



Universidad para la Cooperación Internacional (UCI)

Determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. y *E. coli*, en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, resistencia antimicrobiana y los factores asociados al riesgo de infección.

Fidel Espartaco Altuna Vásquez

Proyecto Final de Graduación Presentado como Requisito Parcial para obtener el título de: Master en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos.

Tungurahua- Ecuador

2024



Universidad para la Cooperación Internacional (UCI)

Este Proyecto Final de Graduación fue aprobado por la Universidad como Requisito parcial para optar al grado de Master en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos.

MIA: Andrés Cartín Rojas
Tutor

MIA: Ileana Espeleta
Lector

Fidel Espartaco Altuna Vásquez
Sustentante

Julio, 2024

DEDICATORIA

El documento realizado y el seguir con el proyecto en su ejecución está dedicada a todo el sector avícola de mi provincia de Tungurahua, el poder dejar un pequeño legado a otras generaciones en especial a mis hijos Benjamín y Luis Felipe mis motores para seguir adelante, hermanos María del Carmen Altuna, Lenin Altuna, Grace Borja, Alan Altuna, Dimitri Altuna, Santiago Chávez, Familia Moreta Paredes, Dr. Andrés Sánchez personas que han confiado y han creído en mí ,como persona, profesional que a pesar de las dificultades que en el camino se tuvo con la guía de Dios y el apoyo de todos se logró cumplir un sueño personal.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis hermanos, hijos, novia, hermanos, padres y profesionales Luis Hidalgo, Josué Lezcano, que apoyaron en el desarrollo de este proyecto al sector Avicultor de mi Provincia, a mi tutor Andrés Cartín por todo el apoyo y consejos para el desarrollo de este proyecto y a la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario AGROCALIDAD, por confiar en el desarrollo de este proyecto.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vii
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
PROBLEMÁTICA.....	xii
JUSTIFICACIÓN	xiv
CAPÍTULO I	16
1 INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULO II.....	19
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
CAPÍTULO III	20
3 MARCO TEÓRICO	20
3.1 <i>Salmonella</i> spp.....	20
3.1.1 Historia y taxonomía.....	20
3.1.2 Nomenclatura del género <i>Salmonella</i>	20
3.1.3 Características generales	21
3.1.4 Epidemiología	21
3.1.5 Aspectos de Salud Pública	22
3.1.6 Diagnóstico de laboratorio.....	24
3.2 <i>Escherichia coli</i>	24
3.2.1 Características de <i>Escherichia coli</i>	25
3.2.2 Epidemiología	26
3.2.3 Patogenicidad y Tipos de Cepas.....	26
3.2.4 Aspectos de Salud Pública	27

3.2.5	Contaminación de Huevos por <i>E. coli</i>	27
3.2.6	Diagnóstico de laboratorio.....	27
3.2.7	Factores de Riesgo.....	28
CAPÍTULO IV	29
4	METODOLOGÍA	29
4.1	Descripción de la zona de investigación.....	29
4.2	Diseño del estudio	29
4.3	Características de las muestras analizadas	30
4.4	Variables del Estudio sobre Factores de Riesgo.....	30
4.5	Procesamiento Microbiológico	31
4.5.1	Aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i> spp.....	31
4.5.2	Aislamiento e identificación de <i>E. coli</i>	32
4.6	Sensibilidad de <i>Salmonella</i> spp. y <i>E. coli</i> , frente a antimicrobianos	33
4.7	Análisis estadístico de la información.....	34
5	RESULTADOS	35
5.1	<i>Análisis de Salmonella</i> respecto a la ubicación.....	35
5.2	<i>Análisis de E. coli</i> respecto a la ubicación.....	35
6	DISCUSIÓN	38
7	CONCLUSIONES	41
8	RECOMENDACIONES	42
9	BIBLIOGRAFÍA	44
10	ANEXO	53
	ACTA (CHARTER DEL PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN (PGF))	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de Salmonella	20
Tabla 2: Clasificación taxonómica de E.coli.....	25
Tabla 3: Factores de Riesgo asociados a la presencia de Salmonella spp. y E. coli	30
Tabla 4: Antimicrobianos empleados en el estudio de Salmonella spp. y E. coli.....	34
Tabla 5: Tabla de frecuencias relacionada con los factores de riesgo asociados a la presencia de Salmonella enterica y Escherichia coli en huevos.	36
Tabla 6: Antibióticos suministrados en granjas avícolas	37
Tabla 7: Anexo 1: Avícolas actualizadas de la provincia de Tungurahua	53
Tabla 8: ANEXO 4. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: ANEXO 2. Protocolo de aislamiento de Salmonella spp., en huevos frescos de granjas avícolas de la provincia de Tungurahua.....	54
FIGURA 2: ANEXO 3. Protocolo de aislamiento de E. coli, en huevos frescos de granjas avícolas de la provincia de Tungurahua	55
FIGURA 3: ANEXO 5. RECOLECCION DE MUESTRAS EN PREDIOS AVICOLAS Y RECOLECCION DE INFORMACION EPIDEMIOLOGICA	57
FIGURA 4: ANEXO 5. RESULTADOS DE LABORATORIO DE LA AGENCIA AGROCALIDAD.....	60

RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo en la provincia de Tungurahua, Ecuador, durante el mes de marzo a abril del 2024, en 60 granjas avícolas, ubicadas en diferentes cantones de la provincia anteriormente mencionada, con el objetivo de determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. y *E. coli*, en huevos de gallina comercializados en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, la resistencia antimicrobiana y los factores asociados al riesgo de infección en los animales de las granjas. Las muestras (huevos frescos de gallina) fueron obtenidas tomando de cada granja un número total de 4 huevos, para un número total de 240 muestras.

Se realizó un proceso de estudio observacional de carácter transversal, de manera aleatoria. En el cual se sometió a análisis las muestras de las granjas de aves productoras de huevos. Adicionalmente se hizo un levantamiento de información a través de una encuesta para estimar el riesgo de infección por *Salmonella* spp. y *E. coli* en las granjas productoras. La recolección de las muestras se ejecutó mediante la utilización de todas las medidas de bioseguridad—y fueron depositadas en una funda estéril de cierre hermético con la codificación respectiva. Las muestras se depositaron dentro de un cooler, con una temperatura entre 2 a 8 °C, para luego ser trasladadas y procesadas en el mismo día, en el laboratorio de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario en la ciudad de Ambato.

El proceso de aislamiento de *Salmonella* spp., se basó mediante el protocolo establecido en la Norma ISO 6579-2014 y el aislamiento de *E. coli* se realizó por medio de un protocolo estandarizado basado en la norma ISO 16649-1:2001, A través del análisis estadístico descriptivo se estableció la proporción de *Salmonella* spp. y *E. coli*, en las muestras analizadas y la resistencia del patógeno frente a los antimicrobianos empleados. En esta investigación la prevalencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en huevos no pudo ser obtenida, esto sigue los parámetros de inocuidad recomendados por la reglamentación legal ecuatoriana, la cual señala que este tipo de producto crudo debería presentar ausencia total de *Salmonella* en 25 gramos.

Palabras claves: Aislamiento, inocuidad, antimicrobianos, parámetros, ausencia.

ABSTRACT

This study was carried out in the province of Tungurahua, Ecuador, during the month of March to April 2024, in 60 poultry farms, located in different cantons of the aforementioned province, with the objective of determining the prevalence of *Salmonella* spp. and *E. coli*, in chicken eggs sold in poultry farms in the Province of Tungurahua, antimicrobial resistance and factors associated with the risk of infection in farm animals. The samples (fresh chicken eggs) were obtained by taking a total number of 4 eggs from each farm, for a total number of 240 samples.

A cross-sectional observational study process was carried out in a random manner. In which samples from egg-producing bird farms were analyzed. Additionally, information was collected through a survey to estimate the risk of infection by *Salmonella* spp. and *E. coli* on producing farms. The samples were collected using all biosafety measures and were placed in a sterile hermetically sealed bag with the respective coding. The samples were placed inside a cooler, with a temperature between 2 to 8 °C, and then transferred and processed on the same day, in the laboratory of the Phyto and Zoosanitary Regulation and Control Agency in the city of Ambato.

The isolation process of *Salmonella* spp. was based on the protocol established in the ISO 6579-2014 standard and the isolation of *E. coli* was carried out using a standardized protocol based on the ISO 16649-1:2001 standard. From the descriptive statistical analysis, the proportion of *Salmonella* spp. and *E. coli*, in the samples analyzed and the resistance of the pathogen against the antimicrobials used. In this research, the prevalence of *Salmonella* and *Escherichia coli* in eggs could not be obtained; this follows the safety parameters recommended by Ecuadorian legal regulations, which indicate that this type of raw product should present a total absence of *Salmonella* in 25 grams.

Keywords: insulation, safety, antimicrobials, parameters, absence.

PROBLEMÁTICA

Es importante considerar que el huevo es uno de los alimentos de origen animal de mayor consumo; constituye una importante fuente de proteínas, vitaminas, grasas y minerales; es de reducido valor económico y posee gran importancia en la nutrición infantil tiene un impacto directo sobre la Inocuidad Alimentaria y Salud Pública, lo que lo hizo acreedor a formar parte del proyecto del Buen Vivir en Ecuador (Montero, 2016).

La *Salmonella* spp., y *E. coli* son dos microorganismos relacionados con la producción de huevos. En Ecuador, como en muchos otros lugares, la *Salmonella* y *E. coli* pueden representar una problemática en la industria avícola si no se siguen adecuadas prácticas de higiene y control de calidad.

Esta contaminación alimentaria por *Salmonella* spp., y *E. coli* en huevos comerciales es un riesgo significativo y puede tener consecuencias graves para la salud de las personas al consumirlos, planteando así preocupaciones significativas en términos de seguridad alimentaria y salud pública. La *E. coli* es una enfermedad de distribución mundial, con áreas endémicas en países en desarrollo, es importante en Norteamérica, Suráfrica, Europa, Japón, como en sur de Suramérica y Australia (Delgado & Guerrero, 2010).

En el Ecuador se han reportado algunos estudios relacionados con la presencia de *Salmonella* y *E. coli* en diferentes ciudades. Así por ejemplo en Guayaquil se analizaron 980 huevos sin poder aislar el microorganismo. Del mismo modo otro estudio en Cuenca mostró una prevalencia del 9,72% (Moreno & Kuffó, 2020). En Ibarra un estudio demostró la contaminación del huevo en un 12,5% (Mafla, 2020). En la ciudad de Quito a pesar de realizarse un estudio en 282 huevos pertenecientes a 94 granjas no pudo ser aislado *Salmonella* spp (Estrada-Aguila & Valencia-Bustamante, 2012)

Del mismo modo en la provincia de Tungurahua existen más de 300 avícolas registradas, las cuales cuentan con una gran capacidad productiva, por tal motivo es indispensable un análisis cualitativo

a nivel de granja para revisar los aspectos de producción y establecer niveles de contaminación por parte de los patógenos de interés y de esta manera sentar bases para que puedan abrirse más propuestas de investigación relacionada con esta temática.

JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades de transmisión alimentaria comúnmente conocidas como intoxicaciones alimentarias o ETAs, constituyen un grave problema de salud pública a nivel mundial. La ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, generan desde síntomas gastrointestinales hasta complicaciones que pueden conducir a la muerte (FDA, 2020; OMS, 2020). La Unión Europea informó de 5.146 brotes transmitidos por alimentos que afectaron a 48.365 personas (EFSA, 2019). También en los Estados Unidos cada año cerca de 48 millones de personas enferman producto de ETAs (CDC, 2019). Entre las causas más importantes se encuentran los patógenos de origen bacteriano, como son *Salmonella*, *E.coli*, *Campylobacter*, entre otras (Soto Varela, Z., Pérez Lavalle, L., Estrada Alvarado, 2016; FDA, 2018). Adicional a esto, los alimentos involucrados con más frecuencia en las epidemias y casos de ETAs son aquellos de origen animal (PAHO, 2020).

El riesgo de que un huevo pueda contaminarse es demasiado grande, es importante conocer la contaminación de los huevos que se supone que el contenido interno de los huevos recién puestos es habitualmente estéril, pero no es así porque al momento de la ovoposición, los huevos están expuestos a cierto grado de contaminación en la superficie por el paso de este a través de la cloaca de la gallina. El huevo al entrar en contacto con el medio exterior se encuentra expuesto a los microorganismos que ya están ahí y si las condiciones son apropiadas pueden adentrarse al interior del huevo, multiplicarse y afectar su composición. Se han descrito tres posibles vías por las cuales puede contaminarse: transmisión vertical, horizontal y lateral. (Rincon-Acero et al., 2011

Transmisión vertical: Los huevos pueden contaminarse desde que se está dando la formación del huevo desde los ovarios y oviductos infectados.

Transmisión horizontal: en el cual se lleva a cabo cuando *Salmonella* u otros microorganismos ingresan la cascara que se encuentra contaminada con heces al pasar a través de la cloaca de la gallina. (Rincon-Acero et al., 2011)

Transmisión lateral: ruta de infección que ocurre por consumir alimentos o agua que ha sido contaminados, instalaciones sin medidas de bioseguridad y brindan las condiciones adecuadas para que se desarrollen bacteria o por medio de vectores como: aves silvestres, roedores, animales domésticos e incluso humanos (Rincon-Acero et al., 2011).

Un alto número de casos y brotes de salmonelosis están asociados con el consumo de huevos y productos de huevo, y varios de estos ocurren a nivel doméstico (Cardoso et al., 2021). Del mismo modo el sistema de explotación avícola permite un riesgo en la contaminación de agentes infecciosos como son el caso de *Campylobacter*, *Salmonella* y *Escherichia coli* (adeboye, Kwofie & Bukari, 2020).

Por otro lado, el aspecto en la resistencia a los antimicrobianos (RAM) en bacterias con alimentos de origen animal (Kapena, 2020). De este modo la contaminación de huevos con microorganismos puede afectar la calidad del huevo, lo que puede conducir a un deterioro y la transmisión de patógenos debido al uso irracional de antibióticos (Kapena, 2020).

Por tal motivo, este trabajo que se realizara en la provincia de Tungurahua, tiene como objetivo principal obtener una fuente de datos epidemiológicos para investigaciones de seguimiento y tomar acciones de prevención frente a *Salmonella* y *E. coli*, implicada en la transmisión de enfermedades relacionadas con alimentos de origen animal específicamente con la producción de huevo en granjas avícolas. Para ello se determinará la prevalencia, los factores de riesgo asociados con la presencia de *Salmonella* spp. y *E. coli*, en huevo y la detección fenotípica de resistencia de los microorganismos frente a antimicrobianos.

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son causadas por la contaminación de los alimentos y ocurren en cualquier etapa de la producción, suministro y consumo de alimentos. Pueden ser causadas por diversas formas de contaminación ambiental, como la contaminación del agua, el suelo o el aire, así como por el almacenamiento y la preparación inseguros de alimentos (Organización Mundial de la Salud - OMS, 2024).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs), ocasionan enfermedades a más de 48 millones de personas alrededor del mundo, de las cuales 128.000 son hospitalizadas y 3000 fallecen cada año (Centers for Disease Control and Prevention - CDC, 2023a)

Los microorganismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae o coliformes tienen la particularidad de contaminar los alimentos en cualquier etapa de la cadena alimentaria, entre los cuales incluyen un grupo de patógenos muy relevantes, como es el caso de *Salmonella* no tifoidea y *Escherichia coli* (D'Agostino & Cook, 2016). A pesar de que algunas cepas de estas bacterias actúan de manera comensal en el tracto gastrointestinal prevalentes en personas y animales (Varga et al., 2008).

El género *Salmonella* spp., engloba a dos especies (*Salmonella bongori* y *S. enterica*) y subdivididas en seis subespecies (*enterica* YO, *salamae* II, *arizonae* IIIa, *diarizonae* IIIb, *houtenae* IV e *indica* VI), siendo esta bacteria Gram negativa en la cual existen 2600 serotipos, tomando un rol de mucha importancia en la problemática de la salud pública, debido al hecho de su adaptabilidad entre huéspedes en los cuales alojarse y multiplicarse, como es el caso de los animales y los seres humanos (Eng et al., 2015; Peruzy et al., 2022). En especial, La *Salmonella*

spp., no tifoidea desempeña un papel importante en la salmonelosis humana transmitida por los alimentos contaminados, especialmente aquellos de origen animal (Sodagari et al., 2020).

Salmonella spp., se encuentra en una variedad de alimentos como pollo, carne de res, cerdo, huevos, frutas, verduras e incluso alimentos procesados (CDC, 2023b). Las aves de producción intensiva o extensiva pueden ser hospedadores de *Salmonella* spp., pudiendo ser transmitida a su carne y la cáscara de los huevos una vez que las aves ponen o tengan un contacto con el excremento posterior a la postura (CDC, 2022).

La contaminación en huevos de consumo puede transmitir infecciones por *Salmonella* a las personas, un problema que ha preocupado a las autoridades de salud pública y a la industria del huevo en todo el mundo durante estos últimos 30 años (Gast et al., 2021). Se estima que-un huevo por cada 20.000 huevos está contaminado con *Salmonella* spp., (University of Minnesota Extension, 2024). Tomando relevancia en el sector avícola de acuerdo a la producción nacional ecuatoriana, la cual información nacional consta una producción del 85.37 millones de huevos producidos en una semana en el 2021, y de esta información el 95% representan las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha y Manabí (Corporación Financiera Nacional B.P., 2023).

Cabe además señalar que estos microorganismos presentan la particularidad de adquirir y conservar genes de resistencia frente a los antimicrobianos, provenientes de otros microorganismos (Varga et al., 2008; Yousef et al., 2023). Estos microorganismos resistentes a los antibióticos causan enfermedades potencialmente mortales en los seres humanos y representan una amenaza importante para la salud y el bienestar, lo cual se estima 2 millones de enfermedades y 23.000 muertes en los Estados Unidos cada año (V. T. Nair et al., 2018).

En contraste, el uso generalizado de antibióticos en la industria avícola contribuye a la aparición de cepas de *Salmonella* spp., multirresistentes, las mismas que podrían transmitirse a los humanos mediante el consumo de productos y subproductos contaminados (Villagómez Estrada et al., 2017). Existe información obtenida de varios estudios sobre *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* su resistencia a los medicamentos en diferentes productos alimenticios en el Ecuador demostrando la importancia y la preocupación creciente tanto en el sector productor como sanitario (Amancha et al., 2023; Mejia et al., 2021; Vinueza et al., 2016).

Toda la información recabada en el proceso de este estudio, será valiosa y de importancia para mejorar los procesos y controles sanitarios implementados contra *E. coli* y *Salmonella* spp., conocer sí existen los serotipos que se pretende y poder tomar medidas correctivas concretas para su control; del mismo modo establecer una mejor vigilancia por parte de organismos nacionales sanitarios, con el propósito de brindar una comunicación sobre el uso racional y adecuado de las drogas y/o medicamentos para tratamientos antibióticos en las aves de producción pesadas como livianas.

CAPÍTULO II

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. y *E. coli*, en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, resistencia antimicrobiana y los factores asociados al riesgo de infección.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✚ Determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, mediante cultivo bacteriológico a través de la NORMA ISO 6579.
- ✚ Identificación fenotípica de resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. y *E. coli*.
- ✚ Analizar el grado de vinculación de los factores de riesgo asociados a la presencia de *Salmonella* spp y *E. coli* en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua.

CAPÍTULO III

3 MARCO TEÓRICO

3.1 *Salmonella* spp.

3.1.1 Historia y taxonomía

Las salmonelas son bacterias gramnegativas, lleva el nombre de un D.E. Salmon, un bacteriólogo estadounidense, que aisló por primera vez la bacteria del intestino de un cerdo en 1884 (Tindall, Grimont, Garrity, & Euzéby, 2005)

Tabla 1: Clasificación taxonómica de *Salmonella*

Dominio	BACTERIA
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Salmonella</i>

(Andino & Hanning, 2015).

3.1.2 Nomenclatura del género *Salmonella*

De acuerdo con la nomenclatura actual, la salmonela es un grupo de bacterias gramnegativas que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. La taxonomía actual divide el género *Salmonella* en 2 especies (*Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*) con la aprobación pendiente para una tercera especie (*Salmonella subterranea*). *S. enterica* contiene las siguientes 6 subespecies: Subespecie de *Salmonella enterica*. sups. *enterica* (subespecie I), subespecie de *S. enterica*. subs *salamae* (subespecie II), subespecie de *S. enterica*. subs *arizonae* (subespecie IIIa), subespecie de *S.*

enterica. subs *diarizonae* (subespecie IIIb), subespecie de *S. enterica*. subs. *houtenae* (subespecie IV), y subespecie de *S. enterica*. subs *indica* (subespecie VI) (Su & Chiu, 2007).

3.1.3 Características generales

Microorganismo intracelular anaerobias facultativo en forma de bastoncillos, ácido-lábil, generalmente de 0,5 a 1,5 micras de ancho por 2 a 5 micras de largo, móviles por flagelos periticos, no forman esporas, productor de sulfuro de hidrógeno, que comúnmente causa gastroenteritis en humanos y causa infección cruzada entre humanos y animales. Se sabe que muchos animales son portadores de la bacteria Salmonella. (Su & Chiu, 2007).

