



ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES
RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE GALLINAS DE TRASPATIO, COMERCIALIZADOS EN LAS PRINCIPALES FERIAS LIBRES DE LA CIUDAD DE LOJA, A TRAVÉS DEL SISTEMA 3M PETRIFILM”

Tesis de grado previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

AUTOR.

Angel Alberto Casierra Cárdenaz

DIRECTOR.

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg Sc.

LOJA - ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Dr. GALO VINICIO ESCUDERO SÁNCHEZ Mg. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

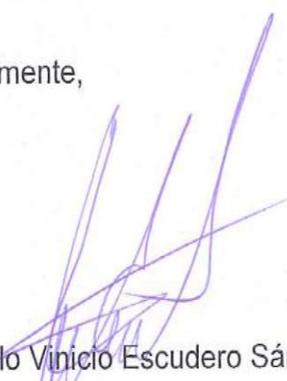
C E R T I F I C A:

Que se ha CONCLUIDO DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO el Trabajo de investigación en la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia titulado "DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE GALLINAS DE TRASPATIO COMERCIALIZADOS EN LAS PRINCIPALES FERIAS LIBRES DE LA CIUDAD DE LOJA A TRAVES DEL SISTEMA 3M PETRIFILM".

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Loja, 18 de Julio del 2015.

Atentamente,



Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

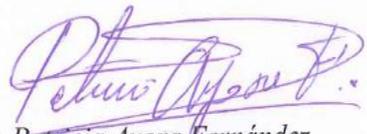
LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

CERTIFICAN:

Que el Señor Egresado de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, **ANGEL ALBERTO CASIERRA CÁRDENAZ**, autor de la tesis titulada: "DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE GALLINAS DE TRASPATIO, COMERCIALIZADOS EN LAS PRINCIPALES FERIAS LIBRES DE LA CIUDAD DE LOJA, A TRAVÉS DEL SISTEMA 3M PETRIFILM". previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista, ha incluido todas las correcciones que se le han observado, por lo tanto autorizamos continuar con los trámites para la Graduación.

Loja, 29 de julio del 2015


Dr. Luis Aguirre Mendoza Mg. Sc.
PRESIDENTE


Dra. Patricia Ayora Fernández.
VOCAL


Dr. Tito Muñoz Guarnizo Mg. Sc
VOCAL

AUTORÍA

Yo, Angel Alberto Casierra Cárdenaz, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Angel Alberto Casierra Cárdenaz

Firma: _____



Cédula: 1105015380

Fecha: Loja, 30 de Julio del 2015.

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS, POR PARTE DEL AUTOR
PARA: LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y
PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.**

Yo, Angel Alberto Casierra Cárdenaz, declaro ser autor de la tesis titulada: "DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE GALLINAS DE TRASPATIO, COMERCIALIZADOS EN LAS PRINCIPALES FERIAS LIBRES DE LA CIUDAD DE LOJA, A TRAVÉS DEL SISTEMA 3M PETRIFILM.", como requisito para optar al grado de: **Médico Veterinario Zootecnista**; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios podrán consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 30 días del mes de Julio del dos mil quince, firma el autor.

Firma: _____



Autor: Angel Alberto Casierra Cárdenaz

Número de cédula: 1105015380

Dirección: Argelia Faraday y Alexander V Humboldt

Correo electrónico: angelcc2010@hotmail.es

Celular: 0997614822

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directores de Tesis: Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.

Tribunal de Grado: Dr. Luis Aguirre Mendoza Mg. Sc. (PRESIDENTE)

Dra. Patricia Ayora Fernández (VOCAL)

Dr. Tito Muñoz Guarnizo Mg. Sc. (VOCAL)

AGRADECIMIENTO

Ante todo doy gracias a Dios, quien me ha dado salud y sabiduría a lo largo de esta travesía. Mi eterno agradecimiento a mi familia que siempre me apoyó y me impulsó a seguir adelante e hizo entender que el esfuerzo valdría la pena en un futuro.

Quiero expresar mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, especialmente a la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a sus docentes, administrativos y demás trabajadores quienes constituyeron un pilar fundamental durante mi periodo de estudio.

De igual manera quiero agradecer al Dr. Galo Escudero Mg Sc, Director de Tesis, por su invaluable aporte y asesoría para la realización de este trabajo investigativo.

Finalmente, agradezco a todas las personas que de alguna manera me brindaron su apoyo para la terminación de mi investigación.

Angel Alberto Casierra Cárdenaz

DEDICATORIA

El presente trabajo de tesis lo dedico:

A Dios Creador Supremo.

A mis padres, Wilman Adalberto Casierra Bustamante y Dolores Vicenta Cárdenaz León por su gran amor, cariño, paciencia, por la confianza que depositaron en mí, por su apoyo incondicional y sobre todo por no dejar de confiar en mí. A mis hermanos, Karol Casierra, Mauricio Casierra, Martín Casierra. Abuelito, tíos/as, primos/as, sobrinos y demás familiares por su apoyo y comprensión incondicional. A mi Director de Tesis Dr. Galo Escudero, a mis docentes, compañeros, amigos y pacientes que colaboraron en mi formación como Médico Veterinario Zootecnista, y a todas las personas que estuvieron siempre a mi disposición tanto en mi vida universitaria, como en la personal.

Angel Alberto Casierra Cárdenaz

ÍNDICE GENERAL

Contenido	pág.
CERTIFICACIÓN	ii
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iii
AUTORÍA	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS, POR PARTE DEL AUTOR PARA: LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. LA AVICULTURA DE TRASPATIO	3
2.2. EL HUEVO Y SU CÁSCARA	3
2.2.1 Constitución de la Cáscara del Huevo	4
2.2.2 Calidad de la Cáscara	4
2.2.3 Factores que Permiten la Proliferación Bacteriana	5
2.3. SALMONELLA	5
2.3.1 Características del Género Salmonella.	5
2.3.2 Diagnóstico	6
2.4. SISTEMA 3M PETRIFILM SALMONELLA EXPRESS.....	9
2.4.1. Descripción	9
2.4.2 Beneficios	9
2.4.3 Procedimiento	10

3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. MATERIALES.....	15
3.1.1 Materiales de Campo	15
3.1.2 Materiales de Laboratorio.....	15
3.1.3 Materiales de Oficina	16
3.2 MÉTODOS.....	16
3.2.1 Ubicación del Ensayo	16
3.2.2. Delimitación del Área	16
3.2.3 Tamaño de la Muestra	17
3.2.4 Variables en Estudio	18
3.2.5 Toma de Muestras.....	18
3.2.6. Análisis de las Muestras	19
4. RESULTADOS.....	24
4.1 FACTORES ASOCIADOS A LA PRECENCIA DE SALMONELLA EN LOS HUEVOS.....	24
4.2 PESO DE LAS MUESTRAS	30
4.3 LIMPIEZA DE LA CÁSCARA	34
4.4 GROSOR DEL CASCARÓN.....	36
4.5 PRESENCIA DE SALMONELLA EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS.....	38
4.6 RESULTADO DE LA PRUEBA COMPLEMENTARIA.....	39
5. DISCUSIÓN	43
6. CONCLUSIONES	49
7. RECOMENDACIONES	51
8. BIBLIOGRAFÍA	52
9. ANEXOS	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	pág.
Cuadro 1. Principales ferias libres de la ciudad de Loja.....	17
Cuadro 2. Tiempo de trabajo y cantidad de muestra.....	19
Cuadro 3. Clasificación de las muestras según su peso	31
Cuadro 4. Peso promedio en gramos (g), valores mínimos y máximos para cada feria libre.....	33
Cuadro 5. Clasificación de las muestras según la limpieza de su cáscara.	34
Cuadro 6. Grosor de cáscara (mm), datos por Feria Libre	36
Cuadro 7. Resultado de la prueba para la detección de Salmonella spp	38
Cuadro 8. UFC presentes por feria libre.....	40
Cuadro 9. UFC presentes por categoría de muestra.....	40
Cuadro 10. Promedio UFC en la superficie de los huevos de acuerdo al lugar de procedencia.....	41
Cuadro 11. Promedios generales de UFC	42
Cuadro 12. Requisitos microbiológicos de huevos frescos.	58
Cuadro 13. Requisitos microbiológicos de los ovoproductos	58
Cuadro 14. Recuentos de UFC de los cultivos en agar Nutritivo.....	59
Cuadro 15. Resultados de las encuestas	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	pág.
Figura 1. Procedimiento del sistema 3M Petrifilm Salmonella express	10
Figura 2. Lugar de procedencia de los huevos.....	24
Figura 3. Tipos de vendedores.....	25
Figura 4. Labores de limpieza de los huevos para la venta	26
Figura 5. Destino de los huevos defectuosos.....	27
Figura 6. Prácticas de desinfección de nidales	28
Figura 7. Enfermedades existentes.....	29
Figura 8. Vacunaciones.....	30
Figura 9. Proporción de huevos según su peso	32
Figura 10. Clasificación según el grado de limpieza de la cáscara. Proporción	35
Figura 11. Grado de limpieza de los huevos por Feria libre	35
Figura 12. Grosor de cáscara. Proporción de muestras dentro de los valores normales.....	37
Figura 13. Resultados negativos y presuntos positivos de Salmonella	39
Figura 14. Feria Libre San Sebastián.....	70
Figura 15. Lugar de expendio de los huevos.....	70
Figura 16. Toma de medidas de las muestras.	71
Figura 17. Pesaje de las muestras	71
Figura 18. Toma de la muestra de cáscara de la zona ecuatorial del huevo ...	72
Figura 19. Medición del grosor de la cáscara.....	72
Figura 20. Preparación del medio de enriquecimiento	73
Figura 21. Lavado de los huevos en el medio de enriquecimiento.....	73
Figura 22. Incubación de tubos con Caldo RV	74
Figura 23. Siembra por estriado en las Placas Petrifilm.....	74
Figura 24. Identificación de colonias sospechosas	75
Figura 25. Preparación de las diluciones	75
Figura 26. Siembra a profundidad en Agar Nutritivo	76
Figura 27. Crecimiento bacteriano	76

“DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE GALLINAS DE TRASPATIO, COMERCIALIZADOS EN LAS PRINCIPALES FERIAS LIBRES DE LA CIUDAD DE LOJA, A TRAVÉS DEL SISTEMA 3M PETRIFILM.”

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario, de la Universidad Nacional de Loja, con el objetivo de detectar la presencia de *Salmonella spp.* en la superficie de huevos provenientes de gallinas de traspatio, comercializados en las principales ferias libres, de la ciudad de Loja, a través del Sistema “3M Petrifilm Salmonella Express”, En total se analizaron 216 huevos agrupados en 72 muestras (cada muestra constituida por tres huevos). En ninguna de las muestras se confirmó la presencia de *Salmonella spp.* pero se evidenció gran cantidad de bacterias aerobias mesófilas obteniendo valores promedios de $2,59 \times 10^4$ UFC/ml y $1,63 \times 10^3$ UFC/cm². Valores que pueden deberse a la contaminación durante la puesta, por falta de control sanitario de los nidos, o bien durante la manipulación, transporte y venta de los huevos que pueden perjudicar la calidad de los mismos e incluso producir problemas en salud pública; los resultados de las encuestas revelan que el 62% no realiza desinfección en los nidos de las aves, de la misma forma el 62% no realiza ningún tipo de vacunaciones en sus aves y los huevos son almacenados a temperatura ambiente. Sin embargo este estudio no descarta la presencia de *Salmonella spp.* en huevos comercializados en la ciudad de Loja por lo que se recomienda continuar con futuras investigaciones relacionadas.

Palabras Clave: salmonella, ufc, huevos, traspatio, mercados, bacteriología.

ABSTRACT

This research work was conducted in the laboratory of veterinary diagnostic of the “Universidad Nacional de Loja” in order to detect the presence of *Salmonella spp.* in the surface of hen eggs that belong to the backyard. These eggs are sold in the main fairs from the city of Loja. Through the “3M Salmonella express system”. In total 216 eggs were analyzed the same ones that were grouped in 72 samples (each one made up of three eggs sample). None of the samples confirmed the presence of *Salmonella spp.* But it was showed lot of mesophilic aerobic bacteria getting average values of $2,59 \times 10^4$ UFC/ml y $1,63 \times 10^3$ UFC/cm². Values that may be due to contamination during start due to lack of sanitary control of the nests or during handling, transportation and sale of eggs that may impair their quality and even cause problems in public health; The survey results reveal that 62 % do not perform disinfection in the nests of birds, just as the 62 % does no vaccination in birds and their eggs are stored at room temperature. However, this study does not rule out the presence of *Salmonella spp.* in eggs marketed in the city of Loja so we recommend continuing related future research.

Keywords: salmonella, ufc, eggs, backyard, markets, bacteriology.

1. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos (ETAs) están entre las diez primeras de notificación obligatoria, siendo la Salmonelosis una de las más importantes. En el año 1990 se reportaron 9908 casos de salmonelosis; en el 2001 esta cifra aumentó bruscamente a 18772, periodo desde el cual el número ha ido disminuyendo paulatinamente con 3.286 casos en el 2008 (MSP, 2008).

La Salmonelosis es una causa predominante de enfermedad transmitida por los alimentos siendo importantes vehículos de transmisión los huevos y las aves de corral. En los últimos dos decenios, *Salmonella enteritidis* ha llegado a ser una variante sérica causante de infecciones en seres humanos, siendo la fuente principal del patógeno los huevos de las gallinas. En muchos países, se atribuyó la aparición de *Salmonella enteritidis* como causa principal de la salmonelosis en seres humanos a la capacidad excepcional de esta variante sérica de colonizar el tejido ovárico de las gallinas y estar presente en el contenido de los huevos con cáscara intacta (Clerc, 2005)

A nivel local, no se da la debida importancia a la contaminación de los huevos expendidos para el consumo humano, desconociéndose la calidad sanitaria del producto, pues no se tiene información del cumplimiento de las normas mínimas sanitarias para su comercialización.

En vista de ello, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal detectar la presencia de *Salmonella spp.* en la superficie de huevos provenientes de gallinas de traspatio, comercializados en las principales ferias libres de la ciudad de Loja, así como específicamente:

- Evaluar la calidad externa del huevo (tamaño, peso, grosor de la cáscara) y su relación con el grado de contaminación por *Salmonella spp.*
- Clasificar los huevos de acuerdo a las características de limpieza, y correlacionar con los resultados de *Salmonella spp.*

- Obtener datos de la procedencia y almacenamiento de los huevos, así como del manejo de las gallinas ponedoras y de sus nidales.
- Comprobar si el producto es apto para el consumo humano, según la norma NTE INEN 1973:2011.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LA AVICULTURA DE TRASPATIO

La “avicultura familiar”, rústica o de traspatio, se puede conceptualizar como la cría doméstica tradicional, la avicultura de traspatio se distingue por su escaso uso de la tecnología pecuaria disponible; por lo regular, las aves no tienen un alojamiento propio o se alojan en instalaciones rústicas, carecen de un control sanitario y su alimentación tiene como base diversos productos o subproductos generados en su mayoría en la misma unidad de producción. Estas aves conviven juntas en el mismo gallinero de noche, y de día pastorean libremente en el traspatio, consumiendo hierbas, insectos, larvas y desperdicios de cocina. El gallinero generalmente está hecho de varas, barrotes, tablas y láminas y su tamaño depende de las posibilidades económicas, de la atención y necesidades de la familia (FAO, 2007).

