

# ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE *SALMONELLA* SPP. Y *ESCHERICHIA COLI* EN HUEVOS COMERCIALES PARA CONSUMO HUMANO EN EL CANTÓN IBARRA

Mishel Iveth Villarruel Montesdeoca<sup>1</sup>, Santiago Xavier Mafía Andrade<sup>1</sup>, Manly Enrique Espinosa Benavidez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pontificia Universidad Católica del Ecuador, sede Ibarra

\*Autor para correspondencia: sxmafia@pucesi.edu.ec

Recibido: 2021/04/08 Aprobado: 2021/06/28

DOI: <https://doi.org/10.26621/ra.v1i25.683>

## RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son un problema importante en la salud pública y la prevalencia de las mismas permite conocer la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, aplicando la metodología de muestreo no probabilístico en el cuál se muestrearon aleatoriamente ocho sitios de expendio, de los cuales cuatro corresponden al denominado sector A (cadenas comerciales) y los otros cuatro del sector B (distribuidores mayoristas) de huevo comercial en la ciudad de Ibarra, de este modo, se escogieron al azar 10 huevos por sitio de expendio, dando así un total de 80 huevos analizados. De cada huevo se tomaron muestras de clara, yema y cascarón para cultivos de *Salmonella* spp., así como de *Escherichia coli*. Como resultado del análisis microbiológico se obtuvo un total de 18 muestras positivas: uno en clara, dos en cascarón y siete en yema para *Salmonella* spp., y tres en cascarón, cuatro en yema y uno en clara para *Escherichia coli*.

Posteriormente a esta identificación, se realizó la extracción de ADN y por medio de la técnica de RFLP (fragmentos de restricción de longitud polimórfica, por sus siglas en inglés) se reveló la existencia de cuatro grupos de cepas para *Salmonella* spp., y cuatro grupos de cepas para *Escherichia coli*, mismos que arrojaron una prevalencia del 4,16% y 3,33% respectivamente, siendo el sector B (distribuidores mayoristas) el de mayor prevalencia. En conclusión, los sitios de expendio del Cantón Ibarra demostraron que en un 62% no cumplen con las medidas higiénicas y sanitarias establecidas en la NTE INEN 1973:2013.

**Palabras clave:** *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, RFLP, ETA

## ABSTRACT

Food-borne diseases (FDs) are an important public health problem and their prevalence allows us to know the hygienic-sanitary quality of food. A descriptive cross-sectional study was carried out, the non-probabilistic sampling methodology was applied in which eight retail outlets were randomly sampled, of which four correspond to the so-called sector A (commercial chains) and the other four from sector B (distributors). wholesalers) of commercial eggs in the city of Ibarra, thus, 10 eggs were randomly chosen per place of sale, thus giving a total of 80 eggs analyzed. White, yolk, and shell samples were taken from each egg for *Salmonella* spp. And *Escherichia coli* cultures. As a result of the microbiological analysis, a total of 18 positive samples were obtained, one in white, two in shell, and seven in yolk for *Salmonella* spp., And three in shell, four in the yolk, and one in white for *Escherichia coli*. After this identification, DNA extraction was carried out and using the RFLP technique (Restriction Fragments Length Polymorphism), the existence of four groups of strains for *Salmonella* spp., And four groups of strains for *Escherichia coli*, were revealed. Which yielded a prevalence of 4.16% and 3.33% respectively, being sector B (wholesale distributors) the one with the highest prevalence. In conclusion, the points of sale of the Cantón Ibarra demonstrated that 62% do not comply with the hygienic sanitary measures established in the NTE INEN 1973: 2013.

**Keywords:** *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, RFLP, FDs.

## INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016), y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2019) exponen su intranquilidad por el nivel de inocuidad de los alimentos obtenidos de fuentes primarias; así, en los últimos decenios se ha registrado un incremento de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), considerándose entre las enfermedades centrales de notificación obligatoria.