3.1.4 Epidemiología

Las cepas de *Salmonella* spp son capaces de colonizar una amplia gama de hospedadores, habita en el tracto intestinal de los humanos, animales domésticos, mamíferos aves y reptiles, así como el medio ambiente. Esta versatilidad de hospedadores contribuye a la amplia distribución de Salmonella en la naturaleza y su capacidad para causar brotes de enfermedades tanto en poblaciones humanas como animales. La incidencia y el riesgo de infección en estas áreas son altos, particularmente en los países de ingresos bajos y medianos debido al saneamiento deficiente junto con las fuentes de alimentos y agua contaminadas por heces humanas infectadas. (John A, Maria, Melita A, & Christopher M, 2015)

Patógeno responsable de millones de casos de enfermedades transmitidas por los alimentos, Salmonella entérica como patógeno zoonótico, puede pasar rápidamente de animales a humanos a través del consumo de carne contaminada, productos animales y otros productos alimenticios, contaminados con material fecal animal, mismo que contamina agua y alimento por ende contribuye a la diseminación de Salmonella en el ambiente (Andino & Hanning, 2015)

La transmisión de *Salmonella* spp puede ocurrir a través de la ingestión de alimentos contaminados, el contacto directo con animales infectados o sus excreciones, así como la contaminación ambiental. En reproductoras pesadas los serovares de mayor importancia y para los cuales existen programas de vigilancia dentro de la UE son: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Virchow* y *S. Hadar* (John P. & Karen M., 2015)

3.1.5 Aspectos de Salud Pública

En general, la infección por *Salmonella* puede estar involucrada en bacteriemias e infecciones focales como osteomielitis, meningitis, gastroenteritis e infecciones del tracto urinario. En el caso de la *Salmonella enteritidis*, comer pollos poco cocidos puede causar diarrea inflamatoria, fiebre, dolor abdominal, náuseas y vómitos. Otros productos crudos o poco cocidos, como los huevos, la carne y los productos lácteos, también pueden causar infección por *Salmonella* y pueden encontrarse en la historia clínica del paciente. (Lamas, y otros, 2018)

La importancia de *Salmonella* spp en la salud pública y la seguridad alimentaria ha generado un interés significativo en el desarrollo de métodos de detección y diagnóstico precisos. La identificación rápida y confiable de *Salmonella* en muestras clínicas y alimentos es crucial para la prevención de brotes, el tratamiento oportuno de pacientes y la implementación de medidas de control en la cadena de suministro alimentario. En este sentido, se han desarrollado una variedad de técnicas microbiológicas, moleculares e inmunológicas para la detección y caracterización de *Salmonella* spp en diferentes matrices (Braykov, y otros, 2016)

La cualidad de las especies de *Salmonella* para causar infección en los seres humanos está dada por la capacidad de adherencia y colonización a las células epiteliales intestinales y a otras especializadas que recubren las placas de Peyer. Se trata de una potencial infección zoonótica

asociada a gastroenteritis, siendo un problema de salud pública en países desarrollados y en vías de desarrollo. (John A, Maria, Melita A, & Christopher M, 2015)

En noviembre de 2019 en Chile se reportó un brote de salmonelosis que afectó a 80 personas. La fuente de infección fue el sushi, mal preparado. En Estados Unidos, en agosto de 2019, se investigó un brote relacionado con el contacto con aves de corral domésticas. Más de 1,000 personas en 49 estados se infectan. En mayo se informó de un brote similar que afectó a varios estados, y la fuente de infección fueron las verduras frescas. Hasta el 24 de junio de 2020, se notificaron 473 casos más de enfermos en EE. UU. (*Salmonella Braenderup*, *S. Muenchen*, *S. Thompson* y *S. Typhimurium*). Los informes registraron 938 casos de 48 estados hasta el 28 de julio de 2020 (Brenner, Villar, Angulo, Tauxe, & Swaminathan, 2020)

En el Ecuador se han reportado hasta la semana 35 del año 2018 un total de 1147 casos de salmonelosis transmitida por agua y alimentos, las aves de corral son el principal vehículo de estos patógenos en la cadena alimentaria (Vinueza-Burgos, Cevallos Almeida, Ron-Garrido, Bertrand, & Zutter, 2016)

El control de *Salmonella* spp en la cadena alimentaria es fundamental para garantizar la seguridad de los productos alimenticios y prevenir la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos. Las estrategias de control se centran en la implementación de buenas prácticas de higiene en la producción primaria y el procesamiento de alimentos, así como en la aplicación de sistemas de gestión de seguridad alimentaria basados en principios como el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP). Además, la regulación y supervisión por parte de las autoridades sanitarias son fundamentales para garantizar el cumplimiento de los estándares de seguridad alimentaria y la aplicación de medidas correctivas cuando sea necesario. (John A, Maria, Melita A, & Christopher M, 2015)

3.1.6 Diagnóstico de laboratorio

Muestreo para detectar *Salmonella* spp., en gallinas ponedoras debe hacer mientras las aves se encuentren en las instalaciones avícolas y también luego de la salida de estas. Entre los métodos más convenientes para realizar dichos muestreos con el objetivo de ejecutar análisis bacteriológicos de instalaciones o galpones avícolas encaminadas a encontrar *Salmonella*, está el muestreo con zapatones o el método de hisopos de arrastre. (Braykov, y otros, 2016)

El diagnóstico de *Salmonella* spp., se puede realizar a partir de muestras ambientales, alimento y tomando en cuenta que producen septicemia en las aves, en especial en las debilitadas o para descarte, es conveniente órganos internos, siendo de elección el hígado, vesícula biliar, bazo, páncreas y contenido cecal; también se puede realizar cultivos de ambiente de granja con hisopos de arrastre de material fecal de cama. En reproductoras pesadas se puede hacer un pool de meconio de alrededor de 500 pollitos de diferentes cajas de transporte. (Bou, Fernández-Olmos, García, Sáez-Nieto, & Valdezate, 2011)

Salmonella spp., abarca una amplia gama de aspectos relacionados con la biología, epidemiología, detección y control de este importante patógeno bacteriano. La comprensión de estos aspectos es esencial para abordar los desafíos asociados con las infecciones por *Salmonella* y promover la salud pública a nivel global.

3.2 *Escherichia coli*

Un médico especializado en el cuidado de niños, nacido en Alemania en 1857, llamado Theodor Escherich, llevó a cabo investigaciones en el sistema digestivo de bebés, donde presentó sus hallazgos sobre la forma, características y efectos de las comunidades bacterianas, incluida la *Bacterium coli commune* (bacteria del colon común, conocida como *Escherichia coli*). (Villagrán Ramírez, 2017).

3.2.1 Características de *Escherichia coli*

El género *Escherichia* spp., específicamente la especie *coli*, es una bacteria en forma de bacilo gramnegativo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Su tamaño varía entre 1-1.5µm x 2-6µm y puede encontrarse de manera individual o en pares. No forma esporas y puede ser móvil con flagelos periféricos o inmóvil. Tiene la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno, siendo una bacteria aerobia facultativa. Además, puede fermentar lactosa y glucosa, produciendo una variedad de gases y ácidos. El género *Escherichia* spp., comprende cinco especies: *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanni* y *E. vulneris*. De estas especies, solo *E. coli* es relevante desde el punto de vista clínico tanto en humanos como en animales.

Tabla 2: Clasificación taxonómica de *E.coli*

Dominio	Bacteria
Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gamma Proteobacteria
Orden	Eubacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Tribu	Escherichiae
Género	Escherichia
Especie	coli

Salmerón García, 2007

Escherichia coli es una bacteria gramnegativa, anaerobia facultativa, que se encuentra comúnmente en el intestino de los animales de sangre caliente. Es de forma bacilar y puede moverse mediante flagelos. Según Madigan et al. (2018), las cepas de *E. coli* varían significativamente en términos de virulencia y resistencia a los antibióticos.

3.2.2 Epidemiología

El tracto digestivo humano es el principal lugar donde se encuentra la bacteria *E. coli* BLEE/AmpC, y su transmisión generalmente ocurre a través del contacto directo, especialmente por medio de las manos. Se ha observado que estas enzimas pueden transmitirse entre personas tanto a nivel plasmídico como bacteriano. Además, ciertos alimentos de origen animal, especialmente las aves de corral, como los pollos de engorde, son una fuente importante de transmisión de estas enzimas a los seres humanos. Se ha documentado la presencia de *E. coli* BLEE/AmpC en las heces de diversos animales destinados al consumo humano, mascotas y animales salvajes. La colibacilosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más comunes a nivel mundial, con millones de casos reportados anualmente en todo el mundo. (Todar, 2019).

La cría de aves en pequeña escala, que se ha promovido como una fuente de ingresos y una estrategia para mejorar la nutrición en regiones como África, Asia y América Latina, puede aumentar el contacto entre humanos y aves, facilitando así la transmisión de cepas de *E. coli* resistentes a los antibióticos. En el año 2009, la Unión Europea informó que la prevalencia promedio de aislados de *E. coli* resistentes a cefalosporinas de espectro ampliado fue del 8.5%, con tasas que van desde el 0% en Dinamarca hasta el 26.4% en España. En Suiza, en 2011, la prevalencia fue del 25%. En Asia, la prevalencia varía entre el 8% y el 60%. (Gantois et al., 2009).

3.2.3 Patogenicidad y Tipos de Cepas

Algunas cepas de *E. coli* son patógenas y pueden causar enfermedades como diarrea, infecciones del tracto urinario y meningitis. Entre las más conocidas se encuentran las cepas enterotoxigénicas (ETEC), enterohemorrágicas (EHEC), y uropatógenas (UPEC) (Todar, 2019).

3.2.4 Aspectos de Salud Pública

E. coli causa una gama de infecciones tanto intestinales como extraintestinales en humanos, incluyendo diarrea, infecciones urinarias y abdominales. Según un informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria en 2011, se registraron 1.93 casos de infección por cada 100,000 habitantes. Este número aumentó significativamente en un 159.4% para el año 2013, con 4,000 casos confirmados en comparación con los datos de 2011. (Muzo Suquillo, 2017).

La detección de *E. coli* BLEE/AmpC en animales destinados al consumo humano y en productos de origen animal es motivo de gran preocupación para los consumidores. Esto representa un desafío importante tanto para médicos como para veterinarios, ya que estas cepas de *E. coli* pueden desactivar los antibióticos β -lactámicos. (Kar et al., 2014).

3.2.5 Contaminación de Huevos por *E. coli*

La contaminación de los huevos puede ocurrir durante la oviposición, a través de las heces, o durante el procesamiento y manipulación post-cosecha. La cáscara del huevo, aunque es una barrera protectora, puede ser permeable a microorganismos bajo ciertas condiciones (Gantois et al., 2009).

3.2.6 Diagnóstico de laboratorio

Los métodos tradicionales de detección incluyen el cultivo en medios selectivos y la identificación bioquímica. Recientemente, las técnicas moleculares como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) han mejorado la precisión y rapidez de la detección de *E. coli* (Feng et al., 2019).

La cuantificación de *E. coli* en alimentos y en el medio ambiente ha sido objeto de numerosos estudios, y en los últimos diez años se ha observado un aumento en el uso de sustratos cromogénicos en medios de cultivo para su identificación. El agar Chromocult® es un medio selectivo y diferencial que contiene dos sustratos cromogénicos para la detección tanto de

coliformes totales como de *E. coli*. Estos sustratos son la β -glucuronidasa o X-GLUC, que es específica para el 96% de las cepas de *E. coli*, y la β -galactosidasa o Salmon-GAL. *E. coli* es positiva para β -galactosidasa y β -glucuronidasa, y las colonias desarrollan un color azul oscuro o violeta en el agar. Además, el medio contiene tergitol, que inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas. (Suquillo, 2017)

3.2.7 Factores de Riesgo

Factores como la higiene en las granjas avícolas, la calidad del agua utilizada, y las prácticas de manejo post-cosecha son determinantes en la probabilidad de contaminación (Jones et al., 2018).

CAPÍTULO IV

4 METODOLOGÍA

4.1 Descripción de la zona de investigación

Este estudio se llevó a cabo en la provincia de Tungurahua, durante los meses de marzo y abril del 2024. Las granjas involucradas en el estudio se encuentran ubicadas en diferentes cantones de la provincia anteriormente mencionada, la cual tiene una altura aproximada de 2620 m.s.n.m., con un área de 3335 Km², con un rango de temperatura que oscila entre los 10°C a los 30°C y una población aproximada de 504.583 habitantes (Gobierno Provincial Tungurahua, 2024).

