



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Análisis del efecto del glutaraldehído y de una mezcla de compuestos de ácido peracético (peróxido de hidrógeno y ácido acético) y surfactantes en la carga microbiana de la superficie del huevo de gallinas reproductoras ligeras”

Tesis

Que para obtener el título de:

Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A:

Palacios Contreras Erick

Asesor: MVZ MPVM PhD Ariel Ortiz Muñiz

Coasesora: QBP Leticia de Jesús Santiago Cruz

Cuatitlán Izcalli Estado de México 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA EFS CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la EFS Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, me permito comunicar a usted sus revisiones e Trabajo de Tesis

Análisis del efecto del glutaraldehído y de una mezcla de compuestos de ácido peracético (peróxido de hidrógeno y ácido acético) y surfactantes en la carga microbiana de la superficie del huevo de gallinas *Campylobacter jejuni*.

Quiero mencionar el alumno: ERICK PALACIOS CONTRERAS
Con número de cuenta: 30614193-1 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL, correspondiéndome, dirigirme a usted VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán de México (9 de junio de 2017)

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRÉSIDENTE	Dr. Ad. Cruz Méndez	
VOCAL	Dr. J. José María Cortez Oregán Sánchez de Fig.	
SECRETARIO	Dr. Juan Carlos del Alamo	
1er. SUPLENTE	M. en C. Francisco Javier Carradas Aguila	
2do. SUPLENTE	M. en C. Celso López López	

Atte. los señores: Jueces del Jurado y presidente del Jurado Profesional

JM/2017

Dedicatoria:

A mis padres Guadalupe y Melquiades, por todo el amor y apoyo que me han brindado a lo largo de todos estos años, son mi mayor motivación para llenar mi vida de metas, los amo y les estoy infinitamente agradecido.

Agradecimientos

A Dios por permitirme llegar a esta etapa de mi vida.

A la Universidad Nacional autónoma de México y a la Facultad de estudios superiores Cuautitlán por haberme formado profesionalmente.

A mis padres Guadalupe y Melquiades gracias.

A mis hermanos Karla, Lilia e Iván por ser mis mayores maestros y los mejores consejeros en mi vida los quiero mucho.

A mi abuela Eloísa por siempre estar en todo momento para apoyarme, siempre serás un ejemplo a seguir.

A mi asesor el Dr. Ariel Ortiz por sus enseñanzas, por sus conocimientos compartidos y el tiempo brindado para la realización de este trabajo.

A mi coasesora la Q.B.P. Leticia de Jesús Santiago Cruz por el apoyo durante el trabajo presente, por sus enseñanzas, todos sus consejos laborales y personales y sobre todo contagiarme el amor y la pasión a la bacteriología.

A Sara y Valeria por siempre estar presentes en los momentos más difíciles pero también por estar en los mejores momentos de mi vida las quiero muchísimo.

A Rebeca y Daniel, aún después de tantos años, gracias por apoyarme desde siempre los quiero amigos y los extraño.

A mis amigos y hermanos de carrera Sahira, Moisés, Carlos R y Carlos S muchas gracias por todo el apoyo, por haber compartido conmigo una de las mejores etapas de mi vida, ¡han sido momentos inolvidables!

Al Dr. Celso Lopez al ser una de las personas que inculcó en mí la pasión por las aves desde el principio y, desde entonces firmo su sentencia, ha sido un grandísimo profesor para mí y un gran consejero en todos los aspectos.

A la Dra. Rosalía Viguera por su apoyo, por compartir conmigo sus conocimientos y por la infinita confianza puesta en mí, que ha sido uno de los motivos del amor al trabajo realizado.

Al Dr. Armando Antillón Rionda por siempre estar con la disposición de compartir sus conocimientos y experiencias, gracias.

A los miembros de mi jurado, por darse el tiempo de revisar este trabajo con detenimiento y por todo el apoyo brindado.

A la familia Palacios, por siempre estar apoyando, por ser un ejemplo de unión.

Al Dr. Bernardo Lozano y a Diagnósticos Clínicos Veterinarios por su amistad y confianza.

Índice

Dedicatoria:	iii
Agradecimientos	iv
Índice de gráficas:	viii
Índice de tablas	ix
Índice de imágenes	x
1.-Resumen.....	1
2.- Introducción:	2
3.- Revisión de la literatura:.....	4
3.1.-Historia de la incubación:.....	4
3.2.- Situación de la avicultura en México:.....	5
3.3 Formación Del Huevo:	7
3.3.1 Infundíbulo:	7
3.3.2 Magnum:.....	7
3.3.3 Itsmo:.....	7
3.3.4 Útero:.....	7
3.3.5 Vagina.	8
3.4 El huevo y sus mecanismos de defensa contra de la invasión bacteriana. ...	8
3.5 Contaminación del huevo	11
3.6 Microorganismos contaminantes del huevo:.....	14
3.6.1 Enterobacterias:.....	15
3.6.2 Bacterias Gram positivas:.....	17
Estafilococosis.....	17
3.6.3 Hongos:	18
3.7 Limpieza y desinfección en avicultura.....	20
3.7.1 Limpieza:	22
3.7.2 Desinfección:	22
3.7.3 Principales desinfectantes utilizados en la avicultura:	23
3.7.4 Efecto de las condiciones ambientales sobre los desinfectantes:	28
3.7.4 Evaluación de la eficacia de los desinfectantes.....	29
4.- Justificación del estudio:	32

5 Hipótesis y objetivos:	33
5.1.-Hipótesis.....	33
5.1.1.- Hipótesis General:	33
5.1.2.- Hipótesis específica:.....	33
5.2 Objetivos:.....	33
5.2.1 Objetivo general:.....	33
5.2.2 Objetivos particulares:	33
6.- Material y métodos:.....	34
6.1 Selección de los huevos de estudio.-.....	34
6.2.- Diseño experimental:.....	34
7.- Resultados:.....	38
7.1 Análisis estadístico:	38
7.1.1 Huevo limpio + glutaraldehído:	38
7.1.2 Huevo sucio glutaraldehído:	42
7.2 Tratamiento ácido peracético + peróxido de hidrógeno	46
8.- Discusión	51
9.- Conclusiones y recomendaciones	56
10.- Bibliografía	58
11.- Anexos:.....	61