La Salmonelosis es una de las principales enfermedades zoonóticas que afecta a las aves, y puede ser originada en el interior de la gallina o por contacto con superficies contaminadas en el lugar de producción; por otro lado, la contaminación por *Escherichia coli* implica la interacción entre humanos, animales y plantas. Una toxiinfección en el ser humano por cualquiera de estos dos microorganismos provoca síntomas como diarrea, fiebre, náuseas, entre otros (Moro, 2012).

En el Ecuador existe un estimado de muertes anuales de 1.000 personas por Salmonelosis aguda a causa del efecto combinado entre la malnutrición y la infección (Acosta, 2016). Así mismo, cientos de miles de personas se hallan afectados a causa de la *Escherichia coli* produciendo muertes y enfermedad constantes; además, en los últimos tiempos, los brotes han ido incrementándose, originando de esta forma un impacto sobre la seguridad alimentaria (FAO, 2019). Actualmente existen pocos aportes científicos sobre la prevalencia de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y otras enterobacterias en huevos, debido a que los estudios de aislamiento bacteriano resultan costosos, lentos y complicados.

Hoy en día existen varias técnicas de detección de microorganismos en alimentos propuestos por: USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos), ISO (Organización Internacional de Normalización), NTE INEN (Servicio Ecuatoriano de Normalización). En la presente investigación se desarrolló las técnicas propuestas por la NTE INEN 1973:2013 con la aplicación de métodos PCR y RFLP para la identificación de *Salmonella* spp., y *Escherichia coli* tal como lo han desarrollado en sus estudios los autores Rojas; (2017), Acosta; (2016) y Montero; (2016).

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).

Partiendo de esta premisa, se justifica la importancia de la presente investigación, debido a que, determinada la prevalencia de contaminantes bacterianos, se establece la calidad del huevo para beneficio del consumidor, ya que como consecuencias de ingerir un producto contaminado se generan enfermedades trascendentales que generan un impacto social en la salud pública además de ocasionar un elevado gasto económico llegando a provocar incluso la muerte en los casos más graves.

## MÉTODOS

### Determinación de la muestra

Para determinar la muestra en la presente investigación se obtuvo un listado de más de 300 expendios otorgado por la ARCSA (Agencia

de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria), de los cuales mediante muestreo no probabilístico se tomaron las muestras al azar, siguiendo la metodología de Hernández (2014); para estudios exploratorios las muestras no probabilísticas pueden también llamarse muestras dirigidas, pues la elección de casos depende del criterio del investigador; como se muestra en la figura 1 se replicó la técnica de recolección de diversos autores (Acosta, 2016); (Estrada y Valencia, 2012); (Rojas, 2017).

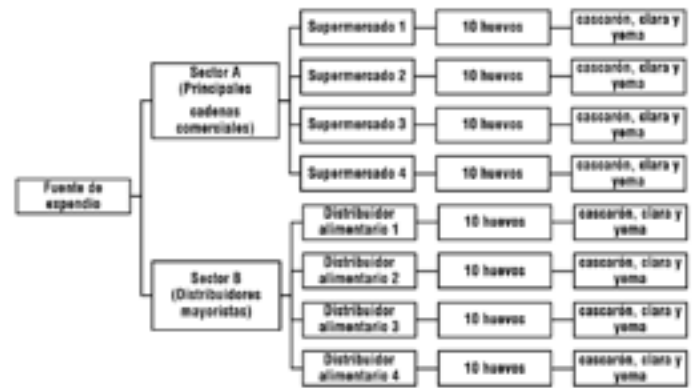


Figura 1. Definición y recolección de las muestras

### Ubicación del área de estudio

La investigación experimental se llevó a cabo en el cantón Ibarra provincia de Imbabura (Ecuador), en diferentes expendios correspondientes a cuatro distribuidores mayoristas y cuatro cadenas comerciales, como se detalla en la figura 2.



Figura 2. Sitios de muestreo, por ArcGIS (2020)

### Variables dependientes evaluadas

Prevalencia de *Salmonella* spp., y *Escherichia coli*.

