentes de contaminación como el aire, la gente (trabajadores y visitantes), animales tales como ratas y ratones, aves silvestres, insectos, al igual que equipo como cajas, bandejas y carros de huevos (Cobb, 2002).

Este mismo autor indica, asegúrese que todos los trabajadores y visitantes vistán ropa protectora. Es una buena práctica usar uniformes de diferentes colores de acuerdo al lugar de trabajo (área limpia y sucia de la incubadora) o

labor. Esto ayuda a identificar movimientos incorrectos del personal y posibles contaminaciones cruzadas.

Según Vasquez (2008) el objetivo de la desinfección es mantener los niveles de microorganismos nocivos en valores aceptables por lo que se aplican desinfectantes. Las técnicas más comunes de desinfección de una planta de incubación son: aspersión, nebulización y termo nebulización. La técnica a aplicar depende de la disponibilidad de recursos, nivel de automatización y del área que se esté desinfectando.

La desinfección terminal consiste en conseguir una desinfección total de aire ambiente, así como de superficies horizontales y verticales, y de todos los lugares inaccesibles que son difíciles de desinfectar mediante otros procedimientos (Citrosol, 2012).

Antes de usar cualquier desinfectante, es importante remover todo material orgánico. La principal forma de controlar la contaminación es la higienización (limpieza y desinfección). Además, han de actuar a las temperaturas óptimas de los procesos alimentarios y con tiempos de acción preferiblemente inferiores a cinco minutos (García, 1989).

Ospina (2012) advierte que se debe tener en cuenta que los desinfectantes pueden desactivarse por la presencia de suciedad (materia orgánica o inorgánica). Es por ello que es importante que se haya realizado una buena labor de limpieza reduciendo el 80% de los patógenos y permitir que el desinfectante entre en contacto directo con la superficie para terminar de acabar con el 20% restante que sigue siendo un riesgo significativo.

Los desinfectantes deben ser usados estrictamente con las recomendaciones del fabricante, muchos son tóxicos y deben ser manejados con cuidado. Asegúrese que el personal de la incubadora este enterado del almacenamiento, manejo y requisitos de mezclado de los desinfectantes a usar. Es esencial un buen entrenamiento del personal en cómo usar los desinfectantes correctamente (Cobb, Vantress, 2013).

El mismo autor manifiesta que los desinfectantes usados deben cumplir con las regulaciones de cada gobierno. Pruebas de sensibilidad deben ser llevadas a cabo para seleccionar el programa de higiene más efectivo.

Takahashi (2011) refiere que otras características deseables son: que no induzcan resistencia en los gérmenes, que no provoquen mortalidad embrionaria, alta residualidad, de amplio espectro y que no pierdan su efectividad con las aguas duras, sin embargo, todas estas características son muy difíciles de encontrar en un solo desinfectante por lo que es necesario validar los desinfectantes que se utilizan por medio de análisis de laboratorio.

2.2.1. LA HIGIENE CORRECTA EN LAS INCUBADORAS MODERNAS.

La producción avícola moderna no estaría donde está actualmente sin unas incubadoras desarrolladas como un vínculo esencial entre las reproductoras y la producción final. La labor de las incubadoras modernas ha propiciado la especialización y la ampliación de procesos, que traen consigo una producción más rentable (Ordovás, 2012).

García (1989) recalca que las incubadoras están bajo constante amenaza de contaminación por microorganismos patógenos como bacterias y hongos. Numerosos factores, como incubar huevos recibidos de una única granja, persona, medio de transporte, roedor, etc., que estén infectados, puede actuar como vector para esos patógenos.

En esta área se debe mantener dentro de un ambiente estéril y libre de contaminación, según lo expresa Álvarez (2013), se recomienda desinfectar por lo menos una vez cada semana para disminuir o eliminar posibles agentes contaminantes, también manifiesta Vasquez (2008), la limpieza y desinfección de las incubadoras varía dependiendo de las condiciones de cada incubadora, lo más común es que se realice 1 o 2 veces por semana junto con las cargas.

El monitoreo microbiológico es una excelente herramienta para evaluar los programas de limpieza y desinfección. Todo monitoreo microbiológico se tiene que realizar con profesionalismo y sin trampa o mentira alguna. Los

procedimientos del monitoreo microbiológico pueden adaptarse a las condiciones particulares de cada planta incubadora (Reyes, 2013).

Según lo expresa Valladares (2010), el monitoreo microbiológico no es un procedimiento rígido ni inmodificable; todos los procedimientos pueden ser adaptables a las condiciones particulares de cada Planta Incubadora de acuerdo a sus propios recursos y necesidades, no existe un procedimiento universalmente aceptado que pueda ser aplicado a las diferentes incubadoras. Tampoco existen parámetros aceptados en cuanto a tipo de muestras, número de muestras, frecuencia del muestreo, estudios realizados ni resultados considerados como "Aceptables", "Adecuados" o "Normales"

Las bacterias más comunes, como *E. coli*, provocarán una creciente mortalidad en el plazo de siete días, rebajando la producción óptima, y un mayor uso de antibióticos. Además, la reputación de la incubadora puede quedar en entredicho, y restablecer la confianza del cliente es mucho más difícil que mantenerla (Ordovás, 2012).

De la misma manera Paz (2013) manifiesta que un programa de limpieza y desinfección incluya no solamente las oportunas rutinas de limpieza, desinfección y fumigación, sino además un efectivo programa de monitoreo y seguimiento de la presencia de hongos en la planta. Las áreas sucias como las salas de nacedóras, de nacimientos y procesado, deben contar con un plan específico que determine y excluya cualquier contaminación fúngica.

Es cada vez más frecuente que dentro de las normativas de control de calidad se incluya un control microbiológico ambiental y de superficies y se hace prácticamente imprescindible en actividades relacionadas con productos destinados a sanidad o alimentación Scharlab (2009), de la misma manera se debe controlar el ambiente en una sala de incubación.

Para obtener buenos resultados en los procesos de limpieza y desinfección al seleccionar un producto adecuado para atacar a los microorganismos existentes en la planta de incubación, lo ideal es conocer la sensibilidad de la

microflora potencialmente patógena del ambiente de la planta para aplicar el desinfectante que contenga el compuesto activo correcto (Aviagen, 2013).

Se debe poner especial importancia al proceso de limpieza y a los productos empleados para esta labor para de esta manera reducir de manera significativa los agentes patógenos dentro de la planta de incubación, según lo manifiesta Lange (2015), una buena limpieza remueve hasta el 85% de microorganismos, y el restante 15% puede ser erradicado mediante una desinfección adecuada

2.3. ESCHERICHIA COLI EN LOS POLLOS DE ENGORDE

La bacteria *Escherichia coli* es un bacilo corto Gram negativo que se encuentra clasificado dentro de la familia *Enterobacteriaceae* (bacterias entéricas), existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales Camacho *et al.* (2009) pero existen ciertas cepas de estos microorganismos que pueden ser patógenos y provocar problemas diarreicos en crianza de pollos y trastornos en las condiciones de los pollitos BB por efecto de contaminación durante el proceso de incubación.

La *Escherichia coli* forma la mayor parte de la flora comensal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo, y se elimina por las heces al exterior, por lo que es frecuente que se encuentre en el medio ambiente, donde son capaces de sobrevivir durante cierto tiempo en el ambiente, pero a la vez puede intervenir en proceso patológicos como la producción de cuadros intestinales, diarreas y diversas infecciones extra intestinales (Navarro , 2007).

La Colibacilosis, es un síndrome causado por *Escherichia coli*, una de las enfermedades bacterianas infecciosas más comunes en la industria de aves. *Escherichia coli* siempre se encuentra en el tracto gastrointestinal de las aves diseminándose ampliamente en las heces; por lo tanto, las aves están expuestas continuamente a la contaminación por las heces, agua, polvo y al medio ambiente (Charlton, 2006).

La colibacilosis en pollitas recién nacidas también puede traer como consecuencia una mala calidad de la pollita y mala sanidad de la planta de incubación, lo cual causa mortalidad temprana en los pollitos (Nolan, 2013).

Según manifiesta Dinev (2014), las infecciones por *Escherichia coli* están distribuidas ampliamente entre pollos de todas las edades y categorías. Estas están relacionadas principalmente con condiciones higiénicas pobres, procedimientos tecnológicos mal realizados, o enfermedades respiratorias o depresión del sistema inmune.

La Onfalitis, o inflamación del ombligo es una de las principales causas de mortalidad en los pollitos durante la primera semana. Tanto el *E. coli* como el *Enterococcus* fecal han sido identificados como las bacterias patógenas más comúnmente asociadas con la mortalidad durante la primera semana de los pollitos (Olsen, 2012).

La infección de *E. coli* resulta por la contaminación del ombligo no cicatrizado y también puede involucrar el saco vitelino. Los signos clínicos de la onfalitis incluyen hinchazón, edema, enrojecimiento y costras en el área del ombligo y/o saco vitelino y en casos severos, la pared del cuerpo y la piel pasan por una lisis, causando que el pollito se vea mojado y sucio (Nolan, 2013).

2.4. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE BACTERIA ESCHERICHIA COLI EN EL LABORATORIO

La búsqueda de *Escherichia coli* se realiza a partir de los tubos positivos de caldo EC, los cuales se siembran por agotamiento en medios selectivos y diferenciales (Agar Mac Conkey, Agar eosina azul de metileno) y posteriormente realizando las pruebas bioquímicas básicas a las colonias típicas (Camacho *et al*, 2009).

Los muestreos microbiológicos en planta resultan una herramienta muy buena para radiografiar nuestra situación sanitaria. Para ello, se utilizan varios medios en diferentes tipos de cultivo generales Sabourau-Dextrosa, TSA, Agar Zobell, Agar Nutritivo, etc. selectivos por ejemplo, Agar Cetrimida para el cultivo de *Pseudomonas* sp. o diferenciales - Agar Eosina Azul de Metileno para coliformes y *E.Coli* (Gonzales, 2011).

Los medios de cultivos pueden ser de acuerdo a las condiciones y funciones a cumplir; sintéticos o definidos (cuando se conoce la composición química

cualitativa y cuantitativa de sus componentes) y complejos (cuando no se conoce la composición de alguno de sus componentes, selectivos (para el desarrollo de un grupo específico de microorganismos) y diferenciales (para distinguir tipos de microorganismos), líquidos (llamados caldos) con los nutrientes disueltos en agua; sólidos con un agente solidificante como el agar a una concentración de 1.5% p/v y semisólidos (Santana y Poncio, 2011)

El agua peptonada es un medio enriquecedor y de transporte que se prepara adicionando 7.5 gr de agua peptonada en 500 ml de agua destilada Armijo, (2011). Aunque algunos microorganismos pueden resistir en el medio durante 3 o más días. Es conveniente que la muestra llegue al laboratorio antes de las 24 horas (Scharlab, 2009)

En un trabajo realizado por Valladares (2010), para la determinación de bacterias mesófilas aerobias se utilizó agar de soya tripticaseína, para entero bacterias agar Mac Conkey, para estafilococos agar de sal y manitol y para hongos agar rosa de Bengala. Los análisis cualitativos se realizaron por métodos morfológicos, bioquímicos y serológicos.

La técnica de estría cruzada que se empleó en este trabajo para la siembra y cultivo de la bacteria según manifiestan Bailon *et al*, (2003) ésta consiste en diseminar el inóculo con un movimiento hacia atrás y hacia adelante girando la placa 90°, lo cual hará que se diluya en forma suficiente en la superficie del agar para que sea posible obtener colonias.

Goez *et al*, (2010) mediante un ensayo demostraron que es mucho más eficaz usar un mismo sustrato como genérico para la determinación de la *E. coli* o coliformes fecales que los tradicionales métodos empleados para su control. Es decir, que ya se dispone de una forma relativamente rápida y sencilla de detectar a tan peligroso microorganismo.

La demostración y el recuento de organismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivo líquidos o sólidos con características selectivas y/o diferenciales. El método de placa permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra utilizando un medio

selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35 °C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos (Santana y Poncio, 2011).

2.5. AMONIO CUATERNARIO BIOSENTRY 904

BioSentry® 904 Desinfectante es un biocida completo y químicamente balanceado que provee soluciones claras aún en agua dura. Es un bacteriostático residual que inhibe el crecimiento de bacterias en superficies húmedas. Contiene inhibidores de moho y corrosión. Desodoriza matando los microorganismos que causan olores ofensivos. Mata un espectro amplio de bacterias gram - negativas y gram + positivas, hongos y virus asociados con las operaciones de incubación, granjas, galpones, ranchos, laboratorios e instalaciones con animales y operaciones caninas. Contiene ingredientes aislantes para prevenir la precipitación de minerales y metales en agua dura. (chemical farm, 2006)

2.5.1. HIGIENIZACIÓN DE LOS CUARTOS EN PLANTAS DE INCUBACIÓN POR NEBULIZACIÓN

Cierre el cuarto para evitar que se escape la niebla. Mezcle 2 litros de BioSentry® 904 Desinfectante por cada 3.5 litros de agua. Ajuste al máximo y nebulice un (1) minuto por cada 115 metros cúbicos de superficie. Si utiliza un nebulizador portátil, nebulice por 3 minutos por cada 115 metros cúbicos de superficie. No permita que el personal entre a la instalación ni inhale ni haga contacto con la niebla hasta que ésta se asiente o se agote completamente. Normalmente el proceso tarda de 1 a 4 horas en este ambiente.