De acuerdo con información suministrada por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitaria de la provincia de Tungurahua, se obtuvo el catastro actualizado (**ANEXO 1**), sobre el total de granjas avícolas en producción dentro de la provincia (AGROCALIDAD TUNGURAHUA, 2023).

4.2 Diseño del estudio

Se realizó un proceso de estudio observacional de carácter transversal, de manera aleatoria. En el cual se sometió a análisis de las muestras en granjas de aves productoras de huevos. Tomando un número total de 240 muestras. Adicionalmente se realizó un levantamiento de información a través de una encuesta para estimar el riesgo de infección a *Salmonella* spp. y *E. coli* en las granjas productoras.

La recolección de las muestras se ejecutó mediante la utilización de todas las medidas de bioseguridad, de cada granja fueron recolectadas muestras para su análisis. Las cuales fueron depositadas en una funda estéril de cierre hermético, con su codificación respectivas. Las muestras se depositaron dentro de un cooler, con una temperatura entre 2 y 8 °C, para luego ser procesadas

en el mismo día en el laboratorio de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario en la ciudad de Ambato.

4.3 Características de las muestras analizadas

Las muestras (huevos frescos de gallina) fueron recolectadas en 60 granjas avícolas, fueron obtenidas de cada granja un número total de 4 huevos.

4.4 Variables del Estudio sobre Factores de Riesgo

Se describen en este ítem las preguntas realizadas a los propietarios y/o responsables técnicos de las granjas avícolas muestreadas para estimar los factores de riesgo asociados a la presencia o ausencia de *Salmonella* spp., como también de *E. coli*. De esta manera se tomó como variable independiente los factores que se aprecian en la (Tabla 1). Y la variable dependiente es el aislamiento de los microorganismos de interés, estas variables independientes fueron consideradas de acuerdo a un estudio planteado en granjas de producción de huevos y aves (Foley et al., 2011).

Tabla 3: Factores de Riesgo asociados a la presencia de *Salmonella* spp. y *E. coli*

VARIABLES	INDICADORES	TÉCNICA
Respuesta		
<i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> en huevos frescos	Presencia o ausencia	Análisis en laboratorio
FACTORES DE RIESGO / Variables Explicativas		Recolección de datos y Encuestas
temperatura de recolección	grados centígrados	
	cada semana	
frecuencia de desinfección del galpón	mensual	
	trimestral	
Presencia de fecas en la cascara del huevo	si	
	no	
tiempo de permanencia de huevos en la granja	Diario	
	semanal	

	> 15 días
Existe presencia de plagas	si
(roedores, escarabajos y moscas)	no

4.5 Procesamiento Microbiológico

4.5.1 Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.

El proceso de aislamiento de *Salmonella* spp., se basó mediante el protocolo establecido en la Norma ISO 6579-2014 (ANEXO 2). De esta manera se procedió a pesar cada huevo para calcular la proporción de 1 a 10, es decir 25 gr de muestra en 225 ml de agua peptona buferada (BPW, Difco, USA) como medio de preenriquecimiento, para posterior colocar la mezcla dentro de una bolsa zip estéril. Luego se homogenizo de forma manual por un minuto aproximadamente, la mezcla se incubo a una temperatura de $37^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante $18 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ (Microbiology of the food chain - ISO, 2014).

A continuación, en la fase de enriquecimiento se procedió a colocar 150 μL de la dilución de preenriquecimiento sobre el Medio Semisólido Modificado Rappaport-Vassiliadis (MSRV), este fue incubado a $41,5^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, de la misma manera se cultivó en caldo agar Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin (MKTTn) a $37^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante 24 horas. Una vez finalizado el proceso de incubación se realizó la lectura a las 24 y 48horas, de acuerdo al crecimiento en el medio de cultivo (ISO, 2014).

Una vez finalizado el tiempo de incubación en los medios de enriquecimiento selectivos tanto en el MSRV como en el MKTTn, se toma un 1 μl de crecimiento bacteriano del medio MSRV y 10 μl del MKTTn utilizando un asa, para posteriormente pasarlo al medio Xilosa, Lisina, Desoxicolato agar (XLD), se incuba a 37°C por un lapso de $24 \text{ horas} \pm 3\text{h}$ (ISO, 2014).

Transcurrido el tiempo de incubación dentro del agar XLD se identifican las colonias características *Salmonella* spp., las cuales presentan centro de color negro con una zona ligera transparente rojiza, esto se debe al cambio de color del indicador en el medio, las colonias de *Salmonella* H₂S negativas presentan una coloración y su centro rosados más oscuro, *Salmonella* lactosa positiva es amarilla sin oscurecimiento (ISO, 2014).

La confirmación bioquímica de *Salmonella* spp., se realizó obteniendo colonias aisladas del medio de cultivo XLD para colocarlas en triple sugar/iron agar – TSI, lysine iron agar, agar citrato de Simmons y caldo Urea agar. Posterior a la siembra se incubó a 37°C ± 1°C durante 24 horas ± 3 horas y se efectuó la interpretación de los resultados en los medios de cultivo (ISO, 2014). Finalizado el proceso de identificación bioquímica de *Salmonella* spp., se incubó en XLD para a continuación incubar en medio caldo infusión cerebro corazón (BHI) en combinación con glicerol en una proporción de 1 en 3, y congelar las cepas identificadas a - 80°C.

4.5.2 Aislamiento e identificación de *E. coli*

El aislamiento de *E. coli* se realizó por medio de un protocolo estandarizado basado en la norma ISO 16649-1:2001 (**Anexo 3**). De la finalización de la incubación de la dilución de preenriquecimiento que se manifestó en el punto 4.5.1., es decir los 25 gramos de huevo fresco de gallina + 225ml de agua peptona buferada, mediante una pipeta estéril se transfirió 1 ml del medio de preenriquecimiento a una caja de Petri en la cual se vertió 15 ml de Tryptone-bile-glucuronic médium agar (TBX), el cual previamente estaba a baño maría entre 44°C a 47°C. Luego se realizó la mezcla con mucho cuidado permitiendo que los dos líquidos queden homogenizados, en un tiempo no mayor a 15 minutos. Una vez solidificado el medio TBX se incubó a 37°C por 24 horas. La identificación de las colonias características se efectuó mediante observación en un contador de colonias, en la cual las colonias típicas son de color azul verdoso, con diferentes tamaños, lisas o

regulares. La prueba confirmatoria se realizó en agar Triple Sugar Iron - TSI, siendo su característica la presencia de la reacción acida (A), presencia de gas (G). Finalmente se tomaron colonias de *E. coli* del medio bioquímico TSI y se inoculo en 300µl de caldo triptosa, siendo incubado por 24 horas a 37°C, posteriormente se agregó 600µl de glicerol para su congelación y conservación a -80°C (ISO 16649-2, 2001).

4.6 Sensibilidad de *Salmonella* spp. y *E. coli*, frente a antimicrobianos

Para este procedimiento se realizó basándonos bajo el procedimiento de difusión de disco (Kirby Bauer) y de la M02-A11 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012). De esta manera se tomaron un numero de 5 colonias de *Salmonella* spp. previamente sembradas en agar XLD, colocándolas en el interior de un tubo de cristal el cual contenía caldo Mueller-Hinton, de esta forma se obtuvo una dilución con una densidad de 0.5 en la escala de McFarlad (108 UFC/ml).

Posteriormente se introdujo un hisopo para empapararlo con la suspensión de la cepa de *Salmonella* spp., y colocarlo mediante estriación uniforme sobre la superficie del agar Mueller-Hinton (MHA). Finalmente se colocan los discos impregnados con los antibióticos deseados para proceder a incubar a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18 horas (Clinical and Laboratory Standard Institute, 2018).

La interpretación de la sensibilidad se la realizo midiendo el halo de inhibición con la utilización de un calibrador, permitiéndonos obtener una medida precisa entre la relación del microorganismo frente al antibiótico como se expresa en el manual del CLSI, 2018, de tal manera se puede apreciar la tolerancia de cada antimicrobiana a continuación en la (**Tabla 2**).

Tabla 4: Antimicrobianos empleados en el estudio de Salmonella spp. y E. coli

Antimicrobiano	Abreviatura	Concentración (μg)	Diámetro interpretativo (mm)		
			S \geq	I	R \leq
Tetraciclina	TE	30 μg	≥ 15	12 -14	≤ 11
Ampicilina	AMP	10 μg	≥ 17	14 -16	≤ 13
Estreptomicina	S	10 μg	≥ 15	12 -14	≤ 11
Florfenicol	FFC	30 μg	≥ 18	13 -17	≤ 12
Ciprofloxacina	CIP	10 μg	≥ 21	16 -20	≤ 15
Fosfomicina	FOS	200 μg	≥ 16	13 -15	≤ 12

Abreviatura: S= sensible, I= intermedia, R= Resistente, mm= milímetros, μg = microgramos

FUENTE: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018.

4.7 Análisis estadístico de la información

A través del análisis estadístico descriptivo se establecerá la proporción de Salmonella spp., en las muestras analizadas, resistencia del patógeno frente a los antimicrobianos empleados.

Los datos recolectados en la encuesta tomando de referencia los analizados por (Denagamage et al., 2015) servirán para establecer una asociación entre los factores de riesgo y la presencia de los microorganismos en granja por lo cual se aplicó la prueba de chi cuadrado (χ^2) y para confirmación de esta asociación el Test exacto de Fisher, posteriormente se empleó a través de un modelo de regresión logística multivariado el cálculo de la probabilidad de ocurrencia a través del Odds Ratio. Para el análisis descriptivo se empleó una tabla generada en Excel y para el análisis estadístico inferencial se empleó el programa RStudio versión 2023.03.1 Build 446.

5 RESULTADOS

5.1 *Análisis de Salmonella* respecto a la ubicación

En esta investigación no se aisló *Salmonella* spp., en ninguna de las muestras de huevos en las avícolas dentro de la provincia de Tungurahua, en el período comprendido entre marzo y abril del año 2024.

5.2 *Análisis de E. coli* respecto a la ubicación

En esta investigación se aisló *E. coli*., en ninguna de las muestras de huevos en las avícolas dentro de la provincia de Tungurahua, en el periodo comprendido entre marzo a mayo del año 2024.

En base a los resultados obtenidos, no fue posible continuar con el proceso de análisis fenotípico de resistencia a los antimicrobianos, debido, al factor de no crecimiento esperado por parte de *Salmonella* spp., y *E. coli*, esto fue una limitante para el análisis descriptivo del antibiograma.

5.3 *Análisis de Factores externos e internos para la presencia de Salmonella spp., y E. coli en huevo*

Se realizó una tabla de frecuencias absolutas para verificar los componentes analizados a través de la encuesta epidemiológica levantada a los productores de huevos en la provincia de Tungurahua, en la cual se detalla la proporción de las variables, véase (**Tabla 3**).

Tabla 5: Tabla de frecuencias relacionada con los factores de riesgo asociados a la presencia de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* en huevos.

