



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

**“CARACTERÍSTICAS BACTEREOLÓGICAS EN HUEVOS
FRESCOS DE GALLINA DE TRES ZONAS GEOGRÁFICAS”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para obtener al grado académico de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTOR: PAULINA LILIAN LLERENA LOPEZ

TUTOR: ING. MSC. JESÚS RAMÓN LÓPEZ SALAZAR

Riobamba – Ecuador

2019

DERECHOS DE AUTOR

©2019, Paulina Lilian Llerena Lopez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de Autor.

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Paulina Lilian Llerena Lopez, declaro que el presente trabajo de titulación **CARACTERÍSTICAS BACTEREOLÓGICAS EN HUEVOS FRESCOS DE GALLINA DE TRES ZONAS GEOGRÁFICAS** es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación,



Paulina Lilian Llerena Lopez
160041610-9

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

El Tribunal de titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo Proyecto de Investigación CARACTERÍSTICAS BACTEREOLÓGICAS EN HUEVOS FRESCOS DE GALLINA DE TRES ZONAS GEOGRÁFICAS de responsabilidad de la señorita Paulina Lilian Llerena Lopez, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizado su presentación.

	FIRMA	FECHA
Bqf. Sandra Elizabeth López Sampedro PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		<u>15-07-2019</u>
Ing. MsC. Jesús Ramón López Salazar. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		<u>15-07-2019</u>
Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy PhD. ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		<u>15-07-2019</u>

DEDICATORIA

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza necesaria para continuar después de cada caída, y permitió que no me rindiera, cuando volví a empezar; por ello, con toda la humildad y gratitud de mi corazón, este trabajo se lo dedico primeramente a DIOS.

A mi hija Melisa Paulette el ser que cambio mi vida por completo y le dio sentido a este caminar, este trabajo es fruto de nuestro esfuerzo, disciplina, perseverancia y sobre todo el deseo de superación recalcando que un hijo nunca será una limitante para cumplir un sueño. Sin tu existencia nada de esto hubiese sido posible.

A mi abuelita María Ubaldina quien con sus consejos y bendiciones diarias a la distancia me daban la fuerza necesaria para levantarme y continuar.

A mi amiga confidente y hermana María José, gracias por toda la paciencia para caminar conmigo todo este tiempo y ser ese apoyo incondicional hasta el final. .

Paulina Ll.

AGRADECIMIENTO

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y compartieron conmigo buenos y malos momentos

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por haberme permitido formar parte de su seno científico, y pertenecer a esta prestigiosa institución

A mí amada Facultad de Ciencias Pecuarias especialmente a la carrera en Industrias Pecuarias quien me formo durante toda mi vida estudiantil.

A mis queridos docentes Ing. MsC. Jesús López Salazar Director del presente trabajo de titulación e Ing. Byron Díaz PhD. Asesor del mismo, que aportaron en conocimiento tiempo y dedicación para la elaboración del presente trabajo, infinitas gracias, sin Uds. este trabajo no hubiese sido posible.

Paulina Ll.

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
DERECHOS DE AUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
HOJA DE CERTIFICACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPITULO I

1.	MARCO TEÒRICO REFERENCIAL	4
1.1	DEFINICIÒN DE HUEVO	4
1.2	FORMACIÒN DEL HUEVO	4
1.3	COMPOSICIÒN QUÍMICA DEL HUEVO.....	7
1.3.1	<i>Macronutrientes</i>	7
1.3.2	<i>Micronutrientes</i>	8
1.4	CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÒGICAS DEL HUEVO.....	10
1.4.1	<i>Aerobios mesófilos</i>.....	13
1.4.2	<i>Escherichia coli</i>	14
1.4.2.1	Fuentes y transmissiòn.....	15
1.4.3	<i>Salmonella</i>	16
1.4.3.1	Reservorio	16
1.4.3.2	Supervivencia.....	17
1.4.3.3	Etiología	17
1.4.3.4	Patogenia	17
1.4.3.5	Mecanismos de transmissiòn de <i>Salmonella</i> en el huevo	17

1.4.3.6	Transmisión vertical de <i>Salmonella</i>	18
1.4.3.7	Transmisión horizontal de <i>Salmonella</i>	18
1.4.3.8	Transmisión lateral de <i>Salmonella</i>	19

CAPÍTULO II

2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
2.1	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	20
2.1.1	<i>Localización</i>.....	20
2.1.2	<i>Condiciones meteorológicas</i>.....	20
2.2	UNIDADES EXPERIMENTALES.....	22
2.2.1	<i>Materiales equipos e instalaciones</i>	22
2.2.2	<i>Materiales de laboratorio</i>	22
2.2.3	<i>Materiales de uso personal</i>.....	23
2.2.4	<i>Materiales de campo</i>.....	23
2.2.5	<i>Equipos</i>	23
2.2.6	<i>Sustancia</i>.....	24
2.2.7	<i>Muestra</i>	24
2.2.8	<i>Medios de cultivos</i>	24

2.2.9	<i>Instalaciones</i>	24
2.3	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	24
2.4	MEDICIONES EXPERIMENTALES	25
2.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.....	25
2.6	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	25
2.7	METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN.....	26
2.7.1	<i>Determinación de Aerobios mesófilos UFC.ml-1.</i>	26
2.7.2	<i>Determinación de Escherichia coli interno UFC.ml-1</i>	27
2.7.3	<i>Determinación de Escherichia coli externo UFC.g-1</i>	28
2.7.4	<i>Determinación de Salmonella spp.</i>	30

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
3.1	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	32
3.1.1	<i>Cantones de Mocha y Baños</i>	32
3.1.1.1	<i>Aerobios mesófilos UFC.ml⁻¹</i>	32
3.1.1.2	<i>Escherichia coli interno UFC.ml-1</i>	33
3.1.1.3	<i>Escherichia coli externo UFC.g-1</i>	34

3.1.1.4	<i>Salmonella</i> (ausencia o presencia).....	35
3.1.1.5	Causas y consecuencias de la contaminación.....	35
3.1.2	<i>Cantones de Chambo y Mocha</i>	36
3.1.2.1	<i>Aerobios mesófilos</i> UFC.ml ⁻¹	36
3.1.2.2	<i>Escherichia coli</i> interno UFC.ml-1	37
3.1.2.3	<i>Escherichia coli</i> externo UFC.g-1	37
3.1.2.4	<i>Salmonella</i> (ausencia o presencia)	38
3.1.2.5	Causas y consecuencias de la contaminación.....	38
3.1.3	<i>Cantones de Chambo y Baños</i>	39
3.1.3.1	<i>Aerobios mesófilos</i> UFC.ml ⁻¹	39
3.1.3.2	<i>Escherichia coli</i> interno UFC.ml-1	40
3.1.3.3	<i>Escherichia coli</i> externo UFC.g-1	40
3.1.3.4	<i>Salmonella</i> (ausencia o presencia).....	41
3.1.3.5	Causas y consecuencias de la contaminación.....	42
3.2	PROTOCOLO DEL CORRECTO MANEJO DE HUEVOS FRESCOS.....	42

CONCLUSIONES.....44

RECOMENDACIONES.....45

BIBLIOGRAFIA

ANEXOS

- Comentado [R1]:** Todos los nombres científicos deben escribirse con letra cursiva (revise y corrija en todo el documento)
- Comentado [R2]:** La sigla ufc debe ser escrita en mayúsculas
- Comentado [R3]:** UFC.ml⁻¹ UFC.g⁻¹por favor las unidades se expresan todas así, revise en todo el documento (Ya no se usa esta forma: UFC/mL). Corrija las unidades para expresar los aerobios mesófilos.
- Comentado [P4R3]:**
- Comentado [P5R3]:**
- Comentado [R6]:** MICROBIOLOGICOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Composición nutricional de un huevo entero y con cáscara de 59 g (peso líquido: clara + yema 50 g).....	9
Tabla 2-1:	Requisitos microbiológicos de huevos de gallina.....	12
Tabla 3-2:	Condiciones meteorológicas del laboratorio.....	20
Tabla 4-2:	Condiciones meteorológicas del cantón Baños, provincia de Tungurahua.....	21
Tabla 5-2:	Condiciones meteorológicas del cantón Mocha, provincia de Tungurahua.....	21
Tabla 6-2:	Condiciones meteorológicas del cantón Chambo, provincia de Chimborazo.....	21
Tabla 7-2:	Esquema del experimento de investigación.....	25
Tabla 8-3:	Contaminación microbiológica en huevos frescos.....	33
Tabla 9-3:	Contaminación microbiológica en huevos frescos de los cantones Mocha y Baños.....	32
Tabla 10-3:	Contaminación microbiológica en huevos frescos de los cantones Chambo y Mocha.....	36
Tabla 11-3:	Contaminación microbiológica en huevos frescos de los cantones Chambo y Baños.....	39

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-1:	Partes del aparato reproductor femenino del ave.....	6
Gráfico 2-1:	Esquema de la formación del huevo en la gallina.....	7

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Cuadro resumen de las combinaciones de las zonas geográficas investigadas.
- ANEXO B:** Resultados obtenidos de *aerobios mesófilos* UFC.ml⁻¹ mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
- ANEXO C:** Resultados obtenidos de *Escherichia coli* UFC.ml⁻¹ interno mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
- ANEXO D:** Resultados obtenidos de *Escherichia coli* UFC.g⁻¹ externo mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
- ANEXO E:** Resultados obtenidos de *Salmonella* (ausencia o presencia) mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas
- ANEXO F:** Análisis microbiológico de las muestras estudiadas

RESUMEN

Características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas, de los cantones Baños, Mocha y Chambo realizamos en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarías aplicamos un análisis estadístico mediante la prueba de T-student con un tamaño de la unidad experimental de 5 huevos y cinco repeticiones por granja. Codificadas las muestras se procedió a separar la cascara del contenido interno (clara-yema), analizamos a nivel de cascara la presencia de microorganismos *Aerobios mesófilos* y *Escherichia coli*, trituramos 1g de cascara y disolvemos en 9 ml de agua destilada obtuvimos una disolución de 10^{-3} , colocamos 1ml en las placas Petri film 3M, determinamos la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en las claras, tomamos un 1 ml de clara y diluimos en 9 ml de agua destilada tenemos una disolución de 10^{-3} , procedimos a la siembra colocando 1ml de disolución 10^{-3} en las placas Petri film 3M, posteriormente ubicamos las placas en la estufa a 37° C durante 24 horas para presencia de *Aerobios mesófilos*; en el caso *Escherichia Coli* y *Salmonella* la incubación duró 48 horas. En la fase de análisis microbiológicos determinamos que la zona con mayor incidencia de huevos contaminados fue Chambo, con recuentos en *Aerobios mesófilos* de $315,8 \text{ UFC.ml}^{-1}$, *Escherichia coli* con valores de $20,52 \text{ UFC.ml}^{-1}$ y a nivel de cascara $12,64 \text{ UFC.g}^{-1}$ además de presencia de *Salmonella*, reconocida de alta patogenicidad en concordancia con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013. Concluimos con la presencia de microorganismos presentes a nivel externo (cascara), presencia de *Aerobios mesófilos* y *Escherichia coli*, mientras que a nivel interno (clara) la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella*. Recomendándose inspeccionar periódicamente la altura de las heces (suelo - jaulas), que no sean superiores a 1m. Por el alto riesgo de contaminación microbiológica.

Palabras claves: <HUEVOS FRESCOS> <CARACTERÍSTICAS BACTEREOLÓGICAS>
<MOCHA (CANTÓN)> <BAÑOS (CANTÓN)> <CHAMBO (CANTÓN)>
<MICROORGANISMOS (*Aerobios mesófilos*)> <MICROORGANISMOS (*Escherichia coli*)>
<MICROORGANISMOS (*Salmonella*)> <FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS>
<CARRERA INDUSTRIAS PECUARIAS>

Comentado [R7]: y.....

- Determinar las características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas.
- Determinar la presencia y tipo de microorganismos patógenos en huevos frescos de gallina producidos en tres zonas geográficas del Ecuador, en concordancia con la NORMA ECUATORIANA.
- Verificar el paso transovárico de *Salmonella spp*, mediante su presencia desde el interior del huevo mediante análisis microbiológico.
- Identificar las causas y consecuencias de la presencia estos microorganismos patógenos en huevos de gallina para consumo humano, doméstico e industrial.
- Proponer un protocolo de manejo de huevos frescos de gallina para garantizar la inocuidad y seguridad en el consumo humano

Comentado [D8R7]:

Abstract

Bacteriological characteristics in fresh chicken eggs from three geographical areas, of the Baños cantons. Mocha and Chambo performed in the laboratory of Animal Microbiology and Biotechnology of the Faculty of Animal Sciences, we applied a statistical analysis using the T-student test with an experimental unit size of 5 eggs and five repetitions per farm. The samples were encoded, and the shell was separated from the internal content (egg yolk), we analysed at the shell level the presence of aerobic *mesophilic* microorganisms and *Escherichia coli*. crush 1g of husk and dissolve in 9 ml of distilled water, obtain a solution of 10^{-3} . we put 1ml in the 3M Petri film plates. we determine the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp in the egg whites, we take a 1 ml of clear and dilute in 9 ml of distilled water we have a solution of 10^{-3} , we proceed to planting by placing 1ml of solution 10^{-3} in the plates Petri film 3M. subsequently we place the plates in the oven at 37 ° C for 24 hours for the presence of aerobic *mesophylls*; in the case *Escherichia Coli* and *Salmonella* the incubation lasted 48 hours. In the microbiological analysis phase, we determined that the area with the highest incidence of contaminated eggs was Chambo, with *mesophilic* aerobic counts of 315.8 CFU-1. *Escherichia coli* with values of 20.52 CFU.mg-1 and at shell level 12.64 CFU.g-1 in addition to the presence of *Salmonella*, recognized of high pathogenicity in accordance with the Ecuadorian Technical Standard INEN 1973: 2013. We conclude with the presence of microorganisms present externally (husk), presence of aerobic *mesophylls* and *Escherichia coli*, while internally (clear) the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella*. It is recommended to periodically inspect the height of the stool (soil - cages), not exceeding 1 m. Due to the high risk of microbiological contamination.