2.5.2. HIGIENIZACIÓN DE INCUBADORAS Y NACEDORAS POR NEBULIZACIÓN

Chemical farm (2006) Preparar una solución madre de 180 ml de BioSentry® 904 Desinfectante por cada 3.8 litros de agua. Nebulizar de 90 a 240 mililitros de la solución en las incubadoras y nacedoras inmediatamente después de transferir. Repite diariamente en las incubadoras y cada 12 horas en las nacedoras. Descontinúe el tratamiento en las nacedoras aproximadamente 24 horas antes de sacar el nacimiento.

La sanidad en la planta de incubación es de vital importancia para producir de manera eficiente según afirma Lange (2015), la mala higiene conlleva a un porcentaje de nacimientos reducido y a una mala calidad de los pollitos; así como el riesgo de que los granjeros pierdan la confianza como resultado de un incremento en la mortalidad de la primera semana.

El estado de higiene del ambiente en el que se incuban los pollitos tiene un impacto directo sobre la calidad del pollito de un día de edad y la mortalidad durante la primera semana (Lange, 2012).

No permite a ninguna persona inhalar o entrar en contacto con la aspersión o entrar a la incubadora hasta que la niebla se haya asentado (de 30 a 60 minutos después de aplicar). Para facilitar la aplicación, instale boquillas de nebulización permanentes en las incubadoras y las nacedoras y utilice un compresor de aire para asperjar la solución en forma de niebla. Comuníquese con su Representante Técnico de BioSentry® si necesita asistencia. También se pueden asperjar las incubadoras y nacedoras con una solución de 4 ml de BioSentry® 904 Desinfectante por cada litro de agua. Asperje de 30 a 90 segundos una vez por hora o una vez cada 2 horas. Comuníquese con su Representante Técnico de BioSentry® en su país si necesita asistencia.

2.5.3. PARA DESINFECCIÓN DE CAMIONES DE POLLOS Y HUEVOS O CAMIONES DE SERVICIO

Lave y enjuague los vehículos y desinfecte con una solución de 4 ml de BioSentry® 904 Desinfectante por cada litro de agua. Si desea, enjuagar después de 10 minutos o deje sin enjuagar (Chemical farm, 2006).

Independientemente de que se esté realizando una desinfección previa en granja es imprescindible someter a los huevos recibidos a un protocolo de recepción que incluirá una desinfección y fumigación, a ser posible en una sala habilitada para tal efecto (Gonzales y Balaguer, 2011)

Se debe tener en cuenta que las máquinas nacedoras, a más de realizar el proceso de nacimiento de pollitos, también representa un buen lugar para el crecimiento de bacterias, por lo que la higiene y la desinfección deben ser factores de muchos cuidados (Álvarez, 2013)

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Planta de Incubación, de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” ubicada en el sitio El Limón, situado geoméricamente entre las coordenadas 0°49′23″ latitud sur, 80°11′01″ longitud oeste y una altitud 15msnm. **Fuente:** Estación meteorológica de la ESPAM-MFL (2010). Datos de Ubicación geográfica proporcionada por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología

3.1.1. CONDICIONES CLIMÁTICAS

Las características climáticas del lugar donde se desarrolló la investigación, se detallan a continuación.

Cuadro 3.1.1. datos meteorológicos y características anuales de lugar

PRECIPITACIÓN MEDIA ANUAL:	889,6 mm
TEMPERATURA MEDIA ANUAL:	25 °C
HUMEDAD RELATIVA ANUAL:	82,9 %
HELIOFANÍA ANUAL:	1325,4 (horas/sol)
EVAPORACIÓN ANUAL:	1739,5 mm

Fuente: Estación meteorológica de la ESPAM-MFL (2015). Datos avalados por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

El presente trabajo se realizó en el transcurso de 16 semanas, desde el 6 de octubre de 2015 hasta el 6 de febrero de 2016.

3.3. FACTORES EN ESTUDIO

Concentraciones del glutaraldehído (Lidex 2, 3, y 4%)

3.4. TRATAMIENTOS

Cuadro 3.4. Tratamiento y concentraciones usadas para la investigación

Tratamientos	Concentraciones
Testigo amonio cuaternario (biosentry® 904 1,6%)	16%
Glutaraldehído (lidex® 2%)	20%

Glutaraldehído (lidex® 3%)	30%
Glutaraldehído. (lidex® 4%)	40%

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó para este trabajo un Diseño Completamente Aleatorizado.

Cuadro 3.5. Diseño del experimento y sus repeticiones

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			
	Cuarto de huevos	incubado ra	nacedor a	Cuarto de pollos
T1: BIOSENTRY® 904 (AMONIO CUATERNARIO 16%)	4	4	4	4
T2: LIDEX® (GLUTARALDEHÍDO 2%)	4	4	4	4
T3: LIDEX® (GLUTARALDEHÍDO 3%)	4	4	4	4
T4: LIDEX® (GLUTARALDEHÍDO 4%)	4	4	4	4

Tratamiento	Repeticiones	Áreas a evaluar	Unidades Experimentales
T1	4	4	16
T2	4	4	16
T3	4	4	16
T4	4	4	16

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

Se trabajó con 64 muestras de laboratorio en tubos de ensayo con agua peptonada, donde cada uno correspondió a una unidad experimental por lo tanto se trabajó con 64 unidades observacionales en total para evaluar la acción de los tratamientos en las respectivas áreas de la planta de incubación al igual que con 64 cajas Petri con los respectivos cultivos de E. coli y tratamiento para la acción inmediata de las concentraciones

3.7. VARIABLES A MEDIR

3.7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Concentraciones al 2%, 3%, 4% de glutaraldehído.

Amonio cuaternario 1.6% (Biosentry 904)

3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Unidades formadoras de colonias (ufc/m³) de *Escherichia coli*.

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados se lo realizó mediante Estadística Descriptiva y Análisis de varianza (ADEVA), el cual quedó estructurado de la siguiente manera.

Cuadro 3.8. Análisis estadístico (ADEVA)

ADEVA	
FACTORES DE VARIABLES	GL
TOTAL	15
TRATAMIENTO	3
ERROR	12

3.9. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación efectuada se llevó a cabo mediante dos procesos de los cuales el primero se trató en Campo realizado dentro de la Plata de Incubación y posteriormente un proceso adicional realizado in Vitro dentro del Laboratorio de Microbiología.

3.9.1. EFECTOS DE LAS DISTINTAS CONCENTRACIONES DE GLUTARALDEHIDO EN E. COLI (UFC) POR SEMANA (IN VITRO)

Se realizó este proceso investigativo con la finalidad de poner a prueba la diferencia significativa que pudiese existir dentro de los tratamientos.

3.9.2. EFECTO DE LAS DISTINTAS CONCENTRACIONES DE GLUTARALDEHIDO EN E. COLI POR SEMANA (IN VIVO)

Se realizó por la vía no paramétrica utilizando la técnica de kruskal-wallis y para evaluar el efecto de los tratamientos (concentraciones) para la ufc de *E.coli* se realizó la prueba de Chi Cuadrado para conocer si los tratamientos y las semanas eran independientes.

3.10. PROCEDIMIENTO

3.10.1. EXPERIMENTO 1 (MODO DE ACCIÓN RESIDUAL A LAS 48 HORAS) EN LAS ÁREAS DE LA PLANTA DE INCUBACIÓN

Se realizó la aplicación de cada tratamiento como desinfectante en toda la planta de Incubación de la ESPAM MFL, incluidas las máquinas incubadora y nacedora durante 16 semanas de forma rotativa uno por cada semana de acuerdo a la distribución de los tratamientos con el diseño estadístico que se empleó para el estudio, buscando los efectos de estos productos sobre las bacterias y principalmente *E. coli*.

La aplicación de cada tratamiento se lo realizó por aspersión con la ayuda de una bomba de mochila para con ella alcanzar las áreas de difícil acceso y hacerlo de la forma más fácil y segura.

Para el proceso de desinfección previamente se realizó una limpieza general de la planta para lo cual los tratamientos fueron aplicados al azar uno por cada semana y a cada cambio de producto o tratamiento se le realizó la limpieza general en la planta de tal manera que se evitó cualquier efecto residual del producto aplicado anteriormente

Para la limpieza se utilizó la rotación entre detergente neutro y detergente ácido respectivamente para evitar la formación de residuos o biopelículas que permitan crecimiento de bacterias o resistencia a la aplicación de un mismo producto Biosentry 904 (amotio cuaternario) por lo que es elemental rotar los agentes de limpieza.

Los medios de cultivo de agar Mc Conkey, selectivo para bacterias *Escherichia coli* y el medio enriquecedor agua peptonada para el proceso de toma de muestras, fueron preparados en el laboratorio de microbiología de la ESPAM – MFL y colocados en tubos de ensayo el agua peptonada y en cajas Petri el agar debidamente identificados, después de esto se llevó a la planta de incubación los tubos con agua peptonada para realizar la toma de muestras.

El muestreo se efectuó semanalmente para ello se utilizó la técnica con hisopos estériles de algodón, donde se tomó la muestra a las 48 horas de haber sido aplicado cada tratamiento, donde fueron llevadas hasta el laboratorio en los tubos de ensayo conteniendo el agua peptonada; es un método especialmente indicado para superficies de difícil acceso para las

placas de contacto o los lamino cultivos, como superficies flexibles, irregulares o muy contaminadas.

Este método fue rápido, sencillo y barato para calcular la carga microbiana de las máquinas y cuartos a evaluar mediante la siembra en el laboratorio en medios de cultivo de Agar Mc Conkey que fue diferenciado por las distintas secciones del área de trabajo (máquina incubadora, máquina nacedóra, cuarto de selección de huevos y cuarto de selección de pollitos), se obtuvo de esta manera cuatro repeticiones por área evaluada en cada tratamiento y se determinó contaminación bacteriana por la *Escherichia coli*.

El procesamiento de las muestras se ejecutó en el laboratorio de microbiología de la ESPAM. Se procedió a sembrar la muestra del tubo con agua peptonada en las cajas Petri que contienen el medio Selectivo Agar Mc Conkey mediante la técnica de estría cruzada; se dejaron en incubación por 24 a 48 horas a 35 °C para después proceder a contabilizar las unidades formadoras de colonias de bacterias y se determinó la incidencia de *Escherichia coli* que es la más frecuente en la planta de incubación.

Luego de la aplicación de cada producto se procedió a limpiar todas las áreas involucradas en la planta de incubación y las máquinas para prevenir el efecto residual de cada agente antimicrobiano al momento de empezar a evaluar el siguiente, de tal manera que no interfiera en la obtención de los resultados.

Según Vadillo *et al*, (2002) asegura que las pruebas bioquímicas son la forma más convincente para determinar el género y las especies bacterianas de interés. Cada tipo bacteriano tiene un cuadro de reacciones específicas donde se comprueba el resultado de las reacciones, y son la base de la identificación de los diferentes agentes bacterianos.

Para la identificación de enterobacterias en este caso la *Escherichia coli* se utilizó el método convencional para identificación de enterobacterias que se detalla a continuación: Es un medio de cultivo diferencial basado en la capacidad de los bacilos gram negativos de fermentar carbohidratos, de producir H₂S y producir gas. Se observa en el tubo el pico y el fondo ácido, hay

1% de positividad para la producción de H₂S en cepas de *E. coli* (Vadillo *et al* , 2002).

Los resultados se compilaron por semana mientras duró el trabajo, para luego procesar esta información y establecer la incidencia de la bacteria en las áreas evaluadas de la planta y de misma forma la efectividad de cada producto aplicado en la eliminación de *Escherichia Coli*, finalmente se procesaron y tabularon los datos obtenidos en el proceso de investigación.

3.10.2. EXPERIMENTO 2 (MODO DE ACCIÓN INMEDIATO)

Esta parte de la investigación se realizó de una manera más rápida, la cual consistió en llevar los tubos de ensayo a la planta de incubación para hacer la toma de muestra de *E. coli* que se encuentra presente en dicha unidad, luego de haber sido tomadas las muestras en cada área de la planta (cuarto de selección de huevos, incubadora, nacedora y cuarto de selección de pollos) se trasladaron las muestras al laboratorio de microbiología de la ESPAM, donde se lo colocó en una estufa a una temperatura de 37°C por un lapso de 24 a 48 horas dónde posterior a ello se observó su crecimiento.