Características		<i>Salmonella entérica</i> / <i>Escherichia coli</i>	
		No (n=60)	(%)
Temperatura de recolección huevo en granja	Temperatura < 8 °C	10	16.67
	Temperatura > 8 °C	50	83.33
Frecuencia de desinfección del galpón	mensual	20	33.33
	trimestral	40	66.67
Presencia de fecas en la cascara del huevo	si	13	21.67
	no	47	78.33
tiempo de permanencia de huevos en la granja	Diario	52	86.67
	semanal	8	13.33
Existe presencia de plagas (roedores, escarabajos y moscas)	si	28	46.67
	no	32	53.33
Número de galpones	<3	12	20.00
	>3	48	80.00
Número de Aves	<10000	15	25.00
	10000 - 30000	28	46.67
	> 30000	17	28.33
Análisis Microbiológico del agua de bebida para aves	Se realiza	36	60.00
	No se realiza	24	40.00
Tratamiento con antibióticos para disminuir el riesgo de <i>Salmonella</i> o <i>E. coli</i> en su granja	semanal	12	20.00
	Mensual	12	20.00
	trimestral	36	60.00
Tratamiento químico al agua de bebida	Peróxido	38	63.33
	Cloro	11	18.33
	Otro proceso	11	18.33
Vacunación <i>Salmonella</i>		58	96.67

Medida preventivos empleada para reducir riesgo	No Vacunación <i>Salmonella</i>	2	3.33
Acción preventiva con antibióticos suministrados	antibióticos + acidificante	15	25.00
	solo antibióticos	45	75.00

A través de la encuesta epidemiológica, se pudo evidenciar en la variable explicativa de antibióticos, que uno de los antimicrobianos más utilizados en las granjas avícolas fue la enrofloxacin con una proporción del 48.3%, en comparación con otro tipo de antibióticos suministrados, véase (Tabla 4).

Tabla 6: Antibióticos suministrados en granjas avícolas

Tipo de antibiótico	No. granjas	%
Enrofloxacin	29	48.33
florfenicol	10	16.67
gentamicina + Sulfonamida	5	8.33
Amoxicilina + Ciprofloxacina	3	5.00
Otras combinaciones de antibióticos	7	11.67

6 DISCUSIÓN

El principal objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de *Salmonella* y *E. coli* en huevos frescos de granjas avícolas en la provincia de Tungurahua, siendo este estudio un análisis en este tipo a nivel país, debido a que incluyó la identificación de serotipos de *Salmonella* y *E. coli*, perfil de resistencia a los antimicrobianos y factores de riesgo asociados a la presencia de los microorganismos actuantes.

En esta investigación la prevalencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en huevos no pudo ser obtenida, esto sigue los parámetros de inocuidad recomendados por la reglamentación legal ecuatoriana, la cual señala que este tipo de producto crudo debería presentar ausencia total de *Salmonella* en 25 gramos (INEN, 2012).

Sin embargo, (Mafla, 2021) encontró que en un estudio realizado huevos de gallina en la ciudad de Ibarra la prevalencia de *Salmonella* spp., es del 4,16% y de *Escherichia coli* del 3,33%. De igual forma (Arias, 2020) en un estudio realizado en huevos de gallina criolla comercializados en ferias en la ciudad de Cuenca obtuvieron una prevalencia del 9,72% a *Salmonella* spp. Estos resultados contradicen a lo que se obtuvo en esta investigación en la provincia de Tungurahua.

Esta baja prevalencia en los resultados del análisis de enterobacterias hace suponer un grado adecuado de producción, manipulación y control de factores internos y externos del huevo. Así lo manifiesta (Rendueles, 2016), donde destaca que los factores químicos, ambientales, temperatura, formas de manejo influyen en la presencia y ausencia de contaminantes en el huevo que comprometen la calidad de este producto de consumo masivo. Del mismo modo (Castillo, 2017) rescata que la calidad del huevo a través de su cascara tienen una influencia sobre el grado de inocuidad del producto.

Por otro lado, en este trabajo de investigación pudo obtener información relacionada con la administración de antibióticos por parte de las granjas avícolas, como medidas preventivas para la ocurrencia de enfermedades bacterianas en sus predios. Así lo enmarca (Ferdous, 2019) que, mediante el desconocimiento y pobre administración, los productores agropecuarios sobre estiman el uso de antibióticos como una de las prácticas más efectivas para el control de enfermedades y acrecentar los niveles de producción de huevos, siendo el uso indiscriminado de antibióticos como uno de los factores principales y responsables del problema de resistencia y residuos de antibióticos. La presencia de estos residuos de antibióticos en el huevo conlleva una problemática en la resistencia de los diferentes patógenos a los antimicrobianos utilizados en la medicina humana (Founou & Founou, 2016).

Dado los resultados obtenidos en la presente investigación, se debe considerar seguir realizando planes de vigilancia de estos agentes infecciosos, así lo señala (Roberston, 2020) los animales de producción brindan importantes beneficios financieros a las personas; no obstante, las enfermedades infecciosas pueden presentarse con un gran impacto dramático en la morbilidad, mortalidad y productividad de estas poblaciones animales. Es aquí donde se enmarca el rol de la bioseguridad como la gestión de riesgo de que microorganismos, plagas ingresen, emerjan o propaguen, causando graves consecuencias en los animales, seres humanos, economía, medio ambiente y la comunidad (Australian Government, 2018).

Cabe señalar que, en el año del 2022, el país atravesó una enfermedad muy grave para el sector avícola como es la Influenza aviar de alta patogenicidad, siendo las entidades gubernamentales las encargadas de reforzar los planes de contingencia y aumentar los niveles de bioseguridad en las explotaciones avícolas, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2024). Así lo señala la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitaria que en el Ecuador

existe un organismo encargado del control y regulación en beneficio a la sanidad, cubriendo los procesos de inocuidad alimentaria, beneficiando tanto a productores como a consumidores (Agrocalidad, s.f.). De esta forma los planteles avícolas han mejorado sus estándares de bioseguridad exigidos por la entidad gubernamental lo cual se refleja en los análisis microbiológicos por parte del laboratorio.

Finalmente, es imprescindible seguir fortaleciendo las acciones sanitarias preventivas en el sector avícola, el cual cobra gran relevancia en cuanto a la calidad e inocuidad de un producto accesible y económico para el público de la provincia de Tungurahua, como además reforzar las técnicas avanzadas de diagnóstico en los laboratorios de la provincia de *Salmonella* y *E. coli* para el control sanitario en las granjas de producción y puntos de expendio.

7 CONCLUSIONES

A través de este estudio se pudo concluir que la prevalencia de *Salmonella* spp., y *Escherichia coli* no fue posible aislarla en huevos de granjas avícolas en la provincia de Tungurahua, durante los meses de marzo, abril y mayo fechas de recolección de este producto de consumo masivo, permitiendo conocer que este producto cumple con las disposiciones para el consumo humano.

No fue posible continuar con la identificación de resistencia antimicrobiana a través de la detección fenotípica factor limitante debido al no crecimiento esperado de los microorganismos en huevo. Sin embargo, al no haberse presentado en este estudio no significa que no se considere en algún momento su presencia y puedan verse implicados en brotes relacionados con infecciones alimentarias.

Se consideró el enfoque de un análisis multivariado de determinantes de asociación existente entre la presencia de *Salmonella* spp., o *Escherichia coli* con las variables analizadas. No obstante, la información obtenida brinda una valiosa información de perfiles epidemiológicos realizados en granjas de producción de huevos que pueden ser considerados en futuros estudios epidemiológicos para distribución de clusters y estudios estratificados.

Concluimos, además, que en las granjas existe una alta administración de antimicrobianos como es el caso de la Enrofloxacin como medida preventiva y como terapia en infecciones en aves, lo cual repercutiría en procesos relacionados con resistencia a los antimicrobianos que hoy en día cobra un interés de la salud pública a nivel mundial.

8 RECOMENDACIONES

Continuar con el desarrollo de estudios epidemiológicos en producción avícolas, donde se estudien la prevalencia, incidencia, mecanismos de resistencia antimicrobiana y el riesgo de patógenos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* en huevos, en otras regiones del país con el fin de proporcionar diferentes aspectos que involucren la contaminación de estos microorganismos en un producto de consumo masivo en el Ecuador.

Involucrar en estos estudios a diferentes entidades de salud encargadas de vigilar la inocuidad de los alimentos de consumo humano de manera continua, con el propósito de brindar una nueva perspectiva de vigilancia a través de métodos estandarizados de identificación de microorganismos como el de resistencia antimicrobiana.

Brindar capacitaciones al personal involucrado con la manipulación de huevos en granja, comerciantes en la provincia de Tungurahua, con la finalidad de dar a conocer puntos importantes sobre la inocuidad de este alimento y minimizar la posible contaminación cruzada de huevo en los sitios como granja y punto de venta.

Continuar realizando el control de los estándares de bioseguridad en granja por parte de las entidades gubernamentales como es el caso de AGROCALIDAD, para establecer procesos de mejora continua en granjas de producción de huevos y seguir brindando la calidad del producto comercializado.

Con los resultados obtenidos se recomienda a la Autoridad Sanitaria del Ecuador AGROCALIDAD implementar un plan de vigilancia y control en el tema microbiológico y específicamente en la vigilancia del producto primario en huevos y así tener un monitoreo específico.

Con la implementación de este proyecto se puede mencionar que las medidas de bioseguridad emitidas por la Autoridad Sanitaria AGROCALIDAD, están dando sus resultados por lo que se

recomienda a la autoridad que la implementación de las Buenas Prácticas Avícolas sea de manera obligatoria en el sector avícola.

9 BIBLIOGRAFÍA

AGROCALIDAD TUNGURAHUA. (2023). *CATASTRO AVICOLA*.

AGROCALIDAD Apoya al Sector Agropecuario – AGROCALIDAD.

(s. f.). <https://www.agrocalidad.gob.ec/quito-22-de-mayo-de-2020-la-agencia-de-regulacion-y-control-fito-y-zoosanitario-agrocalidad-aclara-que-no-se-ha-realizado-ninguna-importacion-de-productos-amparada-en-la-resolucion-0063-pues-so/>

Arias A. (2020). Determinacion de la prevalencia de Salmonella spp., en huevos de gallina tipo criollo comercializados en mercados municipales. Tesis de Pregrado Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca. Ecuador. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18591/1/UPS-CT008721.pdf>

Amancha, G., Celis, Y., Irazabal, J., Falconi, M., Villacis, K., Thekkur, P., Nair, D., Perez, F., & Verdonck, K. (2023). High levels of antimicrobial resistance in Escherichia coli and Salmonella from poultry in Ecuador. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, 1. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.15>

Australian Government. (2018). Biosecurity Matters. <https://www.agriculture.gov.au/biosecurity-trade/policy/australia/reports-pubs/biosecurity-matters/2018-01>

ISO 16649-2, 15 (2001). www.afnor.org

Castillo, R., Bueso, J., (2017). Análisis de las alteraciones de la cáscara del huevo de gallina. *NEREIS 10* [Marzo 2018], 137-147, ISSN: 1888-8550.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). *La Salmonella y los huevos*.
<https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-huevos.html>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023). *La Salmonella y los alimentos*.
<https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-and-food-sp.html#:~:text=La>
Salmonella es una bacteria, una infección y enfermarse gravemente.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *Performance Standards For Antimicrobial Susceptible Testing* (28 th edit).