Key words: <FRESH EGGS> BACTERIOLOGICAL CHARACTERISTICS <MOCHA>(CANTON)> <BAÑOS (CANTON)> <CHAMBO (CANTON)> MICROORGANISMS (*Aerobic Mesophylls*) > MICROORGANISMS (*Escherichia coli*)> MICROORGANISMS (*Salmonella*) > <CAREER INDUSTRIES PECUARIAS>



INTRODUCCIÓN

La contaminación de los alimentos es una consecuencia continua de las deficiencias sanitarias durante los diferentes procesos de obtención que requiere un producto, entre los procesos elaboración, manipulación, transporte, almacenamiento y las condiciones en que son suministrados al consumidor. Los microorganismos provenientes de diferentes fuentes de contaminación son transferidos a la superficie de los alimentos donde encuentran los nutrientes necesarios para proliferar hasta títulos de 10²–10⁵ UFC/cm² (M. Raftari, 2009 p.121-127)

Los huevos de gallina recién puestos no suelen estar contaminados, sí bien algunos microorganismos pueden ganar acceso a éstos a través del oviducto. Los microorganismos presentes en el interior del huevo proceden principalmente del tracto intestinal de las aves, el ponedero, el polvo, las cajas de embalaje y almacenamiento, etc. Y pueden penetrar a través de los poros del cascarón si éste se encuentra caliente y se contamina con materia fecal fría, entonces los gérmenes pasan al interior, conforme este territorio se va enfriando. (Lifshitz A, et al 1965 pp 516-519).

La carne de pollo y los huevos son una de las mayores fuentes de infección alimentaria en el humano, siendo *Salmonella* uno de los principales agentes etiológicos. Datos estadísticos aportados por distintos países señalan que entre el 50 al 90% de las carcasas de pollo pueden estar contaminadas con *Salmonella*. (Loaiza E, J., & Sánchez J, M., & Henao V, S., & Cardona-Castro, N, 2011 pp 20-28).

En los Estados Unidos, se estima que existe actualmente 142 mil casos de salmonelosis, debido al consumo de huevos contaminados, lo cual representa un problema significativo para la salud pública. En la Unión Europea, la salmonelosis es la segunda infección alimentaria más frecuente, y la principal causa de dichos brotes está vinculada al consumo de huevos y productos fabricados a base de huevos. (Garcés, 2015).

La flora exógena de los alimentos está constituida principalmente por microorganismos saprofitos causantes del deterioro de dichos alimentos debido a alteraciones de su composición, apariencia y/o estructura como resultado del metabolismo microbiano, siendo algunos de ellos indicadores de la calidad higiénica de los alimentos, pero en esta categoría de microorganismos exógenos los que entrañan un mayor riesgo son aquellos que resultan patógenos para el hombre, ya que las enfermedades causadas por éstos constituyen un problema de salud pública, creciente en todo el mundo, que varía con la demografía, la industrialización y centralización de la producción de alimentos, el transporte y comercio, y la evolución y adaptación microbiana en

cada zona. A pesar de la naturaleza ubicua de los brotes de estas enfermedades de etiología microbiana transmitidas por los alimentos, relativamente pocos microorganismos han sido reconocidos como riesgos potenciales para la salud. (Mossel et al ..., 1985; Dooley et al.2000).

La avicultura en el orden mundial y nacional, gracias a los avances en genética, nutrición y manejo de animales, presenta en la actualidad un crecimiento rápido mejorando la oferta y facilitando el acceso al consumo del huevo como uno de los alimentos más completos. El huevo se ha convertido en un alimento básico para la alimentación humana por su valor nutritivo (SENA, 2014).

Entre los microorganismos productores de infecciones alimentarias que pueden estar presente en el huevo se encuentran *Salmonella spp* u otras *Enterobacterias*. Un huevo con la yema líquida sigue presentando un riesgo mayor que otro con la yema bien cocinada, puesto que las claras y yemas sin total cocción, han sido asociadas a brotes de 11 infecciones por *Salmonella enteritidis*; es recomendable que las claras y las yemas de los huevos deben consumirse poco después de prepararse y no se deben mantener bajo el calor o a temperatura ambiente por más de 2 horas (Seguridad Alimentaria, 2016).

El presente trabajo de titulación tiene como finalidad el análisis de las características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas, según la normativa vigente para huevos frescos, tomando en cuenta la altura sobre el nivel del mar, la temperatura ambiental de cada localidad estudiada. Para el desarrollo de este trabajo se planteó los siguientes objetivos:

- Determinar las características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas.
- Determinar la presencia y tipo de microorganismos patógenos en huevos frescos de gallina producidos en tres zonas geográficas del Ecuador, en concordancia con la NORMA ECUATORIANA.
- Verificar el paso transovárico de *Salmonella spp*, mediante su presencia desde el interior del huevo mediante análisis microbiológico.
- Identificar las causas y consecuencias de la presencia estos microorganismos patógenos en huevos de gallina para consumo humano, doméstico e industrial.

- Proponer un protocolo de manejo de huevos frescos de gallina para garantizar la inocuidad y seguridad en el consumo humano

CAPITULO I

1. MARCO TEÒRICO REFERENCIAL

1.1. Definición de huevo

Según la reglamentación de la norma técnica ecuatoriana define que huevo es el óvulo completamente evolucionado de las especies aviares, son los huevos enteros en su cáscara que observados al ovoscópio aparecerán completamente claros, sin sombra alguna, con yema apenas perceptible, la clara será transparente, sin enturbiamientos y cámara de aire pequeña. Además, se puede considerar por huevo fresco el que no ha sido sometido a ningún procedimiento de conservación, no fecundado y no ha cambiado su calidad interna y externa a partir de la ovoposición. (Instituto Ecuatoriano de Normalización 1973 p. 5)

1.2. Formación del huevo

La gallina produce un huevo cada 24-26 horas, independientemente de que estos sean o no fecundados por un gallo. De hecho, en las granjas de producción de huevos solo hay gallinas ponedoras y no hay gallos, por lo que los huevos que se comercializan no están fecundados y, por tanto, no se pueden incubar para que nazcan pollitos. (Coutts, J & Wilson, G. 2007).

El proceso de formación es complejo y comprende desde la ovulación hasta la puesta del huevo. Para que el huevo cumpla los requisitos de calidad, los numerosos componentes que lo integran deben ser sintetizados correctamente y deben disponerse en la secuencia, cantidad y orientación adecuada. El éxito de este proceso de formación del huevo se basa en que las gallinas sean alimentadas con nutrientes de alta calidad y mantenidas en situación de confort ambiental y óptimo estado sanitario. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

El huevo es esencial en el proceso de reproducción. La gallina selecta inicia la puesta de huevos hacia las 20 semanas de vida, tras un período de crecimiento y desarrollo adecuados que le permiten alcanzar la madurez sexual. El aparato reproductor de la hembra está formado por ovario y oviducto, resultandos funcionales únicamente los izquierdos. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

El ovario de la gallina contiene más de 4000 óvulos microscópicos. De ellos, solo un reducido número llegará a desarrollarse y constituir una yema. La yema se desarrolla a partir de un óvulo rodeado por una membrana folicular muy vascularizadas. La ovulación es el momento en el que la yema de mayor tamaño se libera del ovario, mediante la ruptura de la membrana folicular, y es depositada en el infundíbulo, primera estructura del oviducto. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

El oviducto se presenta como un tubo de unos 60 a 70 cm de largo y con cinco secciones: infundíbulo, magno, istmo, útero o glándula cascarógena y cloaca. El infundíbulo es la entrada del oviducto, el lugar donde la yema o vitelo es capturada tras la ovulación. Tiene forma de embudo y la yema lo atraviesa en unos 15-30 minutos. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

Aquí se forman las dos capas más externas de la membrana vitelina, que representan 2/3 partes del total y juegan un papel muy importante en la protección de la yema, evitando la entrada de agua desde la clara. Además, el infundíbulo es el lugar donde se puede producir la posible fertilización del huevo. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

El magno es la sección más larga del oviducto y presenta distintos tipos de células que sintetizan las proteínas que se irán depositando durante las 3 horas y 30 minutos que tarda este proceso. El magno, complementariamente con el útero, es responsable de las propiedades fisicoquímicas de la clara y de la situación de la yema. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

Cuando el huevo sale del magno, el albumen presenta un aspecto gelatinoso denso ya que solo contiene un 50% del agua, alrededor de 15 g. El proceso de hidratación y estructuración del albumen acaba en el útero; es decir, su función es determinante en la calidad interna del huevo. Al llegar al istmo el albumen empieza a rodearse de las dos membranas testáceas. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

En el útero o glándula cascarógena se produce una rotación del huevo dando lugar a la torsión de las fibras proteicas del albumen denso, formándose las chalazas, que sostienen centrada la yema. Por lo tanto, el útero, complementariamente al magno, es el responsable de las propiedades fisicoquímicas de la clara y de la situación de la yema. El huevo permanece en el útero de 18 a 22 horas y se produce la formación de la cáscara. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

Una vez formado el huevo se producirá la expulsión a través de la cloaca o vagina. El huevo sale con fuerza gracias a las contracciones de la musculatura lisa que rodea a la mucosa. En algunas gallinas, 1 hora antes de la ovoposición, el huevo gira 180 °C y sale primero la parte roma.

La puesta de huevos suele producirse entre las 7 y las 11 de la mañana. La ovulación puede iniciarse de 15 a 30 minutos después de que haya sido puesto el huevo anterior. El ciclo de puesta completo dura de 26 a 28 h. La ovulación suele efectuarse por la mañana, unos 30-60 min de la ovoposición anterior. Los rayos rojos visibles de la luz solar o eléctrica que inciden en el ojo estimulan la secreción de la hormona foliculoestimulante (FSH) la cual juega un rol fundamental en la formación del huevo. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

Esta hormona es transportada por la sangre hasta el ovario. Cuando un óvulo es estimulado por la hormona FSH comienza a desarrollarse hasta alcanzar el saco que encierra a la yema en desarrollo; luego este saco se rompe y se produce la ovulación. Este óvulo cae al infundíbulo, donde tiene o no lugar la fecundación.

A continuación, la yema u óvulo llega hasta el magnum (por movimientos peristálticos) donde es rodeada por una espesa clara de huevo o albumina. Luego continúa su recorrido hasta el istmo en donde se añaden agua, algunas sales y las llamadas membranas testáceas. Luego, el óvulo con sus membranas es desplazado hacia la parte inferior del oviducto, lo cual hace que la clara se refuerce en los extremos de la yema, formando las llamadas chalazas. (Coutts, J & Wilson, G. 2007)

En el útero se forma la capa caliza de la cáscara y también se secreta clara fluida y sales que penetran por ósmosis a través de las membranas de la cáscara. El huevo completo pasa a través de la vagina, donde recibe una capa de mucina lubricante (cutícula), luego llega a la cloaca y finalmente va al exterior.

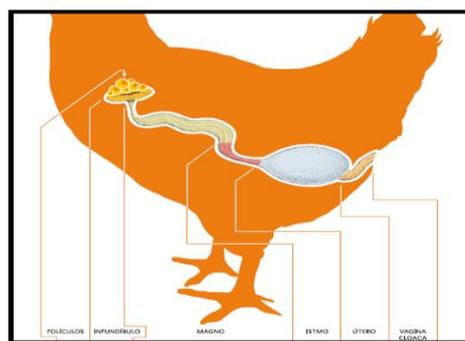


Gráfico 1-1: Partes del aparato reproductor femenino del ave.

Fuente: (INSTITUTO DEL HUEVO,2009)

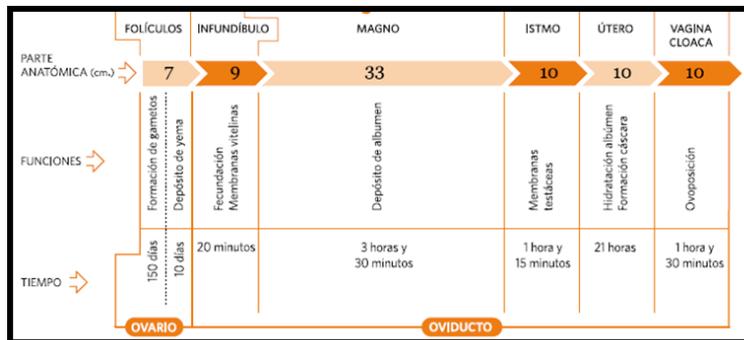


Gráfico 2-1: Esquema de la formación del huevo en la gallina.