Luego que se observó el crecimiento de *E. coli* se tomó cada tubo de ensayo y se cultivó en el agar Mc Conkey donde fueron llevadas a la estufa por otras 24 horas hasta tener crecimiento de colonia de *E. coli* (UFC), una vez detectada la presencia de estas colonias se replicó en cuatro cajas Petri, y por cada caja Petri contenían las muestra tomadas a cada área obteniendo así un total de 16 cajas Petri con *E. coli*, este proceso se lo realizó por cuatro ocasiones para obtener un total de 64 muestras a las que se les aplicó cada producto en estudio.

3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La variable de respuesta (*E. coli*, UFC) estudiada en el modo de acción residual del Glutaraldehído, fue analizada por medio de la estadística no paramétrica, utilizando la técnica de Kruskal Wallis, esto como consecuencia que los datos no cumplieron con los supuestos del análisis de varianza. Además, para

conocer la independencia entre tratamientos y semanas, se utilizó una prueba "Chic Cuadrado".

Mientras que, en el modo de acción inmediata, se analizó mediante el análisis de varianza y la respectiva comparación de medias empleando la prueba de Tukey al 5%.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación ante la acción residual a las 48 horas para conocer el efecto bactericida contra *Escherichia coli* de tres concentraciones de glutaraldehído en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Planta de Incubación ESPAM MFL, se presentan en la tabla 4.1, donde se observan diferencias no significativas en las semanas del ensayo con cada concentración; mientras se percibe un crecimiento de Unidades Formadoras de Colonias de *Escherichia coli* en las distintas áreas evaluadas.

Cuadro 4.1. Prevalencia de E. coli (UFC) ante la acción del glutaraldehído (acción residual a las 48 horas) en las distintas áreas de la incubadora durante las semanas de estudio.

TRATAMIENTOS	Cuarto de huevos (n.s)				Incubadora (n.s)				Nacedora (n.s)				Cuarto de pollos (n.s)			
	Semanas				Semanas				semanas				semanas			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
T0 AMONIO CUATERNARIO	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T1 GLUTARALDEHÍDO 2%	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
T2 GLUTARALDEHÍDO 3%	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
T3 GLUTARALDEHÍDO 4%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

SÍMBOLO: + (presencia); - (Ausente)
n.s: No significativo al 5% ($0.5619 > 0.05$).

Cuadro 4.2. Efecto de acción inmediata de las distintas concentraciones de Glutaraldehído en *E. coli* (UFC) durante las semanas de estudio. (ver ANEXOS 2,3,4 Y 5 Resultados obtenidos del paquete estadístico por semanas)

TRATAMIENTOS	E.coli (UFC)			
	Semanas			
	1	2	3	4
Amonio cuaternario	383,25 ^A	299,75 ^A	284,25 ^A	253,00 ^A
Glutaraldehído 2%	118,50 ^B	99,750 ^B	78,500 ^B	47,750 ^B
Glutaraldehído 3%	67,500 ^B	33,000 ^B	37,250 ^B	53,500 ^B
Glutaraldehído 4%	47,750 ^B	77,250 ^B	57,000 ^B	33,250 ^B

Error estándar de la media	45,32	24,84	22,82	23,48
----------------------------	-------	-------	-------	-------

^{A B} Letras distintas en la columna difieren estadísticamente al 5% (Tukey).

En el cuadro 4.2. se presentan los resultados representativos del experimento dos, durante cuatro semanas, que resume la respuesta de acción inmediata, en los distintos tratamientos evaluados ($P < 0,05$). Se observa que para las semanas de estudio, los tratamientos entre si presentan diferencias significativas, siendo los mejores promedios los tratamientos con Glutaraldehído al 2, 3 y 4%, para la variable E.coli (UFC).

Los resultados de esta investigación muestran que después de aplicar los diferentes productos como tratamientos, existe presencia de UFC de E. coli *in vitro*. Sin embargo, cuando es aplicado en las distintas áreas para conocer el efecto residual, se observó la no presencia de E. coli a partir de la segunda semana.

Los resultados obtenidos *in vivo*, concuerdan con lo reportado por Luna, (2014) quien efectuó al inicio un barrido en superficie de paredes para obtener recuento total de bacterias aerobias y E. Coli/Coliformes; posteriormente realizó el manejo para desinfección. Se tomó la segunda muestra de barrido en superficie del cascarón, obteniendo para este momento un menor conteo (13,8 UFC/cm²) y un 96,8% de mortalidad de las bacterias.

En una investigación realizada por Ojeda (2006), existe una diferencia muy marcada, en los resultados obtenidos de manera inmediata ya que la eficiencia germicida *in vitro* del desinfectante con tiempo de 5 minutos y rango de concentración recomendado por el fabricante (0,25% – 0,5%) fue para E. coli 99,999% a la concentración de 0,25%.

Similares resultados fueron observados en la investigación realizada por Zúñiga (2016) donde demostro lo siguiente. Los resultados obtenidos de manera *in vitro* mostraron que el desinfectante A (Glutaraldehído) fue más eficiente que el desinfectante B (Amoniaco Cuaternario), en la máxima concentración recomendada por el fabricante (0,5%) a los 5 min, logrando la

disminución de al menos 6 ciclos logarítmicos, mientras que el producto B a una concentración de 0,8% logró disminuir entre 4 y 6 ciclos. Lo mismo ocurrió con las concentraciones mínimas recomendadas, donde el producto A al 0,25% logró bajar de 2 a 4 ciclos mientras que el desinfectante B solo disminuyó la carga bacteriana entre 1 y 3 ciclos logarítmicos.

Por otro lado los resultados demostrados por Bedoya (2013), La reducción de la población en promedio fue de 100% en las diferentes concentraciones 0,25%, 0,50% y 1% frente a los microorganismos vegetativos *Pseudomonas sp*, *Staphylococcus aureus* y *E.coli*; con estos resultados se puede determinar que el desinfectante de alto nivel New Fagetriald a base de formaldehído y glutaraldehído es efectivo en un 100% cuando se emplea la mitad de la concentración recomendada por el fabricante 0.25% en el menor tiempo de exposición obteniendo resultados satisfactorios y similares a los presentados en estudios anteriores realizados en el laboratorio de indicadores de calidad de aguas y lodos de la Pontificia Universidad Javeriana resultados los cuales son semejantes a lo observado a los obtenidos en la planta de incubación ESPAM MFL.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La aplicación de glutaraldehído presentó efecto favorable sobre el control de la *Escherichia coli* en las diferentes áreas evaluadas en la planta de incubación ESPAM MFL

El glutaraldehído al 4% de concentración, resultó eficaz en el control de presencia de *E. coli* en las pruebas ambientales de Plantas de Incubación.

La eficacia del glutaraldehído al 2% fue menor en relación a las demás concentraciones debido a que se observó presencia de Unidades Formadoras de Colonia en la primera muestra en la máquina incubadora y en el cuarto de clasificación de pollitos, lo que sugiere resaltar que esta concentración es un buen agente desinfectante en distintas áreas de la planta de incubación que muestren niveles bajos de contaminación por *E. coli* asegurar su efectividad.

De acuerdo a la investigación realizada se pudo observar que en el método de acción residual se logró mejor efecto biocida el producto utilizado a base de Glutaraldehído.

Efecto de acción inmediata de las distintas concentraciones de Glutaraldehído en *E. coli* (UFC) durante las semanas de estudio reportan diferencias estadísticas con respecto al tratamiento a base de Amonio Cuaternario, además se el efecto de acción inmediata de los tratamientos de Glutaraldehído reduce las UFC con su utilización al transcurrir el tiempo (semanas) y al finalizar el experimento el T3 (Glutaraldehído al 4%) logró la mayor reducción de UFC de *E. coli*.

5.2. RECOMENDACIONES

Desinfectar con glutaraldehído en una concentración al 4% en las áreas de las Plantas de Incubación contra *E. coli*.

Utilizar el glutaraldehído al 2% en áreas plantas de incubación en las que se ha diagnosticado previamente niveles bajos de contaminación por *E. coli*.

Realizar un buen proceso de limpieza que garantice la remoción de los residuos de materia orgánica.

Usar el glutaraldehído en combinación con otros principios activos como los amonios cuaternarios.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, F. (2013). Bioseguridad en las plantas de incubación (parte I) vital para el logro de pollitos sanos y vigorosos. *agrytec*, 1 -5.

Armijo, I. G. (2011). Procedimientos para Preparación de Medios de Cultivo. IDAL, 1 -3.

Aviagen. (2013). Mantenimiento de las plantas de incubación. America Latina: www.aviagen.com.

Bailon , L., Gonzalez, R. C., y Cervantes , A. (2003). Atlas de Pruebas Bioquímicas para identificar Bacterias. México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Bedoya, L. y. (2013). Validación recurrente de cuatro tipos de desinfectantes utilizados en el laboratorio de indicadores de calidad de agua y lodo de la Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.

Biosentry Inc. (200). Programa de Limpieza y Desinfección Biosentry para Incubadoras. Rock Mountain Blvd, Stone Mountain, Georgia USA: DU PONT The miracles of science.

Cabrera, C. E., Gómez, R. F., y Zuñiga, Á. E. (2013). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Medica*, 38(2), 149 - 158.

Camacho et al, A. (2009). Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). UNAM. México: Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química.

Charlton, B. (2006). American Association of Avian Pathologists. Avian Disease Manual. 6th edition. Athens: .

chemical farm. (2006). biosentry 904. Quito-Ecuador.

- Citrosol. (2012). Aerobac, desinfectante bactericida, fungicida, esporicida, viricida . Valencia - España: Productos Citrosol SA (Ficha Técnica).
- Cobb, V. I. (2002). Guía de manejo de la planta incubadora. USA: Coob Vantress.
- Cobb, Vantress. (2013). Guía de Manejo de la Incubadora. México: Cobb-Vantress.
- Dinev, I. (2014). Enfermedades de las aves. Infecciones por Escherichia Coli. El Sitio Avícola, 1-10.
- Estación Meteorológica De La ESPAM MFL;. (2014). Reporte Metereológico . Calceta - Manabí: ESPAM CIENCIA.
- Faucitano, L. (1993). Puntos claves de una buena planta de incubación. Revista de Avicultura, 61(2), 39 -44.
- García, R. A. (1989). Programa de limpieza e higiene. Alimentaria 3:, 29-50.
- Gent, S. (1988.). "Determination of the anti-microbial power of the formulation CID-20 (according to the European Suspension Test – method (EST)". Belgium.
- Goez L, M., Vazquez G, M. J., y Pena C, P. (2010). determinacion y desinfeccion de escheria coli y coliformes totales usando un mismo sustrato cronogenico. Santiago de Compostela (España): Laboratorio Central. Aquagest Galicia.
- Gonzales Alonso, C. y. (2011). Bioseguridad en la Sala de Incubación. Seleccione Avícolas, 7 -11.
- González Jara , M. Á. (2010). Estudio de la Exposición al Glutaraldehido de los Trabajadores del Ámbito Sanitario de Atención Primaria. IDIAP Jordi Gol, Dirección de Atención Primaria Barcelonés Nord i Maresme. Barcelona: Instituto de Investigación en Atención Primaria Jordi Gol (IDIAP Jordi Gol).
- Hidalgo, R. ,. ((2000)). Estudio químico-microbiológico comparativo de dos soluciones propuestas para la desinfección de endoscopios” . Cubana Hig. Epidemiol, 38(3):210-4.

- Lange, G. (2012). Higiene de la bandeja nacedora para un comienzo limpio. El Sitio Avícola, 1 - 3.
- Lange, G. d. (2015). El Papel de Limpieza y Desinfección. Pas Reform, 1 -5.
- Luna, C. D. (2014). Comparación de tres protocolos de desinfección en huevo fértil, su relación con la disminución en la carga bacteriana y viabilidad del pollo de engorde. Bogotá, Colombia.
- Marca, J., y Navarrete, E. (2011). Uso de Despadac como alternativa a los programas usuales de desinfección de Maquinas Incubadoras. Laboratorios Calier SA., 1 -10.
- Martindale. (2003). Guía Completa de consulta Farmacoterapéutica (Vol. 1). Brasilia: Trillas.
- Navarro , M. O. (2007). Determinación de Coliformes totales y E. Coli de aguas mediante la técnica de sustrato definido, colilert por el método de Numero Más Probable. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial - República de Colombia. Colombia: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.
- Nolan, L. e. (2013). Chapter 18: Colibacillosis. Diseases of Poultry. Wiley-Blackwell.
- Ojeda, T. A. (2006). “Efecto biocida de un desinfectante de uso industrial sobre diferentes cepas de Staphylococcus aureus y Escherichia coli ”. Santiago de Chile .
- Olsen, R. e. (2012). An investigation on first-week mortality in layers. Avian Diseases., 51-57.
- Ordovás, M. Á. (3 de 09 de 2012). La higiene correcta es un deber para las incubadoras modernas. ALVEITAR PV, 7(1), 4.
- Ospina, J. (2015). Limpieza y Desinfección. El Sitio Avícola, 1- 8.