En las zonas rurales situadas en un medio ambiente frágil y económicamente marginado, la avicultura familiar es un elemento común de los sistemas agrícolas mixtos. Estas aves suelen ser pequeñas, se reproducen con facilidad y no exigen una gran inversión económica (Dávila y Hernández, 2009).

2.2. EL HUEVO Y SU CÁSCARA

El huevo es un alimento de gran valor nutritivo que de forma natural se encuentra protegido de la contaminación exterior gracias a su cáscara, sirviendo de compartimiento para la mantención y desarrollo del embrión en las aves (Hunton, 2005).

2.2.1 Constitución de la Cáscara del Huevo

La cáscara del huevo avícola es un notable ejemplo de mineralización biológica, químicamente está compuesta de 1.6% de agua, 95.1% de minerales, de los cuales 93.6% corresponden a carbonato de calcio en forma de calcita, 0.8% de carbonato de magnesio, 0.73% de fosfato tricálcico (Hunton, 2005), y finalmente 3.3% de materia orgánica o pigmentos de la cáscara, además, de 8.000 poros microscópicos que atraviesan la cáscara (Koelkebeck, 1999). Además, posee cuatro diferentes capas que le brindan protección contra diversos agentes. Estas son: cutícula empalizada, zona mamilar, membranas de la cáscara interna y externa (Fernández y Arias, 2000).

2.2.2 Calidad de la Cáscara

La calidad de la cáscara depende de muchos factores, dentro de ellos se destacan los nutricionales especialmente la composición de calcio en la ración que influye en la resistencia de la cáscara, cuando la cáscara es débil existen grandes posibilidades de agrietarse, siendo un factor muy importante para la industria avícola (Hunton, 2005). Asimismo, se ha observado en aves criollas de traspatio un alto porcentaje de excesiva porosidad del cascarón lo cual se debe mayoritariamente a las deficiencias en la alimentación, principalmente calcio, otro factor que condiciona la porosidad del cascarón es la edad de las gallinas (Juárez y Ortiz, 2001). Pero, también se ha determinado que la calidad de la cáscara es dependiente de un factor hereditario que se puede manipular a través de selección genética (Jones y Musgrove, 2005). En definitiva, mejorar la calidad del huevo está centrado principalmente en mejorar la calidad de la cáscara ya que esto influye

directamente en las pérdidas por rupturas y por ende la invasión de microorganismos (Juárez y Ortiz, 2001).

2.2.3 Factores que Permiten la Proliferación Bacteriana

Existen múltiples factores externos e internos que influyen en la proliferación bacteriana, dentro de los factores externos se destacan limpieza de la cáscara al contaminarse con heces (Grizzle et al., 1992), condiciones climáticas, período de exposición que influyen fuertemente en la reducción de la viabilidad del huevo (Cook et al., 2003) y los factores como: integridad de la cáscara, textura de la cáscara (Koelkebeck, 1999) y la calidad de composición de la cáscara de huevo (Cook et al., 2003).

Muchas enterobacterias que se ubican y multiplican en el intestino son eliminadas a través de las heces en forma intermitente, contaminando todo el ambiente que rodea al animal (cama, polvo, plumas, cáscara de huevos, bebederos, comederos, etc.) y de esta manera a otras aves (transmisión horizontal). Con el ambiente contaminado, es muy fácil que las bacterias se diseminen hacia sitios cercanos mediante vectores (gorriones, personal, perros, gatos, etc.), además, de roedores que son reservorios de salmonela (Borie y Sánchez, 1998).

2.3. SALMONELLA

2.3.1 Características del Género Salmonella.

Salmonella spp pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, su hábitat principal es el tracto intestinal del hombre y los animales. Los miembros de este género destacan por su gran capacidad de adaptación, lo que les permite infectar a un amplio rango

de hospedadores. Al igual que otros miembros de la familia Enterobacteriaceae se caracterizan por ser bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, catalasa positiva, oxidasa negativos, no fermentadores de lactosa, no formadores esporas y por poseer flagelos peritricos que les confieren movilidad, con excepción del serotipo *S. gallinarum* y las variantes inmóviles de otros serotipos (Keller *et al.* 1995).

2.3.2 Diagnóstico

La detección de *Salmonella* se realiza generalmente mediante el cultivo microbiológico, pero se han desarrollado diversos métodos rápidos, que se basan en las características inmunológicas y en la secuencia de bases de los nucleótidos en los ácidos nucleicos (Ray, 2010).

2.3.2.1 Cultivo. Comprende una fase de pre-enriquecimiento de la muestra en un caldo de nutrientes, seguida del enriquecimiento selectivo, en un medio de agar diferencial selectivo, así como la confirmación bioquímica y serológica.

a) Medios de preenriquecimiento

El número de salmonelas es normalmente bajo en las heces de animales asintomáticos, en muestras ambientales y en alimentos, por lo que es necesario utilizar medios de preenriquecimiento para facilitar el aislamiento, tal como el agua de peptona tamponada, medios comerciales como Salmoscyst® o el caldo universal de preenriquecimiento. Esto puede permitir que un escaso número de *Salmonella* se multiplique o puede ayudar a la recuperación de las que presentan daños subletales, debido a la congelación, el calentamiento, la exposición a las sustancias microbicidas o a la desecación (OIE, 2008a).

b) Medios de enriquecimiento

Los medios de enriquecimiento son medios líquidos o semisólidos que contienen sustancias que permiten el crecimiento selectivo de las salmonelas a la vez que inhiben el crecimiento de otras bacterias. La composición del medio, que puede variar de un proveedor a otro, o incluso en algunos casos de un lote a otro, la temperatura y la duración de la incubación, y el volumen de las muestras utilizadas como inóculo del medio, pueden servir para influir en la tasa de aislamiento, y se deben tener siempre en cuenta estas variables. Ejemplos de medios de enriquecimiento son: Rappaport–Vassiliadis (MSRV), Caldo Selenito Cistina, Caldo Tripticasa de soya suplementado con sulfato ferroso, Caldo Tetrionato suplementado con bilis Verde Brillante o pastillas de suplemento selectivo comerciales como las Salmoscyst® de Merck. (INEN, 2011; OIE, 2005; OIE, 2008).

c) Medios selectivos en placa

Estos son medios selectivos solidificados con agar que permiten un crecimiento diferencial en varios aspectos. Inhiben el crecimiento de bacterias distintas a *Salmonella* y suministran información sobre algunas de las principales características bioquímicas diferenciales, normalmente la incapacidad de fermentar la lactosa y la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S). Los resultados se obtienen después de 24 y 48 horas de cultivo a 37°C. En dichos medios *Salmonella* forma colonias características que son distintas de las producidas por otras bacterias en la placa, con la posible excepción de *Proteus*, *Pseudomonas* y *Citrobacter*. En ocasiones, se pueden aislar salmonellas fermentadoras de la lactosa y la producción de H₂S puede ser variable. Ejemplos de medios selectivos sólidos son: agar Xilosa-Lisina-Dexosicolato (XLD), agar *Salmonella-Shigella* (SS), agar Verde-Brillante Rojo-Fenol, agar Bismuto Sulfito, agar Entérico Hektoen (HE), el agar Rambach, entre otros (INEN, 2011).

d) Identificación de colonias sospechosas

Las colonias sospechosas se subcultivan en medios sólidos selectivos y no selectivos para asegurar la ausencia de posibles contaminantes como *Proteus* spp. Si hay un crecimiento abundante en cultivo puro, las colonias sospechosas se pueden probar por aglutinación en porta con sueros polivalentes para la tipificación de *Salmonella*, sin embargo, deben somerterse a pruebas bioquímicas para confirmar la identificación. Estas pruebas se pueden realizar con azúcares en agua de peptona o con sistemas comerciales (tales como el sistema Índice de Perfil Analítico [API]), la prueba OBIS o en medios compuestos (tales como el agar triple azúcar-hierro [TSI]). La identificación serológica, según el esquema de Kauffman y White, de los antígenos O y H, y, en circunstancias especiales, del antígeno Vi, se realiza mediante aglutinación directa en porta o por aglutinación en tubo utilizando antisueros específicos (OIE, 2008).

2.3.2.2 Métodos de reconocimiento inmunológicos y de ácidos nucleicos

Estos incluyen métodos basados en la conductancia/ impedancia eléctrica, en la separación inmunomagnética (IMS), en los enzimoimmunoensayos (ELISA), métodos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con sondas génicas, incluyendo la amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos (NASBA) y en la PCR en tiempo real. Muchos de estos métodos resultan más adecuados para el análisis de alimentos humanos pero no han sido validados para muestras fecales y ambientales (OIE, 2008).

2.4. SISTEMA 3M PETRIFILM SALMONELLA EXPRESS

2.4.1. Descripción

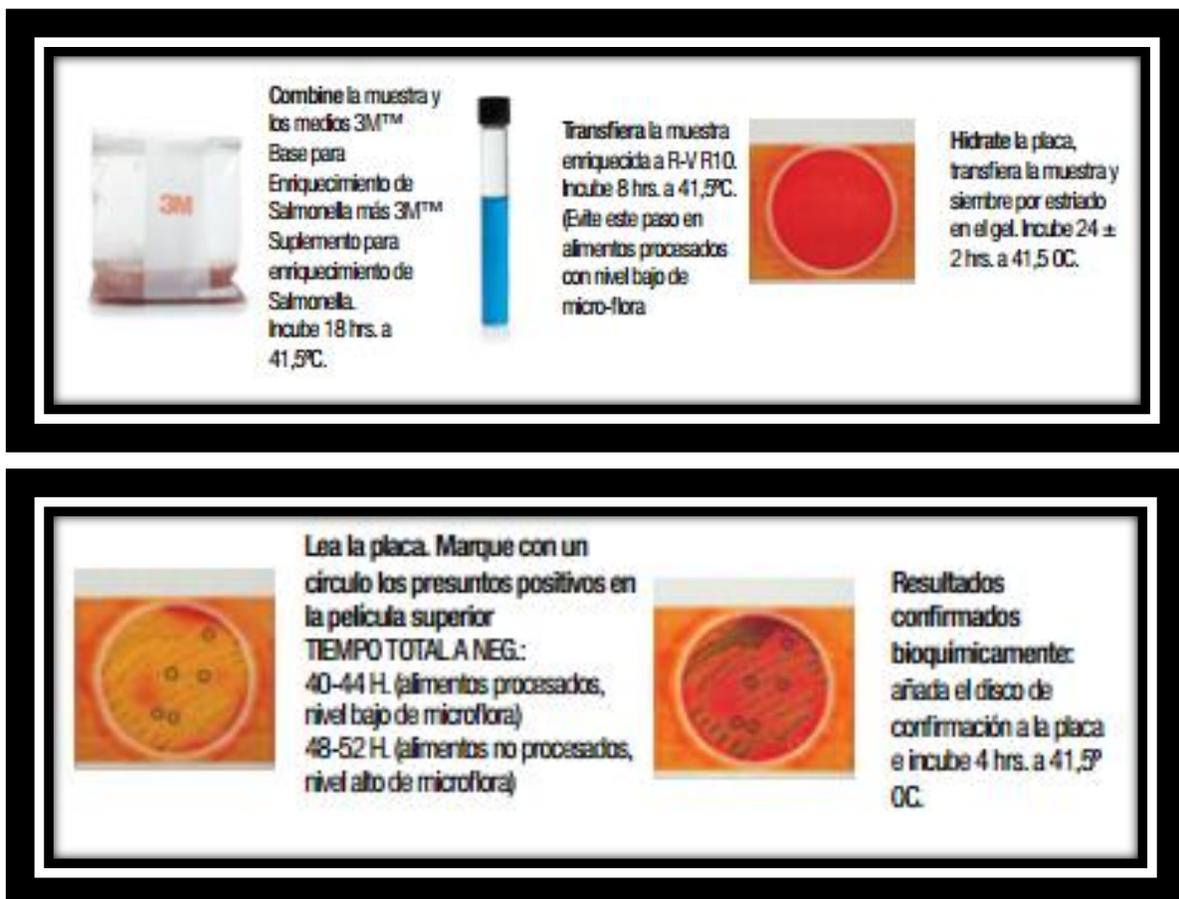
En la industria de alimentos generalmente, el aislamiento y la identificación de Salmonella se realizan mediante métodos de cultivo tradicionales, que consisten en una serie de etapas tales como: pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo; enriquecimiento en medios líquidos selectivos; aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos; confirmación bioquímica de las colonias sospechosas; y confirmación serológica de dichas colonias, lo que hace que la técnica sea demorada, requiera demasiada mano de obra y puede generar una gran incertidumbre respecto a los resultados obtenidos (3M Petrifilm 2013). 3M Petrifilm Salmonella Express System (SALX) es utilizado como prueba cualitativa para la rápida detección y confirmación bioquímica de Salmonella en alimentos y muestras ambientales reemplazando la metodología tradicional; está compuesto por el 3M™ Enriquecimiento Base para Salmonella, el 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella, la Placa 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) y el Disco de Confirmación 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX).

2.4.2 Beneficios

- Medio Listo para Usar
- Fácil de Usar
- No se requiere de equipos especiales
- Permite gran uniformidad de resultados vs. agares deshidratados
- Vida de anaquel más larga comparada con los platos de agar
- Plato Compacto/ apilable & disco reducen los desechos
- Todo en solo un método : provee resultados presuntivos y resultados bioquímicos confirmativos

- Un solo proceso de enriquecimiento para alimentos procesados con baja carga microbiana
- Más rápido para resultados bioquímicos confirmados (44-52 hrs)
- Colonias Confirmadas todas en un plato

2.4.3 Procedimiento



Fuente: 3M Petrifilm. 2013

Figura 1. Procedimiento del sistema 3M Petrifilm Salmonella express

2.5 TRABAJOS SIMILARES

Paredes, M. (2008). Realizó la investigación sobre la “CARGA BACTERIANA EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE AVES DE TRASPATIO COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO CENTRAL DE LA CIUDAD DE CHILLAN” para determinar el análisis microbiológico de la superficie de los huevos y determinar la existencia de variación estacional en estas cargas bacterianas. El 67% presentaron recuentos bacterianos altos no existiendo gran diferencia en las 4 estaciones del año. Además, se encontró un 36% de huevos limpios con 6.8 UFC, 47% de huevos ligeramente manchados con 6.7 UFC, 4% de huevos moderadamente manchados con 6.6 UFC y 14% de huevos sucios con un promedio equivalente a 6.9 UFC.

Soria, M. (2012) en su trabajo sobre la “PRESENCIA DE SALMONELLA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE HUEVOS DESTINADOS A CONSUMO HUMANO” para determinar la presencia de *Salmonella spp.* y las características físicas y pH del huevo para consumo humano y evaluar la sensibilidad de los aislamientos obtenidos frente a diferentes antimicrobianos de uso en medicina humana y veterinaria. La prevalencia de *Salmonella spp.* fue del 1,8 % (29/1.643 muestras), encontrándose 8 serovariedades de *Salmonella spp.* las cuales fueron sensibles a amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacinaa e imipenem que serían de elección en la terapia de infecciones causadas por este patógeno.