Fuente: (INSTITUTO DEL HUEVO, 2009)

1.3. Composición química del huevo

El contenido del huevo es capaz por sí mismo de dar origen a un ser vivo completo. Por eso podemos decir que el huevo es uno de los alimentos más completos que existe. Destaca la gran cantidad de nutrientes que contiene, su biodisponibilidad (en relación con los nutrientes presentes en otros alimentos) y el equilibrio de los aminoácidos de su proteína.

El contenido comestible del huevo lo forman la clara y la yema. La clara contiene principalmente agua (88%) y proteínas, de las que la albúmina es la más importante. En la yema el 50% es agua, y el resto se reparte equitativamente entre proteínas y lípidos. Una fracción muy pequeña corresponde a otras sustancias también importantes para la nutrición y la salud.

Dada la variabilidad de tamaño de los huevos, para las estimaciones de valor nutricional del huevo consideraremos un huevo de tamaño mediano (categoría de peso M, entre 53 y 63 g de peso total, y 50 g de parte comestible). Una ración de huevos para un adulto se consideran 2 huevos de tamaño M, unos 100 g de parte comestible (Instituto de Estudios del Huevo, 2018)

1.3.1. Macronutrientes

El huevo tiene alto contenido en agua, unos 40 g por huevo y una proporción mínima de hidratos de carbono (0,34 g).

El huevo es un alimento proteico, al igual que la carne y el pescado. La riqueza proteica del huevo es alta (6,4 g por huevo) y sus proteínas tienen gran calidad nutritiva. Se define esta calidad por el valor biológico, que refleja el índice de utilización proteica de la proteína por el organismo. Este valor es el mayor para la proteína del huevo, debido a la concentración y equilibrio en que se encuentran los distintos aminoácidos que las constituyen, tanto en la proteína del albumen como en la de la yema (Instituto de Estudios del Huevo, 2018).

Las proteínas de la clara del huevo solo se digieren parcialmente por nuestro organismo si se consume cruda. Al cocinarla, la digestión es total y se aprovechan todos sus componentes.

1.3.2. Micronutrientes

El huevo contiene todas las vitaminas que el hombre necesita, salvo la vitamina C, en proporciones relevantes. Las vitaminas se reparten de forma desigual entre la yema y la clara. Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K), la colina, el ácido fólico y la vitamina B12 se encuentran exclusivamente en la yema, donde se concentra igualmente la mayor parte de la biotina, el ácido pantoténico y las vitaminas B1 y B6.

La biotina del huevo no puede aprovecharse por nuestro organismo en la clara cruda, ya que se encuentra ligada a la proteína avidina de la clara. Es necesario cocinarla para romper el enlace que las une y que pueda ser metabolizada.

El albumen contiene aproximadamente el 50% de la vitamina B2 (riboflavina) y la niacina. El huevo es una de las principales fuentes dietéticas de vitamina D, que suele ser deficitaria en la población. El huevo contiene también minerales de gran interés para la salud. Los más importantes son el fósforo, el zinc, el hierro y el yodo (Instituto de Estudios del Huevo, 2018).

El hierro del huevo está en la yema y es un nutriente esencial para nuestro organismo. Su absorción se mejora al consumir el huevo entero, ya que la clara tiene aminoácidos y polipéptidos que favorecen la absorción del hierro en el intestino delgado. También se mejora su absorción al consumir alimentos con vitamina C (cítricos, patata, pimiento o brócoli). Además, es rico en Selenio, un importante oligoelemento que en el huevo se presenta en forma muy biodisponible y tiene funciones antioxidantes.

La colina es otro nutriente presente en el huevo para el que recientemente se han fijado ingestas de referencia, dado que la síntesis metabólica no suele cubrir las necesidades de colina del organismo. En el huevo la colina está bajo la forma de fosfatidilcolina (lecitina). La yema de huevo es la mejor fuente dietética de colina (Instituto de Estudios del Huevo, 2018).

En la yema también se encuentran otros nutrientes, los pigmentos carotenoides (anaranjados, amarillos y rojos) que le dan su color característico y son importantes antioxidantes. La concentración de luteína, zeaxantina y xantofilas rojas determina la pigmentación de la yema.

La composición nutritiva del huevo no es constante. La alimentación de las aves o su edad influyen en la composición del huevo. Principalmente varían con la dieta de las gallinas la composición lipídica (tipo de grasas, y vitaminas liposolubles), los oligoelementos y los pigmentos de la yema (Instituto de Estudios del Huevo, 2018).

Tabla 1-1: Composición nutricional de un huevo entero y con cáscara de 59 g (peso líquido: clara + yema 50 g)

Nutriente	Huevo entero	Clara	Yema
Agua(g)	37,665	29,329	8,102
Kcalorias	74,5	16,7	59,428
Proteínas (g)	6,245	3,514	2,782
Lípidos totales (g)	5,0	-----	5,124
AG como TAG (g)	4,327	-----	4,428
AGS (g)	1,55	-----	1,586
AGM (g)	1,905	-----	1,949
AGP (g)	0,682	-----	0,698
Coolesterol (mg)	212,5	-----	212,646
Lecitina (g)	1,15	-----	1,11
Vitaminas		-----	
A (UI)	317,5	-----	322,8
D (UI)	24,5	-----	24,5
E (mg)	0,525	-----	0,525
B12 (mcg)	0,5	0,067	0,516
B1 Tiamina (mg)	0,031	0,002	0,028

Continuará.....

Continúa.....

B2 Riboflavina(mg)	0,254	0,151	0,106
B3 Niacina (mg)	0,036	0,031	0,002
B5 Ac. Pantot. (mg)	0,627	0,04	0,632
B6 Piridoxina (mg)	0,070	0,001	0,065
B9 Folato (mcg)	23,5	1,002	24,236
Biotina (mcg)	9,98	2,34	7,58
Colina (mg)	215,06	0,42	215,97
Minerales			
Calcio (mg)	24,5	2,004	22,742
Hierro (mg)	0,72	0,01	0,586
Magnesio (mg)	5	3,674	1,494
Fosforo (mg)	89	4,342	81
Potasio (mg)	60,5	47,762	15,6
Selenio (mcg)	15,4	5,878	7,503
Sodio (mg)	63	54,776	7,138
Zinc (mg)	0,55	0,003	0,516

Fuente:: (USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 12 /Eggyclopedia, Unabridged 6/99 (Egg Nutrition Center - USA), s.f.)

1.4. Características microbiológicas del huevo

La pérdida de la calidad microbiológica del huevo puede inferir en cambios visibles o no, capaces de determinar la adquisición o disposición del producto. La contaminación vertical del contenido del huevo puede generarse en el tracto reproductivo, durante la formación del albumen en el oviducto, ateniéndose la producción de huevos contaminados. Sin embargo, se ha demostrado que la microbiota del oviducto de aves sanas difiere de la de huevos comercializados, lo que indica que la contaminación de los huevos lleva a cabo, preferentemente, después de la ovoposición, para la mayoría de los microorganismos que muestra la transmisión horizontal asociada a factores ambientales y manipulación de huevos. (Scatolini, 2010)

La proliferación de *Salmonella* en huevos contaminados, depende del manejo, tiempo de almacenamiento y temperatura. (FAO, 2002)

Los huevos en el momento de la postura, son estériles o contienen muy pocos microorganismos., la contaminación se produce después de la puesta, y es causada por la suciedad, y las materias fecales.

La flora dominante son los cocos Gram-positivos los bacilos Gram-negativos, aunque en menor número, penetran más fácilmente a través de las membranas de la cáscara y se multiplican mejor que los cocos Gram-positivos. Sin embargo dentro de estos microorganismos y el más importante de los huevos y sus productos es la *Salmonella*, el cual muere a las temperaturas de pasteurización, por lo consiguiente la presencia de este microorganismo se debe exclusivamente a la recontaminación. (Estrada & Valencia, 2012).

El mecanismo de defensa físico está formado por las barreras físicas proporcionadas tanto por la cáscara como las membranas y el mecanismo químico lo constituyen tanto la yema como el albumen debido a su efecto antibacteriano. Las barreras físicas son las que evitan la penetración de microorganismos al interior del huevo y están formadas por: la cutícula que es la encargada de cerrar los poros, la cáscara que contiene millones de microporos que son más anchos donde se encuentra la cámara de aire, donde se producen una mayor penetración, también cuando mayor espesor de la cáscara, la penetración es más difícil para los microorganismos, por lo que, a mayor peso de la cáscara, una mayor resistencia. La membrana testácea externa e interna rodea al albumen y ofrece protección contra la contaminación, debido a que contiene menos poros y tiene una estructura más compleja e hidrofóbica (Pascual Anderson, 1989).

Las barreras químicas son las que están en la yema y albumen y forman de manera natural protección antimicrobiana debido al pH alcalino, la lisozima y la conalbúmina. La lisozima produce la lisis de las bacterias Gram +. La conalbúmina secuestra iones metálicos como por ejemplo el hierro evitando el crecimiento de las bacterias y su desarrollo como puede ser el caso de *Salmonella*, que en estas condiciones no se desarrolla favorablemente (Mead, 2009).

Podemos hablar de dos vías de contaminación: vertical (también llamada transovárica u oviductal) y horizontal (también conocida como transcascárida).

La vertical consiste en la contaminación del albumen, membrana vitelina o la yema por microorganismos que se encuentran en el ovario de la gallina o durante el paso del huevo por el oviducto. Durante la formación del huevo, las bacterias que infectan el aparato reproductor pasan al interior del huevo en formación. Esta vía es la más común en el caso de contaminación por *Salmonella Enteritidis* (Selecciones avícolas, 2015).

Por otra parte, en la vía horizontal, la contaminación se produce después de la puesta y es debida mayoritariamente a causas ambientales y a la presencia de deposiciones fecales en la cáscara. Una vez que la superficie del huevo está contaminada, esta puede empezar a penetrar en el interior pasando al albumen y posteriormente a la yema. Esta vía de contaminación es la mayoritaria del huevo (Selecciones avícolas, 2015).

La contaminación de la cáscara ocurre en la cama de las aves y por el contacto con las heces. Para que un microorganismo produzca alteraciones en el huevo debe penetrar a través de los poros de la cáscara hasta a la membrana interna, crecer sobre la membrana y alcanzar la clara o la yema. El almacenamiento a la temperatura de refrigeración no evita totalmente la alteración. Las bacterias asociadas con más frecuencia al deterioro son bacilos Gramnegativos: *Pseudomonas fluorescens* y otras especies, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Proteus*, *Escherichia* y *Serratia*. Los mohos *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor* y *Alternaria* se encuentran entre las especies que producen alteración cuando los huevos son mantenidos en un ambiente muy húmedo. Una vez que se quita la cáscara para producir los diferentes ovo derivados, son mayores las posibilidades de contaminación.

Los factores que favorecen esta situación son: los métodos de rotura y separación de las cáscaras utilizados, la incorporación de huevos con podredumbre que no hayan sido detectados con la observación al trasluz del ovoscópio, la incorporación de “huevos claros”, que fueron incubados y no embrionaron y el efecto antimicrobiano de la clara desaparece cuando se mezcla con la yema. (Mossel DAA *et al*, 2003)

La Normativa Ecuatoriana para huevos frescos establece los parámetros microbiológicos que se muestran en la tabla 2-1.

Tabla 2-1. Parámetros microbiológicos de huevos de gallina.

Parámetros	N	C	M	M
Recuento de aerobios mesófilos*	5	2	10 ⁴	5x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i> ufc/g*** externa	5	2	<50	50
<i>E. coli</i> ufc/ml*** interno	5	2	Ausencia	-----
<i>Salmonella spp</i> en 25 g***	5	0	Ausencia	-----

* Parámetros de vida útil del producto
 ** Parámetros de inocuidad del producto
 Fuente: NTE INEN 1973: 2013

Donde:

n = número de muestras por examinar

c = número de muestras defectuosas que se acepta

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

1.4.1. Aerobios mesófilos

En este grupo se incluyen todos los microorganismos, capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C, el recuento de microorganismos aerobios mesófilos, en condiciones establecidas, estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración. (Pascual, M. 1992)

Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados. (INAL, 2014)

Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.
- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.
- La inmediata alteración del producto
- En el uso o la interpretación del recuento de microorganismo aerobios mesófilos hay ciertos factores que deben ser tenidos en cuenta
- Este recuento es sólo de microorganismos vivos.

- La utilidad del indicador depende de la historia del producto y el momento de la toma de muestra. En alimentos perecederos manipulados correctamente pueden desarrollar recuentos elevados y perder calidad si son almacenados por un período de tiempo prolongado. En este caso, el recuento no se encontraría elevado por la condición de higiene del producto, sino por la vida útil del mismo.
- Los procedimientos que sufre el alimento en su elaboración, por ejemplo, un proceso térmico, pueden enmascarar productos con altos recuentos o condiciones deficientes de higiene. Además, el almacenamiento prolongado en congelación o con pH bajo puede producir una disminución del recuento.
- El recuento de mesófilos nos indica las condiciones higiénico-sanitarias de algunos alimentos, pero no tiene significado sanitario en otros productos que han sido madurados con bacterias (por ejemplo, quesos) o alimentos que dentro de su formulación tienen conservadores. (INAL,2014)

1.4.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas.