- Ospina, J. S. (2012). Elementos esenciales de la bioseguridad: 3 - Desinfección. El Sitio Avícola, 1 - 6.
- Paúles, R. (2014). Bioseguridad en salas de incubación. Selecciones Avícolas, 1 - 20.
- Paz Muñoz , F. (07 de 2013). Bioseguridad en Plantas de Incubación. Revista Técnica Maíz y Soya, 8.
- Reyes, G. (2013). Monitoreo Microbiológico y Programas de Sanidad en Plantas Incubadoras. 5to. Seminario Latinoamericano de Incubación Jamesway (pág. 42). Punta Cana - Republica Dominicana: División Industrial Pecuaria.
- Sánchez, L., y Sáenz, E. (30 de 06 de 2005). Antisépticos y Desinfectantes. Dermatología Peruana, 15(2), 82 -103.
- Santana, L. E. (2011). Manual de practicas de microbiologia ambiental. Juarez Chihuahua: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Scharlab;. (20 de 03 de 2009). Control microbiológico ambiental y de especies . Recuperado el 15 de 06 de 2016, de www.scharlab.com: www.scharlab.com
- Sumano, H. S., y Ocampo, L. (2006). Farmacología Veterinaria (Vol. Tercera Edición). México, México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A de C.V. A.
- Takahashi, D. (20 de 10 de 2011). Uso de glutaraldehído en la desinfección de incubadoras. Engormix, págs. 1 -7.
- Torres, B. (2005). Mantenimiento Preventivo, clave exitosa. Chick Master Internacional.
- Vadillo, S., Piriz, S., y Mateos, E. M. (2002). Manual de Microbiología Veterinaria. España: Mc Graw-Hill/ Interamericana S. A.
- Valladares, J. C. (20 de 04 de 2010). El Monitoreo Microbiológico de las Plantas Incubadoras. Emgormix, 10.

Vasquez , O. (06 de 11 de 2008). Factores que afectan la productividad en la planta de incubación. Engormix, 10p.

Vignoli, R. (2009). Desinfección, Esterilización y Anteseptia. Temas de Bacteriología y Virología Médica, 609 - 630.

Zúñiga, J. S. (2016). “Efecto bactericida de desinfectantes sobre cepas de Escherichia coli y Listeria innocua en superficies de uso en la Industria Alimentaria”. santiago de chile .

ANEXOS

ANEXO 2. Resultados obtenidos del Paquete Estadístico Statistix 8.0 para la semana 1

Semana 1

Statistix 8.0

One-Way ANV for ufc by trata

Source	DF	SS	MS	F	P
trata	3	290348	96782.5	11.8	0.0007
Error	12	98626	8218.8		
Total	15	388973			

Grand Mean 154.25 CV 58.77

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	17.0	3	0.0007
Cochran's Q	0.9182		
Largest Var / Smallest Var	200.80		

Component of variance for between groups 22140.9
Effective cell size 4.0

trata Mean

1	383.25
2	118.50
3	47.75
4	67.50

Observations per Mean 4
Standard Error of a Mean 45.329
Std Error (Diff of 2 Means) 64.105

Statistix 8.0

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ufc by trata

Trata	Mean	Homogeneous Groups
1	383.25	A
2	118.50	B
4	67.500	B
3	47.750	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 64.105
Critical Q Value 4.199 Critical Value for Comparison 190.35
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.

ANEXO 3. Resultados obtenidos del Paquete Estadístico Statistix 8.0 para la semana 2.

Semana 2

Statistix 8.0

One-Way ANV for ufc by trata

Source	DF	SS	MS	F	P
trata	3	167582	55860.6	22.6	0.0000
Error	12	29632	2469.4		
Total	15	197214			

Grand Mean 127.44 CV 38.99

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	2.53	3	0.4699
Cochran's Q	0.5093		
Largest Var / Smallest Var	6.2522		

Component of variance for between groups	13347.8
Effective cell size	4.0

trata	Mean
1	299.75
2	99.75
3	33.00
4	77.25

Observations per Mean	4
Standard Error of a Mean	24.846
Std Error (Diff of 2 Means)	35.138

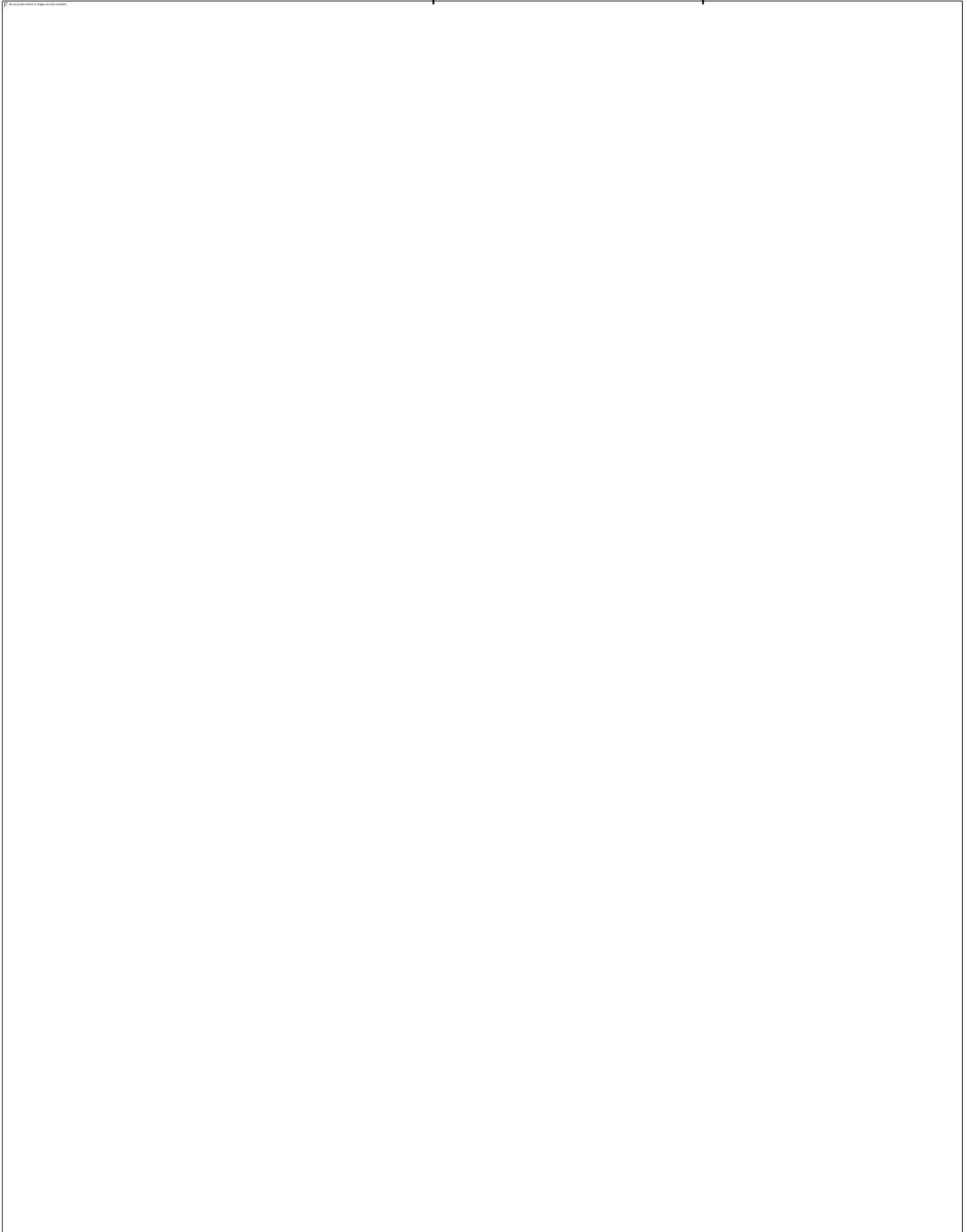
Statistix 8.0

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of ufc by trata

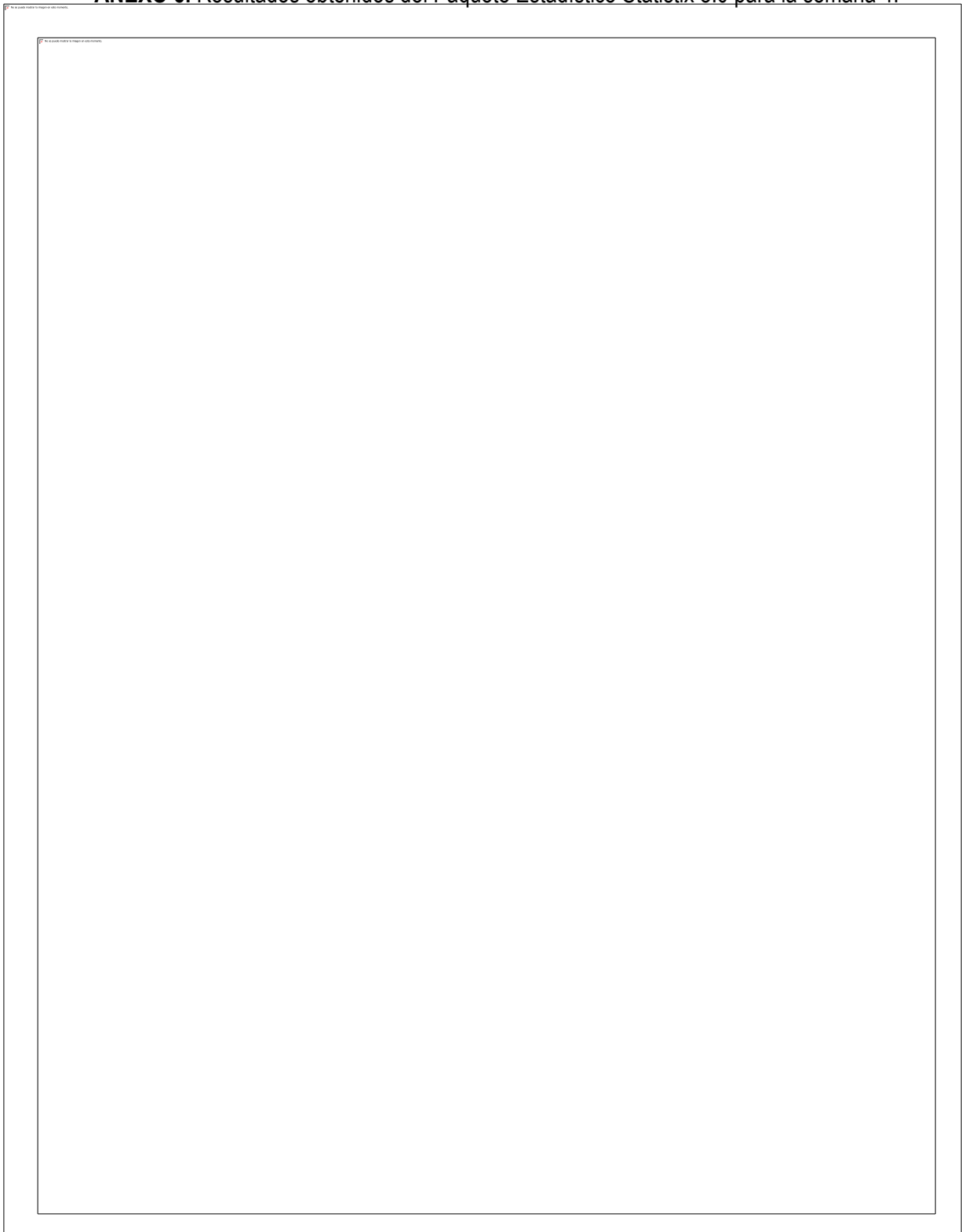
Trata	Mean	Homogeneous Groups
1	299.75	A
2	99.750	B
4	77.250	B
3	33.000	B

Alpha	0.05	Standard Error for Comparison	35.138
Critical Q Value	4.199	Critical Value for Comparison	104.34