Índice de gráficas:

Gráfica 1.- Porcentaje de reducción conteo total vs glutaraldehído en huevo limpio	39
Gráfica 2.- Porcentaje de reducción enterobacterias vs glutaraldehído en huevo limpio	40
Gráfica 3.- Porcentaje de reducción cocos vs glutaraldehído en huevo limpio	41
Gráfica 4.- Porcentaje de reducción levaduras vs glutaraldehído en huevo limpio	42
Gráfica 5.- Porcentaje de reducción conteo total vs glutaraldehído en huevo sucio	43
Gráfica 6.- Porcentaje de reducción enterobacterias vs glutaraldehído en huevo sucio	44
Gráfica 7.- Porcentaje de reducción cocos vs glutaraldehído en huevo sucio	45
Gráfica 8.- Porcentaje de reducción levaduras vs glutaraldehído en huevo sucio	46
Gráfica 9.- Porcentaje de reducción de bacterias en huevo limpio tratado con peróxido de hidrógeno + ácido peracético durante 5 minutos	47
Gráfica 10.- Porcentaje de reducción de bacterias en huevo sucio tratado con peróxido de hidrógeno + ácido peracético durante 5 y 8 minutos	48
Gráfica 11 Porcentaje de aislamiento huevo limpio testigo glutaraldehído	49
Gráfica 12.- Porcentaje de aislamientos huevo limpio desinfectado glutaraldehído	49
Gráfica 13 Porcentaje de aislamientos huevo sucio desinfectado con glutaraldehído	50
Gráfica 14.- Porcentaje de aislamientos en huevo sucio testigo	50

Índice de tablas

Tabla 1 Contaminación del cascarón y mortandad de pollitos a las dos semanas	12
Tabla 2 Principales causas de fallas en la incubación de huevo en gallinas (%)..	13
Tabla 3 Microflora de la superficie del cascarón y en el interior de huevos	14
Tabla 4 Incidencias de aislamientos en incubadoras	19
Tabla 5 Contaminación del cascarón para las unidades seleccionadas	19
Tabla 6 Principales bacterias y hongos aisladas del cascarón de huevos en Nigeria	20
Tabla 7 Efecto de los diferentes desinfectantes en el Conteo total de bacterias, coliformes y hongos en la incubadora usando hisopos de arrastre.	28
Tabla 8 Eficacia de los desinfectantes contra los hongos bacterias seleccionadas después de 10 minutos de contacto	29
Tabla 9 Conteo bacteriano del cascaron de huevos clasificados como limpios, manchados o sucios. Por examen macroscópico	30
Tabla 10 Grupos de tratamientos	34

Índice de imágenes

Imagen 1 Principales estados productores de huevo 2015.....	5
Imagen 2 Principales países productores de huevo.....	6
Imagen 3 Consumo per-cápita de huevo en México y producción de huevo en toneladas México.....	6
Imagen 4 Estructura del huevo.....	11
Imagen 5 Diluciones décuples.....	36
Imagen 6 vaciado de muestra y agar en placa.....	37
Imagen 7 Movimientos para homegenizar la muestra.....	37

1.-Resumen

La contaminación bacteriana del huevo incubable es un aspecto de alta incidencia en las plantas incubadoras como consecuencia, puede dar lugar a una disminución del porcentaje de nacimientos y afectar a la calidad de los pollitos. El uso de desinfectantes para eliminar la contaminación del huevo previamente a su incubación es una práctica necesaria para mejorar el rendimiento productivo.

El presente estudio se realizó para evaluar la eficacia de dos diferentes desinfectantes (Glutaraldehído y peróxido de hidrógeno con ácido peracético y sustancias surfactantes) sobre la disminución del conteo bacteriano en UFC en el cascarón del huevo de gallinas reproductoras ligeras Lohmman. Se utilizaron 1060 huevos seleccionados completamente al azar divididos en huevo sucio y huevo limpio que a su vez se dividieron en los siguientes tratamientos: Glutaraldehído a 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, 350 ppm y 400 ppm, para el ácido peracético peróxido de hidrógeno y sustancias surfactantes se utilizó el producto a 25, 5 y 70% respectivamente a 5 y 8 minutos. El estudio se realizó por medio de la técnica de R. Gentry utilizando agar TSA, DSA, MCA y SMA para el conteo de los distintos grupos bacterianos. El análisis estadístico se realizó por medio de análisis de varianza. Los resultados obtenidos nos muestran diferencias verdaderas significativas ($P < 0.05$) en la mayoría de los tratamientos de huevo limpio, mientras que en el huevo sucio se comportó totalmente diferente. Existió dentro del trabajo una mayor incidencia de cocos que generalmente son bacterias ambientales o flora normal de piel y mucosas, seguido enterobacterias posiblemente debido a la cercanía del coprodeo con el proctodeo siendo estas las más resistentes a los tratamientos con desinfectantes.

2.- Introducción:

México a nivel mundial ocupa el sexto lugar en la producción de huevo para plato, detrás de China, Estados Unidos, India, Japón y Rusia.

La calidad microbiológica del huevo fértil se encuentra directamente relacionada con la viabilidad y el nacimiento total del pollito durante la primera semana de vida, por lo cual debe considerarse un programa de bioseguridad para mejorar la calidad microbiológica en las granjas de reproductoras. (Soto, 2001).