Clerc, M. (2005) realizó la “DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN HUEVOS DE GALLINA COMERCIALIZADOS EN FERIAS DE LA CIUDAD DE VALDIVIA”, se realizó una selección no aleatoria, de 45 muestras, compuestas por 3 huevos de gallinas de campo cada una, comercializados en dos ferias libres de la ciudad de Valdivia, con el objetivo de determinar la existencia de *Salmonella spp.* por medio

del análisis de la cáscara y de la yema de huevo. Se logró aislar *Salmonella spp.* en siete muestras de cáscara, pero no se aisló en ninguna de las muestras de yema. El porcentaje de muestras contaminadas con *Salmonella spp.* encontrado, fue de 15,6%.

Estrada, J. y B. Valencia (2012) realizaron la “DETERMINACIÓN DE *Salmonella spp.* EN HUEVOS FRESCOS DE GALLINA EN LOS PRINCIPALES MERCADOS DE LA CIUDAD DE QUITO”. En ninguna de las muestras se confirmó la presencia de *Salmonella spp.*, pero se evidenciaron bacterias entéricas y ambientales como: *Pseudomona spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea spp.*, *Providencia rettgeri*, *Proteus mirabilis*, *Aeromona spp.* y *Burkholderia cepacia*.

Mancera, *et al* (2005) realizaron la “IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella enteritidis* EN HUEVO PARA CONSUMO EN LA CIUDAD DE MÉXICO”. Se obtuvieron 131 aislamientos considerados en 12 diferentes géneros bacterianos: *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Bacillus sp.*, *Branhamella sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Hafnia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Serratia sp.*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Yersinia sp.* y obteniendo una cepa de *Salmonella Enteritidis*, la cual se clasificó como no tipificable. Se obtuvo un huevo contaminado por *Salmonella Enteritidis*, el cual en porcentaje del muestreo representó el 0.25 %.

Cozano, L. (2003) Realizó la “EVALUACIÓN SANITARIA (FÍSICO, QUÍMICO, BACTERIOLÓGICO) DEL HUEVO DE GALLINA DE TRASPATIO, EN EXPENDIOS DEL MERCADO DE LA TERMINAL, ZONA 4 DE LA CIUDAD DE GUATEMALA”. Los resultados que se obtuvieron fueron que el 100 % de los huevos de traspatio provenientes del Mercado de la Terminal de la zona 4 de la ciudad de Guatemala, se encontraron libres de *Salmonella spp* tanto externamente (cáscara) como

internamente (clara y yema). Con respecto a la suciedad de la cáscara, un 59.38 % lo presentaron, pero este dato no influyó en la contaminación del contenido interno.

Fernández, K. (2005). Realizó un “CONTROL BACTERIOLÓGICO DE HUEVOS PROVENIENTES DE CRIANZA ARTESANAL, A LA VENTA EN EL MERCADO MUNICIPAL DE CHILLÁN” para el efecto el tamaño muestral fue 238 huevos. Se obtuvo aislamiento positivo a microorganismos totales en 187 muestras (79%). Entre los microorganismos encontrados un 78% de ellos pertenecía a la familia *Enterobacteriaceae*, cuyos recuentos variaron en el rango de 1.0×10^5 - 6.5×10^6 UFC/mL, no se detectó *Salmonella spp.* en las muestras analizadas. Un 2% de los microorganismos fueron identificados como *Staphylococcus coagulasa* negativos. Además, se encontró un 10% de microorganismos pertenecientes al género *Pseudomona*.

Juárez, A.; E. Gutiérrez; J. Segura y R. Santos (2010). Evaluaron la “CALIDAD DEL HUEVO DE GALLINAS CRIOLLAS CRIADAS EN TRASPATIO EN MICHOACAN, MEXICO. Las mediciones realizadas fueron: peso del huevo (PH), diámetro longitudinal (DL) del huevo, diámetro transversal (DT) del huevo, peso de la cáscara (PC), espesor de la cáscara (EC). Los promedios obtenidos fueron: PH 50.7 g; DL 5.6 cm; DT 4.2 cm; PC 4.5 g; EC 0.28 mm. En conclusión el huevo de gallinas de traspatio presenta dimensiones reducidas, en comparación con el huevo comercial. Sin embargo, los indicadores de calidad interna sugieren que el huevo de gallinas de traspatio tiene calidad similar al de gallinas de la estirpe comercial.

Guerra, L.; F. Uña; F. González y J. Vargas. (2010). Realizaron la “CARACTERIZACIÓN DE HUEVOS CLASIFICADOS COMO NO APTOS POR SU PESO Y FORMA PROCEDENTES DE REPRODUCTORAS LIGERAS, SEMIRRÚSTICAS Y PESADAS” Se colectaron 7 102 huevos en unidades de

reproductoras ligeras White Leghorn (3 554), semirústicas Turquino (2 537) y pesadas (1 011), en los meses de puesta: 2 y 3; 7 y 8, y 10 y 11. El volumen (cm³) fue 52,68a, 57,11b, 52,46c y el área de superficie 67,63a, 71,71b y 64,23c para las reproductoras ligeras, semirústicas y pesadas respectivamente, que difieren ($P < 0,05$). El grosor de la cáscara 0,36a, 0,36a, 0,33b, los poros 160a, 158b y 149c en las ponedoras ligeras, semirústicas y pesadas, respectivamente. Los datos obtenidos sugieren que los huevos pueden ser incubables.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1 Materiales de Campo

- 216 Huevos de aves de traspatio recogidos en ferias libres de la ciudad de Loja
- Hoja con tabla de control y registro
- Marcadores

3.1.2 Materiales de Laboratorio

- Muestras: Huevos de aves de traspatio
- Autoclave
- Estufa
- Balanza
- Mechero de bunsen
- Tubos de ensayo con tapón
- Vaso de precipitación
- Pipetas
- Espátula
- Gradilla
- Guantes
- Hoja con tabla de control y registro
- Agua destilada
- Sistema 3M petrifilm Salmonella express

3.1.3 Materiales de Oficina

- Computadora
- Internet
- Calculadoras
- Lápiz

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Ubicación del Ensayo

La toma de muestras se realizó en las principales Ferias Libres de la ciudad de Loja y los análisis se realizaron en el Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja.

La ciudad de Loja se encuentra en las siguientes características meteorológicas:

Altitud: 2160 msnm.

Latitud: 04° 03' S

Longitud: 79° 20' W

Temperatura promedio: 16 – 18°C

Fuente: INAMHI: Centro de meteorología de la Argelia (2010)

3.2.2. Delimitación del Área

El trabajo se realizó en los sitios de expendio a nivel de las principales ferias libres de la ciudad de Loja.

Cuadro 1. Principales ferias libres de la ciudad de Loja

FERIAS LIBRES
LA TEBAIDA
SAN SEBASTIÁN
LAS PITAS
MAYORISTA

Fuente: El autor

3.2.3 Tamaño de la Muestra

Según Murray y Larry (2005) para determinar el tamaño de la muestra para poblaciones desconocidas o infinitas se emplea la siguiente formula:

$$n = \frac{Za^2 \cdot p \cdot q}{i^2}$$

Donde

- **n** = tamaño muestral
- **Z** = valor correspondiente a la distribución de gauss, $z\alpha = 0.05 = 1.96$ y $z\alpha = 0.01 = 2.58$
- **p** = prevalencia esperada del parámetro a evaluar, en caso de desconocerse ($p = 0.5$)
- **q** = $1 - p$ (si $p = 70 \%$, $q = 30 \%$)
- **i** = error que se prevé cometer si es del 10% , $i = 0.1$

En nuestro caso se aplicó la fórmula tomando en cuenta un nivel de confianza del 95 % por lo que $Z=1,96$; una prevalencia estándar del 3% por lo que $p= 0,03$ por lo tanto $q = 0,97$; con un margen de error del 4% = 0,04; Datos con los que se obtiene un tamaño muestra $n= 70$ como mínimo. Se consideró como referencia el trabajo realizado en Valdivia Chile por Clerc, M en el 2005.

Se decidió trabajar con un número de 72 muestras para ajustarlas al número de semanas y al número de ferias libres que se recolectarán (tabla 2), cada muestra estuvo conformada por 3 unidades, por lo que serían un total de 216 huevos, para conformar las 72 muestras analizadas.

3.2.4 Variables en Estudio

- a) Factores asociados a la presencia de *Salmonella spp.* en los huevos
- b) Contaminación por *Salmonella spp*
- c) Limpieza de la cáscara
- d) Grosor de la cascara
- e) Peso de los huevos

3.2.5 Toma de Muestras

La toma de muestras se ejecutó en los diferentes días de la semana en los horarios de 09H00 a 12H00 en las ferias libres de la ciudad de Loja una vez a la semana por feria libre. Para obtener la muestra para realizar el trabajo se procedió a recolectar en los sitios de venta previamente identificados, eligiéndolos al azar, al mismo tiempo que se realizó una encuesta a los vendedores con el objetivo de recolectar datos acerca de la procedencia de los huevos, almacenamiento, manejo de nidales etc., posteriormente se colocaron en bolsas tipo Ziploc para ser llevados al laboratorio donde se observaron las características externas y las pruebas microbiológicas para la detección de salmonella.

Cuadro 2. Tiempo de trabajo y cantidad de muestra

SEMANA	MUESTRAS POR FERIA LIBRE				TOTAL MUESTRAS
	San Sebastián	La tebaida	Las pitas	Mayorista	
1	3	3	3	3	12
2	3	3	3	3	12
3	3	3	3	3	12
4	3	3	3	3	12
5	3	3	3	3	12
6	3	3	3	3	12
7	Confirmación bioquímica de las muestras presuntas positivas y análisis del interior de las muestras confirmadas positivas (en caso de haberlas).				
8					
	18	18	18	18	72

3.2.6. Análisis de las Muestras

El análisis correspondiente se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja.

3.2.6.1 Análisis físico

Estando las muestras dentro de las bolsas Ziploc se realizó la toma de las medidas de los huevos utilizando un micrómetro o pie de rey, registrando las medidas del diámetro mayor (DMa) y menor (DMe) que se utilizaron para determinar el coeficiente para la superficie (Ks), siguiendo la metodología de Uña *et. al* (2012) con la expresión:

$$Ks = 3,155 - 0,0136 * (DMa) + 0,0115 *(DMe)$$

El cálculo para la superficie (S) se realizó por la expresión:

$$S = Ks * (DMa) * (DMe)$$

Se realizó el pesaje de las muestras para lo cual se utilizó una balanza electrónica y se clasificó a los huevos según su peso en gramos como lo indica la norma INEN-1973 (2011) de la siguiente manera:

- INICIAL (Peso hasta 46g)
- PEQUEÑO Peso entre 46 y 50g
- MEDIANO Peso entre 50 y 58g
- GRANDE Peso entre 58 y 64g
- EXTRAGRANDE Peso entre 64 y 70g
- GIGANTE Peso entre 70 y 76g

De igual manera los huevos se clasificaron de acuerdo a las características de limpieza de la cáscara como lo realiza Paredes (2008) en: limpios, ligeramente manchado, moderadamente manchados y sucios (A, B, C, D respectivamente).

Para obtener las medidas de grosor de la cáscara se procedió a tomar un trozo de cáscara de la zona ecuatorial del huevo libre de sus 2 membranas y con el tornillo micrómetro se midió el espesor de la cáscara, siguiendo el procedimiento dado por la Norma INEN 1973(2011).

3.2.6.2 Detección de salmonella

Para la detección de salmonella se utilizó el sistema 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express de la siguiente manera:

- Se colocó en la bolsa los 3 huevos que comprenden la muestra conjuntamente con los medios de enriquecimiento 3M previamente preparados. Se agitó por 10 minutos para lograr un el desprendimiento de las partículas de la cáscara de los huevos, posteriormente se retira los huevos y el contenido de la bolsa se incuba 18 horas. a 41,5°C.

- Se transfirió 0,1 ml de la muestra enriquecida a 10 ml de caldo R-V R10. Se incubó 8 horas. a 41,5°C.

- Luego de transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a sembrar por estriado la muestra utilizando un Asa en las placas petrifilm previamente preparadas. Incube 24 ± 2 horas. a 41,5 °C.

- Posteriormente se procedió a la lectura y comparación de colonias marcando con un círculo los presuntos positivos en la película superior.

- Para la confirmación bioquímica de las colonias sospechosas se añadió el disco de confirmación 3M a la placa e incubó 4 horas a 41,5°C.

3.2.6.3 Estudio complementario

Se realizó un estudio complementario de las muestras, donde se procedió a la siembra a profundidad en agar nutritivo para tener una visión general de la contaminación externa del huevo.

Para ello se procedió a colocar 1ml del lavado de cada una de las muestras en tubos de ensayo previamente esterilizados que contienen 9 ml de suero fisiológico, realizándose 2 diluciones consecutivas, siguiendo el procedimiento de Paredes (2008).

De estas diluciones se realizaron siembras en profundidad, en agar nutritivo para estimular el crecimiento bacteriano, extrayéndose 1 ml de cada dilución depositándolas en su respectiva placa, realizando 2 siembras por muestra y así contabilizar las unidades formadoras de colonias, determinando la cantidad total de bacterias aerobias mesófilas presentes en cada muestra.

Posteriormente, el agar se incubó a 37 °C por 48 hrs. Terminado este plazo se procedió a realizar el recuento en placa de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Para el recuento de las UFC/ml esto se procedió como indica la Norma INEN 1 529-5(2006) para el recuento de aerobios mesófilos utilizando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Σc = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas

V = Volumen inoculado en cada caja Petri.

n1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada.

n2 = Número de placas de la segunda dilución seleccionada.

d = Factor de dilución de la primera dilución seleccionada.

De igual manera se expresó las UFC en UFC/cm² multiplicando el total de colonias contadas por el factor de dilución y por la cantidad de diluyente utilizado dividiendo para la superficie, siguiendo la metodología de Mudarra y Ríos(2011).