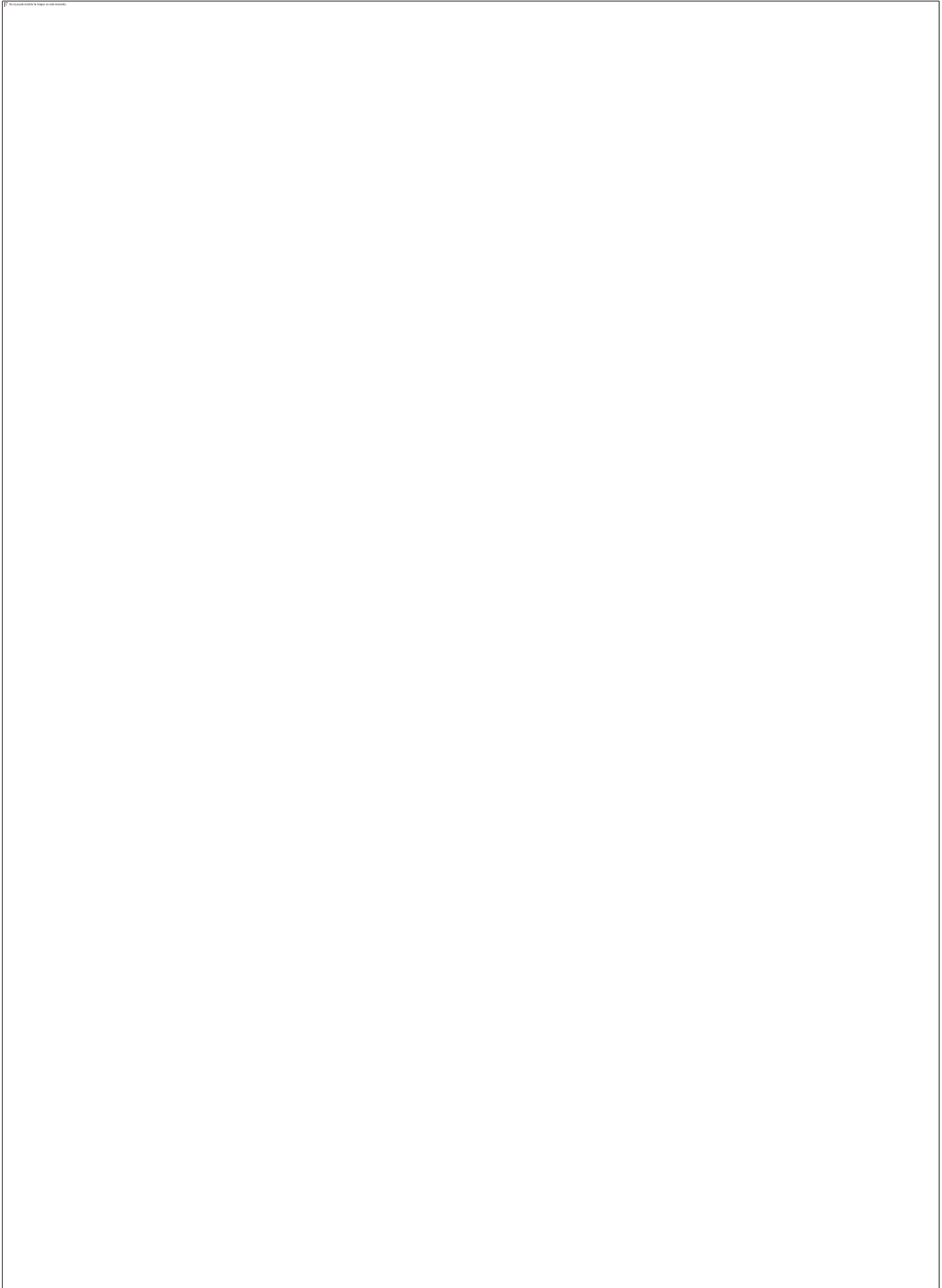
There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

ANEXO 4. Resultados obtenidos del Paquete Estadístico Statistix 8.0 para la semana 3.

ANEXO 5. Resultados obtenidos del Paquete Estadístico Statistix 8.0 para la semana 4.