E. coli productora de toxina Shiga produce toxinas conocidas como toxinas Shiga por su semejanza con las toxinas producidas por *Shigella dysenteriae*. *E. coli* productora de toxina Shiga puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Algunas pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4,4, y en alimentos con una actividad de agua (a_w) mínima de 0,95. (OMS, 2018)

E. coli productora de toxina Shiga se destruye cociendo los alimentos hasta que todas las partes alcancen una temperatura de 70 °C o más. *E. coli* O157: H7 es el serotipo de *E. coli* productora de toxina Shiga más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en brotes y casos esporádicos.

1.4.2.1. Fuentes y transmisión

La mayor parte de la información disponible sobre *E. coli* productora de toxina Shiga guarda relación con el serotipo O157: H7, pues es el más fácil de distinguir bioquímicamente de otras cepas de *E. coli*. El reservorio de este patógeno es principalmente el ganado bovino. También se consideran reservorios importantes otros rumiantes, como ovejas, cabras y ciervos, y se ha detectado la infección en otros mamíferos (como cerdos, caballos, conejos, perros y gatos) y aves (como pollos y pavos).

E. coli O157: H7 se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida y leche cruda. La contaminación fecal del agua y de otros alimentos, así como la contaminación cruzada durante la preparación de estos (con carne de vacuno y otros productos cárnicos, superficies y utensilios de cocina contaminados), también es causa de infecciones. Ejemplos de alimentos implicados en brotes de *E. coli* O157: H7 son las hamburguesas poco cocidas, el salami curado, la sidra fresca no pasteurizada, el yogur y el queso elaborado con leche cruda.

Los contactos de persona a persona son una forma de transmisión importante por vía oral-fecal. Se ha informado de un estado de portador asintomático, en el que la persona no muestra signos clínicos de la enfermedad, pero puede infectar a otros. La excreción de *E. coli* productora de toxina Shiga dura aproximadamente una semana o menos en los adultos, pero puede prolongarse más en los niños. Se ha observado que otro factor de riesgo importante de infección por *E. coli* productora de toxina Shiga son las visitas a granjas y otros lugares donde el público en general puede entrar en contacto directo con el ganado. (OMS, 2018)

1.4.3. *Salmonella*

Las bacterias del género *Salmonella* están asociadas a las aves y los huevos, siendo éstos los principales vehículos de su distribución e infección en el hombre. Colonizan el tracto gastrointestinal, principalmente el buche y el ciego, y se diseminan entre las aves a través de la ruta fecal-oral. En particular *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* presentan una afinidad por las aves y son invasoras. Pueden infectar el tracto reproductor de la gallina ponedora y así se transmiten verticalmente al huevo. (Wigley P *et al.* 2005 pp 2986 -2990).

S. Enteritidis, *S. Typhimurium* producen gastroenteritis en el hombre . *S. Enteritidis* coloniza los tejidos del ovario y oviducto de la gallina y cerca del 80% de las gastroenteritis humanas pueden ser « traced to » los ovoproductos contaminados. (Downes FP, Ito K. 2001 pp 357,473).

La cáscara del huevo a la altura del útero es esponjosa y muy porosa, y al salir al exterior y como consecuencia del cambio de presión y de temperatura, permite la succión de bacterias presentes en la cloaca, región sumamente contaminada por su continuo contacto con las heces. Por otra parte, algunas bacterias pueden llegar a sobrevivir en el agua de lavado, por ejemplo *S. aureus*, y contaminar el interior de los huevos. (Pearson J *et al.* 1987 pp 2060-2065).

Pocas células de *Salmonella* son suficientes para infectar a un pollito recién nacido y un solo huevo contaminado, por transmisión vertical, en la incubadora es suficiente para distribuir ese patógeno hacia todos los huevos e infectar toda la incubadora por transmisión horizontal.

1.4.3.1. *Reservorio*

Las bacterias *Salmonella* spp. viven en el tracto intestinal de animales sanos, principalmente, aves de corral, ganado vacuno y porcino, y animales domésticos (tortugas, perros, gatos, roedores) sin provocar problemas para su salud.

En el medio ambiente (heces), esta bacteria sobrevive durante mucho tiempo debido a su gran resistencia a la baja actividad de agua. Asimismo, puede permanecer viable en productos ricos en proteínas y grasas. (Elika, 2013 p 1.)

1.4.3.2. Supervivencia

Cuando las bacterias *Salmonella* pasan de los animales hospedadores a los alimentos derivados (carne, huevos, leche) es capaz de multiplicarse a una velocidad muy elevada, ya que puede duplicar su número cada 15 ó 20 minutos si la temperatura es elevada (superior a 20°C), y más significativamente, si la temperatura ambiente supera los 30°C, ya que su temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C.

Si los alimentos no se refrigeran rápidamente (el límite de crecimiento está en 6° C) el microorganismo se multiplica, con el consiguiente riesgo de contaminar los alimentos. Por tanto, temperatura y tiempo son dos factores claves en el desarrollo de la *Salmonella*. (Elika, 2013 p 1.)

1.4.3.3. Etiología

Se han descrito más de 2.500 serotipos de *Salmonella* que muestran una gran adaptación para el crecimiento en el hombre y los animales. Los serotipos más importantes desde el punto de vista de la Seguridad Alimentaria son *Enteritidis* y *Typhimurium*. En Europa, el serotipo *Enteritidis* se ha convertido en el predominante, principalmente asociado al consumo de huevos o carne de pollo contaminados. *S. Typhimurium* es el segundo serotipo más común después de *S. Enteritidis* en muchos países, siendo las principales fuentes de infección el ganado vacuno y porcino, aunque también se aísla en aves, y ganado ovino y caprino. (Elika, 2013 p 1.)

1.4.3.4. Patogenia

La *Salmonella* presenta diferencias en cuanto a la especificidad del hospedero; mientras algunos serovars no tienen una estricta adaptación a un huésped, siendo capaces de producir enfermedades con diversas características en distintas especies animales y en el hombre, otros serovars sí son específicos, como *S. Gallinarum* para las aves o *S. Typhi* en el caso del hombre. (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2010)

1.4.3.5. Mecanismos de transmisión de *Salmonella* en el huevo

El contenido interno de los huevos recién puestos es generalmente estéril. Al momento de la ovoposición, los huevos tienen cierto grado de contaminación en la superficie debido al paso a través de la cloaca de la gallina. No obstante, en un período de tiempo relativamente corto

después de la puesta, en su exterior se pueden encontrar gran cantidad de microorganismos que, bajo condiciones apropiadas pueden penetrar en los huevos, crecer en su interior y alterarlos.

Entre las bacterias encontradas en los huevos existen representantes de géneros tales como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* y *Staphylococcus*. (Acosta, F. 2016)

El riesgo de que un huevo de gallina se contamine por bacterias es mayor de lo que comúnmente podría pensarse. Existen tres posibles vías por las cuales los microorganismos pueden contaminar los huevos: transmisión vertical, horizontal y lateral. (Acosta, F. 2016)

1.4.3.6. Transmisión vertical de *Salmonella*

Los huevos pueden contaminarse por transmisión vertical, desde los ovarios y oviductos infectados durante la formación del huevo. El concepto de transmisión vertical considera la contaminación de la superficie del cascarón al pasar el huevo por la vagina, contaminación de la yema en el ovario o contaminación durante el pasaje por el oviducto contaminado. (Acosta, F. 2016)

Se ha establecido claramente que *Salmonella enteritidis* se aloja de manera permanente en los tejidos reproductivos de las gallinas, donde el contenido del huevo puede ser infectado antes de que se forme el cascarón. Las gallinas ponedoras raramente presentan signos de la enfermedad cuando se infectan y continúan su postura y alimentación normalmente, de esta manera las infecciones en el ovario con *Salmonella enteritidis* resultan en la postura de huevos contaminados y en la eclosión de huevos infectados. (Acosta, F. 2016 p 15.)

1.4.3.7. Transmisión horizontal de *Salmonella*

La transmisión horizontal, se lleva a cabo cuando *Salmonella enteritidis* u otros microorganismos penetran el cascarón que ha sido contaminado con las heces de la gallina depositadas en el exterior del huevo al pasar a través de la cloaca lo que se ha demostrado en estudios que presentan una correlación positiva entre heces contaminadas de manera artificial con *Salmonella enteritidis* y la presencia de esta en el interior de los huevos. (Acosta, F. 2016 p 16.)

Adicionalmente, *Salmonella enteritidis* puede penetrar los poros del cascarón (si está presente en la superficie del huevo) a medida que este se va enfriando, antes de que se seque la cutícula.

Después de que está formado el cascarón, *Salmonellas p.* se establece en el interior del huevo antes de que se desarrolle en la superficie la barrera de proteína que previene la invasión de bacterias, lo cual permite que este microorganismo colonice y sobreviva en el contenido interno del huevo. (Acosta, F. 2016 p 16.)

1.4.3.8. *Transmisión lateral de Salmonella*

Es una ruta de infección que ocurre por contaminación a través del alimento, agua, e instalaciones o vectores, como, por ejemplo, aves silvestres, roedores, animales domésticos y humanos. La penetración al interior del huevo por *Salmonella* y otras bacterias aumenta con la duración del contacto con material contaminado, especialmente durante el almacenamiento a altas temperaturas y alta humedad relativa. (Acosta, F. 2016 p 16.)

La presencia de *Salmonella enteritidis* en el ambiente de las granjas de gallinas ponedoras generalmente es aceptada como una indicación sensitiva y relevante de los huevos contaminados que pueden producirse. El potencial de la circulación del aire para diseminar patógenos en ranchos avícolas es un factor importante en la contaminación de los huevos, esto se ha demostrado en algunos estudios que reportan la presencia de *Salmonella enteritidis* en el aire. (Acosta, F. 2016 p 16.)

En general, cuando *Salmonella spp.* está presente en el exterior de los huevos muere rápidamente, pero la sobrevivencia puede ser posible por una alta humedad relativa y adecuada temperatura, dejando claro que *Salmonella enteritidis* puede persistir largos períodos de tiempo en huevos almacenados a temperatura ambiente. . (Acosta, F. 2016 p 16.)

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización y duración del experimento

2.1.1. Localización

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, ubicado en el kilómetro 1 ½ de la Panamericana sur, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. A una altitud de 2754 msnm, y con una longitud Oeste de 78° 28' 00'' y una latitud Sur de 01° 38' 02''.

La presente investigación tuvo un tiempo de duración de 60 días.

2.1.2. Condiciones meteorológicas

En la tabla 3-2 se muestran las condiciones meteorológicas de las distintas zonas geográficas donde se efectuó el trabajo experimental como se evidencia a continuación:

Tabla 3-2: Condiciones meteorológicas del laboratorio

INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	
Temperatura	°C	13,5
Humedad relativa	%	67,6
Precipitación	mm/año	170,17

Fuente: (ECUADOR, ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHMBORAZO. Estación Metereológica,2018)

Tabla 4-2: Condiciones meteorológicas del cantón Baños, provincia de Tungurahua.

INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	
Temperatura promedio	°C	17,6
Humedad relativa	%	81,0
Precipitación	mm/año	664,1
Altitud	Msnm	1820

Fuente: (ECUADOR, RED HIDROMETEREOLÓGICA DE TUNGURAHUA,2018)

Tabla 5-2: Condiciones meteorológicas del cantón Mocha, provincia de Tungurahua.

INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	
Temperatura promedio	°C	6,9
Humedad relativa	%	92,7
Precipitación	mm/año	65,9
Altitud	Msnm	3280

Fuente: (ECUADOR, RED HIDROMETEREOLÓGICA DE TUNGURAHUA,2018)

Tabla 6-2: Condiciones meteorológicas del cantón Chambo, provincia de Chimborazo.

INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	
Temperatura promedio	°C	14
Humedad relativa	%	40
Precipitación, mm/año	mm/año	674
Altitud (msnm)	Msnm	2780

Fuente: (ECUADOR, ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHMBORAZO. Estación Metereológica,2018)

2.2. Unidades experimentales

En la presente investigación se utilizó 75 huevos frescos, proveniente de tres granjas avícolas de tres zonas geográficas: Baños sector Agoyán, Mocha y Chambo los análisis microbiológicos se ejecutaron en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.1. Materiales equipos e instalaciones

Los materiales, equipos e instalaciones que se emplearon fueron:

2.2.2. Materiales de laboratorio

- Pinzas
- Gradilla para tubos de ensayo
- Mechero
- Pipeta de 10 ml
- Varilla de agitación
- Pipetas de 1 ml
- Tubos de ensayo
- Espátula

2.2.3. *Materiales de uso personal*

- Mandil
- Guantes
- Cofia
- Mascarilla

2.2.4. *Materiales de campo*

- Libreta de apuntes
- Cámara fotográfica
- Material bibliográfico

2.2.5. *Equipos*

- Microscopio
- Cuenta colonias
- Autoclave
- Refrigerador
- Cabina de flujo laminar
- Estufa

2.2.6. Sustancia

- Agua destilada

2.2.7. Muestra

- Huevos frescos

2.2.8. Medios de cultivos

- Placas Petri film para *Escherichia coli*.
- Placas Petri film para *Aerobios mesófilos*
- Placas Petri film para *Salmonella*

2.2.9. Instalaciones

Laboratorio de Microbiología y Biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3. Tratamientos y diseño experimental

Por tratarse de un estudio exploratorio, tipo diagnóstico, no se aplicó diseño experimental, únicamente se aplicó un análisis estadístico mediante la prueba de T-student. (En la tabla 7-2, se explica el esquema del experimento.)

