

### Carga microbiana inicial en huevos de gallinas (Initial microbial load in hen eggs)

Edison Fabián Macías Andrade<sup>1</sup>, Francisco Manuel Demera Lucas<sup>2</sup>, Ramón Tobías Rivadeneira García<sup>3</sup>, Ricardo Ramón Montesdeoca Párraga<sup>4</sup> Karen Johana Piloso Chávez<sup>5</sup>, Karla Fernanda Cevallos García<sup>6</sup>, María del Pilar Quiñones Alvarado<sup>7</sup>.

<sup>1</sup>Carrera de Agroindustria, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 vía Calceta – Morro – El Limón Sector La Pastora, Calceta, Manabí, Ecuador. e/mail: [macias\\_edison@yahoo.es](mailto:macias_edison@yahoo.es) ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5218-7116>

<sup>2</sup>Carrera de Agroindustria, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 vía Calceta – Morro – El Limón Sector La Pastora, Calceta, Manabí, Ecuador. e/mail: [franciscodemera@gmail.com](mailto:franciscodemera@gmail.com) ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3446-7771>

<sup>3</sup>Carrera de Agroindustria, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 vía Calceta – Morro – El Limón Sector La Pastora, Calceta, Manabí, Ecuador. e/mail: [tobias\\_rivadeneira@hotmail.com](mailto:tobias_rivadeneira@hotmail.com) ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8634-4386>

<sup>4</sup>Carrera de Agroindustria, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 vía Calceta – Morro – El Limón Sector La Pastora, Calceta, Manabí, Ecuador. e/mail: [ricardomontesdeoca1982@gmail.com](mailto:ricardomontesdeoca1982@gmail.com) ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6116-9975>

<sup>5</sup>Carrera de Administración de Empresas, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 vía Calceta – Morro – El Limón Sector La Pastora, Calceta, Manabí, Ecuador. e/mail: [karenpi29@gmail.com](mailto:karenpi29@gmail.com) ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6155-3552>

<sup>6</sup>Carrera de Tecnología Superior en Procesamiento de Alimentos, Instituto Superior Tecnológico Calazacón, Avenida Galo Luzuriaga y calle B, Santo Domingo, Ecuador. e/mail: [karlacevallos@tsachila.edu.ec](mailto:karlacevallos@tsachila.edu.ec) ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5335-3166>

<sup>7</sup>Carrera de Tecnología Superior en Procesamiento de Alimentos, Instituto Superior Tecnológico Calazacón, Avenida Galo Luzuriaga y calle B, Santo Domingo, Ecuador. e/mail: [mariaquinonez@tsachila.edu.ec](mailto:mariaquinonez@tsachila.edu.ec) ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1672-0104>

**Autor para correspondencia:** Ricardo Ramón Montesdeoca Párraga. Carrera de Agroindustria, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” Campus Politécnico El Limón Km 2 1/2 Vía al Morro, Calceta, Manabí, Ecuador. Teléfono: (593) 986351693. E-mail: [ricardomontesdeoca1982@gmail.com](mailto:ricardomontesdeoca1982@gmail.com)

### Resumen

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, en la Avícola El Jacalito, ubicada en el Km 14 de la vía Santo Domingo–Las Mercedes, en las coordenadas 0°12' 6" S y 79° 05'14.3" W, el cual tuvo como objetivo evaluar la carga microbiana inicial en huevos de gallinas. Para evaluar la carga microbiana inicial de huevos de gallina se realizaron los análisis microbiológicos determinando la carga microbiana inicial de *Salmonella spp*- NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1), *Escherichia coli* (interna y externa) - NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4), y Aerobios mesófilos - NTE INEN 1529-5 (ISO-4833). Estas muestras correspondieron a un huevo por

determinación microbiológica y se aplicó estadística descriptiva. Como resultado se obtuvieron que los huevos de gallinas de la granja Avícola El Jacalito, presentaron una carga microbiana en Aerobios mesófilos  $2 \times 10^3$  UFC; *E. coli* externa 4 UFC; *Salmonella* spp. 1 UFC y *E. coli* externa ausencia, cumpliendo con lo que estipula la NTE INEN 1973:2013.