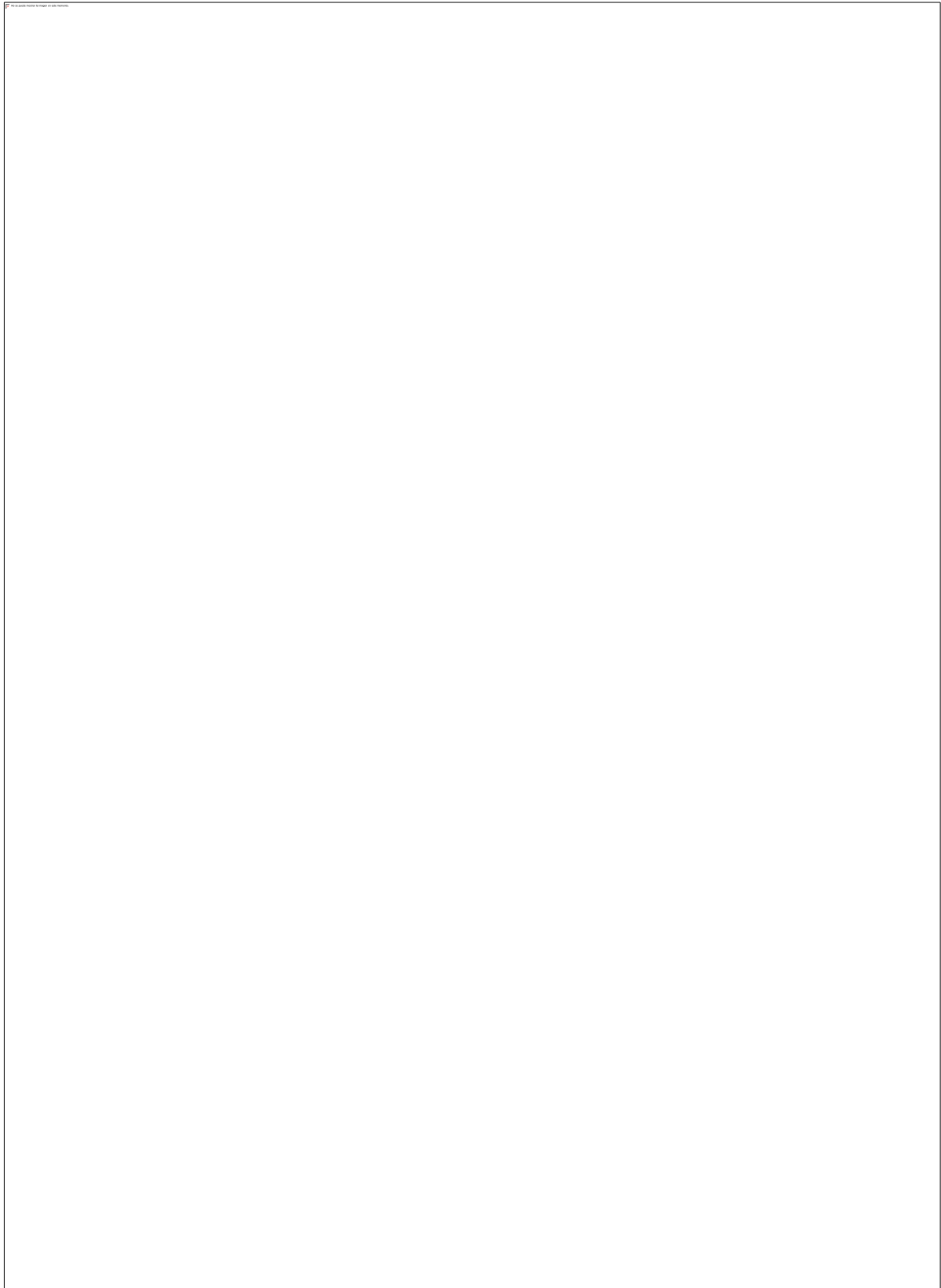


ANEXO 6. Reporte 1 de tratamiento 1 lidex 2%

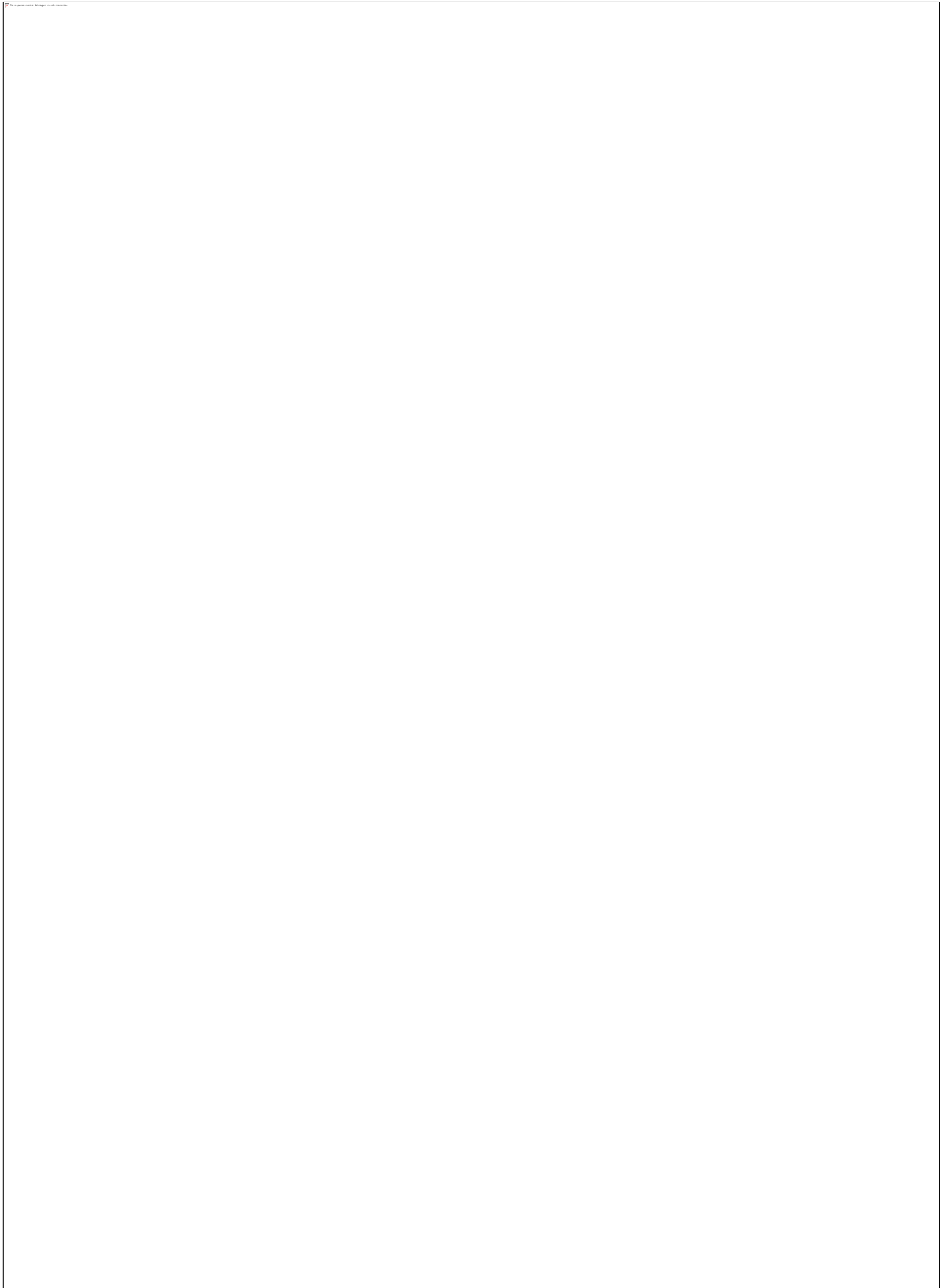


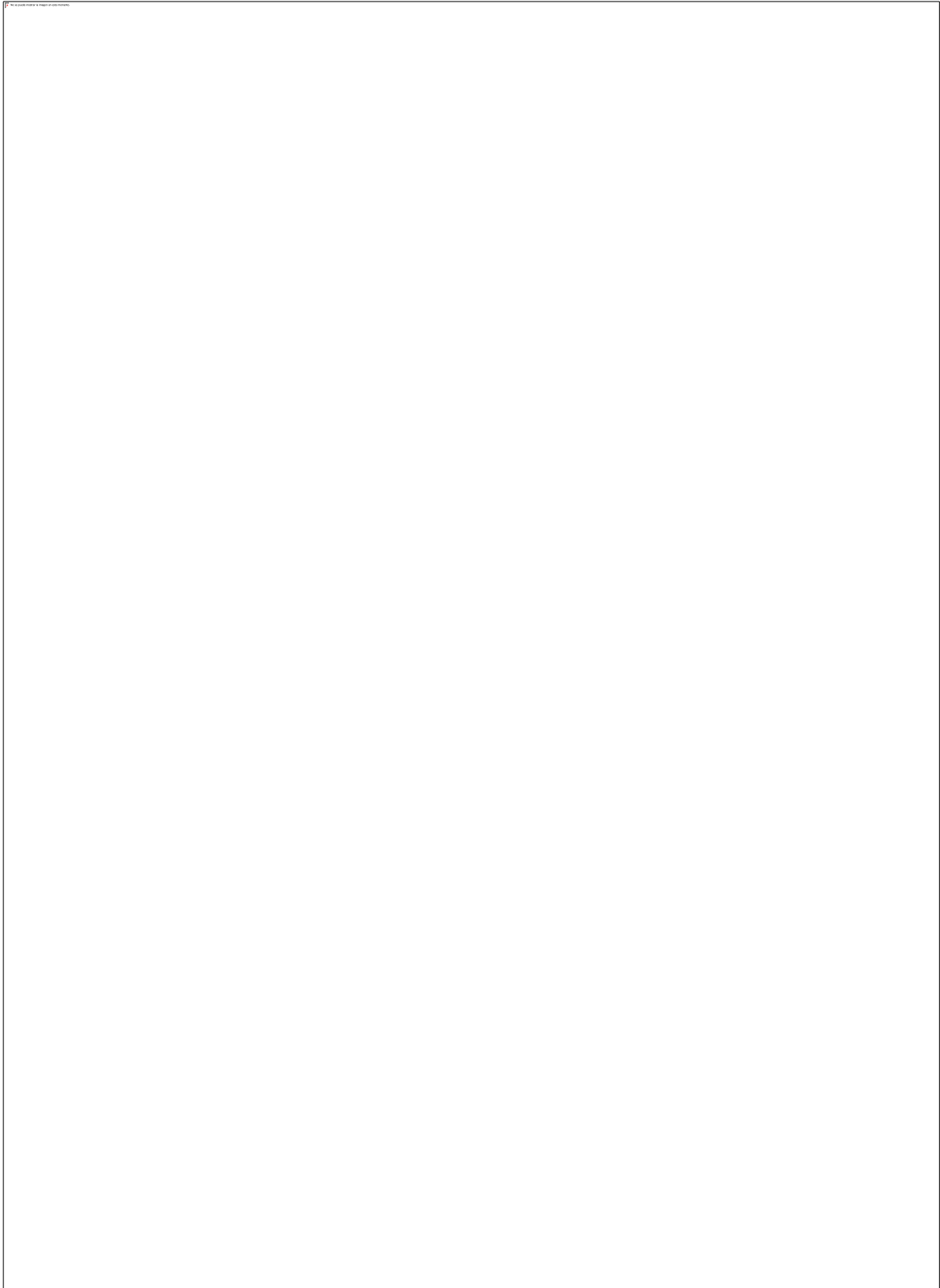
ANEXO 7. Reporte 1 de tratamiento 2 lidex 3%

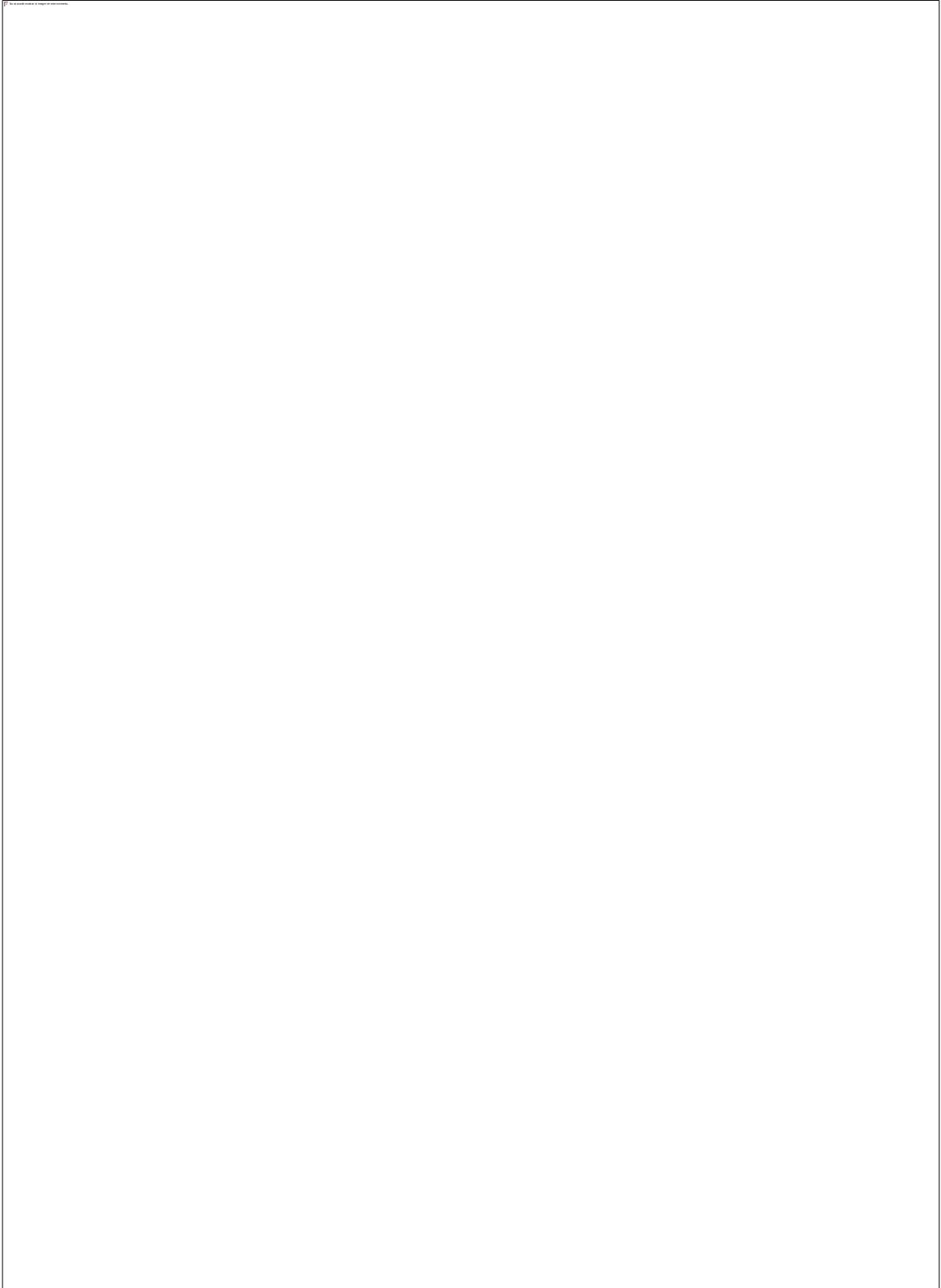
ANEXO 8. Reporte 1 de tratamiento 3 lidex 4%



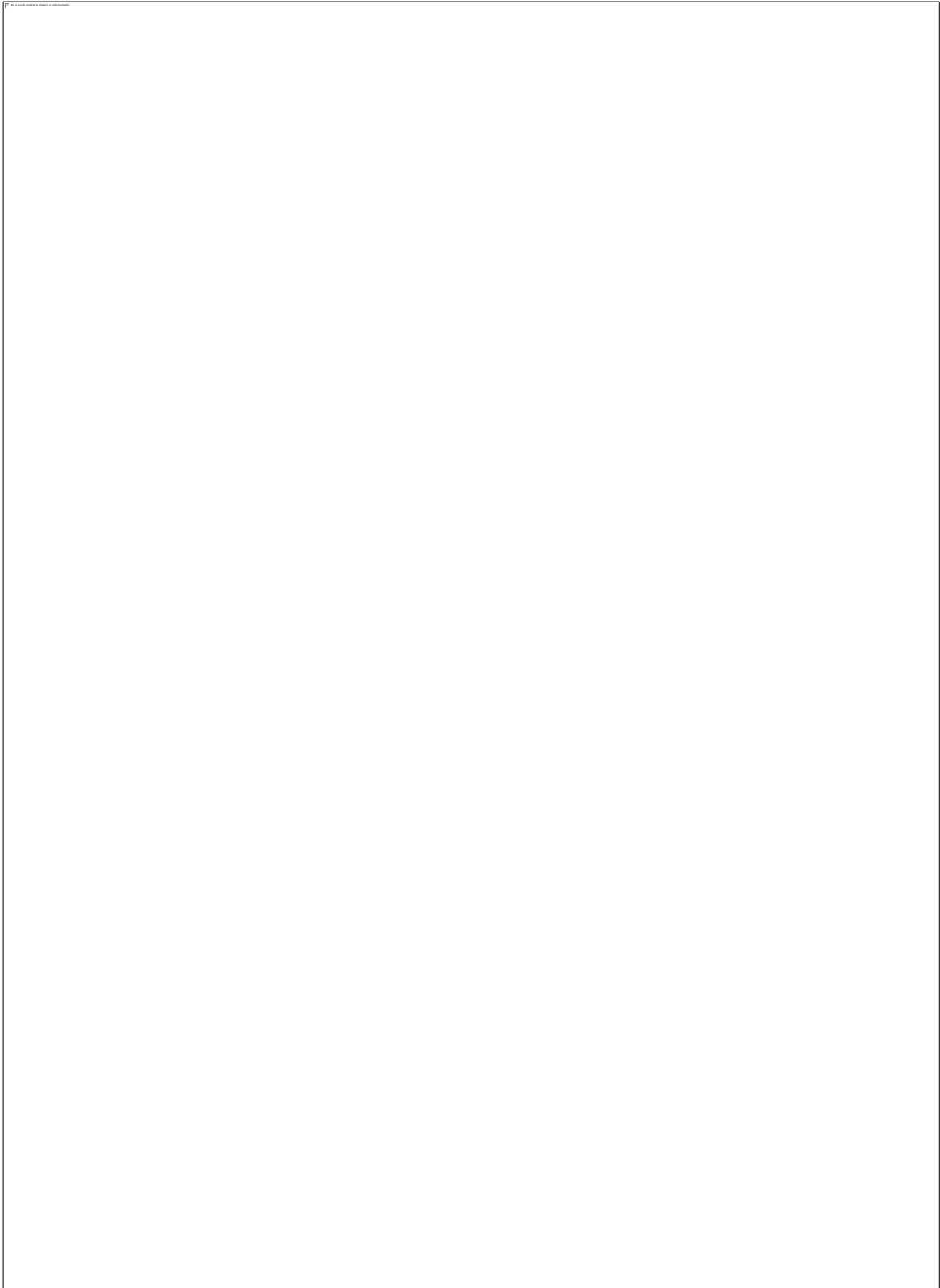
ANEXO 9. Reporte 1 de testigo biosentry 904



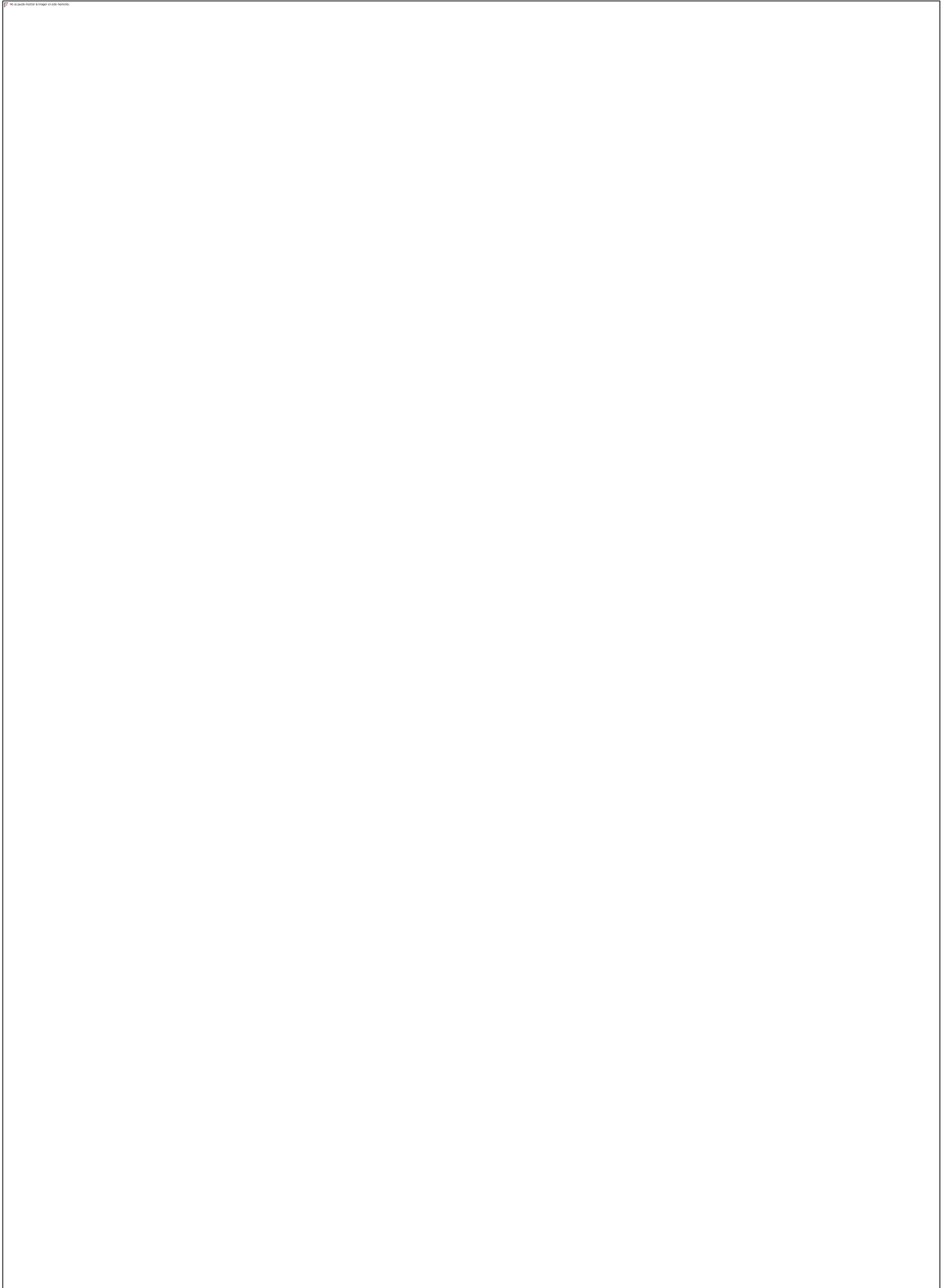
ANEXO 10. Reporte 2 tratamiento 2 lidex 3%