4. RESULTADOS

Terminado el trabajo de investigación se procedió a la tabulación de los datos utilizando el programa EXCEL 2013 para la obtención de promedios y formulación de diferentes tablas de cálculo, para así posteriormente realizar su respectivo análisis e interpretación como se muestra a continuación:

4.1 FACTORES ASOCIADOS A LA PRECENCIA DE SALMONELLA EN LOS HUEVOS.

De los 72 sitios de expendio donde se realizó el muestreo, 8 no respondieron a la encuesta, por lo cual no se los tomó en cuenta en los siguientes porcentajes.

a) Lugares de Procedencia de los huevos

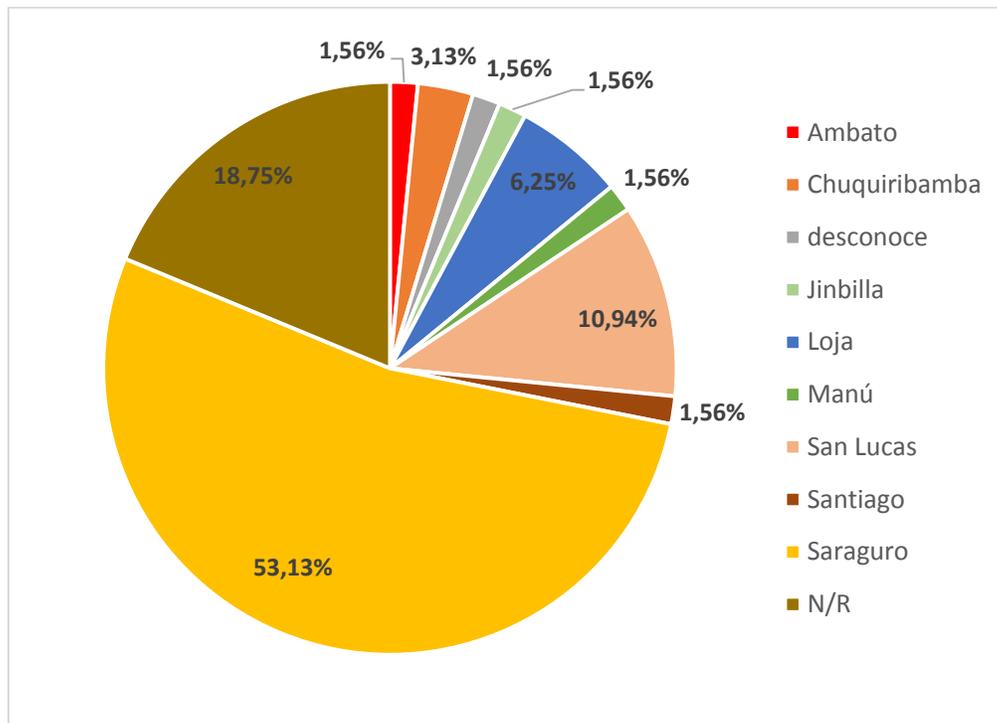


Figura 2. Lugar de procedencia de los huevos

La figura dieciséis nos indica que la gran mayoría de los encuestados y por ende las muestras obtenidas, son originarias de la parroquia Saraguro del Cantón Saraguro con un total de 34 muestras, constituyendo el 53%; mientras que el 11% corresponde a la parroquia San Lucas del Cantón Loja; un 6% provienen de los barrios aledaños de Loja y el resto de muestras provenientes, Chuquiribamba, Jimbilla, Manú, Santiago y Ambato que en conjunto constituyen el 30%.

b) Lugar y tiempo de almacenamiento de los huevos

Los encuestados afirmaron en su totalidad, que los huevos son almacenados al ambiente, es decir, entre 16 a 18 °C aproximadamente, manteniéndolos almacenados durante 8 días hasta el día de su venta y al estar expuestos durante la venta al polvo y la lluvia son factores que favorecen la proliferación bacteriana en los productos.

c) Tipo de vendedores (propietarios o intermediarios)

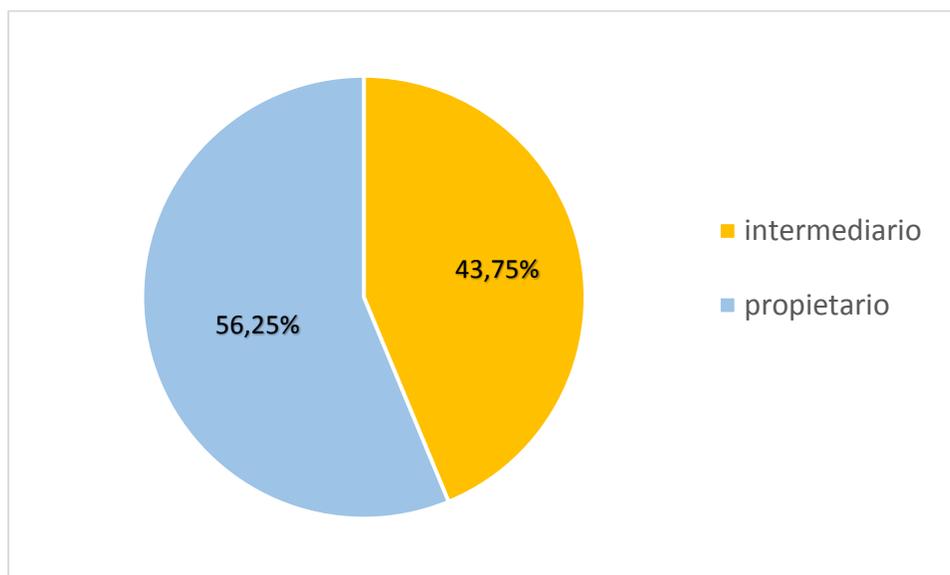


Figura 3. Tipos de vendedores

El 56% de los encuestados afirman ser los productores y distribuidores del producto; mientras que el 44% restante afirmaron ser intermediarios del producto, pues estos últimos únicamente lo que hacen es adquirir el producto de diferentes familias y sacarlo a la venta.

Los encuestados que resultaron Intermediarios por lo general desconocen del manejo que se les da a las Gallinas, por lo que no respondían preguntas relacionadas con vacunaciones, desinfecciones de nidales etc.

d) Labores de limpieza de los huevos

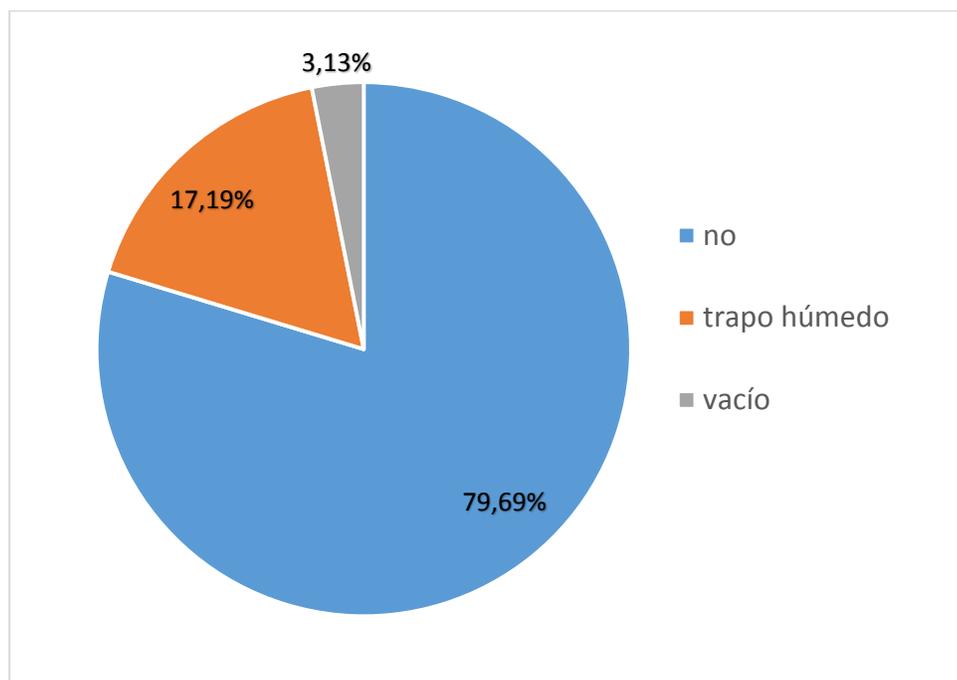


Figura 4. Labores de limpieza de los huevos para la venta

El 80% de los encuestados no realiza ningún tipo de limpieza, un 17% de los encuestados limpia los huevos con trapo húmedo y el resto de los encuestados no dieron respuesta alguna.

e) Destino de huevos defectuosos

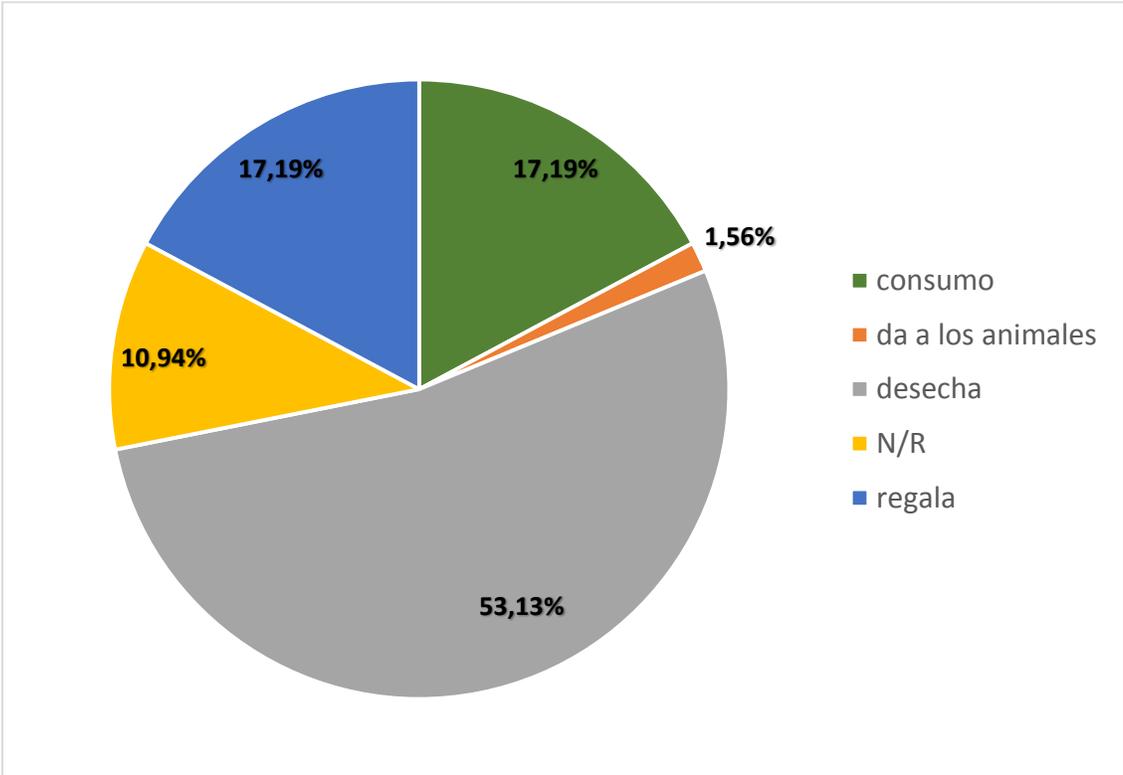


Figura 5. Destino de los huevos defectuosos

El 53% bota los huevos defectuosos a la basura, otro 17% los regala. Mientras que el 17% los usa para su consumo propio y el 1% mencionan que los huevos defectuosos los utilizan para dárselos como alimento a sus mascotas. Sin considerar los riesgos para la salud.

f) Desinfección de nidales

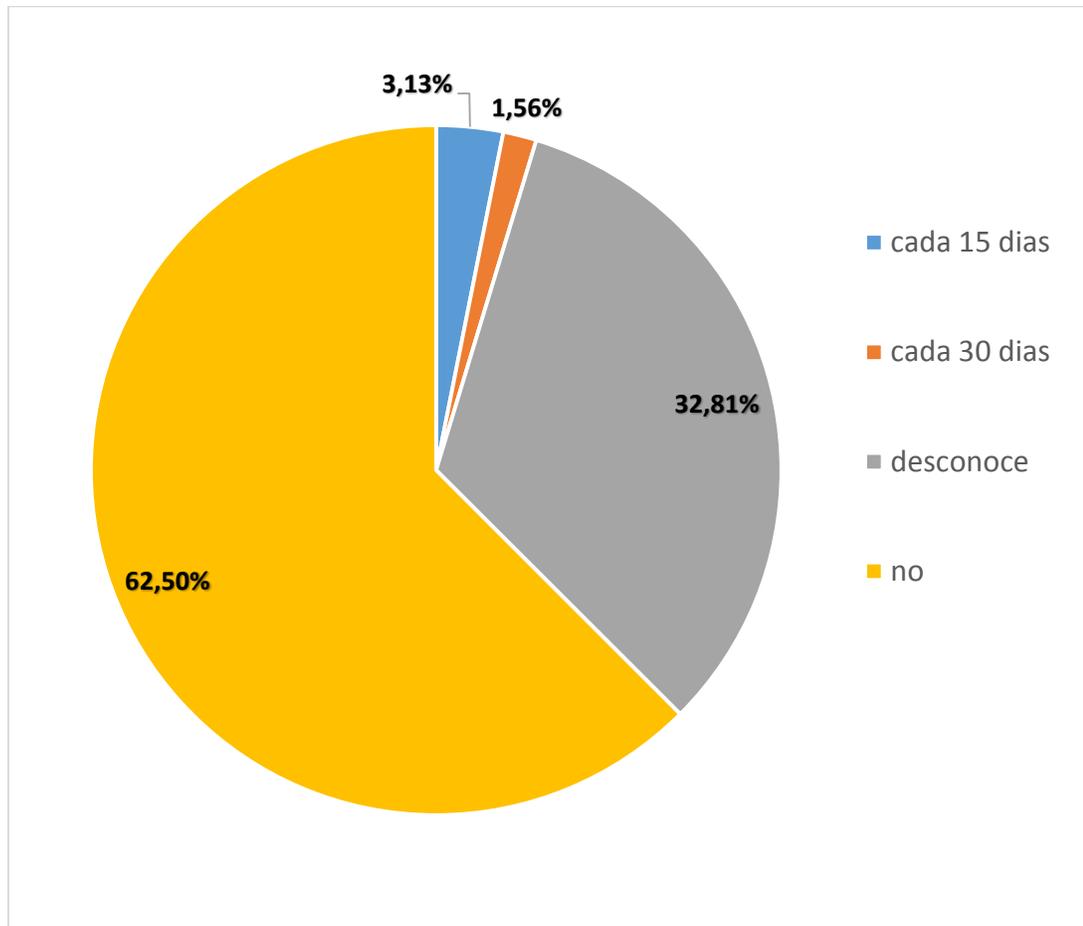


Figura 6. Prácticas de desinfección de nidales

El 62% no realiza desinfección alguna en los nidos de las aves, un 3% afirma realizar desinfecciones cada 15 días y un 2% que realiza desinfecciones mensuales. El resto de encuestados desconoce este tipo de actividades, debido a su calidad de intermediarios.

g) Enfermedades existentes

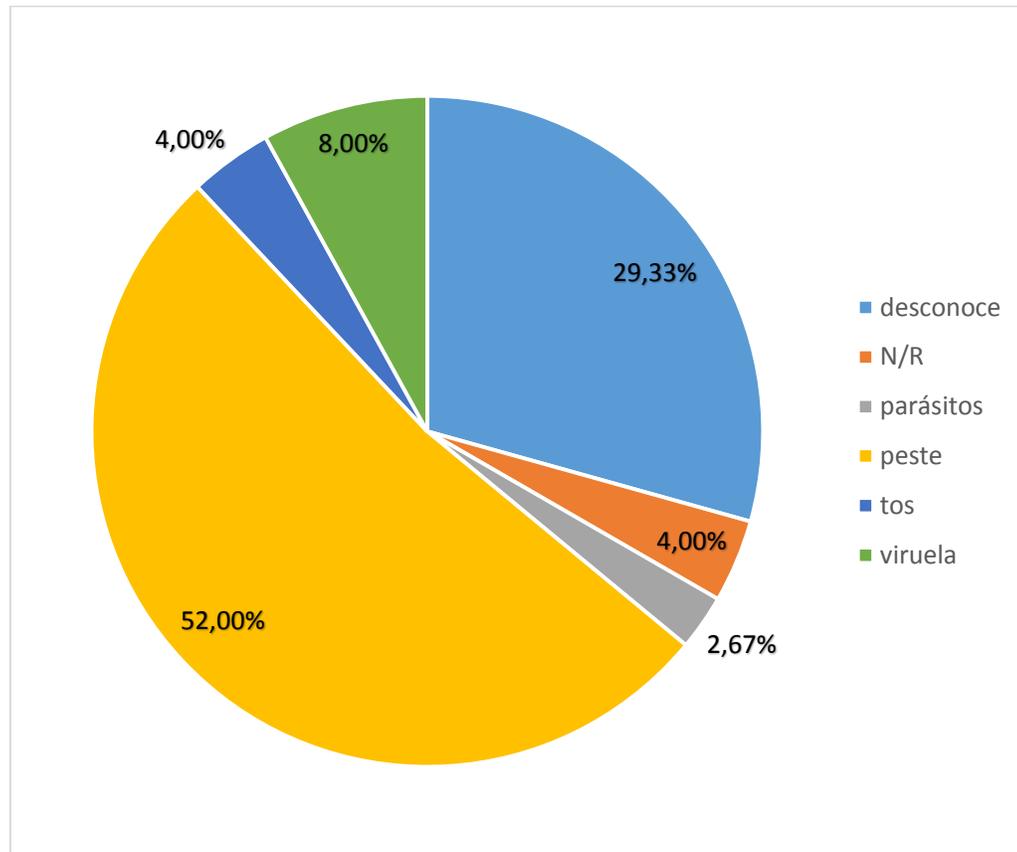


Figura 7. Enfermedades existentes

El 52% de los encuestados menciona a la “peste” como una enfermedad de las aves común en la zona, un 8% señala a la viruela aviar, en un 3% a las parasitosis. Cabe mencionar que los moradores conocen como “peste” al mal que afecta a sus animales en una manera general, coincidiendo a muchas veces con síntomas de enfermedades como Newcastle, Bronquitis Infecciosa y otras enfermedades con alta mortalidad.