### Análisis microbiológico y conteo de UFC (Unidades Formadoras de Colonias)

Inicialmente se preparó Agar EMB, Agar SS, Agua peptonada y caldo nutritivo; se procedió a realizar la siembra de las muestras en las cajas o placas de Petri, siguiendo la metodología descrita en la NTE INEN 1973:2013; se realizó la siembra en un medio estéril, colocando 1 ml de muestra diluida (1:10000 ó x10<sup>4</sup>) de clara, yema y cascarón. Se incubó en la estufa a 37°C durante 24 a 48 horas para su posterior análisis en el contador de colonias. En total se evaluó 80 huevos de gallina en los componentes del huevo clara, yema y cascarón.

### Aislamiento de colonias de *Salmonella* spp., y *Escherichia coli*

Para realizar la confirmación del crecimiento de colonias de *Salmonella* spp., y *Escherichia coli* se evaluó el conteo de UFC en las placas Petri con agar SS y agar EMB del fabricante Acumedia respectivamente; se tomó las colonias para depositar posteriormente en tubos con caldo nutritivo (NutrientBroth) del fabricante Titan Biotech LTD., a 37°C y se dejó las muestras en el refrigerador mínimo durante 48 horas hasta proceder a la extracción de ADN, siguiendo el procedimiento expuesto por Loaiza *et al* (2011).

### Extracción de ADN

Con las colonias de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* previamente aisladas y cultivadas en caldo nutritivo, se procedió a la extracción de ADN de bacterianas gramnegativas con el uso del Mini kit de ADN genómico PureLink™ (Invitrogen, 2018).

### Análisis molecular

A través de la PCR (Reacción en cadena de polimerasa, por sus siglas en inglés) se procedió a la amplificación del gen ADN<sub>r</sub> 16s, en donde se usó Primers (iniciadores) universales para el dominio de bacterias, 907r y P3.

Las temperaturas y ciclos con los que se trabajó para cada etapa fueron: desnaturalización inicial a 94°C durante 5 minutos, seguido por otros 30 ciclos de desnaturalización a 94°C con 30 segundos de duración, alineamiento a 55,6°C durante 45 segundos y elongación a 72°C por 90 segundos; por último, una extensión final a 72°C durante 90 segundos (Pérez de Saltos, 2010).

Posteriormente los productos de la PCR fueron evaluados en gel de agarosa al 1%; se ajustó los polos positivos y negativos y se calibró el voltaje y el tiempo a 90V por 40 minutos respectivamente. Una vez listo el gel se llevó hasta el transiluminador y se visualizó el tamaño de los productos amplificados.

Para realizar el procedimiento de RFLP se usó cinco enzimas de restricción: ApaI, SacII, HindIII, Anza 11 EcoRI, Anza 65 MspI replicando la técnica de la investigadora Rojas (2017) para hacer los cortes respectivos; se colocó en gel al 1% y se tomó fotografías, las cuales fueron procesadas mediante el software "primer 7" para realizar los análisis de similitud. Las muestras se compararon para saber si son o no cepas similares.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Prevalencia de *Salmonella* spp.

En la investigación se constató que, de los 240 cultivos microbiológicos, el 4,16% (10 muestras) presentan contaminación con *Salmonella* spp., como se muestra en la figura 3.

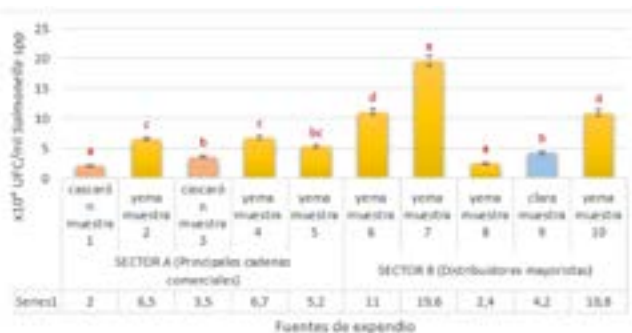


Figura 3. Promedio de UFC/ml de *Salmonella* spp., en las fuentes de expendio de huevo comercial de gallina

Las fuentes de expendio del cantón Ibarra presentan contaminación de la bacteria *Salmonella* spp. Sin embargo, el sector B desarrolla una mayor prevalencia en comparación al sector A; es así que se obtiene como promedio un total de 7,19 x10<sup>4</sup> UFC/ml y un rango de 2 x10<sup>4</sup> UFC/ml hasta 19,6 x10<sup>4</sup> UFC/ml.