Tabla 7-2: Esquema del experimento de investigación.

Tratamiento Zona geográfica	Código	Repeticiones	T.U.E*	Total
Baños (Agoyán)	T1	5	5	25
Mocha	T2	5	5	25
Chambo	T3	5	5	25
Total (Huevos)				75

Fuente: Llerena, P. (2018).

*T.U. E: En huevos frescos

2.4. Mediciones **experimentales**

En los huevos frescos de tres zonas geográficas: Baños (Agoyán), Mocha y Chambo se determinó:

- Presencia y cuantificación de Bacterias Aerobias mesófilas.
- Presencia y cuantificación de *Escherichia coli* tanto interna como externamente del huevo.
- Presencia o ausencia de *Salmonella sp* en la parte interna del huevo.

2.5. Análisis estadístico y pruebas de significancia

Los resultados experimentales fueron analizados y expresados por medio de la siguiente técnica estadística: **T – Student**.

2.6. Procedimiento experimental

Para determinar la calidad microbiológica de huevos frescos, se tomaron 5 muestras de huevos frescos en cada granja avícola de las diferentes zonas geográficas durante 5 diferentes días, las mismas que fueron codificadas y transportadas al Laboratorio de Microbiología y Biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, donde se realizó los análisis microbiológicos para evaluar la calidad e inocuidad del producto que se obtuvo de las diferentes granjas avícolas.

Comentado [R9]: Se refiere a las variables respuesta buscadas por usted para cumplir con los objetivos, esto es:

- Peso del huevo fresco
- Presencia y cuantificación de Bacterias Aerobias mesófilas
- Presencia y cuantificación de *Escherichia coli* tanto interna como externamente del huevo
- Presencia o ausencia de *Salmonella sp* tanto interna como externamente del huevo

2.7. Metodología de evaluación

En esta investigación se realizó el siguiente procedimiento de acuerdo a la Guía de Interpretación del Sistema 3M™ Petrifilm™

2.7.1. Determinación de Aerobios mesófilos UFC.ml⁻¹

- Toma de muestras aleatoriamente en cada granja avícola (5 huevos frescos).
- Limpieza y desinfección de las zonas de trabajo.
- Esterilizar los materiales de trabajo (pipetas, tubos de ensayo, vasos de precipitación, gradillas) en el autoclave por un periodo de 45 minutos a 120° C.
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire (bacterias y levaduras).
- Colocar 15 tubos de ensayo debidamente rotulados en una gradilla para cada zona geográfica.
- Colocar 9 ml de agua destilada en cada tubo de ensayo
- Añadir con una pipeta de 1 ml clara de huevo fresco en cada tubo de ensayo. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10⁻¹.
- De la dilución 10⁻¹ tomar 1 ml y colocar en otro tubo de ensayo con 9ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10⁻².
- De la dilución 10⁻² tomar 1 ml y colocar en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10⁻³.
- Una vez obtenida la dilución de 10⁻³, se procede a sembrar en las placas Petri film 3M.
- Con la dilución 10⁻³ sembrar en las placas Petri film 3M.

- Rotular las placas Petri film 3M y colocar 1 ml de dilución en el centro de la película inferior con ayuda de una pipeta, en posición inclinada.
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Al finalizar la siembra en las placas, poner en la estufa a una temperatura de 37° C durante 24 horas en el caso de *Aerobios mesófilos*.
- Transcurrido el tiempo de incubación sacar de la estufa y proceder al conteo de colonias y la cuantificación de los microorganismos presentes.

2.7.2. *Determinación de Escherichia coli interno. UFC.ml⁻¹*

- Toma de muestras aleatoriamente en cada granja avícola (5 huevos frescos).
- Limpieza y desinfección de las zonas de trabajo.
- Esterilizar los materiales de trabajo (pipetas, tubos de ensayo, vasos de precipitación, gradillas) en el autoclave por un periodo de 45 minutos a 120° C.
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire (bacterias y levaduras).
- Colocar 15 tubos de ensayo debidamente rotulados en una gradilla para cada zona geográfica.
- Colocar 9 ml de agua destilada en cada tubo de ensayo
- Añadir con una pipeta de 1 ml clara de huevo fresco en cada tubo de ensayo. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10⁻¹.

- De la dilución 10^{-1} tomar 1 ml y colocar en otro tubo de ensayo con 9ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-2} .
- De la dilución 10^{-2} tomar 1 ml y colocar en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-3} .
- Una vez obtenida la dilución de 10^{-3} , se procede a sembrar en las placas Petri film 3M.
- Con la dilución 10^{-3} sembrar en las placas Petri film 3M.
- Rotular las placas Petri film 3M y colocar 1 ml de dilución en el centro de la película inferior con ayuda de una pipeta, en posición inclinada.
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Al finalizar la siembra en las placas, poner en la estufa a una temperatura de 37°C durante 24 horas en el caso de *Escherichia coli*.
- Transcurrido el tiempo de incubación sacar de la estufa y proceder al conteo de colonias y la cuantificación de los microorganismos presentes.

2.7.3. Determinación de *Escherichia coli* externo. UFC.g⁻¹

- Toma de muestras aleatoriamente en cada granja avícola (5 huevos frescos).
- Limpieza y desinfección de las zonas de trabajo.
- Esterilizar los materiales de trabajo (pipetas, tubos de ensayo, vasos de precipitación, gradillas) en el autoclave por un periodo de 45 minutos a 120°C .
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire (bacterias y levaduras).

- Colocar 15 tubos de ensayo debidamente rotulados en una gradilla para cada zona geográfica.
- Colocar 9 ml de agua destilada en cada tubo de ensayo
- Triturar 1 g de cascara de huevo fresco
- Añadir con una pipeta de 1 ml de cascara de huevo fresco en cada tubo de ensayo. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-1} .
- De la dilución 10^{-1} tomar 1 ml y colocar en otro tubo de ensayo con 9ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-2} .
- De la dilución 10^{-2} tomar 1 ml y colocar en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-3} .
- Una vez obtenida la dilución de 10^{-3} , se procede a sembrar en las placas Petri film 3M.
- Con la dilución 10^{-3} sembrar en las placas Petri film 3M.
- Rotular las placas Petri film 3M y colocar 1 ml de dilución en el centro de la película inferior con ayuda de una pipeta, en posición inclinada.
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Al finalizar la siembra en las placas, poner en la estufa a una temperatura de 37°C durante 24 horas en el caso de *Escherichia coli*.
- Transcurrido el tiempo de incubación sacar de la estufa y proceder al conteo de colonias y la cuantificación de los microorganismos presentes.

2.7.4. *Determinación de Salmonella sp.*

- Toma de muestras aleatoriamente en cada granja avícola (5 huevos frescos).
- Limpieza y desinfección de las zonas de trabajo.
- Esterilizar los materiales de trabajo (pipetas, tubos de ensayo, vasos de precipitación, gradillas) en el autoclave por un periodo de 45 minutos a 120° C.
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire (bacterias y levaduras).
- Colocar 15 tubos de ensayo debidamente rotulados en una gradilla para cada zona geográfica.
- Colocar 9 ml de agua destilada en cada tubo de ensayo
- Añadir con una pipeta de 1 ml clara de huevo fresco en cada tubo de ensayo. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-1} .
- De la dilución 10^{-1} tomar 1 ml y colocar en otro tubo de ensayo con 9ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-2} .
- De la solución 10^{-2} tomar 1 ml y colocar en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada. Colocar en el agitador Vortex por 2 periodos de 15 segundos cada uno, esta dilución corresponde a la dilución 10^{-3} .
- Una vez obtenida la dilución de 10^{-3} , se procede a sembrar en las placas Petri film 3M.
- Con la dilución 10^{-3} sembrar en las placas Petri film 3M.
- Rotular las placas Petri film 3M y colocar 1 ml de dilución en el centro de la película inferior con ayuda de una pipeta, en posición inclinada.

- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Al finalizar la siembra en las placas, poner en la estufa a una temperatura de 37° C durante 48 horas en el caso de *Salmonella spp.*
- Transcurrido el tiempo de incubación sacar de la estufa y proceder al conteo de colonias y la cuantificación de los microorganismos presentes.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación en huevos frescos de gallinas recolectados en tres zonas geográficas (Cantones Mocha, Baños, Chambo) permitieron realizar la caracterización bacteriológica de los huevos producidos, observándose diferentes conteos microbiológicos; evidenciando la presencia de aerobios mesófilos, *Escherichia coli* a nivel interno (clara) y externo (cáscara) de los huevos, *Escherichia coli* y *Salmonella*. (Tabla 8-3)

3.1. Análisis microbiológicos

3.1.1. Cantones de Mocha y Baños

3.1.1.1. Aerobios mesófilos UFC.ml⁻¹

La presencia de Aerobios mesófilos en huevos frescos de gallina de los cantones Mocha y Baños fue evidente cuyos resultados se observan en la Tabla 9-3, demostrando la mayor incidencia en la zona de Baños con recuentos de 195,4 UFC.ml⁻¹ que no difieren estadísticamente con las muestras de huevos del sector de Mocha 123,92 UFC.ml⁻¹, demostrando que los resultados según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 no son mayores al valor de referencia de 10⁴, por lo que los huevos de los cantones de Mocha y Baños sí cumple con los límites establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013

Tabla 9-3: Contaminación microbiológica en huevos frescos de los cantones Mocha y Baños.

Parámetro	Mocha	Baños	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml ⁻¹	123.92	195.4	-1.62169837	0.0589666 ns
E. coli. interna UFC.ml ⁻¹	8.4	0.12	1.43295494	0.08238469 ns
E. coli externa UFC.g ⁻¹	0.96	0	1.43920865	0.08150364 ns
Salmonella (Ausencia o presencia)	Presencia	Ausencia	1.93160359	0.0326497 *

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Comentado [R10]: Los resultados deben dar respuesta a los objetivos específicos planteados en trabajo, esto es:

- Determinar las características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas.
 - Determinar la presencia y tipo de microorganismos patógenos en huevos frescos de gallina producidos en tres zonas geográficas del Ecuador, en concordancia con la NORMA ECUATORIANA.
 - Verificar el paso transovario de *Salmonella spp*, mediante su presencia desde el interior del huevo mediante análisis microbiológico.
 - Identificar las causas y consecuencias de la presencia estos microorganismos patógenos en huevos de gallina para consumo humano, doméstico e industrial.
 - Proponer un protocolo de manejo de huevos frescos de gallina para garantizar la inocuidad y seguridad en el consumo humano
- Entonces en ese orden deben presentarse los resultados y dar respuesta a lo inicialmente planteado

Tabla 8-3: Contaminación microbiológica en huevos frescos.

Parámetro	Mocha	Baños	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml ⁻¹	123.92	195.4	-1.62169837	0.0589666 ns
<i>E. coli</i> . interna UFC.ml ⁻¹	8.4	0.12	1.43295494	0.08238469 ns
<i>E. coli</i> externa UFC.g ⁻¹	0.96	0	1.43920865	0.08150364 ns
<i>Salmonella</i> (Ausencia o presencia)	Presencia	Ausencia	1.93160359	0.0326497 *
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	Chambo 315.8	Mocha 123.92	4.00620836	0.00025935 **
<i>E. Coli</i> . interna UFC.ml-1	20.52	8.4	1.83936978	0.03913228 *
<i>E. coli</i> externa UFC.g-1	12.64	0.96	4.66985858	0.000048 **
<i>Salmonella</i> (Ausencia o presencia)	Presencia	Presencia	3.8699237	0.00036574 **
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	Chambo 315.8	Baños 195.4	2.88282846	0.00409179 **
<i>E. Coli</i> . interna UFC.ml-1	20.52	0.12	5.76691647	0.0000030 **
<i>E. coli</i> externa UFC.g-1	12.64	0	4.89193003	0.000027 **
<i>Salmonella</i>	Presencia	Ausencia	4.29372677	0.00012513 **

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Mediante los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 1.62 y una probabilidad 0.05% la cual presenta diferencias no significativas entre las dos zonas de investigación. Para evitar la proliferación de aerobios mesófilos se deben controlar la temperatura y humedad relativa del almacenamiento de los huevos

Comentado [R11]: Aquí debe realizar la discusión de sus resultados con los datos de otros autores con trabajos similares y argumentar el porqué tanto de sus resultados como de los otros encontrados en la bibliografía. Eso debe hacer en todo este capítulo para darle realce científico y profesional

3.1.1.2. *Escherichia coli* interno UFC.ml⁻¹

El conteo microbiológico de *Escherichia coli* en la clara fue evidente, donde los resultados se observan en la Tabla 9-3; reflejando mayor presencia en la zona de Mocha con una media de 8,4 UFC.ml⁻¹ en comparación del cantón Baños de 0,12 UFC.ml⁻¹, los recuentos obtenidos en los cantones de Mocha y Baños no están dentro la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 donde indica la ausencia de *Escherichia coli* en la clara, ya que este microorganismo es el causante de enfermedades de transmisión alimentaria con consecuencia a veces fatales, dependiendo de la Cepa bacteriana.