h) Vacunaciones

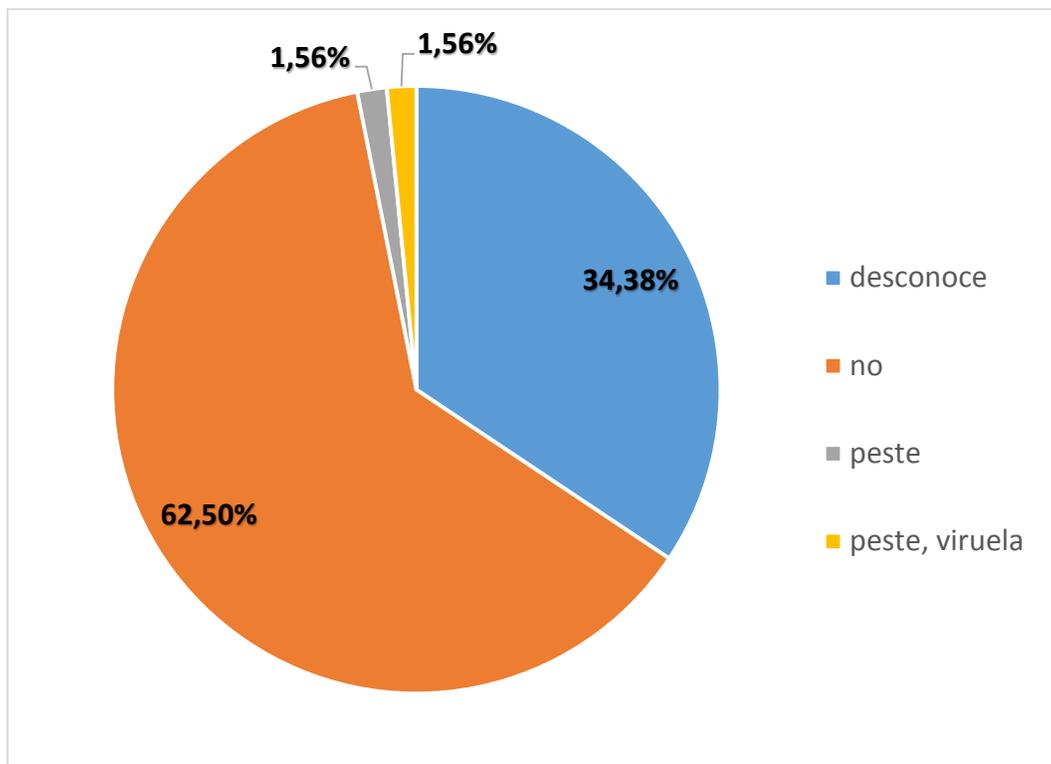


Figura 8. Vacunaciones

El 62% de los encuestados no realiza ninguna vacunación a sus aves, mientras que apenas un encuestado (1,5%) menciona que vacuna en contra de la peste y así mismo otro encuestado dice vacunar contra la peste y la viruela aviar; el resto de encuestados (34%) asegura desconocer dicha práctica.

4.2 PESO DE LAS MUESTRAS

Las muestras aún colocadas en las bolsas Ziploc para evitar contacto con superficies contaminadas, se pesaron en la balanza electrónica de precisión, el

resultado obtenido en la balanza era restada por el peso de la funda Ziploc vacía y así obtener el peso en gramos (g) de la muestra.

Posteriormente obtenidas los pesos promedios, se clasificó los huevos según la Norma INEN (2011) en Inicial, pequeño mediano, grande, extragrande y gigante como lo muestra el cuadro a continuación.

Cuadro 3. Clasificación de las muestras según su peso

Clasificación	Criterio de clasificación	Número de muestras	Proporción
INICIAL	Peso hasta 46g	4	5,56%
PEQUEÑO	Peso entre 46 y 50g	9	12,50%
MEDIANO	Peso entre 50 y 58g	38	52,78%
GRANDE	Peso entre 58 y 64g	14	19,44%
EXTRAGRANDE	Peso entre 64 y 70	5	6,94%
GIGANTE	Peso entre 70 y 76	2	2,78%
Total general		72	100,00%

El cuadro tres nos indica que los huevos clase MEDIANOS (peso entre 50 y 58g), constituyen a la mayoría de las muestras con una proporción del 53% y la clasificación “grande” que representa el 19% del total de las muestras.

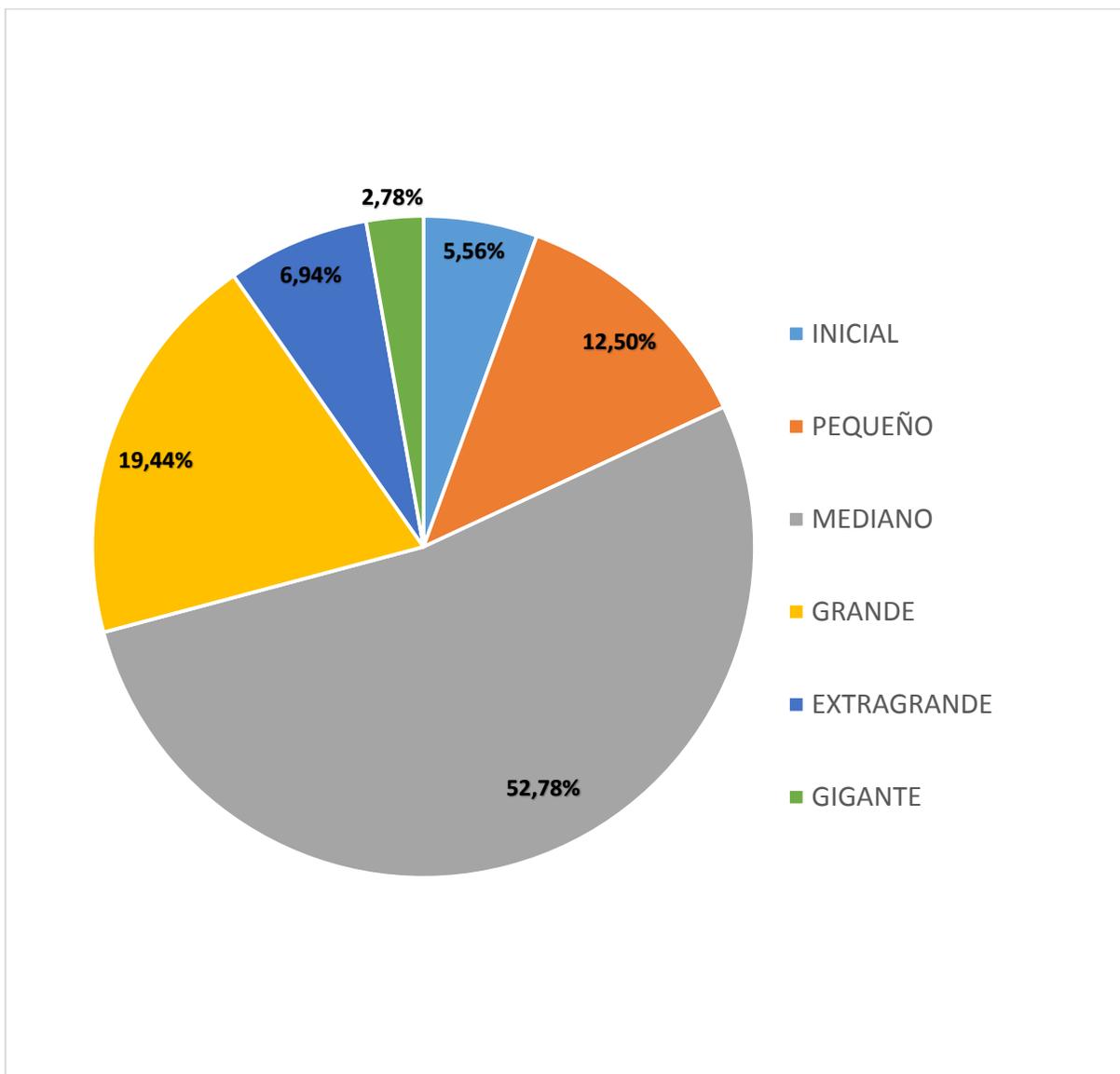


Figura 9. Proporción de huevos según su peso

La figura nueve representa de mejor manera las proporciones de cada clasificación de los huevos según su peso, donde los huevos de clasificación “mediano” son los más comunes del total analizados con una proporción del 53% de las muestras analizadas.

Cuadro 4. Peso promedio en gramos (g), valores mínimos y máximos para cada feria libre

Feria	Media	Mín.	Máy.
Mayorista	54,18	42,24	63,92
Pitas	57,27	49,87	71,82
San Sebastián	57,32	45,64	75,01
Tebaida	53,78	43,18	66,5

En el cuadro cuatro nos revela los valores promedio del peso de los huevos, según la Feria Libre en la que fueron recogidos. Donde observamos que el peso promedio de las muestras esta entre 53,78g (Tebaida) y 57,32 (San Sebastián). Valores que están comprendidos en la Clasificación de la Norma INEN como “Medianos”.

4.3 LIMPIEZA DE LA CÁSCARA

Las muestras se procedieron a clasificarlas según el grado de limpieza de las cáscaras de la siguiente manera: “A” (limpios), “B” (ligeramente manchados), “C” (moderadamente manchados) y “D” (sucios).

Cuadro 5. Clasificación de las muestras según la limpieza de su cáscara.

CLASE	Tebaida	Mayorista	Pitas	San Sebastián	TOTAL
A	6	8	7	4	25
B	10	3	7	10	30
C	2	5	3	4	14
D	0	2	1	0	3
TOTAL	18	18	18	18	72

El cuadro cinco nos indica que la clase “B” (ligeramente manchados) es la más común de todas las muestras analizadas, que corresponden principalmente a las muestras recolectadas en la Tebaida y San Sebastián; de igual manera se clasificó muy pocos huevos como clase “D” (sucios) constituyendo únicamente tres muestras del total analizadas, perteneciendo a las recolectadas en la Feria Libre de la Pitas y el Mayorista.

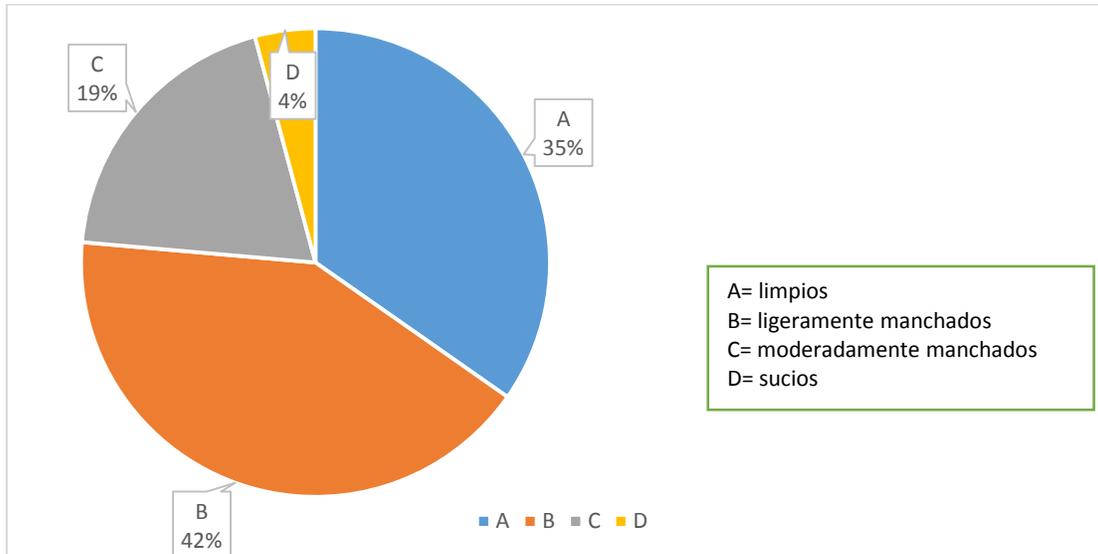


Figura 10. Clasificación según el grado de limpieza de la cáscara. Proporción

El 35 % (25 muestras) de las muestras se clasificaron como grado “A” (limpios), el 42% (30 muestras) como grado de limpieza “B” (ligeramente manchados), así mismo el 19% (14 muestras) corresponde al grado “C” (moderadamente manchados) y únicamente el 4% (3 muestras) corresponde al grado “D” (sucios).

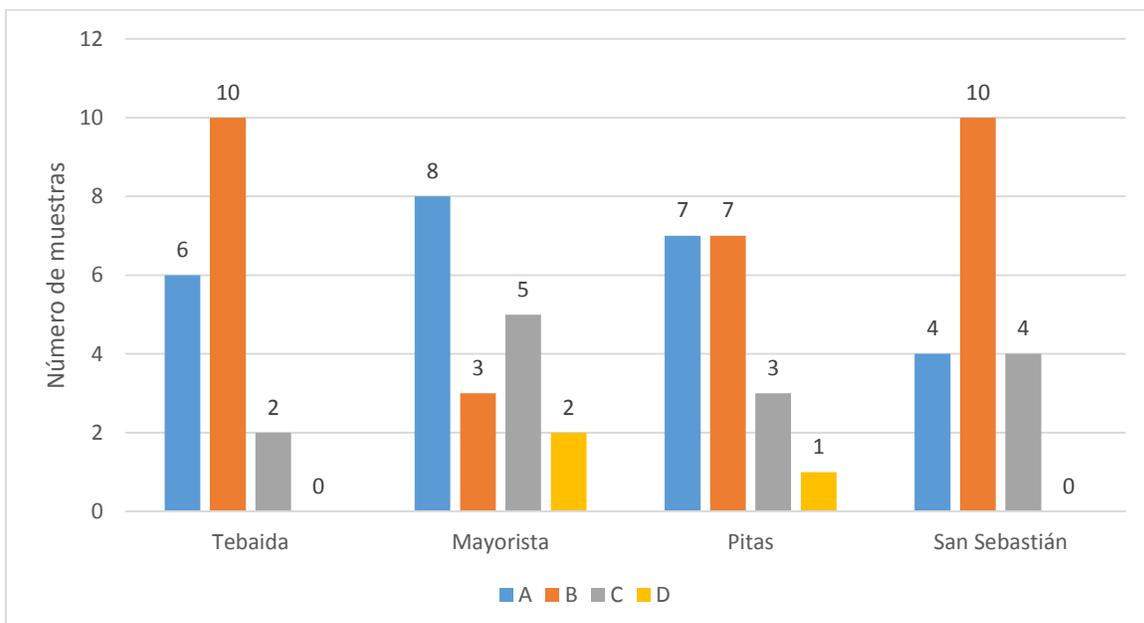


Figura 11. Grado de limpieza de los huevos por Feria libre

La figura once correlaciona la clase de huevos según su limpieza, con la feria libre donde fueron recogidos. Observamos que de igual manera a la figura 21 el grado de clasificación B es el predominante para todas las Ferias Libre, excepto en La feria del Mayorista que predomina la clase A.