**Palabras clave:** Microbiológico, Avícola, Aerobios, *Salmonella*

## Abstract

The present research work was developed in the province of Santo Domingo de los Tsáchilas, Santo Domingo canton, at Avícola El Jacalito, located at Km 14 of the Santo Domingo-Las Mercedes road, at coordinates  $0^{\circ} 12'00.6''$  S  $79^{\circ} 05'14.3''$ W which aimed to evaluate the initial microbial load in hen eggs. To evaluate the initial microbial load of chicken eggs, microbiological analyzes were performed determining the initial microbial load of *Salmonella* spp- NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1), *Escherichia coli* (internal and external) - NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4), and Mesophilic aerobes - NTE INEN 1529-5 (ISO-4833). These samples corresponded to an egg by microbiological determination and descriptive statistics were applied. As a result, it was obtained that the eggs of hens from the Avícola El Jacalito farm presented a microbial load in mesophilic aerobes  $2 \times 10^3$  CFU; External *E. coli* 4 CFU; *Salmonella* spp. 1 UFC and external *E. coli* absence, complying with the provisions of the NTE INEN 1973: 2013.

**Keywords:** Microbiological, Poultry, Aerobic, Salmonella

## Introducción

Es necesario indicar que los huevos de gallina recién obtenidos son estériles por un periodo de tiempo relativamente corto después de salir del ave, se puede en éstos encontrar numerosos y diferentes tipos de microorganismos en su superficie, que bajo determinadas condiciones pueden ingresar, multiplicarse y causar su deterioro. Además, una humedad elevada favorece en gran medida el desarrollo de microorganismos en la superficie y la consecuente penetración por las membranas internas (Jay, Loessner, & Amp Golden, 2015).

Dentro del grupo de los microorganismos que pueden contaminar los huevos de gallina en diferentes etapas, desde la producción hasta el consumo, se encuentran dos tipos de contaminaciones representativas como son la transovárica que sucede cuando los huevos son infectados durante su formación en los ovarios de las aves mientras que la transmisión horizontal se produce cuando son expuestos a un ambiente contaminado donde los microorganismos penetran la cáscara del huevo (Reu, et al., 2006).

Entre los tipos de microorganismos contaminantes del huevo de gallina se encuentran bacterias del género: Pseudomonas, Acinetobacter, Proteus, Aeromonas, Alcaligenes, Escherichia coli, Micrococcus, Salmonella, Serratia, Enterobacter, Flavobacterium y Staphylococcus (Jay, et al., 2015), generando patologías como la salmonelosis producida por especies de *Salmonella* spp, la forma de manifestarse en los seres humanos es como una gastroenteritis o enterocolitis aguda, los síntomas aparecen de 6 a 48 horas después de la ingesta del alimento (huevo) y pueden ser: cefaleas, dolor abdominal, diarreas, náuseas, vomito, fiebre y deshidratación y en ocasiones muerte por falta de tratamiento (Rincón, Ramírez, & Vargas, 2011).

Estudios revelan que la superficie del huevo de gallina es contaminada por *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, a partir de materia fecal o por una mala manipulación o por daños del mismo que puede ser una de las vías de entrada de esos microorganismos que deben ser controlados de forma eficaz (Rodríguez, 2016).

En este sentido a través del Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN (2013), se establece la NTE INEN 1973:2013 para huevos comerciales y ovoproductos, en donde consta los requisitos microbiológicos de los huevos frescos en recuento de *Escherichia coli* interna, *Escherichia coli* externa y *Salmonella spp.*, que representan parámetros de inocuidad del producto final.

## **Materiales y métodos**

El estudio se efectuó en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo, en la Avícola El Jacalito, ubicada en el Km 14 de la vía Santo Domingo–Las Mercedes, en las coordenadas 0° 12'00.6" S 79°05'14.3" W. Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de la Planta de Tratamiento de Agua de la Empresa Pública Municipal de Agua Potable y Alcantarillado (EPMAPA, S.A), ubicada en la ciudad de Santo Domingo.