Como se puede apreciar en la figura 3, se encontró mayor prevalencia de *Salmonella* spp. en el Sector B correspondiente a los distribuidores mayoristas; esto se puede deber a que el producto de estas fuentes no cumple con las medidas sanitarias ni de bioseguridad adecuada ya sea en el sitio de producción, transporte, almacenamiento, etc. Son muchos los factores que definen la contaminación del huevo a nivel de cascarón, clara y especialmente yema (en donde se encontró mayor contaminación).

Existe diferencia estadística entre el sector A y el sector B ya que los contajes de UFC/ml para *Salmonella* spp., son diferentes, y van de la "a" hasta la "e"; es así que se acepta la hipótesis alternativa, la cual establece la desigualdad de valores entre sectores. Además, tanto en el sector A como en el B existe una correlación de R<sup>2</sup> mayor a 0,5 con respecto al promedio de UFC/ml de *Salmonella* spp., indicando una correlación lineal significativa.

### Prevalencia de *Escherichia coli*

En la investigación se constató que, de los 240 cultivos microbiológicos, el 3,33% (ocho muestras) presentan contaminación con *Escherichia coli* como se muestra en la figura 4.

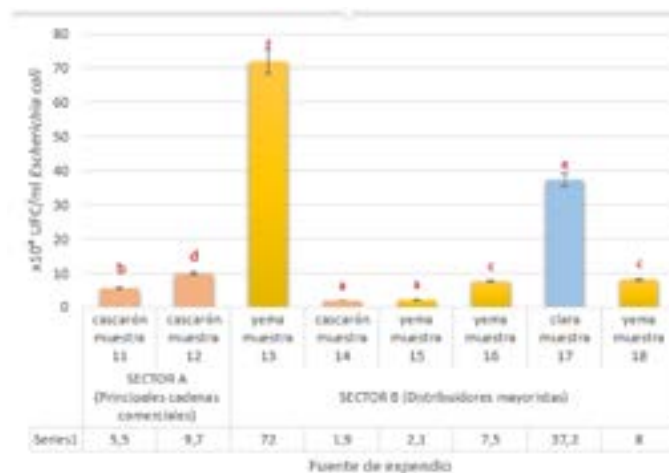


Figura 4. Promedio de UFC/ml de *Escherichia coli*, en las fuentes de expendio de huevo comercial de gallina

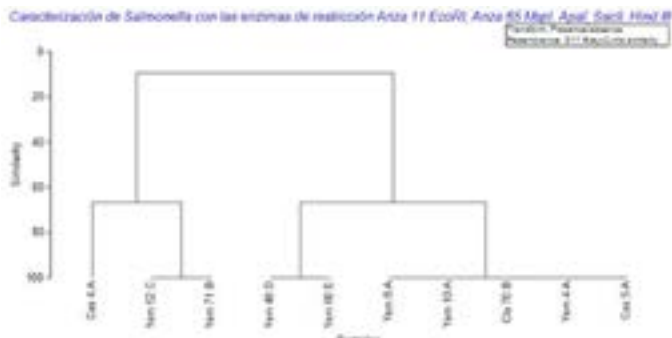
Se obtuvo mayor prevalencia en el sector B, específicamente por la muestra de yema 48 con 72 x10<sup>4</sup> UFC/ml y la muestra de clara 70 con 37,2 x10<sup>4</sup> UFC/ml; la explicación a estos resultados se halla en la información proporcionada por el Médico Veterinario Vásquez (2011), quién en su publicación detalla que cuando la cutícula no ejerce su función de impermeabilidad y efecto tapón de los poros del cascarón del huevo, la *Escherichia coli* invade su contenido interno, aunque hay otros factores que predisponen a esta contaminación de forma lateral, por medio de la inadecuada manipulación del huevo recién puesto, mal desarrollo de la recolección, incorrecta desinfección e irregulares condiciones de almacenamiento.