4.4 GROSOR DEL CASCARÓN

Para tomar medida del grosor de la cáscara se procedió a utilizar un micrómetro electrónico de precisión milimétrica y siguiendo el procedimiento que recomienda la NORMA INEN (2011).

Cuadro 6. Grosor de cáscara (mm), datos por Feria Libre

Feria Libre	Media(mm)	Mín.	Máx.
Mayorista	0,25	0,12	0,32
Pitas	0,26	0,19	0,33
San Sebastián	0,25	0,15	0,3
Tebaida	0,26	0,2	0,37
PROMEDIO	0,25	0,12	0,37

El cuadro seis nos indica los valores promedios para el grosor de la cáscara del huevo, según la feria libre donde fueron recogidos, donde nos podemos dar cuenta que lo sobresaliente es que en todos los huevos de todas las ferias libres los valores promedios están por debajo de lo normal (entre 0,28 y 0,37 mm) dispuesto por la

norma INEN 1973-2011. De igual manera el valor medio de las medidas del grosor de la cáscara de los huevos analizados fue de 0,25 mm estando este valor por debajo de los límites establecidos por la norma INEN 1973 (2011).

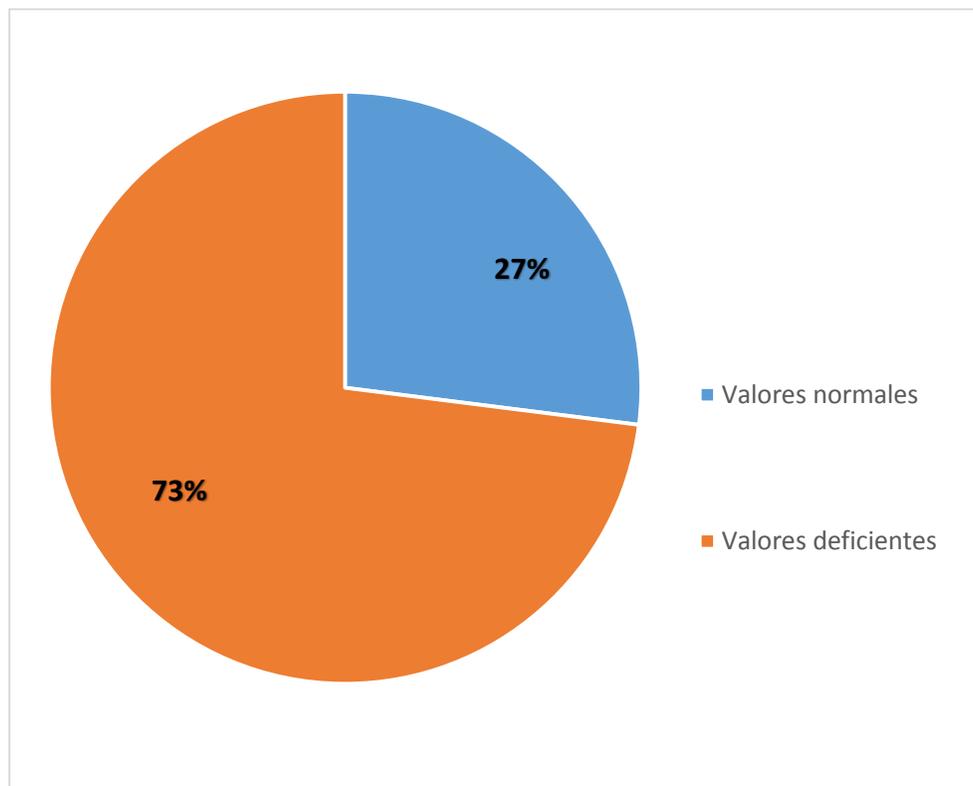


Figura 12. Grosor de cáscara. Proporción de muestras dentro de los valores normales

Únicamente el 27% de las muestras analizadas están entre los límites normales (entre 0,28 y 0,37 mm) según la norma INEN, mientras que el resto de muestras (73%) están por debajo de los valores normales.

4.5 PRESENCIA DE SALMONELLA EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS

Cuadro 7. Resultado de la prueba para la detección de *Salmonella spp*

FERIA LIBRE	MUESTRAS ANALIZADAS	MUESTRAS SOSPECHOSAS	MUESTRAS CONFIRMADAS POSITIVAS	RESULTADO DEFINITIVO
TEBAIDA	18	2	0	negativo
PITAS	18	2	0	negativo
SAN SEBASTIÁN	18	4	0	negativo
MAYORISTA	18	3	0	negativo

Luego de realizados los exámenes se encontraron 11 muestras sospechosas (15,25%), de las cuales 4 pertenecen a las recolectadas en la Feria de San Sebastián, 3 del Mayorista, 2 de las Pitás y 2 de las recolectadas en la Tebaida. Muestras a las que se sometió la prueba confirmatoria como lo indica el método 3M Petrifilm Salmonella express.

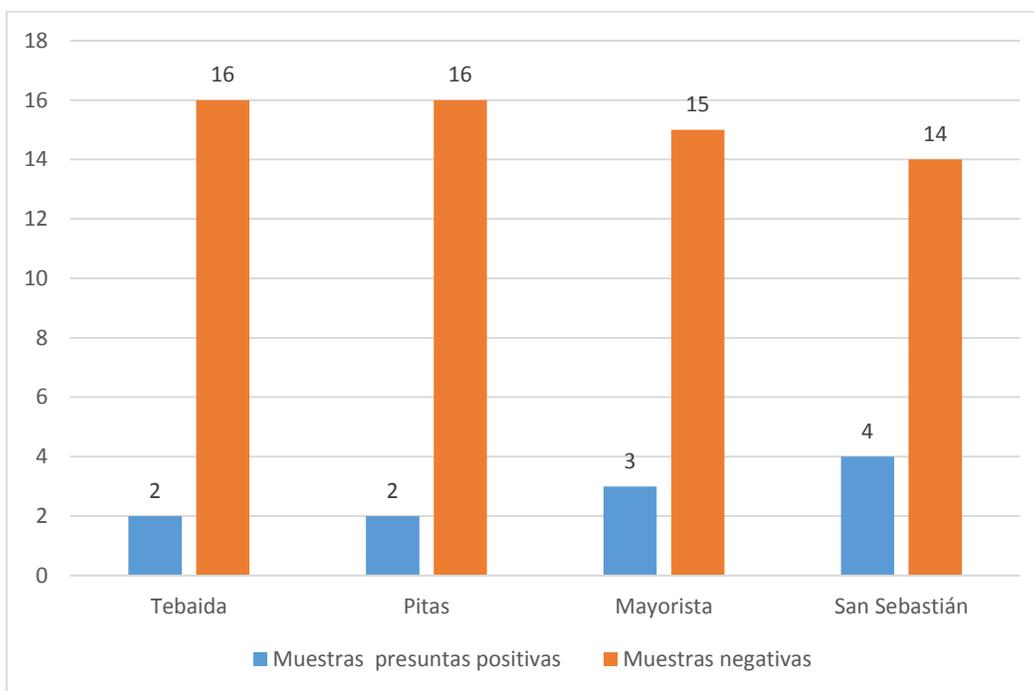


Figura 13. Resultados negativos y presuntos positivos de Salmonella

Las muestras sospechosas se sometieron al proceso de confirmación bioquímica del sistema 3M petrifilm resultando estas negativas a la prueba, es decir, se obtuvo un resultado 100% negativo en la totalidad de las muestras analizadas.

4.6 RESULTADO DE LA PRUEBA COMPLEMENTARIA

Se realizó una prueba complementaria, en la que se evaluó la cantidad de UFC de cada muestra, que nos revelan la cantidad de aerobios mesófilos por superficie del huevo, trabajando cada muestra con una dilución de 1/10 y 1/100; consiguiendo así el número de UFC/cm² y por ml.

- a) UFC presentes en las muestras analizadas de acuerdo a la Feria Libre donde fueron recogidas.

Cuadro 8. UFC presentes por feria libre

Feria	UFC/ml	UFC/cm ²
Mayorista	2,15 x10 ⁴	1,43 x10 ³
Pitas	2,82 x10 ⁴	1,99 x10 ³
San Sebastián	2,77 x10 ⁴	1,51 x10 ³
Tebaida	2,58 x10 ⁴	1,63 x10 ³

Los valores medios de UFC de acuerdo a la Feria Libre donde se adquirieron las muestras, están indicados en el cuadro nueve donde observamos que los valores medios más elevados son para la Feria de San Sebastián con 2,77x 10³.

- b) UFC presentes en las muestras de acuerdo a su limpieza de la cáscara

Cuadro 9. UFC presentes por categoría de muestra

CLASIFICACIÓN	UFC/ml	UFC/cm ²
A	2,74 x10 ⁴	1,76 x10 ³
B	2,28 x10 ⁴	1,43 x10 ³
C	3,00 x10 ⁴	1,87 x10 ³
D	2,41 x10 ⁴	1,49 x10 ³

Donde observamos que los huevos con clasificación C presentan los recuentos más elevados de UFC, sin embargo los huevos clasificación A, B y D contienen una elevada concentración de microorganismos y es interesante ver que los valores de UFC de los huevos clase A (limpios) presentan valores más elevados que la clase B y D.

c) UFC presentes en la superficie de las muestras de acuerdo al lugar de procedencia

Cuadro 10. Promedio UFC en la superficie de los huevos de acuerdo al lugar de procedencia

Procedencia	Número de muestras	UFC/ml	UFC/cm ²
Chuquiribamba	2	1,78 x10 ⁴	1,32 x10 ³
desconoce	1	2,40 x10 ⁴	1,04 x10 ³
Jinbilla	1	4,35 x10 ⁴	2,84 x10 ³
Loja	3	3,72 x10 ⁴	2,33 x10 ³
Manú	1	2,55 x10 ⁴	1,09 x10 ³
N/R	12	2,26 x10 ⁴	1,58 x10 ³
San Lucas	6	2,52 x10 ⁴	1,38 x10 ³
Santiago	1	2,35 x10 ⁴	1,58 x10 ³
Saraguro	26	2,64 x10 ⁴	1,66 x10 ³

El cuadro once nos muestra los valores medios de UFC en las muestras de acuerdo a su lugar de procedencia, logrando observar que las muestras procedentes de

Jinbilla presentan el valor más elevado sin embargo habrá que considerar el número de muestras por sector.

Cuadro 11. Promedios generales de UFC

	PROMEDIO obtenido	REQUISITOS NORMA INEN 1973- 2011	REQUISITOS NORMA MEXICANA
UFC/ml	$2,59 \times 10^4$	m= 10^4 M= 5×10^4	---
UFC/cm²	$1,63 \times 10^3$	---	menor a 4×10^2

Donde:

m= nivel de aceptación

M= nivel de rechazo

En el cuadro 12 observamos los promedios generales obtenidos de UFC y las respectivos requisitos microbiológicos según la Norma INEN 1973 (2011) y la Norma Mexicana 093-ssa1 (1994). Los resultados de UFC también los podemos expresar en Logaritmos de la siguiente manera:

$$\text{UFC/ml} = 2,59 \times 10^4 = 4 \text{ LogUFC}$$

$$\text{UFC/cm}^2 = 1,63 \times 10^3 = 3 \text{ LogUFC}$$

5. DISCUSIÓN

5.1 CONTAMINACIÓN POR SALMONELLA

La investigación no demostró la presencia de *Salmonella* spp. en los huevos expendidos en las Ferias libres de la ciudad de Loja, pese a que las muestras fueron sometidas a protocolos microbiológicos que favorecen el desarrollo selectivo de *Salmonella* a partir de muestras de alimentos, coincidiendo con los resultados obtenidos por Estrada, J. y B. Valencia (2012), quienes tampoco detectaron *Salmonella* spp en muestras de huevos analizadas en Mercados de la ciudad de Quito; de igual manera Cozano, L. (2003) obtuvo un resultado 100 % negativo a *Salmonella* spp en huevos de gallinas de traspatio. La presencia de *Salmonella* en huevos y ovoproductos es muy variable y podría estar influenciada por el número de muestras analizadas, condiciones de transporte, almacenamiento, manipulación y procesamiento. En el Ecuador, hay escasos estudios de salmonelosis y menos aún estudios orientados a la detección de *Salmonella* en huevos. *Salmonella* es una bacteria de difícil cultivo y compite con otros miembros de la familia Enterobacteriaceae provenientes del medioambiente, heces fecales y la manipulación, que dificultan su desarrollo en los medios de cultivo (INEN, 2009).

5.2 LIMPIEZA DE LA CÁSCARA

Grizzle et al., (1992) destaca a la “limpieza de la cáscara”, como factor que influye en la contaminación interna del huevo. En nuestra Investigación se obtuvo los siguientes datos: El 35 % de las muestras se clasificaron como grado “A” (limpios), el 42% como grado de limpieza “B” (ligeramente manchados), así mismo el 4% corresponde al grado “C” (moderadamente manchados) y únicamente el 4% corresponde al grado “D” (sucios). Valores que se asemejan a los mencionados por Paredes (2008) que obtuvo mayor cantidad de huevos con aspecto limpio y ligeramente manchados representando 82%, Debiéndose la presencia de manchas al contacto de los huevos con heces en los niales y demás superficies sucias; sin

embargo, muchos vendedores y productores acostumbran limpiar de limpiar los huevos antes de la venta para lograr una mejor presencia del producto, por esta razón el alto porcentaje de huevos limpios. No existiendo más información con este mismo tipo de clasificación empleada.

5.3 GROSOR DE LA CASCARA

En la presente investigación se obtuvo como resultado de la medida de Grosor de cáscara un promedio de 0,25 mm estando este valor por debajo del rango normal que establece la norma INEN 1973 (2011) que establece que el valor normal de grosor de la cáscara esta entre 0,28 y 0,38mm. Además Guerra, L.; F. Uña; F. González y J. Vargas. (2010) obtuvieron un promedio de 0,35mm superando al promedio obtenido en nuestra investigación. Este resultado se explica ya que el sistema de producción avícola de traspatio recibe una dieta a base de grano (maíz o sorgo), con limitaciones de “calcio y fósforo, como minerales estructurales de la cáscara” (García *et al.* 2001). Aparte de esta deficiencia nutricional, la edad de la gallina, ritmo de postura, tamaño del huevo, estado de salud de la parvada y problemas de manejo producen fragilidad de la cáscara (Estrada *et al.* 2008).