La penetración de bacterias en los huevos que han sido puestos sobre material altamente contaminado ocurre tan rápido, que ni la recolección frecuente de los huevos ni su rápida desinfección podrían evitarla. (Padron N, 1992)

Con la desinfección estratégica no sólo se previene el surgimiento de nuevas enfermedades, sino que se evita la diseminación de una contaminación cuando este llega a darse, además, es la clave para terminar o por lo menos controlar un número significativo de enfermedades durante la explotación. (Sumano, 2010).

Los microorganismos más comunes que suelen contaminar los huevos y que tienen efecto negativo sobre la incubabilidad son: *Proteus spp*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas spp*. (Valle, 2001).

El sistema de limpieza y desinfección debe estar sujeto a una evaluación permanente por medio de pruebas y análisis de laboratorio que constaten que el sistema está controlando efectivamente la contaminación microbiana en el proceso de producción de pollito recién nacido, esta evaluación se denomina "Monitoreo microbiológico de la incubadora". (Valladares de la Cruz, 2010).

Para verificar el grado de contaminación del huevo, se deberán enviar al laboratorio, por lo menos una vez al mes, de 10 a 12 huevos colectados al azar con pañuelos desechables y colocarlos en bolsas de polietileno estériles, y se solicitará al laboratorio que utilice la Técnica del doctor Gentry. (Quintana, 2011).

Los programas de sanitización de una planta incubadora debe incluir el uso de dos o más desinfectantes para inhibir el crecimiento de microorganismos y mantener un nivel deseable de incubabilidad de huevos fértiles. (Moustafa Z., 2009).

Para que un desinfectante actúe en forma ideal, se toma en cuenta la definición de factores tales como temperatura de la aplicación, volumen de aplicación por m³, la presencia de material orgánico, tiempo de exposición del área al desinfectante, etc. (Sumano Lopez, 2000).

Dos de los desinfectantes más utilizados en la avicultura son: El glutaraldeído es un derivado del formol perteneciente a la familia de los aldehídos, se le ha encontrado un uso como desinfectante en particular a bajas temperaturas. Su mecanismo de acción se basa en el entrecruzamiento de proteínas, con lo que genera una pérdida en la permeabilidad de la pared celular. El ácido peracético interrumpe la función de la membrana celular y así causa la ruptura de la pared celular. (Sumano, 2010).

3.- Revisión de la literatura:

3.1.-Historia de la incubación:

La incubación artificial es una práctica muy antigua, puesto que ya se efectuaba en China y Egipto en épocas remotas siguiendo procedimientos primitivos. En dichos países el calor necesario para el desarrollo de los huevos se obtenía mediante la fermentación del estiércol o paja y también quemando leña. Los egipcios iniciaron la incubación hace unos 400 años A.C. utilizaban como incubadoras verdaderos hornos de ladrillo hecho de barro desprovistos de sistemas de ventilación en los que se realizaba el volteo y se efectuaba el miraje de los huevos; su grado térmico se apreciaba aplicándolos con la mano sobre el párpado o la mejilla, su porcentaje de nacimientos era bajo porque no tenían control preciso de las variables involucradas y su proceso de incubación era más bien un arte empírico. Los chinos desarrollaron la incubación artificial por lo menos hacia el año 246 A.C estos empleaban barriles o toneles como incubadoras y los filipinos diversos modelos de cestas que, una vez calentadas se aislaban del exterior con envolturas de cascarillas de arroz. (Egaña, 1964) (Salazar, 2003)

Los sistemas de incubación modernos se inician a finales del siglo XVIII y durante el siglo XIX con la aparición de aparatos ingleses y americanos, con el paso del tiempo se fueron conociendo con mayor detalle las condiciones de operación que debe tener la incubadora, lo que permitió obtener mejores resultados en la producción.

La construcción, uso y patente de las incubadoras artificiales en Estados Unidos datan de alrededor de 1844. La incubadora Smith era prácticamente un cuarto grande con ventiladores para forzar el aire caliente en todas las partes de la cámara de incubación, se patentó en 1918 y fue el precursor de las incubadoras de hoy en día eficientes y a gran escala, que se usan para incubar huevos de pollos, pavos, patos y otros. (Berry, 2010)

3.2.- Situación de la avicultura en México:

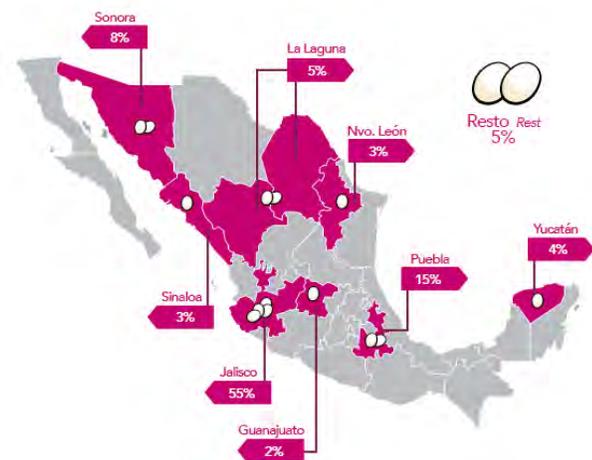
La avicultura en México se ha desarrollado a pasos agigantados y hoy es una de las industrias con gran auge, compitiendo con las empresas norteamericanas en calidad y presentación tanto de carne como de huevo.

A nivel mundial México ocupa el sexto lugar en la producción de huevo, detrás de China, Estados Unidos, India, Japón y Rusia. En el mismo ámbito México es el séptimo productor de pollo después de: Estados Unidos, China, Brasil, Unión Europea, India y Rusia.