Existe diferencia estadística entre el sector A y el sector B ya que los contajes de UFC/ml para *Escherichia coli* son diferentes, y van de la "a" hasta la "f"; es así que se acepta la hipótesis alternativa, la cual

establece la desigualdad de valores entre sectores. Además, tanto en el sector A como en el B existe una correlación de R2 mayor a 0,5 con respecto al promedio de UFC/ml de *Escherichia coli*, indicando una correlación lineal significativa.

**Análisis de similitud para *Salmonella* spp.**

Como se puede observar en la figura 5, para determinar la similitud y abundancia de cepas de una misma especie se hizo un agrupamiento de similitud de Bray-Curtis, indicándose cuatro grupos.



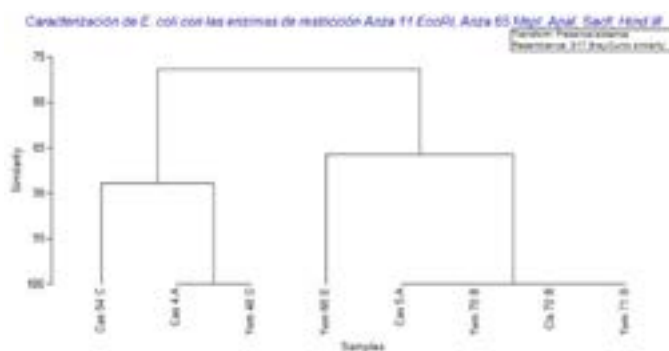
**Figura 5.** Agrupamiento de similitud de Bray-Curtis de 10 muestras de *Salmonella* spp., caracterizadas con la enzima de restricción Anza 11 EcoRI, Anza 65 Mspl, Apal, SacII, Hind III; por Software Primer 7

La figura 6 indica un agrupamiento de similitud MDS no métrico, en donde se puede observar con porcentajes el índice de similitud de cepas pertenecientes a *Salmonella* spp. Los agrupamientos presentan similitudes del 40% al 80%; por lo tanto, se deduce que dichas muestras comparten la misma cepa de *Salmonella* spp. Además, se deduce que la contaminación se debe a un mal manejo en los procesos de la cadena alimentaria del huevo (Hernández *et al.*, 2018).



**Figura 6.** Agrupamiento de similitud MDS no métrico de 10 muestras de *Salmonella* spp., caracterizadas con la enzima de restricción Anza 11 EcoRI, Anza 65 Mspl, Apal, SacII, Hind III; por Software Primer 7

En la figura 7 se presentan cuatro grupos de acuerdo con el agrupamiento de similitud de Bray-Curtis.



**Figura 7.** Agrupamiento de similitud de Bray-Curtis de 8 muestras de *Escherichia coli* caracterizadas con la enzima de restricción Anza 11 EcoRI, Anza 65 Mspl, Apal, SacII, Hind III; por Software Primer 7

En la figura 8 se visualiza la segregación de diversos grupos con similitudes del 75% y 85%, lo que indica la homogeneidad de cepas existentes en el género *Escherichia* presente en huevos de gallina.

Cabe recalcar que la aplicación de este método para determinar similitudes entre agrupamientos (en este caso, de cepas de un género de bacteria) es una caracterización tentativa que no representa el 100% de eficacia ya que las bacterias mutan constantemente sus serotipos o cepas (Bonfil, 2007).



**Figura 8.** Agrupamiento de similitud MDS no métrico de 8 muestras de *Escherichia coli* caracterizadas con la enzima de restricción Anza 11 EcoRI, Anza 65 Mspl, Apal, SacII, Hind III; por Software Primer 7

La prevalencia de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* se da más en la yema de huevo ya que 11 muestras presentaron contaminación con estos microorganismos, en comparación con la clara (que solo arroja dos muestras contaminadas con *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* respectivamente) y cascarón (cinco muestras contaminadas con menor contenido de UFC de ambas bacterias). Moro (2012) indica que las yemas incorporan y “secuestran” los residuos durante semanas anteriores a la ovulación; esto se debe a la capacidad de los ovarios de las gallinas para captar contaminantes; así, estos ingresan a la yema por medio del alimento que las gallinas consumen, y por ende a los productos obtenidos de las mismas. Sin embargo y adicional a lo indicado, Loaiza *et al* (2011) recalcan que por lo general las bacterias como *Salmonella* spp., se localizan en la clara pero, a medida que el huevo envejece, las membranas de la yema se deterioran y permiten el ingreso de microorganismos; asimismo, la temperatura ambiente favorece su proliferación, por lo que se considera que lo ideal es mantener el producto en refrigeración.