## **Descripción del experimento**

### **Selección de huevos**

Se tomaron en las condiciones de bodega (T ambiente 23°C) después de los 21 días de vida útil (Coogan et al., 2004) y se ubicaron en cubetas de cinco espacios, dispuestas para 20 huevos cada una.

### **Toma de muestras**

Las unidades experimentales fueron evaluadas mediante toma de muestras al azar con un total de tres para la determinación microbiológica de acuerdo a los análisis propuestos (sin aplicación de biocidas).

### **Análisis microbiológico inicial**

Se tomaron muestras de la superficie de los huevos de gallina y se realizaron los análisis microbiológicos determinando la carga microbiana inicial de *Salmonella spp.* - NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1), *Escherichia coli* (interna y externa) - NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4), y Aerobios mesófilos - NTE INEN 1529-5 (ISO-4833). Estas muestras correspondieron a un huevo por determinación microbiológica.

### **Toma de muestras**

Éstas se tomaron a partir de las unidades experimentales y, fueron un total de cuatro para la determinación microbiológica de acuerdo a los análisis propuestos.

### **Análisis microbiológico final**

### **Variables evaluadas**

- *Salmonella spp.* - NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1)
- *Escherichia coli* (externa). - NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)
- Aerobios mesófilos – NTE INEN 1529-5 (ISO-4833)

- *Escherichia coli* (interna). – NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)

## **Métodos de análisis**

### **Determinación microbiológica de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* externa y Aerobios**

1. Preparación del agar peptona: Se pesó 5 g de peptona y se diluyó en 500 ml de agua destilada.
2. Preparación de muestras: Se distribuyó en 30 tubos de ensayo, 10 ml de agua peptonada. Se sellan cada uno con su tapa rosca respectiva.
3. Esterilización de tubos: Se esterilizó la solución peptonada contenida en los tubos de ensayos, colocándolos dentro de la autoclave de laboratorio, a 121 °C por 30 minutos. Se espera el tiempo suficiente hasta que baje la presión y temperatura de la autoclave (BIOFASE\_MODELO-101 KPa) para posteriormente sacar los matraces del equipo.
4. Manejo de las muestras: Se frotó con un hisopo estéril cada muestra (huevos identificados de acuerdo a tratamiento aplicado), de izquierda a derecha, de arriba hacia abajo, con movimientos circulares alrededor del objeto de estudio, para posteriormente introducir el hisopo en el tubo de ensayo. El procedimiento se repitió por cada tratamiento.
5. Siembra: Al transcurrir 30 minutos, se tomó con una micropipeta 1 ml de la muestra y se sembró cuidadosamente en el centro de las placas Petri Film-3M de determinación microbiológica rápida, de acuerdo al microorganismo estudiado.
6. Incubación de placas Petri Film-3M: Una vez lista las placas, se las llevó a la incubadora de laboratorio por un tiempo de 24 horas a 35 °C, tiempo y temperatura que favoreció para el crecimiento microbiano.
7. Conteo de microorganismos: Se procedió con el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cada una de las placas incubadas.

### **Determinación microbiológica de *Escherichia coli* interna**

1. Preparación de muestras: De la solución peptonada preparada con anterioridad, se tomó 10 ml que se diluyeron en 90 ml de agua destilada. Se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 100 ml. Posteriormente se taparon con torundas de algodón y gasas estériles, sellando finalmente con papel aluminio pegado con cinta maskin.
2. Esterilización de matraces: Se esterilizó la solución peptonada contenida en los matraces, colocándolos dentro de la autoclave de laboratorio, a 121 °C por 30 minutos. Se espera el tiempo suficiente hasta que baje la presión y temperatura de la autoclave para posteriormente sacar los matraces del equipo.
3. Manejo de las muestras: Se tomó cada unidad experimental (huevos de acuerdo a los tratamientos aplicados), rompiendo con un aza de platino previamente esterilizada de tal forma que se forme un orificio en la parte superior, que permita mezclar la clara y yema con un asa estéril (flameada en llama de un mechero de Bunzen). Se tomaron cinco gramos de la mezcla y se procedió a verter en el matraz con la sustancia esterilizada. El procedimiento se repitió por cada tratamiento.
4. Siembra: Al transcurrir 30 minutos, se tomó con una micropipeta 1 ml de la muestra y se sembró cuidadosamente en el centro de las placas Petri Film-3M de determinación microbiológica rápida, de acuerdo al microorganismo estudiado.
5. Incubación de placas Petri Film: Una vez lista las placas, se las llevó a la incubadora (Marca Faithful – Modelo DH4000BII) de laboratorio a una

temperatura de 35 °C por un tiempo de 30 minutos, parámetros que favorecieron el crecimiento microbiano.