Para el 2016, la industria avícola nacional mantendrá un crecimiento constante como ha ocurrido en los últimos años, consolidándose como una actividad estratégica para el país, tanto en el ámbito alimentario como económico

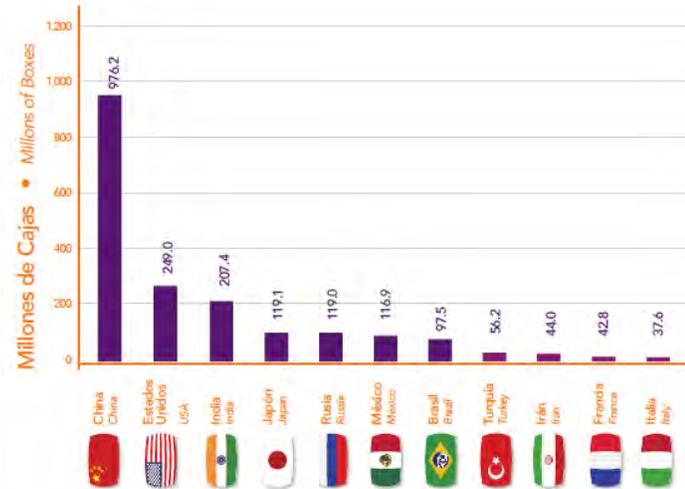
De acuerdo con datos del primer estimado elaborado por UNA, la avicultura mexicana registró un crecimiento de 2.5 por ciento en el 2015. (UNA, 2014).

Imagen 4 Principales estados productores de huevo 2015 (UNA, 2016)



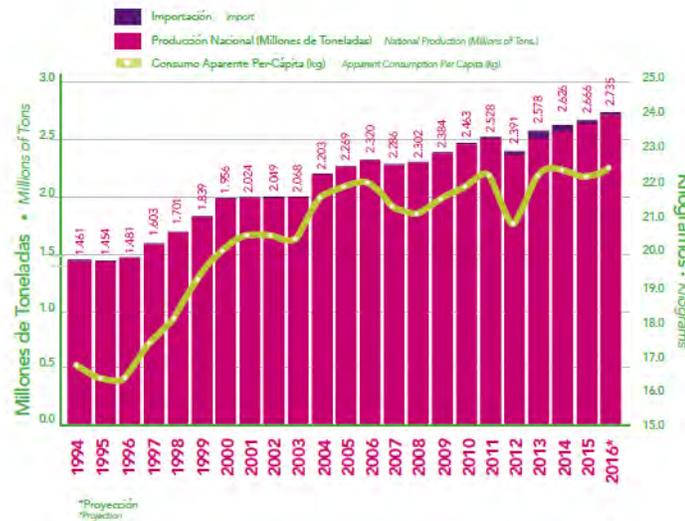
En la imagen 1 podemos observar el porcentaje que aporta cada estado de la República Mexicana a la producción total de huevo para plato.

Imagen 5 Principales países productores de huevo (UNA, 2016)



A nivel mundial México ocupa el sexto lugar en producción de huevo para plato lo que lo convierte en una potencia mundial en este rubro

Imagen 6 Consumo per-cápita de huevo en México y producción de huevo en toneladas México (UNA, 2016)



3.3 Formación Del Huevo:

Desde que la yema entra al infundíbulo hasta el momento de la ovoposición, el huevo en formación pasa a lo largo del oviducto, de acuerdo con la región del oviducto ocurre lo siguiente:

3.3.1 Infundíbulo: Después de la ovulación, el óvulo es envuelto por el infundíbulo, aquí reside por aproximadamente de 15 a 30 minutos (18 minutos en promedio); es aquí en donde ocurre la fecundación y en donde la primera capa de albúmina es producida. (Johnson, 1986) (Carmona Mendero, y otros, 2009) (Soto, 2001)

3.3.2 Mágnum: El mágnum es una estructura glandular, la cual presenta dos tipos de glándulas: Glándulas tubulares, las cuales son responsables de la producción de la ovotransferrina (conalbumina) y el ovomucoide, y las células epiteliales las cuales sintetizan avidina. Es la porción más larga del oviducto de la gallina (33cm de longitud), aquí se forma la mayor parte de la albúmina. Dentro del Magnum el movimiento del óvulo es vía peristalsis. El óvulo permanece en el mágnum aproximadamente de 2 a 3 horas. (Johnson, 1986) (Carmona Mendero, y otros, 2009) (Soto, 2001)

3.3.3 Itsmo: Es una capa muscular y comparado con el magnum es menos glandular; aquí se forman las membranas testáceas durante aproximadamente de 1 a 2 horas (promedio 1 hora 14 minutos). (Johnson, 1986)

3.3.4 Útero: En el útero o glándula calcígena se forman las membranas albumífera y testácea que son de material poroso; por un proceso de ósmosis, dejan pasar agua y sales al interior del huevo, de esta manera se termina de completar el contenido interior del huevo, ya que se forma la última porción de la clara externa , excepto en uno de los extremos del huevo, en donde se formará la cámara de aire. (Johnson, 1986) (Carmona Mendero, y otros, 2009) (Soto, 2001)

Es aquí donde se forma la cáscara del huevo; dicha cáscara está compuesta por dos capas superpuestas, la capa interna, llamada mamilar y la externa formada por cristales de calcio.

Antes de que el huevo salga del útero ya completamente formado, la cáscara es recubierta por una fina película de material orgánico y agua. Esta película de naturaleza líquida es la cutícula y tiene como función principal la de lubricar la cascara para que el huevo pase con facilidad por la vagina y la cloaca. Al evaporarse el agua de la cutícula, el material orgánico que contiene cierra muchos de los poros de la cáscara evitando que organismos patógenos penetren al interior del huevo (VACA, 2003).

3.3.5 Vagina.- La vagina es separada del útero por el esfínter útero-vaginal y termina en la cloaca, no tiene un papel en la formación del huevo, pero participa en la expulsión junto con el útero.