5.4 PESO DE LOS HUEVOS.

El peso promedio de los huevos muestreados fue del 55,59 g entrando en la clasificación GRANDE según la NORMA INEN 1973(2011). Juárez, A.; E. Gutiérrez; J. Segura y R. Santos (2010) obtuvieron un peso promedio de 50,7g en huevos de gallinas de traspatio. El promedio obtenido en esta investigación está por debajo de lo expuesto por el Instituto de Estudios del Huevo (2007) que menciona que el peso promedio del huevo es de 60g; de la misma manera Hy line (2001) establece un peso Promedio del Huevo a las 32 Semanas de 62.3 g pero estos son valores de sus gallinas ponedoras de alta genética. La medida del peso del huevo es muy variable y depende de muchos factores. North y Bell (1998) señalan que el peso del huevo depende principalmente de la edad del ave, del tamaño de la yema,

de la variación individual entre gallinas y del medio ambiente de producción. Debemos considerar que nosotros desconocemos la edad, estado de salud y nutricional del ave pudiendo ser gallinas demasiado jóvenes o viejas que influyen en el promedio de peso de huevo obtenido.

5.5 LUGAR DE PROCEDENCIA DE LOS HUEVOS; MANEJO SANITARIO DE NIDALES Y AVES; ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE LOS HUEVOS.

En las visitas de campo y la información recopilada en las encuestas se evidenció que no todos los vendedores son propietarios productores de los huevos, pues el 44% del total son intermediarios y desconociendo el origen del producto, por lo que no pueden exigir el cumplimiento de los criterios estipulados por las Normas INEN para huevos y ovoproductos (1973:2011) que son de carácter obligatorio a los productores directos, dificultando también posibles estudios de trazabilidad.

El 53% de los huevos son originarias de la parroquia Saraguro del Cantón Saraguro con un total de 34 muestras, Además de la cercanía a la ciudad de Loja que constituye un centro adecuado para la comercialización de su producto La parroquia Saraguro se caracteriza por la venta de productos artesanales con una alta demanda por el público Lojano.

El 62% de los encuestados no realiza desinfección alguna de los nidos de las aves, por desconocimiento o por descuido, razón por la cual los valores de UFC son elevados en las muestras analizadas. De igual manera el 62% de encuestados no realiza vacunaciones puesto que pretenden que el producto que ellos venden sea libre de químicos como ellos lo llaman, sin darse cuenta de los riesgos que pueda implicar la falta de esta práctica, en la salud humana.

En todos los casos los huevos fueron mantenidos a temperatura ambiente durante el transporte y almacenamiento, lo cual hace que estos estén más expuestos a la contaminación ambiental y a la proliferación acelerada de microorganismos, afectando la calidad del producto. Se mantener los huevos a 4.4 °C o temperaturas más bajas para que los huevos permanezcan inocuos y de buena calidad hasta 3 semanas si se manipulan apropiadamente (USDA, 2012).

En cuanto a las labores de limpieza de los huevos, el 80% de los encuestados afirmaron que no realizan ningún tipo de tratamiento, mientras que un 17% limpiaban las impurezas con o un trapo húmedo. Este último tipo de labor puede perjudicar la calidad microbiológica del huevo al remover la cutícula de la cáscara y ser una puerta de entrada para que se contamine el huevo por el paso de microorganismos a través de las porosidades de la cáscara (Begazo, 2007).

Los huevos defectuosos se destinan a diferentes tipos de manejo como: desechar, regalar y en el 17% de los casos para el consumo propio. Los huevos en este estado son más propensos a la contaminación y a la degradación, por lo que no es recomendable que sean empleados para el consumo y se debe evitar su utilización en la alimentación y desecharse de manera inocua (FAO, 2007).

5.6. PRUEBA COMPLEMENTARIA

Al obtener los resultados del conteo aeróbico en placa de la cantidad de bacterias presentes en la superficie de la cáscara de los huevos se determinó que el grado de contaminación de los huevos es elevado $1,63 \times 10^3$ UFC/cm² en comparación con lo establecido en la Norma oficial mexicana nom-093-ssa1 (1994) que establece como límite permisible en superficies en contacto con los alimentos un límite de UFC no mayor a 4×10^2 UFC/cm². Esta contaminación puede deberse al contacto del huevo con suciedad en los alrededores o al paso del huevo por la cloaca, por lo tanto, la superficie del cascarón no es un ambiente estéril porque al momento de la

postura pasa a través de la cloaca, donde se unen el tracto reproductor y el intestino existiendo altos riesgos de contaminación (Smith, A. 2000).

Además, la norma INEN 1973(2011) especifica los criterios microbiológicos de los huevos frescos señalando que el contenido del huevo debe tener un valor de límite microbiológico de aerobios mesófilos siendo aceptable el recuento 10^4 y el recuento inadecuado de 5×10^4 UFC/ml aceptando únicamente aceptando 2 muestras defectuosas por cada 5 muestras analizadas. En este ensayo los resultados de UFC/ml son de $2,59 \times 10^4$ y al estar la totalidad de las muestras con resultados entre el rango establecido por la Norma INEN. Cabe recalcar que los requisitos según la Norma INEN no especifican valores microbiológicos de la cáscara sino un valor microbiológico del interior del huevo que se ve influenciado por múltiples factores además de la contaminación de la cáscara.

Paredes (2008). Explica que las características de limpieza de la cáscara no es un buen indicador del grado de contaminación, comprobándose con los resultados obtenidos en esta investigación encontrándose a los huevos limpios (clase A) con un promedio de 6,8 log UFC, más aun los huevos clase C y D siendo los recuentos altos en todas las muestras. De la misma manera en nuestra investigación se obtuvo un promedio 4,0 log UFC valor que no supera a los obtenidos por Paredes, pero que indica alta carga bacteriana en la superficie del huevo. Los resultados microbiológicos dieron evidencia de una alta carga bacteriana en la superficie del huevo, que al estar en contacto con las manos y con alimentos constituyen un riesgo potencial para la salud del ser Humano (NOM-093-ssa1 1994).

Pese a que en las encuestas y observaciones de campo se evidenciaron varios factores de riesgo para la contaminación de los huevos, no se dieron resultados positivos a Salmonella, pudiéndose inferir que su incidencia es baja por lo que no fue detectada. Es importante comprender que este estudio no afirma la ausencia total de Salmonella en los huevos vendidos en la ciudad de Loja, pues es un estudio inicial y se recomienda un aumento en el número de muestras analizadas para futuras investigaciones. Sin duda, el huevo es uno de los alimentos básicos en la

dieta de los ecuatorianos, cuyo consumo per cápita llega a las 140 unidades al año (Conave, 2011). Es por ello, que los huevos deben ser considerados y monitoreados, pues los problemas ocasionados en la salud humana y animal generan cuantiosas pérdidas económicas e impactos en Salud Pública. Desafortunadamente, en el Ecuador no hay información relevante sobre los huevos como factor de riesgo en la transmisión de las enfermedades.

6. CONCLUSIONES

Al finalizar esta investigación podemos concluir que:

- La huevos de traspatio que se expenden en las ferias libres de Loja provienen de acuerdo a su porcentaje de Saraguro, San Lucas, barrios aledaños de Loja, Chuquiribamba, Jimbilla, Manú, Santiago y Ambato.
- Los huevos son almacenados al ambiente, es decir entre 16 a 18 °C aproximadamente, durante 8 días hasta el día de su venta.
- El 56% de los encuestados afirman ser los productores y distribuidores del producto; mientras que el 44% restante afirmaron ser intermediarios del producto.
- El 80% de los encuestados no realiza ningún tipo de limpieza, un 17% de los encuestados limpia los huevos con trapo húmedo
- El 53% desecha los huevos defectuosos a la basura, otro 17% los regala, el 17% los usa para su consumo propio y el 1,53% como alimento para sus mascotas
- La gran mayoría de productores no realiza desinfección de los nidos de las aves, siendo muy pocos los que afirman realizar desinfecciones cada 15 y 30 días.
- La “peste” constituye la enfermedad de las aves más común en la zonas de proveniencia de los huevos, existiendo también la viruela aviar y parasitosis.

- En la mayoría de las producciones avícolas de donde proceden las muestras no se lleva a cabo un programa de vacunaciones y desparasitaciones de sus aves.
- No se evidenció la presencia de *Salmonella* spp. en huevos de gallinas de traspatio comercializados en 72 expendios, encontrados en 4 Feria Libres de la Ciudad de Loja.
- La limpieza exterior del Huevo no evidencia con certeza la calidad microbiológica del mismo.

7. RECOMENDACIONES

- Impulsar investigaciones y controles de calidad por parte de las organizaciones estatales y privadas, que garanticen la inocuidad de los productos alimentarios expuestos a la venta en las ferias libres.
- Efectuar muestreos directamente de los lugares de procedencia de las aves: de sus nidales; materiales de recolección .y lugares de almacenamiento de los huevos
- Realizar estudios similares con mayor número de muestras en huevos de aves de granja o de producción industrializada.
- Realizar desinfecciones frecuentes de los nidales para de esta manera bajar la carga bacteriana.
- Evitar limpiar los huevos con trapos o franelas, pues esta práctica produce daños en la cutícula de la cáscara del huevo y favorece el ingreso de microorganismos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Borie, P., Ch. Sánchez y M. Luisa. 1998. Salmonella enteritidis: un nuevo desafío. Tecno Vet. 4. (2): 1-6. Disponible en: <http://www.tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/viewArticle/6244/6100>(Consulta do el 30 de Enero 2015).

CONAVE (2011). Corporación Nacional de Avicultores (CONAVE). Disponible en: <http://www.conave.org/respuestas.php?pagina=7>. (Consultado el 13 Marzo, 20015).

Cook M.I., S. Beissinger, G. Toranzos, R. Rodriguez and W. Arendt. 2003. Trans-shell infection by pathogenic microorganisms reduces the shelf life of non-incubated bird's eggs: a constraint on the onset of incubation?. Proc. - R. Soc.Lond., Biol. Sci. 270 (1530): 2233-2240.

Clerc, M. 2005 "Detección de Salmonella spp. en huevos de gallina comercializados en ferias de la ciudad de Valdivia." Memoria de título, Méd. Vet. Universidad Austral, Fac. Cien. Vet. Valdivia, Chile. 23 p.

Cozano, L. (2003). Evaluación sanitaria (físico, químico, bacteriológico) del huevo de gallina de traspatio, en expendios del mercado de la terminal, zona 4 de la ciudad de Guatemala. Tesis Médico Veterinario. Universidad de san Carlos de Guatemala, Escuela de medicina veterinaria. Guatemala. 55p.

Dávila-Hernández, L. 2009. Educación sanitaria para el control, prevención y erradicación de las principales enfermedades que atacan a las aves de traspatio en el parcelamiento el silencio, municipio de la Gomera, Departamento de Escuintla. Tesis de Licenciatura en Pedagogía y Ciencias de la Educación. Universidad de San Carlos Guatemala. 54 p.

Estrada, J. Y B. Valencia (2012) realizaron la “Determinación de Salmonella spp. en huevos frescos de gallina en los principales mercados de la ciudad de Quito”. Tesis, Medic. Veter. y Zootec. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito, Ecuador. 75p.

FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación).2007. Programa Especial para la Seguridad Alimentaria “PESA” PROYECTO TIPO Producción y manejo de aves de traspatio. México 31 p. http://www.utn.org.mx/docs_pdf/docs_tecnicos/proyectos_tipo/manejo_aves.pdf(consultado Enero 15, 2015).

Fernández, M.S., J.L. Arias. 2000. La cáscara del huevo: un modelo de biomineralización. Monograf. Med. Vet. 20 (2): 50-60.

Fernández, K. (2005). Control bacteriológico de huevos provenientes de crianza artesanal, a la venta en el mercado municipal de Chillán. Tesis Titulo Med. Veterinario. Universidad de Concepción, facultad de Medicina Veterinaria. Chillán, Chile. 40p.

Guerra, L.; F. Uña; F. González y J. Vargas. (2010). Caracterización de huevos clasificados como no aptos por su peso y forma procedentes de reproductoras ligeras, semirrústicas y pesadas. Vol. 22 (1): pp. 44-48, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

Grizzle, J., M. Iheanacho, A. Saxton and Broaden J. 1992. Nutritional and environmental factors involved in egg shell quality of laying hens. Br. Poult. Sci. 33(4): 781-794

Hunton, P. 2005. Research on eggshell structure and quality: an historical overview. vol.7, n.2, pp. 67-71. (En línea) Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-635X2005000200001&script=sci_abstract (consultado en Enero 17, 2015)

INEN, 2011. Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 1973:2011. Huevos comerciales y ovoproductos. Requisitos. Primera revisión. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito-Ecuador.

INEN, 2006. Norma Técnica Ecuatoriana NTE-INEN 1 529-5:2006. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de Microorganismos aerobios mesófilos. Primera edición. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito-Ecuador.

Juárez, A.; E. Gutiérrez; J. Segura y R. Santos (2010). Calidad del huevo de gallinas criollas criadas en traspatio en Michoacán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, vol. 12, núm. 1, pp. 109-115 Universidad Autónoma de Yucatán Mérida, Yucatán, México.

Juárez, C.A., A. M. Ortiz. 2001. Estudio de la incubabilidad y crianza en aves criollas de traspatio. *Vet. Mex.* 32 (1): 27-32. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/423/42332105.pdf>. (Consultado en Enero 26, 2015).

Jones, D. R., M. T. Musgrove. 2005. Correlation of eggshell strength and *Salmonella enteritidis* contamination of commercial shell eggs. USA. Pages 2035–2038. Disponible en: <http://pubag.nal.usda.gov/pubag/downloadPDF.xhtml?id=40439&content=PDF> (Consultado el 23 enero, 2015).

Koelkebeck, K.W. 1999. What is Egg Quality and Conserving It. *Ilini Poultry Net*. Disponible en <http://www.livestocktrail.uiuc.edu>. (Consultado en Enero 17, 2015).

Keller LH, Benson CE, Krotec K y Eckroade RJ, (1995). Salmonella Enteritidis colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. Infect Immun 63: 2443–2449. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC173326/>. (Consultado Enero 23, 2015).

Murray R. Spiegel y Larry J. Stephens, estadística, 3a. Ed; mc graw-hill / schaum, méxico, 2005, 541 págs.

Mancera, A; J. Vázquez; M. Ontiveros; S. Durán; D. López y V. Tenorio (2005) Identificación de Salmonella enteritidis en huevo para consumo en la ciudad de México” Técnica Pecuaria en México, vol. 43, núm. 2, pp. 229-237 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Mérida, México. 10p.

MSP (2007). Epidemiología. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Disponible en: http://www.msp.gob.ec/dps/azuay/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=44.(Consultado Febrero 17, 20015).

MSP/EPI 2 (2008). Tasa de Incidencia Anual de Salmonellosis por año y según región ECUADOR 1998 a 2008. Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica (SIVE). Ministerio de Salud Pública

Mudarra, D. y Y. Ríos, 2011. Determinación de la calidad microbiológica de muestras obtenidas en superficies (vivas e inertes) de 3 expendios de comida en Chitré. Tesis para optar por el título de Licenciatura en Biología. Universidad de

Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología. Chitre, Panamá. 74p.

NOM, 1994. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Norma oficial mexicana nom-093-SSA1-1994.