De acuerdo a FAO 2011, manifiesta que: este microorganismo se localiza dentro del tracto digestivo de animales y seres humanos, siendo un foco de contaminación para alimentos, agua y medio ambiente.

Mediante los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 1.43 y una probabilidad 0.08% la cual presenta diferencias no significativas entre las dos zonas de investigación de Mocha y Baños.

Comentado [R12]: Favor revisar, porque la comparación entre estos dos valores de E. coli: 8,4 y 0,12 UFC, se observan muy distintas, la una contiene a la otra algo así como 70 veces, esa es la diferencia entre las dos, parece difícil no encontrar diferencia estadística

3.1.1.3. *Escherichia coli* externo UFC.g⁻¹

El conteo microbiológico de *Escherichia coli* en la cáscara se observan en la Tabla 9-3; indicando que en la zona de Mocha presenta conteos de 0,96 UFC.g⁻¹ en comparación Baños que no existió presencia del microorganismo.

Los recuentos microbiológicos de *Escherichia coli* de los cantones Mocha y Baños si cumplen con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013, señalando que para el nivel de aceptación de huevos debe presentar valores inferiores a 50 UFC.g⁻¹, dando como resultado el nivel de aceptación para el consumo.

Según Gast, (2003) menciona, que una de las vías de las de contaminación bacteriana en huevos frescos se da mediante transmisión transovárica, contaminación en la cloaca y contaminación posterior a la puesta, generalmente ambiental.

Mediante las deducciones realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 1.43 y una probabilidad 0.08% la cual presenta diferencias no significativas entre las dos zonas de investigación.

3.1.1.4. *Salmonella* (ausencia o presencia)

La presencia de *Salmonella* en los huevos procedentes de los cantones de Mocha y Baños es notoria, de acuerdo a los resultados que se observan en la Tabla 9-3, se identificó la presencia de *Salmonella* en el cantón Mocha, mientras que en el cantón Baños existe ausencia de *Salmonella* indicando que el Cantón Mocha no cumple con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 que señala la ausencia total de *Salmonella spp.* Lo cual permite verificar la contaminación transovárica de los huevos desde su proceso de ovogénesis.

El ambiente de la puesta puede ser un origen potencialmente importante de *Salmonella* en la superficie externa del huevo. Aislaron *Salmonella* en 73, 64 y 100% de las muestras de cintas transportadoras de huevos, de personas que recogen huevos, de los ventiladores de aireación, y del agua de lavado respectivamente. En comparación solo proporcionaron *Salmonella* el 8% de las cascara de los huevos y ninguno de los contenidos internos antes de la recogida. En el ambiente de las instalaciones de producción de huevos y en la superficie de los huevos, ha sido aislado un grupo diverso de serotipos de *Salmonella*, que incluyen *S. Agona*, *ST*, *S. infantis*, *S. derby*, *S. heidelberg*, *S. califormia*. (). (Jones et a, 1995), los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que el manejo técnico de las instalaciones es un factor que influye para la contaminación del huevo.

3.1.1.5. *Causas y consecuencias de la contaminación*

Las principales causas para la contaminación de los huevos en el cantón Mocha obedecen a la contaminación del alimento, a la presencia de aves portadoras de *Salmonella*, al sistema de producción de recolección y manipulación de huevos que muestran deficiencias en la higiene y sanidad, lo que repercute que estos problemas zoonosarios se trasladen al siguiente eslabón de comercialización e industrialización de los huevos.

3.1.2. Cantones de Chambo y Mocha

3.1.2.1. Aerobios mesófilos UFC.ml⁻¹

La presencia de Aerobios mesófilos en huevos frescos de las zonas de Chambo y Mocha se observan en la Tabla 10-3, la mayor incidencia ocurre en Chambo, reportando recuentos de 315,8 UFC.ml⁻¹ que difieren estadísticamente con los muestras del sector de Mocha con una media de 123,92 UFC.ml⁻¹, estos resultados de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 si cumplen con lo establecido ya que los recuentos no son mayores al valor de referencia de 10⁴.

Tabla 10-3: Contaminación microbiológica en huevos frescos de los cantones Chambo y Mocha.

Parámetro	Chambo	Mocha	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml ⁻¹	315.8	123.92	4.00620836	0.00025935 **
E. Coli. interna UFC.ml ⁻¹	20.52	8.4	1.83936978	0.03913228 *
E. coli externa UFC.g ⁻¹	12.64	0.96	4.66985858	0.000048 **
Salmonella (Ausencia o presencia)	Presencia	Presencia	3.8699237	0.00036574 **

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

De acuerdo a los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 4.00 y una probabilidad 0.00025% la cual presenta diferencias altamente significativas entre las dos zonas de investigación.

Según Campas y Meza (2005) manifiesta que la presencia de *Aerobios mesófilos* en los alimentos, señalan que la materia prima está excesivamente contaminada, por lo cual se demostró que existen inapropiados métodos de manipulación durante su elaboración, además la posibilidad de que dentro de los microorganismos mesófilos existan patógenos, debido a que esta flora pueda ser mesófila, dando a conocer que estos altos recuentos suelen ser signo de inmediata alteración del producto.

Comentado [R13]: Si es un solo autor cítelo así: Campas (2005) pero si son dos autores hágalo así: Campas y Meza (2005)

Comentado [R14]: Aumente discusión

3.1.2.2. *Escherichia coli* interno UFC.ml⁻¹

El conteo microbiológico de *Escherichia coli* en la parte interna del huevo (clara) se detallan en los resultados de la Tabla 10-3; cuyos resultados no son favorables, pues existe la presencia del microorganismo en las muestras del cantón Chambo con recuentos de 20,52 UFC.ml⁻¹ y en el cantón de Mocha una media de 8,4 UFC.ml⁻¹, observando diferencias significativas entre las zonas de investigación.

De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 los cantones de Mocha y Chambo no cumple con los límites permisibles para el consumo ya que debe existir la ausencia de *Escherichia coli*, a nivel interno.

De acuerdo con Perry & Yousef, (2012) indican, que la contaminación microbiana de los huevos depende del estado de limpieza de los lugares de puesta (jaulas) y del grado de manipulación después de ser obtenidos, dando a conocer que si la cascara permanece intacta, la única vía de penetración de los microorganismos al interior del huevo serán los poros, por lo cual si estos patógenos atraviesan los poros, las consecuencias pueden ser graves.

La clara del huevo es una buena protección contra los microorganismos ya que contiene lisozima además de su alto coeficiente de viscosidad, con un pH hasta 9,5 y su contenido en ovo transferrina (Stadelman *et al.*..., 1990; caso 2015).

3.1.2.3. *Escherichia coli* externo UFC.g⁻¹

El conteo microbiológico *Escherichia coli* en la parte cascara se observan en los resultados en la Tabla 10-3; reflejando mayor presencia en Chambo con 12.64 UFC.g⁻¹ en comparación del cantón Mocha con 0,96 UFC.g⁻¹. Los recuentos encontrados en los cantones de Chambo y Mocha si cumplen con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013, la cual señala que en huevos frescos en la parte externa el nivel de aceptación deben ser valores inferiores a 50 UFC.g⁻¹, valores que se encuentran dentro de los límites permisibles.

Un tipo de contaminación del huevo es durante o después de la ovoposición, se puede decir que el 90% de los huevos se contaminan de esta forma. El número de microorganismo presentes en la cascara puede variar de algunos cientos a varias decenas de millones, con una media de 10⁵ ufc/huevo. Esta contaminación externa depende muy estrechamente de las condiciones de

higiene durante la producción. Una parte importante procede de las heces del animal, del lugar de la puesta y del polvo del aire. La contaminación durante la puesta se debe a que las aves, el oviducto y el intestino desembocan en un conducto denominado cloaca, por lo que los huevos pueden contaminarse externamente con materia fecal de la propia gallina. (Junta & Salas, 1973; Junta & Tranter, 1995; De Reu *et al.*, 2006.)

De acuerdo a los resultados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 4,6698 y una probabilidad 0.000048% la cual presenta diferencias altamente significativas

3.1.2.4. *Salmonella spp (ausencia o presencia)*

La presencia de *Salmonella* en los huevos producidos en los cantones de Chambo y Mocha, se observan en la Tabla 10-3, demostrando la presencia de *Salmonella* en los cantones de Chambo y Mocha; de acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 no cumplen con los límites establecidos por lo que debe existir ausencia total de *Salmonella spp* y no son aptos para el consumo humano. Lo cual permite verificar la contaminación transovárica de los huevos desde su proceso de ovogénesis.

Compararon la capacidad de 7 especies bacterianas aisladas del contenido de huevos y encontraron que *Pseudomonas sp.*, *Salmonella enteritis* y *Alcaligenes sp.* Poseían un gran potencial para penetrar la cáscara. (De Reu *et al.* 2006), lo que nos indica en nuestra investigación realizada si existió el paso del microorganismo *Salmonella* a los productos de consumo.

La contaminación bacteriana de los huevos frescos puede ser por transmisión transovárica, contaminación en la cloaca y contaminación posterior a la puesta, generalmente ambiental (Gast, 2003).

Estos factores de riesgos implicados en la contaminación de las gallinas y el huevo son el movimiento de las personas encargadas de las granjas, la exposición a roedores, los insectos, los animales domésticos, el agua y el alimento. Howard *et al.* (2011) & Gama *et al.* (2003)

3.1.2.5. *Causas y consecuencias de la contaminación*

Las principales causas para la contaminación de los huevos provenientes al cantón Mocha y Chambo obedecen a la contaminación del alimento, a la presencia de aves portadoras de

Salmonella, al sistema de producción de recolección y manipulación de huevos que muestran deficiencias en la higiene y sanidad, lo que repercute que estos problemas zoonosarios se trasladen al siguiente eslabón de comercialización e industrialización de los huevos

3.1.3. Cantones de Chambo y Baños

3.1.3.1. Aerobios mesófilos UFC.ml⁻¹

La presencia de *Aerobios mesófilos* en huevos provenientes de los cantones de Chambo y Baños, se observan en la Tabla 11-3, reflejando mayor incidencia en la zona de Chambo que presentan recuentos de 315,8 UFC.ml⁻¹, los cuales difieren estadísticamente con los huevos del cantón Baños con 195,4 UFC.ml⁻¹, demostrando según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 si cumplen con los límites permitidos ya que los recuentos no son mayores al valor de referencia de 10⁴.

Tabla 11-3: Contaminación microbiológica en huevos frescos de los cantones Chambo y Baños.

Parámetro	Chambo	Baños	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml ⁻¹	315.8	195.4	2.88282846	0.00409179 **
E. Coli. interna UFC.ml ⁻¹	20.52	0.12	5.76691647	0.0000030 **
E. coli externa UFC.g ⁻¹	12.64	0	4.89193003	0.000027 **
Salmonella (Ausencia o presencia)	Presencia	Ausencia	4.29372677	0.00012513 **

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Mediante los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 2.8828 y una probabilidad 0.004% la cual presenta diferencias altamente significativas entre las dos zonas de investigación.

Vanderzant & Splittstoesser 1992 menciona, que las especies encontradas de aerobios mesófilos en los alimentos son generalmente extensas, ya que no poseen un hábitat definido y en general no provocan enfermedades en el ser humano por lo tanto son utilizados como indicadores de la calidad del procesamiento

3.1.3.2. *Escherichia coli* interno UFC.ml⁻¹

El conteo microbiológico de *Escherichia coli* en la parte interna del huevo (clara) presento resultados notorios como se observan en la Tabla 11-3; reflejando resultados no favorables para el cantón de Chambo se obtuvo 20,52 UFC.ml⁻¹ y el cantón de Baños 0,12 UFC.ml⁻¹ indicando que existen diferencias altamente significativas.

De acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 no cumplen con los límites establecidos donde señala la ausencia de *Escherichia coli* interno, los cuales no se encuentran dentro de los límites permisibles para su consumo.

Mediante los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 5.76691647 y una probabilidad 0.0000030 % la cual presenta diferencias altamente significativas

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, señala que *Escherichia coli* es una bacteria que se localiza en el sistema digestivo de los animales y de los seres humanos, y al ser parte de la flora intestinal se puede manejar como indicador favorito para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la seguridad de los alimentos y el agua. Estas bacterias, son comensales inofensivas, que constituyen el 1% de la población microbiana del tracto gastrointestinal; pero algunas *E. coli* son reconocidas como patógenas y pueden contaminar los alimentos, el agua y el medioambiente.

3.1.3.3. *Escherichia coli* externo UFC.g⁻¹

El conteo microbiológico en huevos frescos de gallina de *Escherichia coli* en la parte externa del huevo (cascara) fue evidente, los resultados se observan en la Tabla 11-3; reflejando mayor presencia en la zona de Chambo de 12.64 UFC.g⁻¹ a comparación del cantón Baños que no hay presencia. Los recuentos encontrados en la zona de Chambo y Baños si cumplen con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 donde señala que en huevos frescos la parte externa para el nivel de aceptación debe presentar valores inferiores a 50 UFC.g⁻¹, valores que se encuentran dentro de los límites permisibles.