3.4 El huevo y sus mecanismos de defensa contra de la invasión bacteriana.

La industria avícola productora de huevo incubable y de huevo para plato, ha enfrentado desde siempre el problema de la contaminación bacteriana a través del cascarón. Es uno de los mayores riesgos para la calidad del huevo y del pollito. Los pollitos son muy sensibles a la contaminación bacteriana y si aumentan los niveles de contaminación se observará en la reducción en los nacimientos y un incremento en la mortalidad a la primera semana (Jeanne Bruguère-Picoux, 2015). El huevo tiene muchas defensas naturales para reducir esta penetración bacteriana a su interior como el cascarón que provee la primera barrera de defensa, compone entre un 8 al 9% del peso del huevo, está compuesto por un 98% de cristales de calcita (carbonato de calcio), un 2% de proteína y también contiene una pequeña cantidad de magnesio y fósforo (Rose, 1997); el cascarón es una estructura rígida y normalmente tiene un espesor promedio de 0.33 mm, el

cual puede variar por factores como la edad, factores genéticos, nutrición, enfermedades etc.

El cascarón está recubierto por la cutícula, esta es una capa mucosa compuesta de proteína, polisacáridos y lípidos., con un espesor de 0.5 a 12.8 μm . Su función principal es la de proteger al huevo de la evaporación del agua y la penetración microbiana (Johnson, 1986).

El huevo de la gallina contiene entre 7,000 y 17, 000 poros que van de 9 a 65 μm de diámetro, todo va a depender del peso del huevo. La función de los poros es la de comunicar el interior del huevo con el medio externo. (Soto, 2001).

La segunda barrera de defensa son las membranas testáceas; el huevo tiene dos membranas las cuales están unidas, a excepción en la parte roma del huevo en donde se separan por la cámara de aire. La membrana interna yace sobre el albumen y la membrana externa esta unida al cascarón. La membrana externa es una prolongación de la red fibrilar de la cáscara y forma fibras entrelazadas con estructura laxa, está formada por tres capas. (Immerseel, 2011) (Carmona Mendero, et al, 2009)

La membrana interna está formada por dos capas que forman una red fibrilar compacta y actúa como un filtro, frenando la progresión de numerosos microorganismos; muchas veces las bacterias penetran los poros del cascarón pero quedan atrapadas entre las membranas y ya no pueden avanzar más. (Bell & Weaver, 2002) (Rose, 1997)

La albúmina provee de otros controles de contaminación bacteriana, ya que tiene propiedades bacteriostáticas y bactericidas. Una de ellas es su viscosidad, particularmente cuando el huevo es fresco la viscosidad es mayor, dificultando la movilidad de las bacterias. La viscosidad junto con la falta de agua y nutrientes, hacen a la albúmina inhóspita para el crecimiento bacteriano, otro de ellos es el

incremento de pH en los primeros días de ovoposición, debido a la liberación de CO_2 el pH aumenta de 7.6 a 7.9 y con el paso del tiempo llega a 9.3 y de este modo constituye una protección efectiva contra las bacterias, ya que la mayoría de estas no puede crecer en este pH alcalino (Rose, 1997). Los mecanismos presentes en la albúmina no son suficientes para contrarrestar la entrada de microorganismos, la mayoría de las barreras de defensa de la albúmina son barreras químicas, con la presencia de enzimas. (Van Immerseel, Nys, & Bain, 2011) (Bell & Weaver, 2002).

Estas son las enzimas que restringen o inhiben totalmente el crecimiento bacteriano:

- Lisozima: Enzima que lisa las paredes de las bacterias Gram positivo.
- Avidina: Al combinarse con la biotina, bloquea su acción, que es indispensable para el crecimiento de muchas bacterias.
- Conalbúmina: Bloquea la acción de algunos metales (hierro, cobre y zinc) indispensables para el crecimiento de muchos microorganismos Gram positivos y Gram negativos.
- Proteína B: Sustancia que inhibe la proteasa fúngica, limitando el crecimiento de hongos.

La albumina rodea a la yema y actúa como un absorbente de impactos además de aportar algunos nutrientes. La albúmina consta de tres capas: una capa líquida que rodea a la yema, una media que contiene una clara más espesa que constituye un 57% del total y la capa más externa con una composición similar a la capa interna. Los dos tipos de albúmina suelen describirse como clara densa o espesa y la poco densa o fina.

La yema no provee de algún tipo de defensa contra los microorganismos.

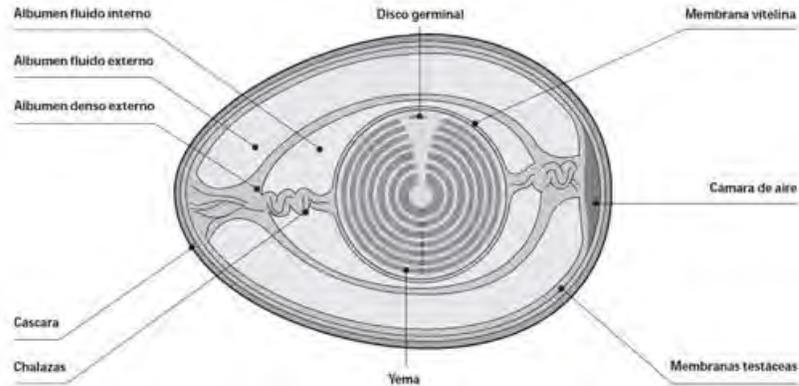


Imagen 7 Estructura del huevo

3.5 Contaminación del huevo

Es estimado que un 90% de los huevos son microbiológicamente estériles al ser ovopositados. Las fuentes de contaminación incluyen polvo y material del nido. (Van Immerseel, Nys, & Bain, 2011)

Los huevos son una fuente rica en nutrientes y un medio ideal para el crecimiento bacteriano, por lo tanto, los huevos rotos pueden contaminarse fácilmente con microorganismos patógenos.

A pesar de las barreras de defensa presentes en el huevo siempre existe la posibilidad de que patógenos penetren dentro de éste; dentro de los microorganismos que llegan a contaminar el huevo están las bacterias, los hongos filamentosos, las levaduras y los virus.