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition* (Vol. 32, Issue 1).
<https://doi.org/M02-A11>

Corporación Financiera Nacional B.P. (2023). *PRODUCCIÓN DE HUEVOS DE AVES DE CORRAL*.
chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2023/fichas-sectoriales-1-trimestre/Ficha-Sectorial-Produccion-de-huevos.pdf>

D'Agostino, M., & Cook, N. (2016). Foodborne Pathogens. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 83–86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00326-3>

Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2015). Salmonella : A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284–293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>

Foley, S. L., Nayak, R., Hanning, I. B., Johnson, T. J., Han, J., & Ricke, S. C. (2011). Population

Dynamics of Salmonella enterica Serotypes in Commercial Egg and Poultry Production. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(13), 4273–4279. <https://doi.org/10.1128/AEM.00598-11>

Ferdous, J., Sachi, S., Noman, Z. A., Hussani, S. M. A. K., Sarker, Y. A., & Sikder, M. H. (2019). Assessing farmers' perspective on antibiotic usage and management practices in small-scale layer farms of Mymensingh district, Bangladesh. *Veterinary World/Veterinary World*, 12(9), 1441-1447. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1441-1447>

Founou, L. L., & Founou, R. C. (2016). Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country-Perspective. *Frontiers In Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01881>

Gast, R. K., Jones, D. R., Guraya, R., Anderson, K. E., & Karcher, D. M. (2021). Research Note: Contamination of eggs by Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium in experimentally infected laying hens in indoor cage-free housing. *Poultry Science*, 100(11), 101438. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101438>

AGROCALIDAD TUNGURAHUA. (2023). *CATASTRO AVICOLA*.

Amancha, G., Celis, Y., Irazabal, J., Falconi, M., Villacis, K., Thekkur, P., Nair, D., Perez, F., & Verdonck, K. (2023). High levels of antimicrobial resistance in Escherichia coli and Salmonella from poultry in Ecuador. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, 1. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.15>

Arias A. (2020). Determinacion de la prevalencia de Salmonella spp., en huevos de gallina tipo criollo comercializados en mercados municipales. Tesis de Pregrado Universidad Politecnica

Salesiana Sede Cuenca. Ecuador. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18591/1/UPS-CT008721.pdf

ISO 16649-2, 15 (2001). www.afnor.org

Castillo, R., Bueso, J., (2017). Análisis de las alteraciones de la cáscara del huevo de gallina. *NEREIS* 10 [Marzo 2018], 137-147, ISSN: 1888-8550.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). *La Salmonella y los huevos*. <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-huevos.html>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023). *La Salmonella y los alimentos*. <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-and-food-sp.html#:~:text=La Salmonella es una bacteria,una infección y enfermarse gravemente.>

Clinical and Laboratory Standard Institute. (2018). *Performance Standards For Antimicrobial Susceptible Testing* (28 th edit).

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition* (Vol. 32, Issue 1). <https://doi.org/M02-A11>

Corporación Financiera Nacional B.P. (2023). *PRODUCCIÓN DE HUEVOS DE AVES DE CORRAL*. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2023/fichas-sectoriales-1-trimestre/Ficha-Sectorial-Produccion-de-huevos.pdf

Denagamage, T., Jayarao, B., Patterson, P., Wallner-Pendleton, E., & Kariyawasam, S. (2015). Risk Factors Associated With Salmonella in Laying Hen Farms: Systematic Review of Observational Studies. *Avian Diseases*, *59*(2), 291-302. <https://doi.org/10.1637/10997-120214-reg>

D'Agostino, M., & Cook, N. (2016). Foodborne Pathogens. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 83–86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00326-3>

Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2015). Salmonella : A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, *8*(3), 284–293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>

Foley, S. L., Nayak, R., Hanning, I. B., Johnson, T. J., Han, J., & Ricke, S. C. (2011). Population Dynamics of Salmonella enterica Serotypes in Commercial Egg and Poultry Production. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(13), 4273–4279. <https://doi.org/10.1128/AEM.00598-11>

Gast, R. K., Jones, D. R., Guraya, R., Anderson, K. E., & Karcher, D. M. (2021). Research Note: Contamination of eggs by Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium in experimentally infected laying hens in indoor cage-free housing. *Poultry Science*, *100*(11), 101438. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101438>

Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2012). CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. PRODUCTOS CÁRNICOS CRUDOS, PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS - MADURADOS Y PRODUCTOS CÁRNICOS PRECOCIDOS - COCIDOS. REQUISITOS. Primera edición. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1338-3.pdf

Mafla, S. (2021). Estudio de la prevalencia de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* en huevos comerciales para consumo humano en el cantón Ibarra, para la creación de un banco de recursos microbianos de la PUCE-SI. *Axioma (Impresa)/Axioma (En Línea)*, *1*(25), 11-16. <https://doi.org/10.26621/ra.v1i25.683>

Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* -- Part 1: Detection of *Salmonella* spp, Pub. L. No. 6579–1, 6 55 (2014).

Mejia, L., Vela, G., & Zapata, S. (2021). High Occurrence of Multiresistant *Salmonella* Infantis in Retail Meat in Ecuador. *Foodborne Pathogens and Disease*, *18*(1), 41–48. <https://doi.org/10.1089/fpd.2020.2808>

Organizacion Mundial de la Salud (OMS). (2024). *Enfermedades de transmisión alimentaria*. https://www.who.int/es/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_1

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Ecuador y su despliegue territorial coordinado frente a la influenza aviar | FAO en Ecuador | Food and Agriculture Organization of the United Nations.
(s. f.). <https://www.fao.org/ecuador/noticias/detail-events/en/c/1639394/>

Peruzy, M. F., Proroga, Y. T. R., Capuano, F., Mancusi, A., Montone, A. M. I., Cristiano, D., Balestrieri, A., & Murru, N. (2022). Occurrence and distribution of *Salmonella* serovars in carcasses and foods in southern Italy: Eleven-year monitoring (2011–2021). *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1005035>

Rendueles. (2016). Industrias cárnicas, de pescado y del huevo. industrias alimentarias.

- Robertson, I. D. (2020). Disease Control, Prevention and On-Farm Biosecurity: The Role of Veterinary Epidemiology. *Engineering*, 6(1), 20-25. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.10.004>
- Sodagari, H. R., Wang, P., Robertson, I., Habib, I., & Sahibzada, S. (2020). Non-Typhoidal Salmonella at the Human-Food-of-Animal-Origin Interface in Australia. *Animals*, 10(7), 1192. <https://doi.org/10.3390/ani10071192>
- University of Minnesota Extension. (2024). *Handling eggs safely to prevent Salmonella*. <https://extension.umn.edu/preserving-and-preparing/handling-eggs-prevent-salmonella>
- V. T. Nair, D., Venkitanarayanan, K., & Kollanoor Johny, A. (2018). Antibiotic-Resistant Salmonella in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods*, 7(10), 167. <https://doi.org/10.3390/foods7100167>
- Varga, C., Rajić, A., McFall, M. E., Reid-Smith, R. J., Deckert, A. E., Pearl, D. L., Avery, B. P., Checkley, S. L., & McEwen, S. A. (2008). Comparison of antimicrobial resistance in generic Escherichia coli and Salmonella spp. cultured from identical fecal samples in finishing swine. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 72(2), 181–187. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18505208>
- Villagómez Estrada, S., Logacho Pilataxi, M., & Vinueza Burgos, C. (2017). Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de Salmonella enterica aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 38(1), 11–24. <https://doi.org/10.26807/remcb.v38i1.17>
- Vinueza, C., Cevallos, M., Ron, L., Bertrand, S., & De Zutter, L. (2016). Prevalence and diversity

- of Salmonella serotypes in ecuadorian broilers at slaughter age. *PLoS ONE*, *11*(7), 1–12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159567>
- Gobierno Provincial Tungurahua. (2024). *Ambato*. <https://www.tungurahua.gob.ec/demografia/>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2012). CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. PRODUCTOS CÁRNICOS CRUDOS, PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS - MADURADOS Y PRODUCTOS CÁRNICOS PRECOCIDOS - COCIDOS. REQUISITOS. Primera edición. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1338-3.pdf
- Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella -- Part 1: Detection of Salmonella spp, Pub. L. No. 6579–1, 6 55 (2014).
- Mejia, L., Vela, G., & Zapata, S. (2021). High Occurrence of Multiresistant Salmonella Infantis in Retail Meat in Ecuador. *Foodborne Pathogens and Disease*, *18*(1), 41–48.
<https://doi.org/10.1089/fpd.2020.2808>
- Organizacion Mundial de la Salud (OMS). (2024). *Enfermedades de transmisión alimentaria*.
https://www.who.int/es/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_1
- Peruzy, M. F., Proroga, Y. T. R., Capuano, F., Mancusi, A., Montone, A. M. I., Cristiano, D., Balestrieri, A., & Murru, N. (2022). Occurrence and distribution of Salmonella serovars in carcasses and foods in southern Italy: Eleven-year monitoring (2011–2021). *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1005035>
- Sodagari, H. R., Wang, P., Robertson, I., Habib, I., & Sahibzada, S. (2020). Non-Typhoidal Salmonella at the Human-Food-of-Animal-Origin Interface in Australia. *Animals*, *10*(7), 1192. <https://doi.org/10.3390/ani10071192>

- University of Minnesota Extension. (2024). *Handling eggs safely to prevent Salmonella*.
<https://extension.umn.edu/preserving-and-preparing/handling-eggs-prevent-salmonella>
- V. T. Nair, D., Venkitanarayanan, K., & Kollanoor Johny, A. (2018). Antibiotic-Resistant Salmonella in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods*, 7(10), 167. <https://doi.org/10.3390/foods7100167>
- Varga, C., Rajić, A., McFall, M. E., Reid-Smith, R. J., Deckert, A. E., Pearl, D. L., Avery, B. P., Checkley, S. L., & McEwen, S. A. (2008). Comparison of antimicrobial resistance in generic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. cultured from identical fecal samples in finishing swine. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 72(2), 181–187. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18505208>
- Villagómez Estrada, S., Logacho Pilataxi, M., & Vinueza Burgos, C. (2017). Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de *Salmonella enterica* aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 38(1), 11–24. <https://doi.org/10.26807/remcb.v38i1.17>
- Vinueza, C., Cevallos, M., Ron, L., Bertrand, S., & De Zutter, L. (2016). Prevalence and diversity of *Salmonella* serotypes in ecuadorian broilers at slaughter age. *PLoS ONE*, 11(7), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159567>