Mediante los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T-calculado de 4,8919 y una probabilidad 0.000027% la cual presenta diferencias altamente significativas

Existe dos vías de infección bacteriana: en la transmisión horizontal los microorganismos penetran a través de la cascara al pasar el huevo a través de una cloaca altamente contaminada en el momento de la puesta, a menudo, por visibles deposiciones fecales. Después de la

ovoposición, la cascara se contamina en toda la superficie. Al estar mojado y entrar en un entorno con una temperatura de unos 20° c por debajo de la temperatura corporal de la gallina, el huevo se enfría inmediatamente, con lo que su contenido se contrae y la presión negativa que se establece en su interior hace penetrar las bacterias a través de la cascara. (Estrada, J., & Valencia, B. 2012 pp 34)

Mientras que una contaminación por transmisión vertical se manifiesta, desde los ovarios y oviductos infectados durante la formación del huevo este tipo de contaminación parte de la superficie del cascarón al pasar el huevo por la vagina, contaminación de la yema en el ovario o contaminación durante el pasaje por el oviducto contaminado. Se ha establecido claramente que *Salmonella Enteritidis* se aloja de manera permanente en los tejidos reproductivos de las gallinas, donde el contenido del huevo puede ser infectado antes de que se forme el cascarón. Las gallinas ponedoras raramente presentan signos de la enfermedad cuando se infectan y continúan su postura y alimentación normalmente, de esta manera las infecciones en el ovario con *Salmonella Enteritidis* resultan en la postura de huevos contaminados y en la eclosión de huevos infectados.

3.1.3.4. *Salmonella spp* (ausencia o presencia)

Se evidenció la presencia de *Salmonella* en huevos producidos en los cantones de Chambo y Baños, cuyos resultados se observan en la Tabla 11-3, se identificó la presencia de *Salmonella* en la zona de Chambo; mientras que en Baños existe ausencia, de acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2013 los huevos del cantón Chambo no cumplen donde manifiesta la ausencia total de *Salmonella spp* no son aptos para el consumo humano. Lo cual permite verificar la contaminación transovárica de los huevos desde su proceso de ovogénesis.

En su estudio con aves contaminadas naturalmente, observaron que numerosas serovariedades de *Salmonella* como SE, ST y SH fueron aisladas desde cáscara de huevo, aunque sólo SE fue aislada desde el contenido del mismo, y solamente un huevo fue positivo en ambos sitios, sugiriendo que es más probable que ocurra la contaminación interna durante su formación que por penetración a través de la cáscara. (Humphrey *et al.* 1991), los resultados obtenidos en la presente investigación reportan presencia de *Salmonella* a nivel de la clara en las dos zonas de investigación debido a aves portadoras del microorganismo *Salmonella*

Reportaron que *Salmonella T.* es capaz de sobrevivir dentro del huevo y presentar un crecimiento neto durante 8 semanas de almacenamiento bajo ciertas condiciones de refrigeración. (Howard *et al.* 2011)

3.1.3.5. *Causas y consecuencias de la contaminación*

Las principales causas para la contaminación de los huevos del cantón Chambo obedecen a la contaminación del alimento, a la presencia de aves portadoras de *Salmonella*, al sistema de producción de recolección y manipulación de huevos que muestran deficiencias en la higiene y sanidad, lo que repercute que estos problemas zoonosarios se trasladen al siguiente eslabón de comercialización e industrialización de los huevos

3.2. **Protocolo del correcto manejo de huevos frescos**

PROTOCOLO PARA EL CORRECTO MANEJO DE HUEVOS FRESCOS

1. El manejo de las instalaciones debe ser inspeccionado diariamente mínimo una vez al día, para comprobar el correcto funcionamiento de los equipos encargados del control de temperatura, humedad y ventilación.
2. Los procedimientos para la limpieza de galpones vacíos deberían abarcar la limpieza y/o saneamiento de los ponederos/jaulas, los gallineros, la evacuación de la cama contaminada, los materiales del ponedero, las heces de las aves enfermas y, cuando sea necesario, la evacuación inocua de huevos de parvadas infectadas, así como la eliminación de aves muertas o enfermas.
3. El técnico responsable debe manejar un programa de control sanitario en aves, con el fin de prevenir las enfermedades sobre todo la *Salmonella*.
4. Los huevos deberán ser recogidos, manipulados, almacenados y transportados de manera que se reduzca al mínimo la contaminación y/o el daño al huevo o a la cáscara del huevo, y prestando la debida atención a las consideraciones de tiempo y temperatura, en particular, a las fluctuaciones de temperatura.
5. Desde la recepción de los huevos, a la manipulación, clasificación, lavado, secado, tratamiento, envasado, almacenamiento y distribución hasta el punto de consumo, debería darse la debida consideración a las condiciones de tiempo, temperatura y humedad para los huevos, de manera que se reduzca al mínimo la proliferación de microorganismos patógenos, y no perjudique a la inocuidad e idoneidad de los huevos

CONCLUSIONES

- Se determinó la caracterización bacteriológica de los huevos frescos producidos en las tres zonas geográficas de investigación (Chambo, Baños y Mocha) observándose diferentes

Comentado [R15]: Las conclusiones son las respuestas concretas a los objetivos específicos fundamentadas en los resultados encontrados y analizados estadísticamente, deben presentarse en el mismo orden que los objetivos y que los resultados

conteos microbiológicos; a nivel externo (cascara) la presencia de *Aerobios mesófilos* y *Escherichia coli*, mientras que a nivel interno (clara) la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella*.

- Se pudo comprobar la presencia de microorganismos patógenos en huevos frescos de gallina, encontrándose que la zona con mayor contaminación microbiana fue Chambo con recuentos microbianos de Aerobios mesófilos de 315,8 UFC.ml⁻¹ presencia de *Escherichia coli* a nivel interno de 20,52 UFC.ml⁻¹ y a nivel externo de 12,64 UFC.g⁻¹ además de la presencia del microorganismo de reconocida patogenicidad como *Salmonella*, en concordancia con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973:2011.
- Se evidenció la presencia en el interior del huevo de *Salmonella spp* producto de una contaminación microbiana transovárica del microorganismo en los cantones Chambo y Mocha.
- Mediante el desarrollo de la investigación se logró identificar las posibles causas de contaminación microbiana en huevos frescos que obedecen a la contaminación del alimento, a la presencia de aves portadoras de *Salmonella*, al sistema de producción de recolección y manipulación de huevos que muestran deficiencias en la higiene y sanidad, lo que repercute que estos problemas zoonosarios se trasladen al siguiente eslabón de comercialización e industrialización de los huevos
- Con el propósito de garantizar la inocuidad de los huevos frescos de gallina se elaboró un protocolo del correcto manejo de huevos frescos para evitar contaminaciones futuras.

Comentado [R16]: y.....

- Determinar las características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas.
- Determinar la presencia y tipo de microorganismos patógenos en huevos frescos de gallina producidos en tres zonas geográficas del Ecuador, en concordancia con la NORMA ECUATORIANA.
- Verificar el paso transovárico de *Salmonella spp*, mediante su presencia desde el interior del huevo mediante análisis microbiológico.
- Identificar las causas y consecuencias de la presencia estos microorganismos patógenos en huevos de gallina para consumo humano, doméstico e industrial.
- Proponer un protocolo de manejo de huevos frescos de gallina para garantizar la inocuidad y seguridad en el consumo humano

RECOMENDACIONES

- Controlar el manejo de las instalaciones, principalmente temperatura y humedad relativa, ya que son factores que favorecen la contaminación de microorganismos patógenos.
- Inspeccionar periódicamente en el galpón la altura de las heces (suelo - jaulas), que no sean superiores a 1m ya que son un foco principal de contaminación microbiológica.
- Desarrollar talleres de capacitación constante para los operarios y demás trabajadores de las granjas, con la finalidad de obtener una mejora continua en el resguardo de la calidad e inocuidad de los alimentos.
- Dar a conocer a los consumidores de huevos frescos que el almacenamiento a temperaturas bajas ayuda a reducir la proliferación microbiana, principalmente de *Salmonella*, y alarga su vida útil.

BIBLIOGRAFÍA

Comentado [R17]: Revise que estén citados todos los autores y que se apliquen las normas APA

1. **ACOSTA, Fabián.** *Caracterización de Salmonella (salmonella spp) en huevos frescos de gallinas mediante la utilización del sistema microgen gn a en la parroquia Cotaló. (Tesis Pregrado)(Medicina Veterinaria Y Zootécnia).* Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Cevallos-Ecuador. 2016. pp. 12-16.

[Consulta: 23 mayo 2019].

<http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/24288>
2. **ARGENTINA, SEGURIDAD ALIMENTARIA.** *Consejos para reducir el riesgo de adquirir Salmonella por el consumo de huevos.* [En línea]. Buenos Aires-Argentina. 2010.

[Consulta: 29 de julio de 2019].

http://www.seguridadalimentaria.posadas.gov.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=42:salmonellahuevos&catid=19:informacionconsumidores&Itemid=5.
3. **ARGENTINA. INSTITUTO NACIONAL DE ALIMENTOS (INAL).** *Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos.* [En línea]. Buenos Aires-Argentina. 2014. pp 8-9.

[Consulta: 10 junio 2019].

https://www.anmat.gov.ar>Análisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III
4. **COUTTS, J.A., & WILSON G.** *Optimum Egg Quality. A Practical Approach. 5M.* Washington -Estados Unidos, 2007. p. 34.

5. **CHINGAL, Raul.** *Evaluación física, química y microbiológica de huevos comerciales de gallina, durante su almacenamiento (32 días), bajo diferentes condiciones ambientales.* (Tesis Pregrado)(Químico de Alimentos). Universidad Central del Ecuador. Carrera De Química De Alimentos. Quito-Ecuador. 2015. pp 34-35

[Consulta: 23 junio 2019].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6434>

6. **DE REU, K.; GRIJSPEERDT, K.; MESSENS, W.; HEYNDRICKX, M.;UYTTENDAELE, M.; DEBEVERE, J. & HERMAN, L.** *Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including Salmonella enteritidis.* International Journal of Food Microbiology. [En línea], 2006. Amsterdam-Paises Bajos. p 112: 253–260.

[Consulta: 12 junio 2019].
<https://www.journals.elsevier.com/international-journal-of-food-microbiology>

7. **DOWNES FP, ITO K.** Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Association [En línea], 4ª ed. American Public Health. Washington-Estados Unidos. 2001. pp 345

[Consulta: 12 junio 2019].
<http://www.unsa.edu.ar>malim2007>

8. **ECUADOR, EL TELÉGRAFO.** *El 70% de la producción nacional de huevos sale de granjas de Tungurahua.* [En línea] Quito-Ecuador. 2018. p. 3

[Consulta: 28 de mayo del 2019]
<https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/desde/1/el-70-de-la-produccion-nacional-de-huevos-sale-de-granjas-de-tungurahua>.

9. **ECUADOR. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1973. Instituto Ecuatoriano de Normalización. *Huevos comerciales y ovoproductos. Requisitos microbiológicos de los ovoproductos.* Quito-Ecuador. 2013. p. 5.

[Consulta: 29 de julio de 2019].
<https://archive.or/details/ec.nte.1973.2011>

10. ECUADOR, RED HIDROMETEREOLÓGICA DE TUNGURAHUA. *Condiciones meteorológicas del cantón Baños.* [En línea], Ambato-Ecuador. 2018.

[Consulta: 10 junio 2019].

<https://rrnn.tungurahua.gob.ec./red>

11. ECUADOR, RED HIDROMETEREOLÓGICA DE TUNGURAHUA. *Condiciones meteorológicas del cantón Mocha.* [En línea], Ambato-Ecuador. 2018.

[Consulta: 10 junio 2019].

<https://rrnn.tungurahua.gob.ec./red>

12. ECUADOR, ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHMBORAZO. Estación Metereológica *Condiciones meteorológicas del cantón Chambo.* Riobamba-Ecuador. 2018. pp 1-4

13. ECUADOR, ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHMBORAZO. Estación Metereológica. *Condiciones meteorológicas de del cantón Riobamba.* Riobamba-Ecuador. 2018. pp 4-8

14. ESTADOS UNIDOS, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), *Nutrient Database for Standard Reference, Release 12 /Eggyclopedia, Unabridged 6/99 Egg Nutrition Center* [En línea], Washington D.C.-Estados Unidos, 2011. p. 1

[Consulta: 12 junio 2019].

<https://ndb.nal.usda.gov>

15. ESTRADA, Juan., & VALENCIA, Byron. *Determinación de Salmonella spp. en huevos frescos de gallina en los principales mercados de la ciudad de Quito. (Tesis Pregrado)(Medicina Veterinaria Y Zootecnia).* Universidad Central del Ecuador. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito-Ecuador. 2012. p 40.

[Consulta: 21 mayo 2019].

<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/599>.

16. ESPAÑA, ELIKA. Fundación Vasca para la seguridad agroalimentaria “*Salmonella*”. [en línea]. Arkaute-Álava 2013. p 2.

[Consulta: 12 mayo 2019].

<http://seguridadalimentaria.elika.eus/salmonella>.