Aunque se ha demostrado que un huevo tomado directamente del oviducto tiene entre 300 y 500 microorganismos en la superficie del cascarón; bajo condiciones apropiadas de temperatura y humedad, pueden llegar a tener en una hora de 20, 000 a 30, 000 (Bell & Weaver, 2002)y (Sotelo Salas, 2000). Un huevo sucio o sin un tratamiento puede contener hasta 100, 000 de UFC (Immerseel, 2011). Los factores potenciales de contaminación incluyen el polvo, materia de los nidos y heces (Un gramo de heces de gallina contiene entre 2 a 6 millones de bacterias. Estas aumentan cuando las aves presentan diarreas o infecciones urinarias.)

Tabla 1			
Contaminación del cascarón y mortandad de pollitos a las dos semanas			
Condición del huevo	Conteo total	Coliformes	% de mortandad
Nido limpio	600	123	0.9
Semisucio	20,000	904	2.3
Sucio	80,000	1307	4.1

(Bell & Weaver, 2002)

En la tabla 1 podemos observar un análisis hecho por Bell y Weaver en el 2001 en el que clasificaron el huevo de acuerdo a la cantidad de UFC presentes en el cascarón.

Existen múltiples factores que inciden en la contaminación como la carga microbiológica presente en la cáscara (número y tipo de microorganismos presentes), las condiciones de almacenamientos (temperatura ambiental, humedad relativa, composición atmosférica) y factores intrínsecos de los huevos. (Gil Hernandez, 2010) El calor acelera la actividad de las enzimas y puede alterar los huevos; la humedad permite el desarrollo de hongos y levaduras, la luz y el oxígeno disminuyen la resistencia de la cáscara a la penetración microbiana, el envejecimiento fluidifica la albúmina.

La contaminación en el nido ocurre en el momento en el que el huevo es ovopositado dentro de este, en la mayoría de los nidos existe presencia de microorganismos ya que las aves al estar en contacto directo sus patas con las heces lo contaminan al momento en el que entran en el.

La microbiota presente en la superficie del huevo es muy variada; inicialmente predominan las bacterias Gram positivas debido a su resistencia a la desecación y escasos requerimientos nutritivos. (Gil Hernandez, 2010)

Las cáscaras húmedas y sucias asociadas con un descenso de la temperatura facilitan la entrada de bacterias. (ICMSF, 2001)

Tabla 2 Principales causas de fallas en la incubación de huevo en gallinas (%)	
Infertilidad	20
Tiempo de almacenado	25
Contaminación microbiana	12
Daños en el cascarón	10
Fallas en la incubadora	5
Nutricional	10
Enfermedades	10
Genéticos	8

(Pattison, McMullin, Bradbury, & Alexander, 2008)

En la tabla 2 se encuentra un análisis de las principales causas que ocasionan fallas en la incubación teniendo un alto porcentaje la contaminación microbiana.

Existen tres diferentes rutas de contaminación bacteriana:

- **Transovárica:** Ocurre cuando el óvulo o yema todavía están conectado al ovario.
- **Contaminación en el oviducto:** Es una infección de la membrana vitelina o la albúmina cuando el huevo pasa a través del oviducto.
- **Contaminación a través del cascarón:** Es cuando una o más bacterias pasan del medio externo hacia el interior del huevo después de la ovoposición.

(Immerseel, 2011)

3.6 Microorganismos contaminantes del huevo:

Dentro de los microorganismos contaminantes más comunes se encuentran las enterobacterias, los cocos, los hongos filamentosos y las levaduras (Tabla 3)

Tabla 3		
Microflora de la superficie del cascarón y en el interior de huevos		
Microorganismo	Sobre cascarón	Huevos podridos
<i>Micrococcus</i>	+++	+
<i>Enterobacter</i>	++	-
<i>Escherichia</i>	++	+++
<i>Pseudomonas</i>	++	+++
<i>Staphylococcus</i>	++	-
<i>Proteus</i>	+	+++
<i>Streptococcus</i>	+	+

(ICMSF, 2001)

Las alteraciones bacterianas de los huevos se denominan, habitualmente putrefacciones las cuales son divididas según el color del huevo después de su descomposición, siendo las siguientes:

- Putrefacción verde: Es producida por *Pseudomonas fluorescens*. La clara adquiere color verde y la yema se disgrega mezclándose con la clara con un olor característico a fruta.
- Putrefacción incolora: Es producida por *Pseudomonas spp.* y coliformes. Se rompe la pared de la yema y se mezcla con la clara.
- Putrefacción negra: Producida por *Proteus*, ciertas especies de *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Aeromonas*. La clara se mantiene acuosa y de color marrón, mientras que la yema esta disgregada y ennegrecida. Hay un fuerte olor a ácido sulfhídrico. (Pascual Anderson & Calderon y Pascual, 2000)

3.6.1 Enterobacterias:

La familia *Enterobacteriaceae* son microorganismos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, en forma de bacilo que pueden crecer en medios artificiales, existen especies móviles y no móviles, fermentan la glucosa, forman ácido o gas/ácido a partir de esta. Son oxidasa negativa y catalasa positiva en >90%. Reducen nitratos a nitritos. (Pattison, McMullin, Bradbury, & Alexander, 2008)

La familia Enterobacteraceae comprende un gran número de géneros como: *Salmonella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, entre otros. La mayoría de estas bacterias son patógenas para los animales. En la avicultura los géneros *Salmonella* y *Escherichia* son los principales causantes de enfermedades con impacto económico.