6. Conteo de microorganismos: Se procedió con el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cada una de las placas incubadas.
7. Registro de datos obtenidos: Se registraron los datos en UFC, los que serán ingresados en el programa estadístico SPSS de diseño experimental para el análisis e interpretación de resultados.

## Análisis estadístico

Se efectuó estadística descriptiva para la presentación de los resultados obtenidos.

## Resultados y discusión.

### Carga microbiana del huevo sin aplicación de tratamientos

En la Tabla 1 se observa que la baja carga microbiana que presentó el huevo de gallina se debe a la aplicación adecuada de las Buenas Prácticas Avícolas (BPA) una vez que se realizó la postura y posterior recolección en la granja Avícola El Jacalito, cumpliendo sus parámetros de acuerdo a la norma INEN NTE 1973:2013.

**Tabla 1. Carga microbiana inicial del huevo**

Parámetro	Método de ensayo	Recuento (UFC)
Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5 (ISO-4833)	$2 \times 10^3$
<i>E. coli</i> (externa)	NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)	4
<i>E. coli</i> (interno)	NTE INEN 1529-8 (ISO 6887-4)	Ausencia
<i>Samonella</i> spp	NTE INEN 1529-15 (ISO 6579-1)	1

La contaminación de los huevos depende de factores como la composición química, la humedad, el pH, la temperatura y algún manejo que se haya dado (Rendueles, 2016). Las condiciones de producción y de manipulación (Félix, 2012) sumadas a ellas: el polvo, el suelo y las heces. Debido a lo anterior, es importante que las empresas avícolas cuenten con un manejo adecuado de los huevos y que el personal cumpla con las condiciones de Buenas Prácticas de Manufacturas.

El huevo está protegido contra la contaminación microbiana por la cáscara y membranas testáceas que actúan juntos como una barrera física eficaz contra la penetración bacteriana (Board & Tranter, 1995; De Reu et al., 2006; Jonchere et al., 2010 citado por Neira 2016). Los poros de la cáscara, que juegan un papel vital en el intercambio gaseoso entre el embrión en desarrollo y el medio ambiente, actúan de modo negativo sobre la capacidad de conservación del huevo facilitando la pérdida de agua, CO<sub>2</sub> y permitiendo el acceso de microorganismos desde el exterior de la cáscara (Félix, 2012).

Los poros también posibilitan la penetración microbiana, generando la contaminación del huevo (Hincke et al., 2012 citado por Neira). Algunos poros presentan un tamaño aproximado de 1 µm que permite en muchos casos que ingresen bacterias (Neira, 2016).

Según el Instituto de estudios del huevo (S.f) indica que el huevo puede llevar Salmonella en su cáscara, debido a que las gallinas, al igual que otros animales o incluso el hombre, pueden ser portadoras de la bacteria. La contaminación bacteriana del huevo fresco se puede dar por:

**Transmisión transovárica.** Si la *Salmonella* está presente en el ovario de la gallina, la yema puede contener bacterias desde su formación. Esta situación no es frecuente.

**Contaminación en la cloaca:** La superficie del huevo recién formada se contamina de una serie de microorganismos entéricos en el momento de la puesta, al quedar restos fecales en la cloaca.

**Contaminación posterior a la puesta, generalmente ambiental:** La superficie del huevo también se contamina por microorganismos del ambiente (polvo, suciedad de las superficies en contacto, etc.).

*Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* y *Staphylococcus aureus*, por su potencial para producir en algunos casos un cuadro de diarrea semejante a la producida por *Salmonella spp.*, ya que pueden causar infección e intoxicación alimentaria y por producir cuadros de diarrea (Loaiza, 2011).