17. ESPAÑA, INSTITUTO DE ESTUDIOS DEL HUEVO. *El gran libro del huevo.* [en línea]. Madrid – España. 2009. pp. 28-29.

[Consulta: 12 abril 2019].

http://www.huevo.org.es/images/archivos/el_gran_libro_del_huevo.pdf

18. FOOD SAFETY. *Salmonella Guía de Interpretación.* Sistema 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express. [En línea]. Washington D.C.-Estados Unidos . 2013. pp 7-8

[Consulta: 12 abril 2019]

www.3M.com/foodsafety

19. FOOD SAFETY. *Aerobios mesófilos Guía de Interpretación.* Sistema 3M™ Petrifilm™ *Aerobios mesófilos.* [En línea]. Washington D.C.-Estados Unidos . 2013. pp 8-9

[Consulta: 12 abril 2019]

www.3M.com/foodsafety

- 20. FOOD SAFETY.** *Escherichia coli* Guía de Interpretación. Sistema 3M™ Petrifilm™ *Escherichia coli*. [En línea]. Washington D.C.-Estados Unidos . 2013. pp 5-6
- [Consulta: 12 abril 2019]
- www.3M.com/foodsafety
- 21. FRANCIA, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE).** *Manual de la OIE sobre animales terrestres. Salmonelosis*. [En línea]. París-Francia. 2010. p 34.
- [Consulta: 12 abril 2019]
- http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.09.09_SALMONELLOSIS.pdf
- 22. GARCÉS, H.** *Actividad Avipecuaria. La salmonella bajo control. El uso de prebióticos como herramienta adicional a la vacunación*. [En línea]. Lima – Perú. 2015. p. 2.
- [Consulta: 12 de mayo de 2019].
- <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/lasalmonela-bajo-control-El-uso-de-probioticos-como-herramientaadicional-a-La-vacunacion.html>
- http://revistas.uptc.edu.co/revistas/index.php/salud_sociedad/article/view/3496/3119
- 23. GAST, R.K.** *Paratyphoid infections*. In Diseases of Poultry. Iowa- Estados Unidos. Swayne eds., 2003. p. 583-599.
- 24. HOWARD, Z.; O'BRYAN, C.A.; CRANDALL, P.G. & RICKE, S.C.** “Salmonella Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control”. Food Research International. [En línea], 2011. Amsterdam-Paises Bajos, pp 1-2.
- [Consulta: 12 junio 2019].
- [http://www. doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.030.](http://www.doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.030)
- 25. HUMPHREY, T.J.; WHITEHEAD, A.; GAWLER, A.H.L.; HENLEY, A. & ROWE, B.** *Numbers of Salmonella Enteritidis in the contents of naturally contaminated hen's eggs*. Epidemiol. Infect. Washington –Estados Unidos. pp.106:489-496.

26. ITALIA, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACION Y LA AGRICULTURA (FAO). *Evaluación del riesgo de salmonella en huevos y pollos. Serie de evaluación de riesgos microbiológicos.* Roma-Italia. 2002. pp. 7-10.

[Consulta: 24 de mayo del 2019]

<http://www.fao.org/3/y4393s/y4393s07.htm>

27. JONES, F.T., RIVES, D.V. & CAREY, J.B. *Salmonella contamination in commercial eggs and egg production facility.* Poultry Science [En línea], 1995 (Oxford-Reino Unido) 74, pp 753-757.

[Consulta: 12 junio 2019].

<https://academic.oup.com/ps>

28. LOAIZA, Juliana et al. “Detección de bacterias contaminantes en huevos para consumo en Medellín y su área Metropolitana”. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* [En línea], 2011 (Medellín, Colombia) 6 (2), pp. 20-28.

[Consulta: 25 de Junio 2019].

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S190096072011000200003&script=sci_abstract&tlng=es

29. MOSSEL, D.A.A. “Introduction and prospective.” *International Journal of Food Microbiology.* [En línea], 1985. Amsterdam-Paises Bajos. 2: 1-7.

[Consulta: 12 junio 2019].

[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(85\)90049-2](https://doi.org/10.1016/0168-1605(85)90049-2)

30. PASCUAL, María. *Microbiología Alimentaria. Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas.* Madrid-España : Díaz de Santos, S.A.,1992. p 20.

31. PEARSON, J et al. *Appl Environ Microbiol* [En línea]. Washington D.C.-Estados Unidos. 2005. p 321

[Consulta: 12 junio 2019].

<http://www.unsa.edu.ar>malim2007>

32. SCATOLINI, A. *Características físicas, químicas y microbiológicas de huevos almacenados a diferentes condiciones de envasado a temperatura ambiente.* [En línea] Sao Paulo-Brasil. 2010. pp. 83-85.

[Consulta: 24 de mayo del 2019]

<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6434>

33. SORIA, Mario. *Presencia de salmonella y características físicas de huevos destinados a consumo humano.* (Tesis Maestría)(*Scientiae en Ciencias Veterinarias*). Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Santa Fé- Argentina. 2012. pp 26-28

[Consulta: 23 junio 2019].

<https://www.unl.edu.ar>.

34. WIGLEY P et al. *Manual de microbiología de los alimentos Infect Immun.* [En línea]. Washington D.C.-Estados Unidos. 2005. pp 2567-2570

[Consulta: 12 junio 2019].

<http://www.unsa.edu.ar>malim2007>

ANEXOS

ANEXO A. Cuadro resumen de las combinaciones de las zonas geográficas investigadas.

Cantones de Baños y Mocha

Parámetro	Baños	Mocha	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	195.4	123.92	1.62169837	0.0589666
E. Coli. interna UFC.ml-1	0.12	8.4	-1.43295494	0.08238469
E. coli externa UFC.g-1	0	0.96	-1.43920865	0.08150364
Salmonella (Ausencia o presencia)	0	1.48	-1.93160359	0.0326497

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Baños y Chambo

Parámetro	Baños	Chambo	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	195.4	315.8	-2.88282846	0.00409179
E. Coli. interna UFC.ml-1	0.12	20.52	-5.76691647	0.000003
E. coli externa UFC.g-1	0	12.64	-4.89193003	0.000027
Salmonella (Ausencia o presencia)	0	19.08	-4.29372677	0.00012513

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Chambo

Parámetro	Mocha	Chambo	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	123.92	315.8	-4.00620836	0.00025935
E. Coli. interna UFC.ml-1	8.4	20.52	-1.83936978	0.03913228
E. coli externa UFC.g-1	0.96	12.64	-4.66985858	0.000048
Salmonella (Ausencia o presencia)	1.48	19.08	-3.8699237	0.00036574

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Baños

Parámetro	Mocha	Baños	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	123.92	195.4	-1.62169837	0.0589666
E. Coli. interna UFC.ml-1	8.4	0.12	1.43295494	0.08238469
E. coli externa UFC.g-1	0.96	0	1.43920865	0.08150364
Salmonella (Ausencia o presencia)	1.48	0	1.93160359	0.0326497

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Mocha

Parámetro	Chambo	Mocha	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	315.8	123.92	4.00620836	0.00025935
E. Coli. interna UFC.ml-1	20.52	8.4	1.83936978	0.03913228
E. coli externa UFC.g-1	12.64	0.96	4.66985858	0.000048
Salmonella (Ausencia o presencia)	19.08	1.48	3.8699237	0.00036574

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Baños

Parámetro	Chambo	Baños	Tcal	Prob.
Aerobios mesófilos UFC.ml-1	315.8	195.4	2.88282846	0.00409179
E. Coli. interna UFC.ml-1	20.52	0.12	5.76691647	0.0000030
E. coli externa UFC.g-1	12.64	0	4.89193003	0.000027
Salmonella (Ausencia o presencia)	19.08	0	4.29372677	0.00012513

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

ANEXO B. Resultados obtenidos de *aerobios mesófilos* UFC.ml-1 mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

Cantones de Baños y Mocha

	<i>Baños</i>	<i>Mocha</i>
Media	195.4	123.92
Varianza	55440.0833	37647.3267
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.48721424	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	1.62169837	
P(T<=t) una cola	0.0589666	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.11793321	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Baños y Chambo

	<i>Baños</i>	<i>Chambo</i>
Media	195.4	315.8
Varianza	55440.0833	53249.3333
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.59891502	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-2.88282846	
P(T<=t) una cola	0.00409179	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00818358	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Baños

	<i>Mocha</i>	<i>Baños</i>
Media	123.92	195.4
Varianza	37647.3267	55440.0833
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.48721424	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	1.62169837	
P(T<=t) una cola	0.0589666	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.11793321	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Baños

	<i>Chambo</i>	<i>Baños</i>
Media	315.8	195.4
Varianza	53249.3333	55440.0833
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.59891502	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	2.88282846	
P(T<=t) una cola	0.00409179	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00818358	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Mocha

	<i>Chambo</i>	<i>Mocha</i>
Media	315.8	123.92
Varianza	53249.3333	37647.3267
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.37462516	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	4.00620836	
P(T<=t) una cola	0.00025935	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00051871	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

ANEXO C. Resultados obtenidos de *Escherichia coli* interno $UFC.ml^{-1}$ mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

Cantones de Baños y Mocha

	<i>Baños</i>	<i>Mocha</i>
Media	0.12	8.4
Varianza	0.36	832.25
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	-0.060661221	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-1.432954936	
P(T<=t) una cola	0.082384691	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.164769382	
Valor crítico de t (dos colas)	2.063898562	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Baños y Chambo

	<i>Baños</i>	<i>Chambo</i>
Media	0.12	20.52
Varianza	0.36	315.593333
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.146355631	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-5.766916465	
P(T<=t) una cola	3.03005E-06	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	6.06009E-06	
Valor crítico de t (dos colas)	2.063898562	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Baños

	<i>Mocha</i>	<i>Baños</i>
Media	8.4	0.12
Varianza	832.25	0.36
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.06066122	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	1.43295494	
P(T<=t) una cola	0.08238469	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.16476938	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Chambo

	<i>Mocha</i>	<i>Chambo</i>
Media	8.4	20.52
Varianza	832.25	315.593333
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.06087848	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-1.83936978	
P(T<=t) una cola	0.03913228	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.07826456	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Baños

	<i>Chambo</i>	<i>Baños</i>
Media	20.52	0.12
Varianza	315.593333	0.36
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.14635563	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	5.76691647	
P(T<=t) una cola	3.03E-06	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	6.0601E-06	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Mocha

	<i>Chambo</i>	<i>Mocha</i>
Media	20.52	8.4
Varianza	315.593333	832.25
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.06087848	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	1.83936978	
P(T<=t) una cola	0.03913228	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.07826456	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

ANEXO D. Resultados obtenidos de *Escherichia coli* externo $UFC.g^{-1}$ mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

Cantones de Baños y Mocha

	<i>Baños</i>	<i>Mocha</i>
Media	0	0.96
Varianza	0	11.1233333
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-1.439208653	
P(T<=t) una cola	0.08150364	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.163007279	
Valor crítico de t (dos colas)	2.063898562	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Baños y Chambo

	<i>Baños</i>	<i>Chambo</i>
Media	0	12.64
Varianza	0	166.906667
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-4.891930027	
P(T<=t) una cola	2.73386E-05	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	5.46772E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2.063898562	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Baños

	<i>Mocha</i>	<i>Baños</i>
Media	0.96	0
Varianza	11.1233333	0
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	1.43920865	
P(T<=t) una cola	0.08150364	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.16300728	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Chambo

	<i>Mocha</i>	<i>Chambo</i>
Media	0.96	12.64
Varianza	11.1233333	166.906667
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.25107649	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	4.66985858	
P(T<=t) una cola	4.807E-05	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	9.614E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Baños

	<i>Chambo</i>	<i>Baños</i>
Media	12.64	0
Varianza	166.906667	0
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	4.89193003	
P(T<=t) una cola	2.7339E-05	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	5.4677E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Mocha

	<i>Chambo</i>	<i>Mocha</i>
Media	12.64	0.96
Varianza	166.906667	11.1233333
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.25107649	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	4.66985858	
P(T<=t) una cola	4.807E-05	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	9.614E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

ANEXO E. Resultados obtenidos de *Salmonella* (ausencia o presencia) mediante Prueba t para medias de dos muestras emparejadas.

Cantones de Baños y Mocha

	<i>Baños</i>	<i>Mocha</i>
Media	0	1.48
Varianza	0	14.6766667
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-1.93160359	
P(T<=t) una cola	0.0326497	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.0652994	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Baños y Chambo

	<i>Baños</i>	<i>Chambo</i>
Media	0	19.08
Varianza	0	493.66
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-4.29372677	
P(T<=t) una cola	0.00012513	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00025026	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Baños

	<i>Mocha</i>	<i>Baños</i>
Media	1.48	0
Varianza	14.6766667	0
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	1.93160359	
P(T<=t) una cola	0.0326497	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.0652994	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Mocha y Chambo

	<i>Mocha</i>	<i>Chambo</i>
Media	1.48	19.08
Varianza	14.6766667	493.66
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	-0.05137891	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	-3.8699237	
P(T<=t) una cola	0.00036574	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00073149	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Baños

	<i>Chambo</i>	<i>Baños</i>
Media	19.08	0
Varianza	493.66	0
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson		
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	4.29372677	
P(T<=t) una cola	0.00012513	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00025026	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

Cantones de Chambo y Mocha

	<i>Chambo</i>	<i>Mocha</i>
Media	19.08	1.48
Varianza	493.66	14.6766667
Observaciones	25	25
Coefficiente de correlación de Pearson	0.05137891	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	24	
Estadístico t	3.8699237	
P(T<=t) una cola	0.00036574	
Valor crítico de t (una cola)	1.71088208	
P(T<=t) dos colas	0.00073149	
Valor crítico de t (dos colas)	2.06389856	

Realizado por: Llerena Paulina, (2019).

ANEXO F. Análisis microbiológico de las muestras estudiadas