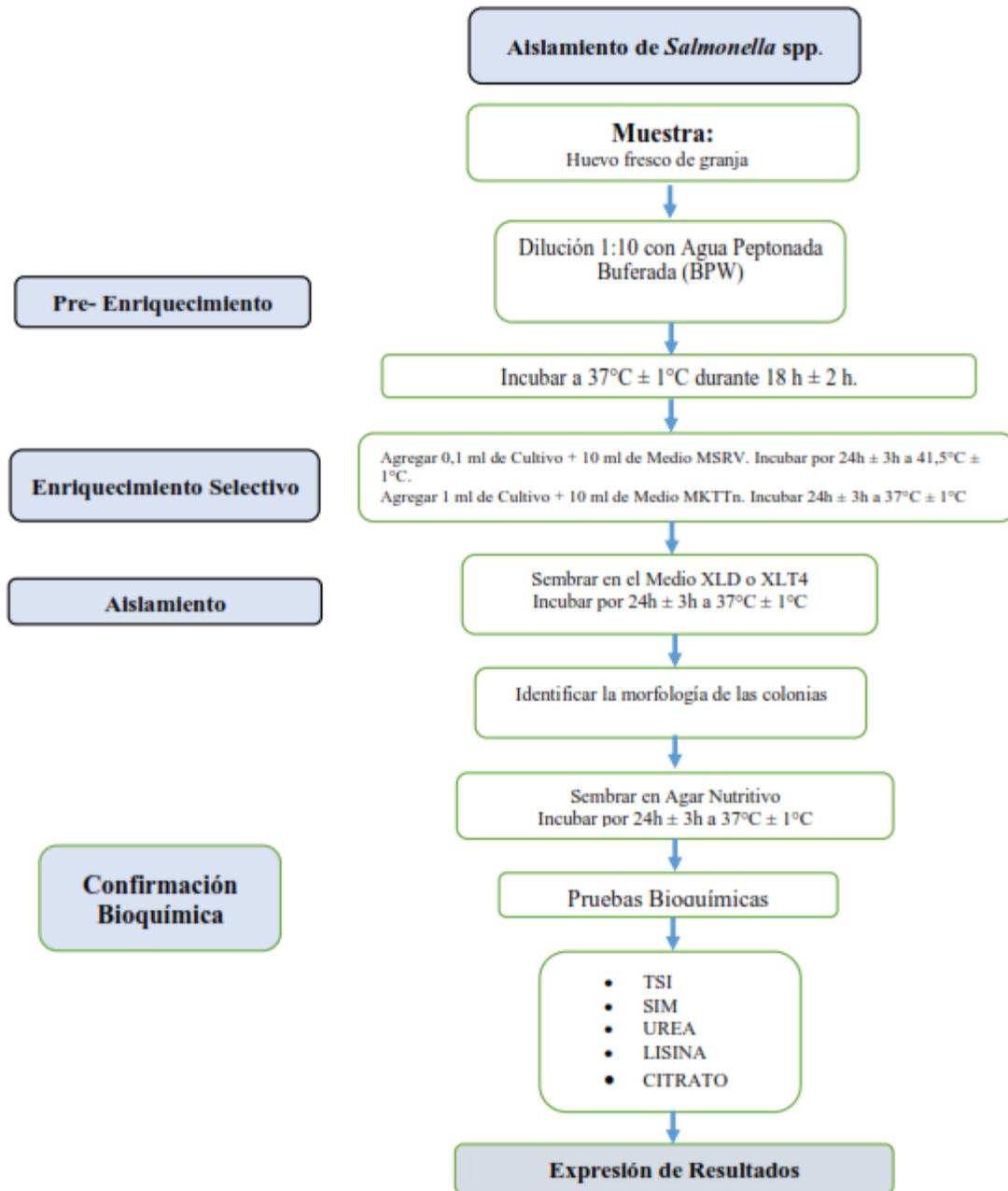
10 ANEXO

Tabla 7: Anexo 1: Avícolas actualizadas de la provincia de Tungurahua

Cantones de Tungurahua	AVICOLAS 2023	No. GRANJAS A MUESTREAR
AMBATO	77	20
BAÑOS DE AGUA		
SANTA	10	2
CEVALLOS	11	2
MOCHA	13	2
PATATE	14	2
PELILEO	125	28
PILLARO	9	2
SANTIAGO DE		
QUERO	5	1
TISALEO	4	1
Total general	268	60

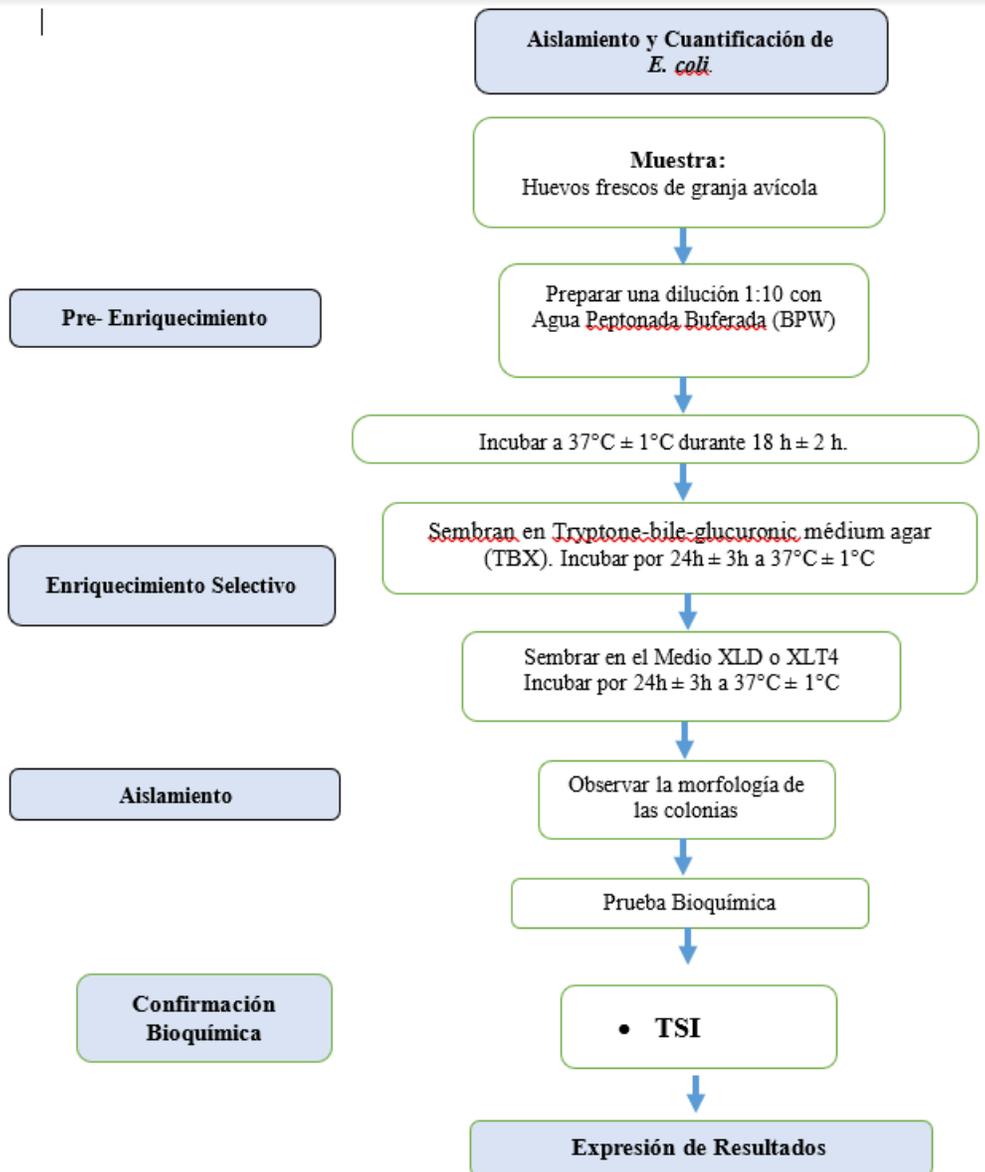
Fuente: AGROCALIDAD – TUNGURAHUA, 2023

FIGURA 1: ANEXO 2. Protocolo de aislamiento de *Salmonella* spp., en huevos frescos de granjas avícolas de la provincia de Tungurahua



Fuente: ISO, (International Organization for Standardization). Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* -- Part 1: Detection of *Salmonella* spp, Pub. L. No. 6579-1, 6 55 (2014).

FIGURA 2: ANEXO 3. Protocolo de aislamiento de *E. coli*, en huevos frescos de granjas avícolas de la provincia de Tungurahua



Fuente: ISO 16649-2, 2001.

Tabla 8: ANEXO 4. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades principales	2023			2024								
	Mes											
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Tema del Proyecto	x											
2. Planteamiento de objetivos y estrategias en la elaboración del proyecto		x	x									
3. Revisión y aprobación de Proyecto				x								
4. Recolección de Muestras y Encuesta en mercados						x	x					
5. Procesamiento de Muestras en laboratorio							x	x				
6. Tabulación de la información								x				
7. Analizar la información de todos los datos obtenidos								x				
8. Redacción de tesis					x	x	x	x				
9. Corrección del proyecto de tesis								x	x			
11. Defensa del proyecto de tesis									x			

FIGURA 3: ANEXO 5. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN PREDIOS AVÍCOLAS Y RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA



ANEXO 6. Acta (Charter Del Proyecto Final De Graduación (PGF)

ACTA (CHARTER DEL PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN (PGF)

Nombre y apellidos: Fidel Espartaco Altuna Vásquez

Lugar de residencia: Ambato, Ecuador

Institución:

Cargo / Puesto:

Información principal y autorización del PFG	
Fecha: 02/10/2023	Nombre del proyecto: Determinar la prevalencia de Salmonella spp. y E. coli, en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, resistencia antimicrobiana y los factores asociados al riesgo de infección.
Fecha de inicio del proyecto: 01/11/2023	Fecha tentativa de finalización:
Tipo de PFG: (tesina / artículo) Tesina	

Objetivos del proyecto:

General:

- Determinar la prevalencia de Salmonella spp. y E. coli, en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, resistencia antimicrobiana y los factores asociados al riesgo de infección.

Específicos:

- Determinar la prevalencia de Salmonella spp. y E. coli en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua, mediante cultivo bacteriológico a través de la NORMA ISO 6579.
- Identificación fenotípica de resistencia antimicrobiana de Salmonella spp. y E. coli.
- Analizar el grado de vinculación de los factores de riesgo asociados a la presencia de Salmonella spp y E. coli en huevos de gallina comercializadas en Granjas avícolas de la Provincia de Tungurahua.

Descripción del producto: La finalidad de realizar este proyecto es la de poder Tomar decisiones con los resultados obtenidos en el laboratorio esto con la finalidad de tomar acciones en las granjas y puntos de comercialización con esto se podrá de cierta manera garantizar productos inocuos para el consumo humano.

Necesidad del proyecto: Reactivos para el procesamiento de las muestras, autorizaciones para la toma de muestras en los lugares de comercialización de huevos. La implementación de metodología de laboratorio en los LDR de AGROCALIDAD Tungurahua.

Justificación de impacto del proyecto:
 Las enfermedades de transmisión alimentaria comúnmente conocidas como intoxicaciones alimentarias o ETAs, constituyen un grave problema de salud pública a nivel mundial. La ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, generan desde síntomas gastrointestinales hasta complicaciones que pueden conducir a la muerte (FDA, 2020; OMS, 2020). Por tal motivo el objetivo principal de esta investigación es poder obtener una fuente de datos epidemiológicos para investigaciones de seguimiento y tomar acciones de prevención frente a Salmonella spp, E.coli implicada en la transmisión de enfermedades relacionadas con alimentos de origen animal específicamente con los huevos de gallina. Para ello se determinará la prevalencia, los factores de riesgo asociados con la presencia de Salmonella spp., E.coli en los huevos de gallina y la detección molecular de genes de resistencia del microorganismo frente a las granjas avícolas de la provincia de Tungurahua.