Gibert (2010) destaca que han desarrollado estudios sobre la similitud que pueden presentar cepas patógenas de *Escherichia coli* aviaries (APEC) y de origen humano, que causa brotes toxiinfecciosos, y advierte

que sí tienen la capacidad de transmitir una zoonosis, ya que incluso comparten serotipos y factores de virulencia.

En proyectos de investigación sobre *Salmonella* spp., Suárez *et al* (2000) acotan que los huevos de gallina son un vector principal para la transmisión de *Salmonellosis* en humanos; por ende, es importante estudiar todos los factores que intervienen en la transmisión de la bacteria al huevo para encontrar los ejes fundamentales de su patogenicidad con relación a las afecciones humanas. Esto es de gran impacto social ya que a partir de ahí se podría impartir e implementar planes de prevención para reducir las enfermedades por *Salmonellosis*.

## CONCLUSIONES

El 62% (5/8) de los sitios de expendio, tanto del sector A como del sector B, no cumplen con las condiciones higiénico-sanitarias para el consumo seguro de huevos de gallina en la ciudad de Ibarra, ya que los huevos presentaron contaminación con *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en clara, yema y cascarón.

Se determinó la prevalencia de *Salmonella* spp., obteniendo como resultado el 12,5% huevos contaminados, en donde la clara representa el 1,25% de contaminación, la yema representa el 8,75% y la contaminación en cascarón representa el 2,5%. En total, el sector B (distribuidores mayoristas) es el que mayor contaminación presentó. La muestra de yema número 7; fue la de mayor carga contaminante con una presencia de  $19,6 \times 10^4$  UFC/ml de *Salmonella* spp. Este huevo, de haber sido consumido por una persona, entrañaría un patente riesgo de infección según estos indicadores.

Se determinó la prevalencia de *Escherichia coli*, obteniendo como resultado el 10% huevos contaminados, en donde la clara representa el 1,25% de contaminación, la contaminación en yema representa el 5% y la contaminación en cascarón representa el 3,75% siendo nuevamente el sector B (distribuidores mayoristas) el que mayor contaminación presentó. La muestra de yema número 13 fue la de mayor carga contaminante con una presencia de  $72 \times 10^4$  UFC/ml de *Escherichia coli*. Dicho producto hubiera entrañado un riesgo sensible para el consumidor.

De acuerdo con el análisis de similitud desarrollado para *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* se definen cuatro grupos de cepas para cada género.

## Recomendaciones

Para determinar el origen de contaminación de los huevos comerciales, se recomienda continuar un estudio en campo, el cual debe seguir el rastro en toda la cadena productiva, empezando por realizar el control de salud, manejo, alojamiento, alimentación, bioseguridad y sanidad de los animales en granja; producción y recepción del huevo; almacén de envases y embalajes; cinta transportadora, cámara de miraje, pesaje y clasificación; embazado y embalado; almacenamiento, transporte y distribución.

Para ampliar la información epidemiológica de las enterobacterias estudiadas, se debe aumentar el número de muestras, número de expendios y otros mercados en la ciudad de Ibarra.

## Agradecimientos

La primera autora expresa: Mi especial agradecimiento al Dr. Manly Espinosa Benavides<sup>+</sup>, quien fue el principal impulsor para la realización de este trabajo de investigación; quiero expresarle mi admiración por ser un excelente profesional, hombre de lucha, perseverancia y constancia; es para mí un ejemplo de vida.

**Contribución de los autores** Mishel Iveth Villarruel Montesdeoca: Autora principal, elaboración de experimentos y toma de muestras, elaboración del escrito y correcciones; Santiago Xavier Mafla Andrade: Autor secundario, elaboración de experimentos y toma de muestras, elaboración del escrito y correcciones; Manly Enrique Espinosa Benavidez (+) elaboración de experimentos y toma de muestras.