OIE 2008. Trad. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Salmonelosis. Capítulo 2.9.9. Recuperado en mayo del 2012. Disponible en:http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.09.09.%20Salmonelosis.pdf (consultado Febrero 10, 2015).

OIE. 2005. Instructivo Técnico para la Detección de Salmonella spp. móviles según Metodología Tradicional OIE. Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura SAG. Código IT-LAB-24-v01. Recuperado en mayo del 2012. Disponible en: <http://www.sag.gob.cl/OpenDocs/asp/pagVerRegistro.asp?argInstanciaId=56&argRegistroid=1257> (consultado Febrero 10, 2015).

Paredes, M. 2008 "Carga bacteriana en la superficie de huevos provenientes de aves de traspatio comercializados en el mercado central de la ciudad de Chillán". Memoria de título, Méd. Vet. Universidad de Concepcion. Chillan, Chile. 47 p.

Ray, B. 2010. Fundamentos de microbiología de los alimentos. Editorial McGraw-Hill 4º ed. México. 352p

Soria, M. 2012. "Presencia de Salmonella y características físicas de huevos destinados a consumo humano". Tesis, Maestría en Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral Facultad de Ciencias Veterinarias. Esperanza. Argentina. 220p.

Uña, F; K. Martínez; J. Bertot y F. González, 2012. Estimación de la calidad externa

del huevo en ponedoras White Leghorn (L33) . Rev. prod. anim., 24 (2): Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba. Disponible en: <http://www.reduc.edu.cu/147/12/2/147120211.pdf> (consultado Febrero 16, 2015).

3M Petrifilm. 2013. Sistema Salmonella Express. Instrucciones del producto.

9. ANEXOS

ANEXO 1 Requisitos microbiológicos de los huevos frescos y ovoproductos contemplados en la Norma INEN 1973(2011).

Cuadro 12. Requisitos microbiológicos de huevos frescos.

Parámetro	Limite por g/ml			
	n	c	m	M
Recuento aerobios mesófilos *	5	2	10 ⁴	5x10 ⁴
E. coli ufc/g** externa.	5	2	<50	50
E. coli ufc/g* * interno	5	2	Ausencia	----
Salmonella spp en 25 g**	5	0	Ausencia	---
* Parámetros de vida útil del producto ** Parámetros de inocuidad del producto				

Donde:

n = número de muestras por examinar

c = número de muestras defectuosas que se acepta

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

Cuadro 13. Requisitos microbiológicos de los ovoproductos

Parámetro	Limite por g/ml			
	n	c	m	M
Recuento Aerobios Mesófilos *	5	2	10 ⁴	5x10 ⁴
E. coli ufc/g* *	5	2	Ausencia	---
Salmonella spp en 25 g**	5	0	Ausencia	---
* Parámetros de vida útil del producto ** Parámetros de inocuidad del producto				

Donde:

n = número de muestras por examinar

c = número de muestras defectuosas que se acepta

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

ANEXO 2. Resultados de los cultivos en agar nutritivo

Cuadro 14. Recuentos de UFC de los cultivos en agar Nutritivo

Procedencia	MUESTRA #	LIMPIEZA	DILUCION 1/10	DILUCION 1/100	Superficie total	UFC/ml	LogUFC/ml	UFC/cm2	LogUFC/cm2
Saraguro	1	C	260	120	230	3,45E+04	5	1,91E+03	3
San Lucas	3	C	150	85	213	2,14E+04	4	1,41E+03	3
Manú	4	C	220	60	226	2,55E+04	4	1,09E+03	3
N/R	5	C	249	116	209	3,32E+04	5	2,02E+03	3
N/R	6	A	75	35	208	1,00E+04	4	6,13E+02	3
Saraguro	8	D	99	67	194	1,51E+04	4	1,19E+03	3
N/R	9	C	101	89	203	1,73E+04	4	1,46E+03	3
Saraguro	10	C	195	120	228	2,86E+04	4	1,83E+03	3

Saraguro	11	C	288	300	221	5,35E+04	5	4,47E+03	4
Saraguro	13	B	166	105	201	2,46E+04	4	1,81E+03	3
Saraguro	14	A	294	100	206	3,58E+04	5	1,89E+03	3
Saraguro	15	B	111	99	238	1,91E+04	4	1,39E+03	3
Saraguro	17	B	113	98	202	1,92E+04	4	1,62E+03	3
Saraguro	19	A	281	55	224	3,05E+04	4	1,11E+03	3
Saraguro	20	B	276	169	208	4,05E+04	5	2,84E+03	3
Saraguro	21	B	249	93	223	3,11E+04	4	1,58E+03	3
Saraguro	22	A	95	69	228	1,49E+04	4	1,03E+03	3
Saraguro	25	A	202	79	239	2,55E+04	4	1,25E+03	3
N/R	26	A	178	300	226	4,35E+04	5	4,22E+03	4
Saraguro	27	B	201	60	193	2,37E+04	4	1,24E+03	3
Saraguro	28	B	69	73	221	1,29E+04	4	1,08E+03	3
N/R	29	A	139	114	195	2,30E+04	4	1,96E+03	3
San Lucas	30	D	242	115	230	3,25E+04	5	1,81E+03	3

N/R	34	A	93	69	233	1,47E+04	4	1,01E+03	3
N/R	35	A	112	39	211	1,37E+04	4	7,15E+02	3
N/R	36	B	65	85	221	1,36E+04	4	1,24E+03	3
Saraguro	37	A	292	133	202	3,86E+04	5	2,41E+03	3
Chuquiri bamba	38	A	145	99	214	2,22E+04	4	1,59E+03	3
Santiago	39	B	165	93	207	2,35E+04	4	1,58E+03	3
Loja	40	A	295	214	217	4,63E+04	5	3,37E+03	4
Saraguro	41	A	215	61	227	2,51E+04	4	1,09E+03	3
Saraguro	44	B	83	55	198	1,25E+04	4	9,60E+02	3
N/R	45	B	256	181	214	3,97E+04	5	2,89E+03	3
N/R	46	B	145	31	213	1,60E+04	4	6,39E+02	3
Saraguro	49	B	95	57	247	1,38E+04	4	8,07E+02	3
N/R	50	D	183	90	220	2,48E+04	4	1,48E+03	3
Saraguro	51	C	199	88	225	2,61E+04	4	1,44E+03	3
Saraguro	52	C	220	206	217	3,87E+04	5	3,16E+03	3

Loja	53	A	262	111	210	3,39E+04	5	1,96E+03	3
Loja	54	C	239	105	232	3,13E+04	4	1,67E+03	3
desconoce	55	C	191	73	267	2,40E+04	4	1,04E+03	3
Jinbilla	56	A	297	182	223	4,35E+04	5	2,84E+03	3
Saraguro	57	B	60	52	228	1,02E+04	4	7,65E+02	3
San Lucas	58	B	107	80	229	1,70E+04	4	1,19E+03	3
San Lucas	59	B	295	99	219	3,58E+04	5	1,76E+03	3
N/R	60	B	192	40	235	2,11E+04	4	7,55E+02	3
Chuquiri bamba	61	B	79	68	216	1,34E+04	4	1,05E+03	3
San Lucas	64	A	99	85	245	1,67E+04	4	1,16E+03	3
San Lucas	65	B	278	31	186	2,81E+04	4	9,48E+02	3
Saraguro	66	B	159	63	209	2,02E+04	4	1,13E+03	3

Saraguro	67	B	215	117	204	3,02E+04	4	2,04E+03	3
Saraguro	71	B	288	108	193	3,60E+04	5	2,12E+03	3
Saraguro	72	C	249	40	214	2,63E+04	4	9,09E+02	3

ANEXO 3. Resultados generales de las encuestas

Cuadro 15. Resultados de las encuestas

Muestra	Intermediario/ propietario	Ventas	Procedencia	Almacenamiento	Limpieza	Destino defectuosos	Huevos fértil(es)(con gallo)	Desinfección de nidos	Vacunaciones	Enfermedades existentes	Precio de venta
1	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	desecha	si	no	no	peste	0,25
2	intermediario	por menor	Ambato	ambiente	no	consumo	si	no	no	peste	0,25
3	intermediario	por menor	San Lucas	ambiente	no	desecha	si	desconoce	desconoce	peste	0,30
4	propietario	por menor	Manú	ambiente	no	regala	si	no	no	peste	0,20
7	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,20
8	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	regala	si	no	desconoce	desconoce	0,25
10	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	desconoce	desconoce	desconoce	0,35
11	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,30
12	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,35
13	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	consumo	si	no	no	desconoce	0,25

14	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	consumo	si	no	no	desconoce	0,25
15	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	consumo	si	no	no	peste	0,25
16	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	regala y consumo	si	no	no	desconoce	0,25
17	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,25
18	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,30
19	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	consumo	si	no	no	peste	0,30
20	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	regala	si	no	no	peste	0,30
21	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	desconoce	0,30
22	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste, viruela	0,20
23	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	peste, tos	0,20
24	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	desecha	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,20
25	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	desecha	si	no	no	peste, tos	0,25
26	propietario	por menor	Santiago	ambiente	no	desecha	si	no	viruela	peste, viruela, parásitos	0,25

27	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,30
28	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	desconoce	0,30
29	propietario	por menor	N/R	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,25
30	propietario	por menor	San Lucas	ambiente	no	regala	si	no	no	peste	0,30
31	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
32	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	desecha	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
33	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	regala	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
34	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,25
35	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
36	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
37	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	consumo	si	no	no	peste	0,30
38	propietario	por menor	Chuquiribamba	ambiente	trapo húmedo	consumo	si	no	no	peste	0,25
39	propietario	por menor	Santiago	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,30
40	propietario	por menor	Loja	ambiente	no	desecha	si	no	peste	parásitos peste	0,30
41	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30

42	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	desecha	si	no	no	peste parásitos	0,25
43	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,25
44	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	vacío	0,30
45	propietario	por menor	Loja	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,30
46	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	desecha	si	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
47	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	desecha	si	desconoce	desconoce	peste	0,25
48	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	desecha	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
49	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	desecha	si	desconoce	desconoce	peste	0,30
50	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	no	no	no	peste	0,35
51	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	vacío	0,25
52	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,30
53	propietario	por menor	Loja	ambiente	no	consumo	si	no	no	peste	0,30
54	propietario	por menor	Loja	ambiente	no	consumo	si	cada 15 días	no	peste	0,30
55	intermediario	por menor	desconoce	ambiente	vacío	desecha	N/R	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
56	propietario	por menor	Jinbilla	ambiente	no	desecha	no	no	no	peste	0,30

57	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste, viruela	0,30
58	intermediario	por menor	San Lucas	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste	0,20
59	propietario	por menor	San Lucas	ambiente	no	consumo	si	no	no	peste, viruela	0,30
60	intermediario	por menor	N/R	ambiente	vacío	desecha	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,35
61	propietario	por menor	Chuquiribamba	ambiente	no	regala	si	no	no	peste, viruela	0,30
62	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	si	no	no	peste, viruela	0,25
63	propietario	por menor	San Lucas	ambiente	no	regala	si	no	no	peste	0,30
64	propietario	por menor	San Lucas	ambiente	no	regala	si	no	no	peste	0,25
65	propietario	por menor	San Lucas	ambiente	no	regala	si	no	peste, viruela	peste, viruela	0,30
66	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	desecha	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,30
67	intermediario	por menor	Saraguro	ambiente	no	regala	desconoce	desconoce	desconoce	desconoce	0,25
68	propietario	por menor	Loja	ambiente	no	desecha	si	cada 15 días	no	peste	0,30
69	intermediario	por menor	N/R	ambiente	no	N/R	si	desconoce	desconoce	desconoce	0,25
70	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	consumo	si	no	no	N/R	0,30

71	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	trapo húmedo	regala	si	cada 30 días	no	peste, viruela	0,35
72	propietario	por menor	Saraguro	ambiente	no	da a los animales	si	no	no	peste, tos	0,35

ANEXO 4. Fotografías



Figura 14. Feria Libre San Sebastián



Figura 15. Lugar de expendio de los huevos

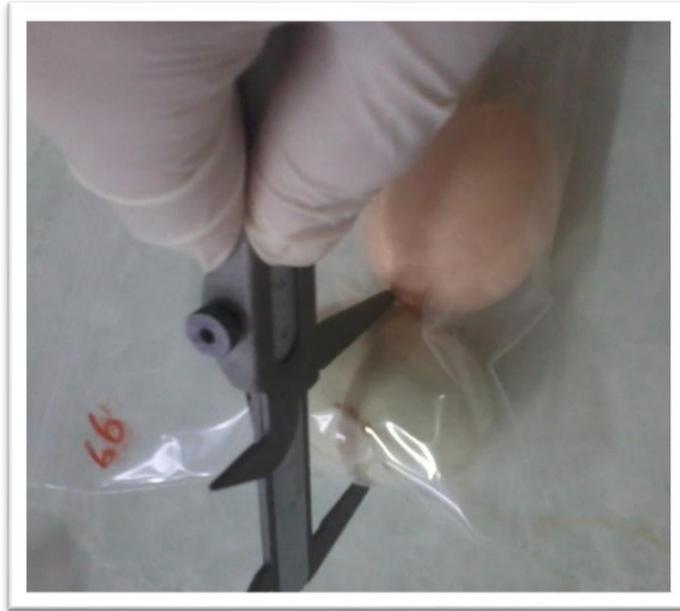


Figura 16. Toma de medidas de las muestras.



Figura 17. Pesaje de las muestras



Figura 18. Toma de la muestra de cáscara de la zona ecuatorial del huevo



Figura 19. Medición del grosor de la cáscara



Figura 20. Preparación del medio de enriquecimiento



Figura 21. Lavado de los huevos en el medio de enriquecimiento



Figura 22. Incubación de tubos con Caldo RV



Figura 23. Siembra por estriado en las Placas Petrífilm

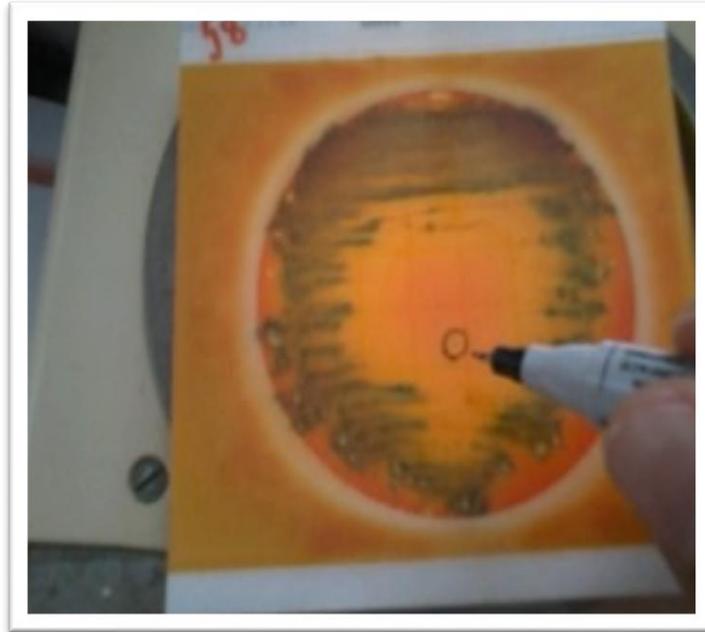


Figura 24. Identificación de colonias sospechosas



Figura 25. Preparación de las diluciones



Figura 26. Siembra a profundidad en Agar Nutritivo



Figura 27. Crecimiento bacteriano