Restricciones: La tomas de muestra en las granjas avícolas, la implementación de metodología en el laboratorio de Diagnóstico Rápido de AGROCALIDAD.

Entregables: Resultados de laboratorio

Identificación de grupos de interés:
 Cliente(s) directo(s): Avicultores de la Provincia deTungurahua
 .
 Cliente(s) indirecto(s): Consumidor final

Aprobado por Director MIA: Félix Modesto Cañet Prades	Firma:
Aprobado por profesora Seminario Graduación: MIA. Ana Cecilia Segreda Rodríguez	Firma:
Estudiante: <i>Fidel Espartaco Altuna Vásquez</i>	Firma 

FIGURA 4: ANEXO 5. RESULTADOS DE LABORATORIO DE LA AGENCIA

AGROCALIDAD

	LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA ÁREA DE MICROBIOLOGÍA Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-382-8800 ext.: 2067	PGT/MB/09-FO01 Rev. 3
	INFORME DE ANÁLISIS	
	Hoja 1 de 1	

Informe N°: LN-MB-024-0204

Fecha emisión Informe : 08/05/2024

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante²: Espartaco Altuna

Dirección²: La Victoria

Provincia²: Tungurahua

Cantón²: Ambato

Teléfono²: 0984061323

Correo Electrónico²: espartacoaltuna@yahoo.es

N° Orden de Trabajo: 18-058-2024

N° Factura/Memorando: 702-M

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra²: Huevos

Conservación de la muestra²: Refrigeración

Lote²: NA

Provincia²: Tungurahua

Cantón²: Patate

Parroquia²: Patate

Tipo de envase²: Recipiente de cartón

Responsable de toma de muestra²: Espartaco Altuna

Fecha de toma de muestra²: 22/04/2024

Fecha de recepción de la muestra: 24/04/2024

Fecha de inicio de análisis: 24/04/2024

Fecha de finalización de análisis: 08/05/2024

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/REFERENCIA ²
MB-24-0264	18-058-2024-4guas 1	Aerobios mesófilos totales	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	10 ⁴ – 5X10 ⁴
		E. Coli externo	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	< 50 – 50
		E. Coli interno	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	Ausencia
		Listeria monocytogenes	UFC	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia
		Salmonella spp.	Ausencia/pr esencia	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia

Analizado por: Jorge Irazábal; Observaciones: UFC: Unidades Formadoras de Colonias; * n x 10⁴ / 1g o ml: Número de colonias en 1 g o ml de muestra; < 1: no se presenta el crecimiento de colonias en placas.



Responsable Técnico por:
JORGE DAVID
IRAZABAL ALARCON

Responsable Técnico del Laboratorio de Bromatología y Microbiología (Área Microbiología)

Microb. Jorge Irazábal

ANALISTA DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 3

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.

Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.

²Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información (Datos)

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOO-SANITARIO	LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA ÁREA DE MICROBIOLOGÍA Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-382-8800 ext.: 2067	PGT/MB/09-FO01 Rev. 3
	INFORME DE ANÁLISIS	
	Hoja 1 de 1	

Informe N°: LN-MB-024-0265

Fecha emisión Informe : 08/05/2024

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante²: Espartaco Altuna

Dirección²: La Victoria

Provincia²: Tungurahua

Cantón²: Ambato

Teléfono²: 0984061325

Correo Electrónico²: espartacoaltuna@yahoo.es

N° Orden de Trabajo: 18-057-2024

N° Factura/Memorando: 702-M

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra²: Huevos

Conservación de la muestra²: Refrigeración

Lote²: NA

Provincia²: Tungurahua

Cantón²: Mocha

Parroquia²: Mocha

Tipo de envase²: Recipiente de cartón

Responsable de toma de muestra²: Espartaco Altuna

Fecha de toma de muestra²: 22/04/2024

Fecha de recepción de la muestra: 24/04/2024

Fecha de inicio de análisis: 24/04/2024

Fecha de finalización de análisis: 08/05/2024

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ²	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/REFERENCIA ²
MB-24-0265	18-057-2024-Mocha 2	Aerobios mesófilos totales	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	10 ⁴ – 5X10 ⁴
		E. Coli externo	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	< 50 – 50
		E. Coli Interno	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	Ausencia
		Listeria monocytogenes	UFC	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia
		Salmonella spp.	Ausencia/pr esencia	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia

Analizado por: Jorge Irazábal; Observaciones: UFC: Unidades Formadoras de Colonias; * n x 10⁰ / 1g o ml: Número de colonias en 1 g o ml de muestra; < 1: no se presenta el crecimiento de colonias en placas.



Responsable Técnico del Laboratorio de Bromatología y Microbiología (Área Microbiología)
 Microb. Jorge Irazábal

Responsable Técnico del Laboratorio de Bromatología y Microbiología (Área Microbiología)

Microb. Jorge Irazábal

ANALISTA DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 3

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.

Está prohibida la reproducción total o parcial de este Informe sin autorización del Laboratorio.

²Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información (Datos)

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOO-SANITARIO	LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA ÁREA DE MICROBIOLOGÍA Vía Interceánica Km. 14% y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-382-8800 ext.: 2067	PGT/MB/09-FO01
		Rev. 3
INFORME DE ANÁLISIS		Hoja 1 de 1

Informe N°: LN-MB-124-0266

Fecha emisión Informe : 08/05/2024

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante¹: Espartaco Altuna

Dirección²: La Victoria

Provincia²: Tungurahua

Cantón²: Ambato

Teléfono²: 0984061325

Correo Electrónico²: espartacoaltuna@yahoo.es

N° Orden de Trabajo: 18-056-2024

N° Factura/Memorando: 702-M

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra²: Huevos

Conservación de la muestra²: Refrigeración

Lote²: NA

Provincia²: Tungurahua

Cantón²: Mocha

Parroquia²: Mocha

Tipo de envase²: Recipiente de cartón

Responsable de toma de muestra²: Espartaco Altuna

Fecha de toma de muestra²: 22/04/2024

Fecha de recepción de la muestra: 24/04/2024

Fecha de inicio de análisis: 24/04/2024

Fecha de finalización de análisis: 08/05/2024

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/REFERENCIA ²
MB-24-0266	18-057-2024-Mocha 1	Aerobios mesófilos totales	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	10 ⁴ – 5X10 ⁴
		E. Coli externo	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	< 30 – 30
		E. Coli Interno	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	Ausencia
		Listeria monocytogenes	UFC	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia
		Salmonella spp.	Ausencia/pr esencia	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia

Analizado por: Jorge Irazábal; Observaciones: UFC: Unidades Formadoras de Colonias; * n x 10⁰ / 1g o ml: Número de colonias en 1 g o ml de muestra;
< 1: no se presenta el crecimiento de colonias en placas.



firmado digitalmente por:
JORGE DAVID
IRAZABAL ALARCON

Responsable Técnico del Laboratorio de Bromatología y Microbiología (Área Microbiología)

Microb. Jorge Irazábal

ANALISTA DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 3

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.

Esta prohibida la reproducción total o parcial de este Informe sin autorización del Laboratorio.

¹Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información (Datos)

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOO-SANITARIO	LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA ÁREA DE MICROBIOLOGÍA Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-382-8800 ext.: 2067	PGT/MB/09-F001
		Rev. 3
	INFORME DE ANÁLISIS	Hoja 1 de 1

Informe N°: LN-MB-04-0267

Fecha emisión Informe : 08/05/2024

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante²: Espartaco Altuna
 Dirección²: La Victoria
 Provincia²: Tungurahua Cantón²: Ambato
 Teléfono²: 0984061325
 Correo Electrónico²: espartacoaltuna@yahoo.es
 N° Orden de Trabajo: 18-055-2024
 N° Factura/Memorando: 702-M

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra²: Huevos Conservación de la muestra²: Refrigeración
 Lote²: NA
 Provincia²: Tungurahua
 Cantón²: Pillaro Tipo de envase²: Recipiente de cartón
 Parroquia²: Pillaro
 Responsable de toma de muestra²: Espartaco Altuna
 Fecha de toma de muestra²: 22/04/2024 Fecha de inicio de análisis: 24/04/2024
 Fecha de recepción de la muestra: 24/04/2024 Fecha de finalización de análisis: 08/05/2024

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ²	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/REFERENCIA ²
MB-24-0267	18-055-2024-Belén	Aerobios mesófilos totales	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	10 ⁴ – 5X10 ⁴
		E. Coli externo	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	< 50 – 50
		E. Coli interno	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	Ausencia
		Listeria monocytogenes	UFC	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia
		Salmonella spp.	Ausencia/pr esencia	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia

Analizado por: Jorge Irazábal; Observaciones: UFC: Unidades Formadoras de Colonias; * n x 10⁰ / 1g o ml; Número de colonias en 1 g o ml de muestra;
 < 1: no se presenta el crecimiento de colonias en placas.



Responsable Técnico del Laboratorio de Bromatología y Microbiología (Área Microbiología)
 Microb. Jorge Irazábal

ANALISTA DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 3

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.

Está prohibida la reproducción total o parcial de este Informe sin autorización del Laboratorio.

²Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información (Datos)

 AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL RÍO Y ZOO-SANITARIO	LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA ÁREA DE MICROBIOLOGÍA Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02-382-8800 ext.: 2067	PGT/MB/09-F001
	INFORME DE ANÁLISIS	Rev. 3 Hoja 1 de 1

Informe N°: LN-MB-024-0268

Fecha emisión Informe : 08/05/2024

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante¹: Espartaco Altuna
 Dirección²: La Victoria
 Provincia²: Tungurahua Cantón²: Ambato
 Teléfono²: 0984061325
 Correo Electrónico²: espartacoaltuna@yahoo.es
 N° Orden de Trabajo: 18-054-2024
 N° Factura/Memorando: 702-M

DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra²: Huevos Conservación de la muestra²: Refrigeración
 Lote²: NA
 Provincia²: Tungurahua Tipo de envase²: Recipiente de cartón
 Cantón²: Pillaro
 Parroquia²: Pillaro
 Responsable de toma de muestra²: Espartaco Altuna
 Fecha de toma de muestra²: 22/04/2024 Fecha de inicio de análisis: 24/04/2024
 Fecha de recepción de la muestra: 24/04/2024 Fecha de finalización de análisis: 08/05/2024

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/REFERENCIA ²
MB-24-0268	18-054-2024-San Antonio	Aerobios mesófilos totales	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	10 ⁴ – 5X10 ⁴
		E. Coli externo	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	< 50 – 50
		E. Coli interno	UFC	Siembra en placa	<1 UFC / 1 g o ml	Ausencia
		Listeria monocytogenes	UFC	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia
		Salmonella spp.	Ausencia/pr esencia	Siembra en placa	Ausencia	Ausencia

Analizado por: Jorge Irazábal; Observaciones: UFC: Unidades Formadoras de Colonias; * n x 10⁴ / 1g o ml: Número de colonias en 1 g o ml de muestra;
 < 1: no se presenta el crecimiento de colonias en placas.



JORGE DAVID
 IRAZABAL ALARCON

Responsable Técnico del Laboratorio de Bromatología y Microbiología (Área Microbiología)
 Microb. Jorge Irazábal
 ANALISTA DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 3

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.

Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.

¹Datos suministrados por el cliente: El laboratorio no se responsabiliza por esta información (Datos)