ANEXO 11. Reporte 2 tratamiento 3 lidex

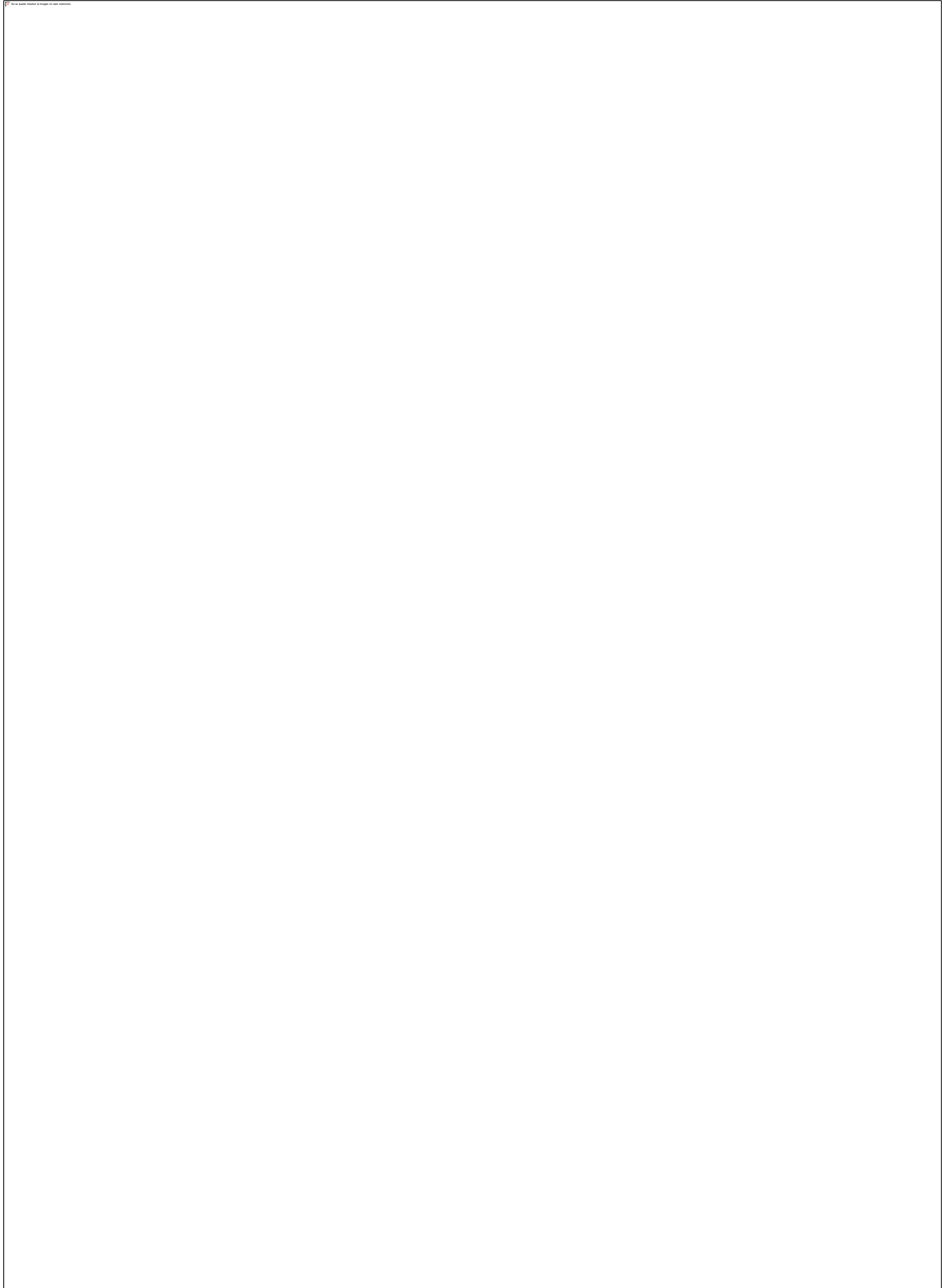
ANEXO 12. Reporte 2 tratamiento 1 lidex 2%



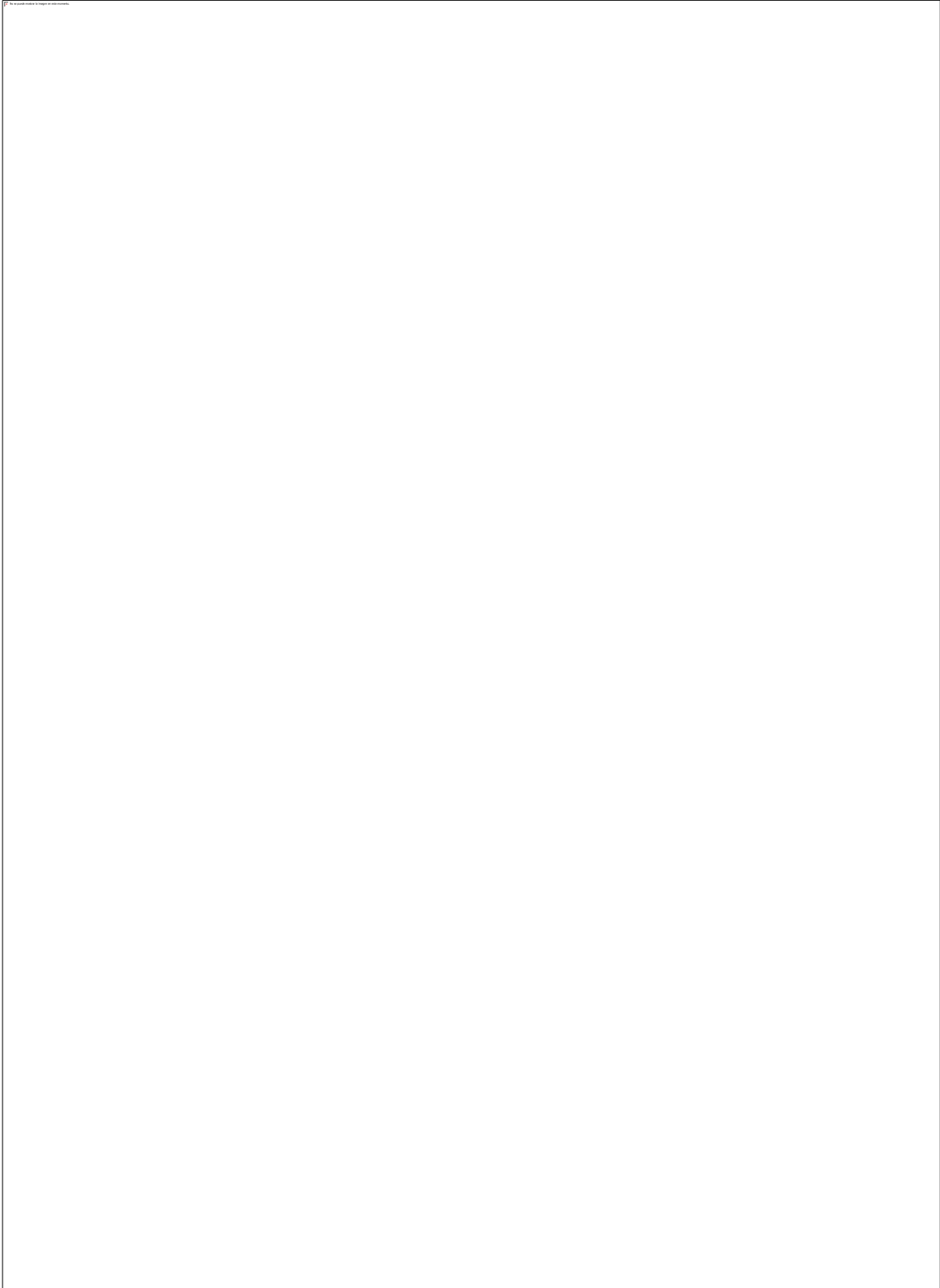
ANEXO 13. Reporte 2 testigo biosentry 904



ANEXO 14. Reporte 3 de tratamiento 1 lidex 2%



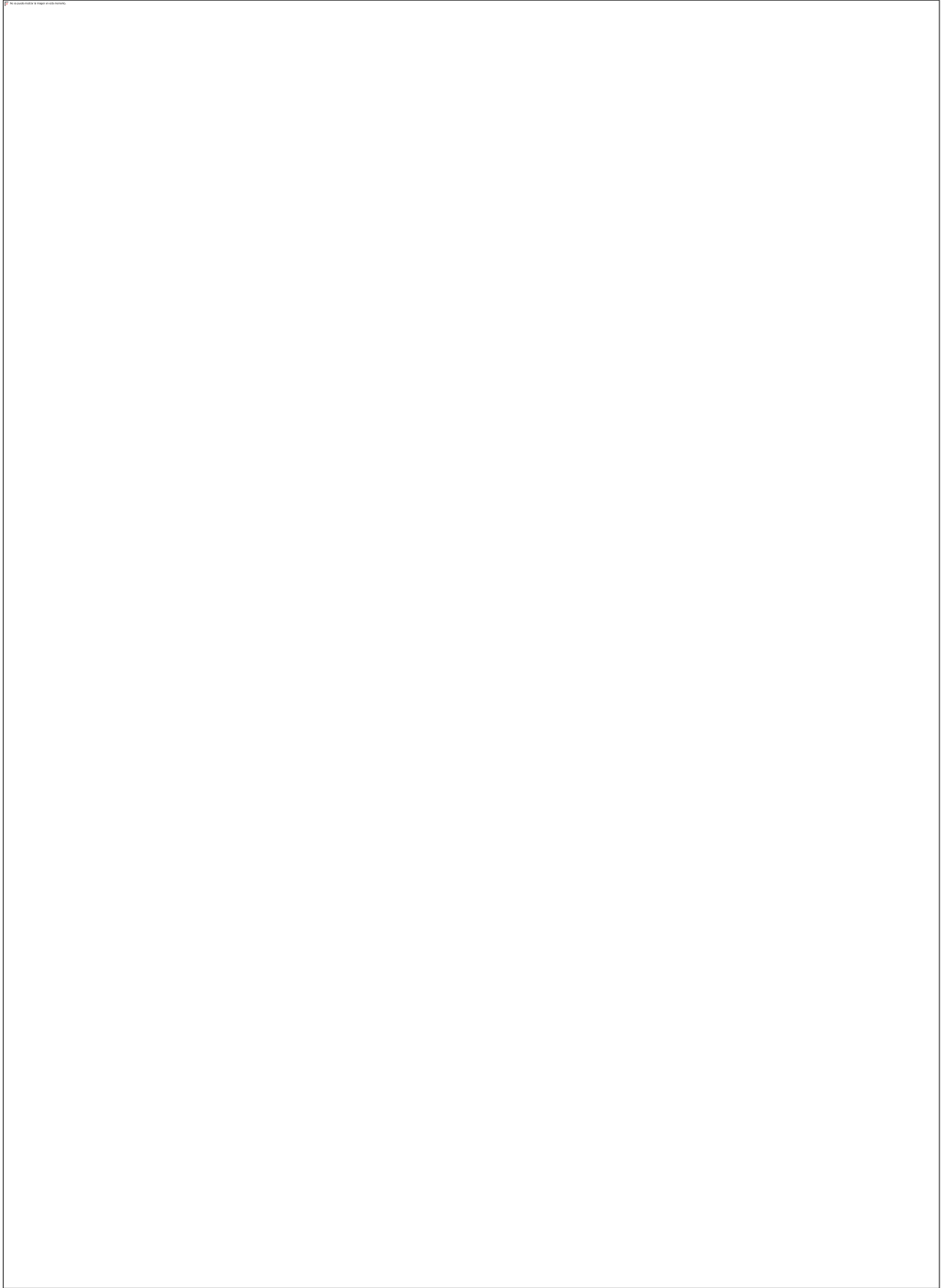
ANEXO 15. Reporte 3 de tratamiento 2 lidex 3%