- **3.6.1.1 Escherichia.-** Las bacterias de la especie *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, fermenta glucosa y un amplio abanico de azúcares, oxidasa negativo, catalasa positivo, no esporulada, aerobia facultativa, reduce nitratos a nitritos y crecer bien en agar MacConkey, ya que las sales biliares que contiene este medio no inhibe su desarrollo, son habitantes normales del tracto digestivo en mamíferos, aves y la mayoría de las cepas no son patógenas. Ciertas serovariedades, pueden causar enfermedad en las aves como: Infección del saco vitelino, coligranuloma (enfermedad de Hjärre), peritonitis y colisepticemia. Se aísla del 45% de mortalidad embrionaria y del 70% de los que presentaron infección del saco vitelino. (Swayne, 2013)
- Infección del saco vitelino: Es una de las causas más comunes de mortalidad en pollos durante la primera semana después de la incubadora. Causa el 100% de mortalidad en la primer semana de vida. *E. coli* puede verse involucrada como el agente primario, secundario y oportunista. La infección de saco vitelino puede asociarse con onfaloflebitis o por contaminación del huevo incubable por heces. (Swayne, 2013)

- **3.6.1.2 *Salmonella*.**- El género *Salmonella*, descrito por el bacteriólogo Daniel. E. Salmon. (1850-1914), consiste en más de 2579 serovariedades. (A.D Grimont & Weill, 2007)

Se le conoce como Salmonelosis Aviar al grupo de enfermedades aviares Tifoidea Aviar (*S. Gallinarum*), Pullorosis (*S. Pullorum*) Arizonosis (*S. arizonae*) y Paratifoideas producidas por bacterias del género *Salmonellae* diferente a los anteriores. Su curso es de forma septicémica provocando una elevada mortalidad en pollos y pavipollos menores de 3 semanas de edad y en aves adultas se presenta en forma crónica y sin signos aparentes. (Pattison, McMullin, Bradbury, & Alexander, 2008) (Swayne, 2013)

- **3.6.1.3 *Enterobacter*.**- Es un habitante normal del tracto digestivo de las aves. Similar a otras bacterias Gram negativas en la familia *Enterobacteriaceae*, puede infectar los huevos y aves jóvenes, produciendo pérdida embrionaria, onfalitis, infección del saco vitelino y mortalidad en aves jóvenes. (Swayne, 2013)

- **3.6.1.4 *Citrobacter*.**- Normalmente coloniza las mucosas del tracto respiratorio y digestivo, pero puede ser un patógeno oportunista.

Citrobacter es una de muchas bacterias ambientales que ocasionalmente se aísla de huevos sin incubar, pollitos débiles e infecciones de saco vitelino. (Swayne, 2013)

- **3.6.1.5 *Proteus*.**- Es un género habitante del tracto digestivo inferior. El microorganismo es capaz de penetrar el cascarón después de una contaminación fecal, llegando a una mortalidad de 100%. *Proteus spp* ocasionalmente causa muerte embrionaria, infección del saco vitelino, muerte en aves jóvenes y huevos bomba (Swayne, 2013)

- **3.6.1.6 *Pseudomonas*.**- Este género de bacterias no pertenecen a los anteriores, sin embargo se encuentra dentro de las bacterias que pueden crecer en el agar Mc Conkey. El género *Pseudomonas* consiste en organismos Gram negativos, móviles, curvos. Es un aerobio estricto y puede crecer a 42°C. Es un organismo

presente en la naturaleza, se puede encontrar en la tierra, agua, lagos, en la superficie de plantas, en intestino de animales y aves. Es relativamente resistente fuera del cuerpo del hospedero, ya que requiere pocos suplementos alimenticios. Es un patógeno oportunista que produce infecciones respiratorias, sinusitis, queratitis y queratoconjuntivitis, septicemia, onfalitis e infección del saco vitelino. (ICMSF, 2001) (Swayne, 2013)

Causa enfermedades locales o sistémicas en aves jóvenes y en crecimiento, invadiendo huevos fértiles causa muerte embrionaria. Es capaz de digerir la cutícula del cascarón cuando la humedad es alta.

3.6.2 Bacterias Gram positivas:

Estafilococosis

Históricamente los estafilococos han sido un problema significativo por ser un habitante natural en el ambiente de las granjas avícolas.

Los *Staphylococcus* son bacterias Gram positivo en forma de cocos pertenecientes a la familia Micrococaceae, género *Staphylococcus*. Son bacterias asociadas con una gran variedad de enfermedades en pollos, pavos y otras especies de aves; estas incluyen infección del saco vitelino, septicemia, artritis, tenosinovitis, osteomielitis, dermatitis gangrenosa entre otras (Pattison, McMullin, Bradbury, & Alexander, 2008) (Swayne, 2013).

Son bacterias anaerobias facultativas, catalasa positiva y crecen en agar sangre. En comparación con las cepas de los mamíferos, las cepas que afectan a las aves son α o δ Hemolíticos y crecen en medios suplementados con 6.5 % de NaCl.

Son habitantes normales de piel, mucosas y están presentes en el ambiente.

La infección por estafilococos es un problema mundial ya que causa pérdidas económicas significativas, como disminución de la ganancia de peso y disminución en la producción de huevo.

3.6.3 Hongos: Los hongos son microorganismos eucarióticos unicelulares o pluricelulares heterótrofos, quimioorganotróficos, aerobios o anaerobios facultativos que se nutren por absorción. Con base en características morfológicas, forma de reproducción y modo de crecimiento, los hongos se dividen en dos grandes grupos:

3.6.3.1 Filamentosos: están constituidos por células cuyo diámetro puede variar de 1 a 30 μm y tienen una pared celular constituida por polisacáridos (quitina en la mayoría y celulosa en los oomicetos) y forman filamentos o hifas las cuales son estructuras tubulares en cuyo interior fluyen todos los organelos, contenidos en el material citoplasmático y además presentan un crecimiento apical. (Alcántara, 2005)