**Conflicto de intereses:** no existe conflicto de interés.

## REFERENCIAS

- Acosta, F. (2016). *Caracterización de Salmonella (Salmonella spp) en huevos frescos de gallinas mediante la utilización del sistema microgen gn a en la parroquia de Cotaló* (Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato). <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24288/1/Tesis%2068%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20436.pdf>
- Andrade, J. (2016). *Efecto de los metales pesados sobre a microbiota acuática bacteriana en el río Guayllabamba en el sector de la comunidad corazón del Chontal-Intag* (Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra). <http://axioma.pucesi.edu.ec/index.php/axioma/article/view/539>
- Bonfil, C. (2007). Cambios en la estructura de la asociación de diatomeas epifitas de *Macrocyctis pyrifera* (L.) C. Ag. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-71512008000100005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-71512008000100005)
- Estrada, J., y Valencia, B. (2012). *Determinación de Salmonella spp. En huevos frescos de gallina en los principales mercados de la Ciudad de Quito*. (Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador). <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/handle/25000/599>
- FAO. (2019). Prevención de la E. coli en los alimentos: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agns/pdf/Preventing\\_Ecoli\\_es.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf)
- Gibert, M. (2010). *Detección y caracterización de aislados de Escherichia coli de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras* (Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid). <https://eprints.ucm.es/10514/1/T31540.pdf>
- Hernández, L., Sanjuán, E., Millán de Larriva, R., Carrascosa, C., Quintana, M., y Pérez, E. (2018). Propuesta de sistemática para el control de la calidad bromatológica de huevos de Gran Canaria en el entorno APPCC. *Facultad de Veterinaria de la ULPGC*, 18, pp.1-5. [https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/9910/1/0280574\\_00004\\_0003.pdf](https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/9910/1/0280574_00004_0003.pdf)
- Hernandez, R. (2014). *Metodología de la investigación*. México D.F: Mc Graw Hill.
- Invitrogen. (2018). PureLink® Genomic DNA Kits. Obtenido de Thermo Fisher Scientific: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/K182001>
- Loaiza, J., Sánchez, M., Henao, S., y Cardona, N. (2011). *Detección de bacterias contaminantes en huevos para consumo en Medellín y su área Metropolitana*. (Tesis de pregrado, Universidad CES). <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/2037/1945>

- Montero, A. (2016). *Caracterización de salmonella (Salmonella spp) en huevos frescos de gallinas mediante la utilización del sistema microgen gn a en la parroquia Cotaló*. (Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato). <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24288/1/Tesis%2068%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20436.pdf>
- Moro, F. (20 de Julio de 2012). Contaminación y microbiología del huevo. <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/contaminacion-microbiologia-huevo-t32289.htm>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (15 de Agosto de 2016). Enfermedades de transmisión alimentaria. <http://www.alimentosecuador.com/2015/11/17/enfermedades-de-transmision-alimentaria/>
- Promega. (2017). Genomics Essentials. *PROMEGA BIOTECH*, 68.
- Rojas, C. (2017). *Estudio de la prevalencia de Salmonella y E.coli, en pollos de engorde de planteles avícolas del cantón Ibarra, mediante análisis microbiológico, PCR y RFLP, para la propuesta de un plan de manejo sanitario* (Tesis de pregrado, PUCESI).
- Suárez, M., y Jorge, M. (2000). *Presencia de Salmonella serovariedad Enteritidis en productos de origen avícola y su repercusión en salud pública*. (Tesis de pregrado, Universidad de Antioquia). <http://www.iatreia.udea.edu.co/index.php/iatreia/article/viewFile/349/271>
- ThermoFisher. (2020). Anza Restriction Enzyme Finder Tool. <https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-science/cloning/restriction-enzyme-digestion-and-ligation/restriction-enzyme-cloning/anza-enzyme-selection-tool.html>
- Vásquez, C. (7 de Julio de 2011). Escherichia coli patógeno aviar. Recuperado de <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/escherichia-coli-patogeno-aviar-t28854.htm>