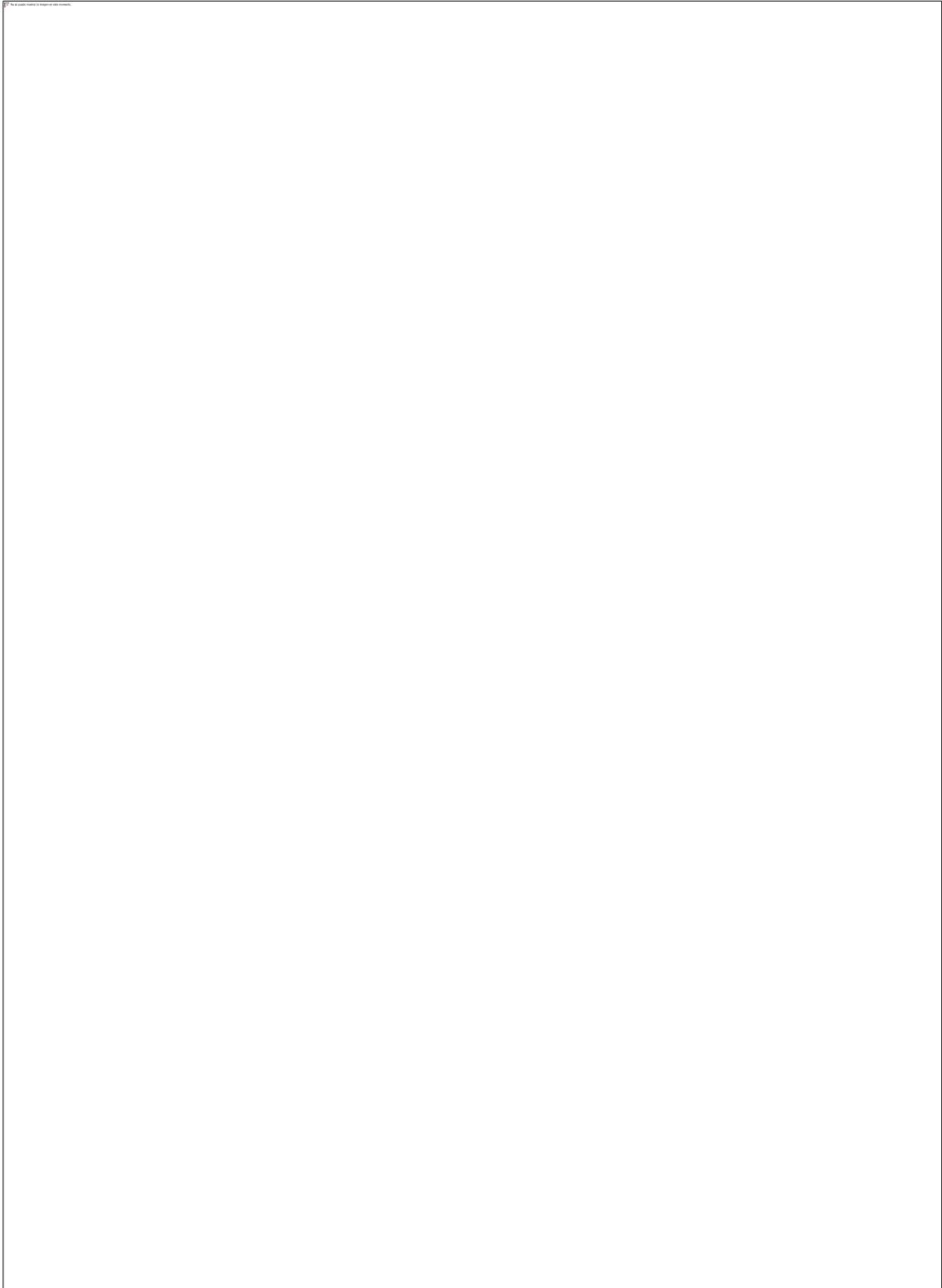
ANEXO 16. Reporte 3 de tratamiento 3 ídex 4%



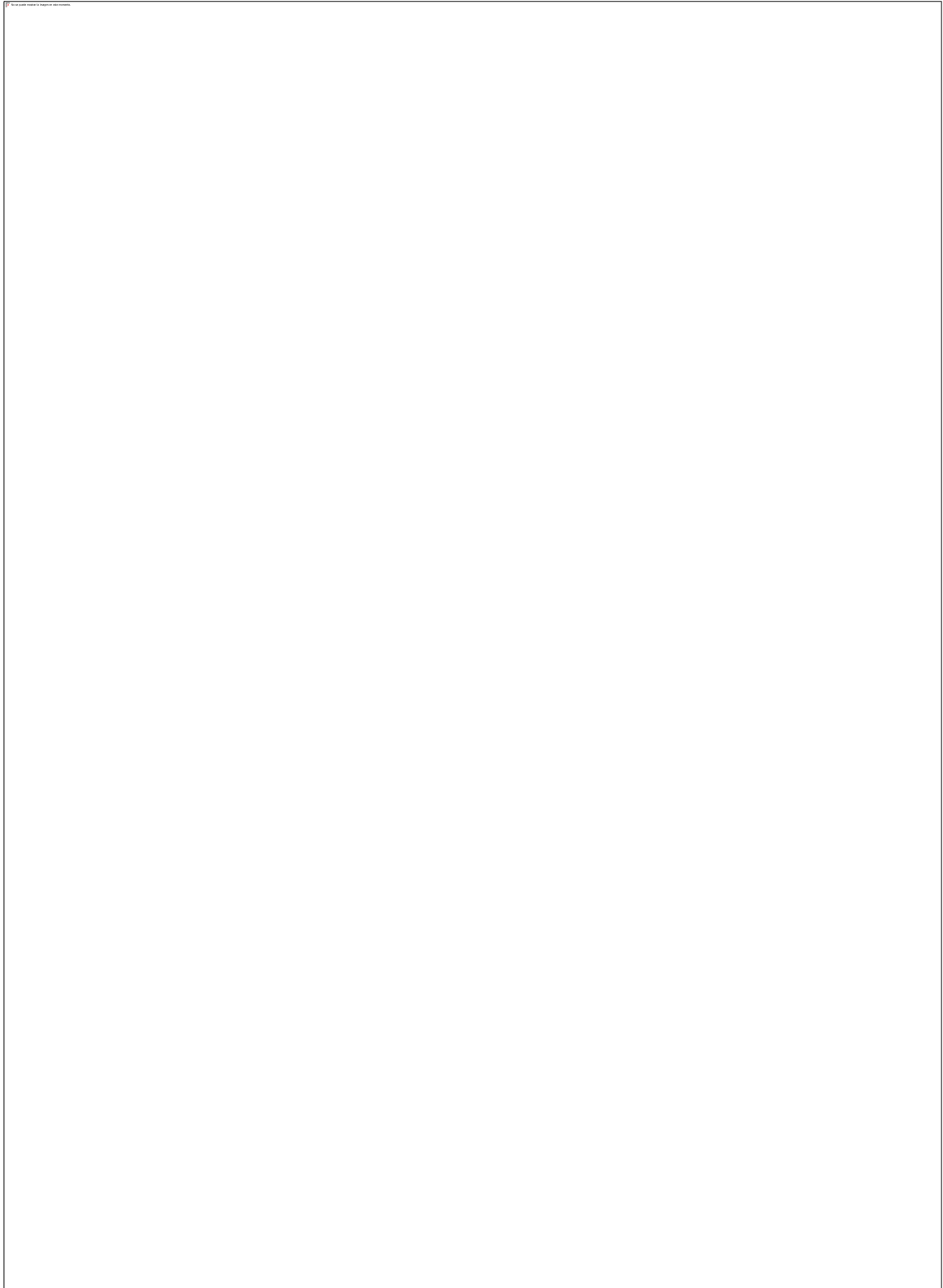
ANEXO 17. Reporte 3 de testigo biosentry 904



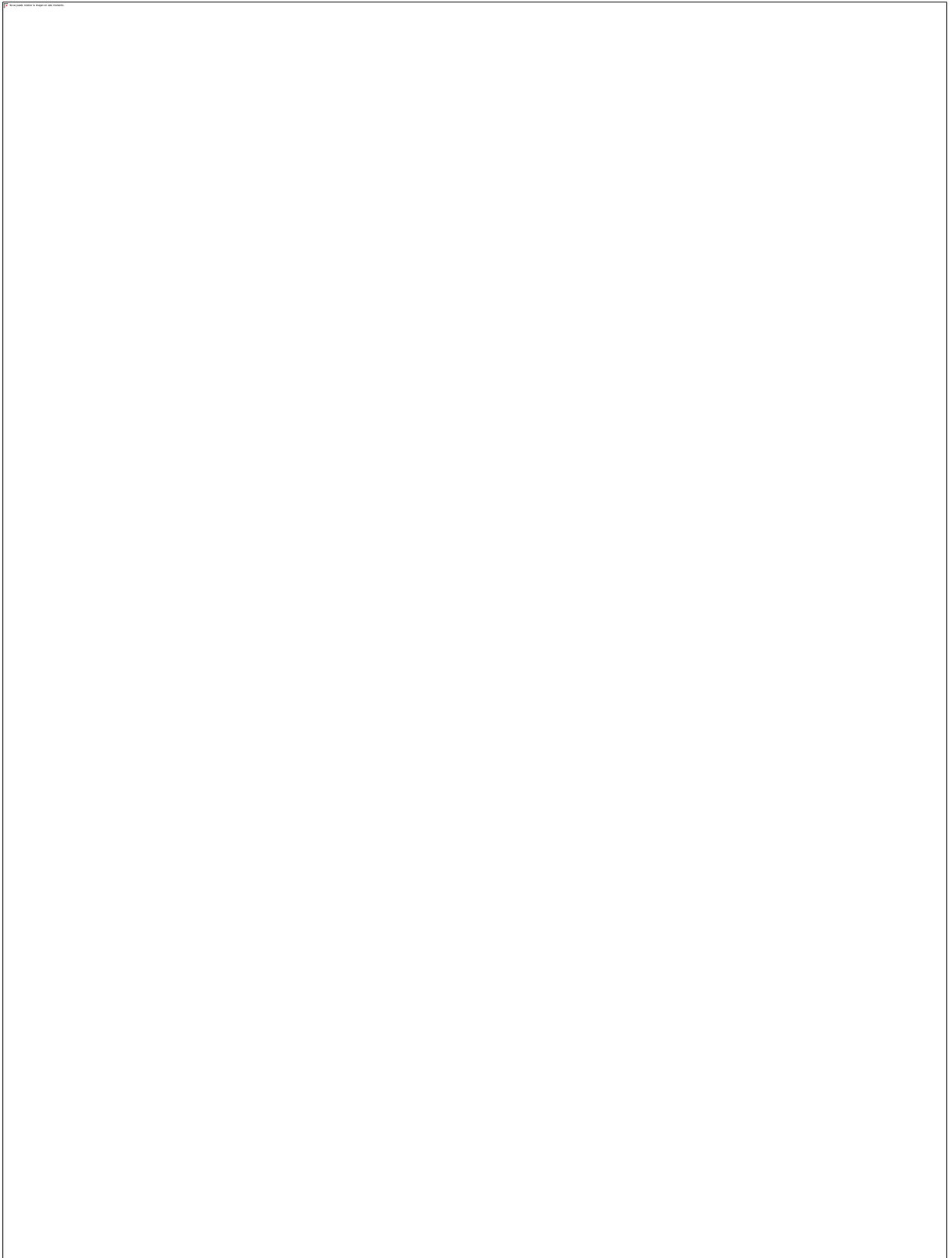
ANEXO 18. Reporte 4 de tratamiento 3 l dex 4%



ANAXO 19. Reporte 4 de tratamiento 2 lidex 3%



ANEXO 20. Reporte 4 de tratamiento 1 lidex 2%



ANEXO 21. Reporte 4 de testigo biosentry 904