El riesgo de padecer una intoxicación alimentaria por el consumo de huevos es baja, sin embargo, los nutrientes que hacen del huevo un alimento nutritivo para las personas que lo consumen, también puede llegar a ser un excelente medio de crecimiento para las bacterias (Yamane et al., 200).

La presencia de Aerobios mesófilos en huevos frescos de gallina de los cantones Mocha y Baños en el estudio realizado por Llerena (2019) cumplen con la Norma INEN 1973:2013 coincidiendo con los de este estudio, debido a lo anterior se puede concluir que el huevo de gallina criolla es apto para su consumo.

## Conclusiones

La carga microbiana inicial de los huevos de gallina fueron en Aerobios mesófilos  $2 \times 10^3$  UFC; *E. coli* externa 4 UFC; *Salmonella spp.* 1 UFC y *E. coli* externa ausencia, cumpliendo con lo que estipula la Norma NTE INEN 1973:2013 y estas buenas prácticas de manufacturas incidieron en la baja carga microbiana en los huevos de gallinas.

## Referencias bibliográficas

- Coogan, T., Jorgensen, F., Lappin-Scott, H., Benson, C., Woodward, M., & Humphrey, T. (2004). Flagella and curlifimbriae important for the growth of salmonella enterica serovars in hen egg. *Microbiology*, 1063-1071.
- Félix, M. (2012). Contaminación y microbiología del huevo. Disponible en <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/contaminacion-microbiologia-huevo-t32289.htm>
- Instituto de estudios del huevo. (S.f.) El huevo y los riesgos sanitarios. Disponible en [https://www.adiveter.com/ftp\\_public/Huevo%20y%20riesgos%20sanitarios.pdf](https://www.adiveter.com/ftp_public/Huevo%20y%20riesgos%20sanitarios.pdf)
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2015). *Modern food microbiology*. Las Vegas: Springer Science
- Llerena, P. (2019). Características bacteriológicas en huevos frescos de gallina de tres zonas geográficas. Tesis de grado. ESPOCH. Disponible en <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/13505/1/27T0425.pdf#page=49&zoom=100,84,512>
- Loaiza E, Juliana; Sánchez J, Miryan; Henao V, Santiago; Cardona-Castro, Nora. (2011). Detección de bacterias contaminantes en huevos para consumo en Medellín y su

área Metropolitana. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, vol. 6, núm. 2, julio-diciembre, , pp. 20-28. Universidad CES. Medellín, Colombia

- INEN NTE 1973. (2013). Huevos comerciales y ovoproductos. Requisitos. Disponible en <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1973-2.pdf>
- INEN NTE 1529-15. (2013). Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección. Disponible en <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-15-1R.pdf>
- Rendueles. (2016). Industrias cárnicas, de pescado y del huevo. industrias alimentarias.
- Reu, D. K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including Salmonella enteritidis. International Journal of Food Microbiology, 253-260.
- Rincón, D., Ramírez, R., & Vargas, J. (2011). Transmisión de Salmonella entérica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud, vol. 43, num. 2, 167-177.
- Rodríguez J., S. (2016). Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saneamiento (POES) - condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses. Guayaquil.
- Solís, C. (2016). Microbiota en huevos y derivados: Identificación y desarrollo. Tesis de grado. Universidad de Oviedo. Disponible en [https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/43610/TFM\\_CarmenNeiraSolis.pdf;jsessionid=6ECB7DD93084DDDC594E17EBCD2C3566?sequence=6](https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/43610/TFM_CarmenNeiraSolis.pdf;jsessionid=6ECB7DD93084DDDC594E17EBCD2C3566?sequence=6)
- Yamane, Y; Leonard, J; Kobatake, R; Awamura, N; Toyota, Y; Ohta, H. (2000). A case study on Salmonella enteritidis (SE) origin at three egg-laying farms and its control with an S. enteritidis bacterin. Avian Dis; 44(3):519-526.

**Recibidos:** 14/octubre/2020

**Aceptados:** 26/enero/2021