3.6.3.2 Levaduras: Las levaduras presentan formas diversas, esférica, ovoide, elipsoidal y cilíndrica; crecen de forma isodiamétrica (hacia todos lados) constituyendo la parte vegetativa y en poco tiempo se reproducen asexualmente por gemación, fisión binaria o fragmentación. Algunas levaduras forman cadenas, estructuras a las que se denomina pseudohifas (por lo que la agregación de varias de ellas se conoce como pseudomicelio. Las colonias generalmente son poco elevadas y de consistencia suave, cremosa, y su color oscila, en general, entre el blanco - amarillo, aunque algunas contienen pigmentos carotenoides (Tienen un tipo de crecimiento conocido como isodiamétrico. Se reproducen asexualmente por gemación dando origen a dos células desiguales, madre e hija. Esta forma de reproducción y crecimiento da como resultado la formación de colonias con aspecto cremoso y húmedo. (Alcántara, 2005)

Tabla 4 Incidencias de aislamientos en incubadoras

Incubadora	Muestras	<i>Salmonella</i> (%)	<i>Pseudomonas</i> (%)	<i>Shigella</i> (%)	<i>Klebsiella</i> (%)	<i>E.coli</i> (%)	<i>Enterobacter</i> (%)
1	64	6.25	7.91	7.81	4.68	6.25	7.61
2	64	3.13	6.25	4.69	1.56	3.12	4.68
Incubadora	Muestras	<i>Yerseniae</i> (%)	<i>Hafnie</i> (%)	<i>Serratiae</i> (%)	<i>Proteus</i> (%)	<i>Cocos</i> G+ (%)	
1	64	12.5	7.81	4.68	12.5	10.93	
2	64	6.25	4.68	1.56	7.81	7.81	

(Moustafa Z., 2009)

En la tabla 4 observamos los contaminantes más comunes en las incubadoras

Tabla 5 Contaminación del cascarón para las unidades seleccionadas

(Higenyi & Kabasa, 2014)

Patógeno	N	Promedio (%)	Des. Est	Mínimo	Máximo
<i>Escherichia coli</i>	171	0.19	0.391	0	1
<i>Salmonella spp.</i>	171	0.00	0.000	0	0
<i>Pseudomonas</i>	171	0.09	0.284	0	1
<i>Staphylococcus</i>	171	0.18	0.381	0	1
<i>Proteus</i>	171	0.02	0.132	0	1
Hongos	171	0.03	0.169	0	1
Grupos no significativos	171	0.51	0.501	0	1

En la tabla 5 se muestran los resultados en el estudio realizado por (Higenyi & Kabasa, 2014) para el aislamiento de bacterias en el cascarón de huevos en una incubadora.

Tabla 6 Principales bacterias y hongos aisladas del cascarón de huevos en Nigeria

Bacterias	Hongos
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Mucor sp.</i>
<i>Escherichia coli.</i>	<i>Fusarium sp.</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Rhizopus sp.</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Penicillium sp.</i>
<i>Proteus mirabillis</i>	

(Oviasogie, Ogboghodo, Beshiru, Omoregie, & Ogofure, 2016)

En huevos lavados y no lavados encontramos altos niveles de enterobacterias y hongos con conteos de entre 9.7×10^4 a 1.27×10^5 (Jones, Musgrove, & Northuctt, 2004)

3.7 Limpieza y desinfección en avicultura.

La planta incubadora posee una diversidad de procesos y algunos de éstos requieren frecuencias y niveles diferentes de limpieza; básicamente todo el proceso de incubación se puede dividir en 2 etapas, la primera etapa son los 18.5 (18-19) días que pasan los huevos en las máquinas incubadoras y la segunda etapa los últimos 2.5 (2-3) días en las nacedoras.

La primera fase de 18.5 días es la que se considera la más limpia del proceso y por esta razón puede caerse en el error de no limpiar con suficiente frecuencia, como cada planta es diferente no se puede establecer una frecuencia estándar, sino que cada planta debe diseñar un procedimiento a medida, es importante poner especial atención a las zonas que son más difíciles de limpiar y a las que por su funcionamiento facilitan la diseminación de los microorganismos como: ductos, aspas, serpentines, admisión de aire y sistema de humidificación, tanto de las máquinas incubadoras como de las salas y del edificio en general.

La segunda fase del proceso de incubación en las nacedoras es más difícil pasar desapercibida, debido a que después del nacimiento las nacedoras quedan totalmente impregnadas con plumón de los pollitos que nacieron, por lo que es lógico e imperativo que se debe realizar una limpieza profunda, en esta parte es importante hacer énfasis que debido a la gran cantidad de materia orgánica que se acumula se facilita la formación de bio-películas, que son capas de materia orgánica que pueden esconder y proteger microorganismos patógenos.

La limpieza y la desinfección de las superficies que han estado en contacto con animales o materias orgánicas representan un aspecto esencial de la lucha contra las enfermedades bacterianas y virales, y permiten garantizar la salubridad y la inocuidad de los alimentos. La minuciosidad de la limpieza que precede la desinfección es el factor más importante en la eficacia de las operaciones de desinfección.

Los usuarios de desinfectantes y los agentes responsables del uso de desinfectantes deben tener objetivos claros y un programa de acción bien determinado. Deben elegir productos apropiados, limpiar y preparar convenientemente el área de operaciones y tomar las medidas necesarias para garantizar la seguridad de los animales, las personas, los equipos y el medio ambiente. Por otra parte, deben evaluar objetivamente los resultados de las operaciones de desinfección.

El establecimiento de estrategias seguras y eficaces requiere un conocimiento perfecto de la acción y la toxicidad que puedan tener los productos elegidos, un programa de acción definido con claridad, el respeto de las reglamentaciones, una documentación completa, una vigilancia seria y controles después de la desinfección. Las operaciones y los métodos de desinfección deben contemplar las exigencias jurídicas y de protección del medio ambiente, así como responder a las expectativas cambiantes de la sociedad.

La limpieza y desinfección son dos factores muy importantes en el mantenimiento de la sanidad dentro de la planta incubadora, siempre habrá poblaciones de microorganismos en ella por sus características.

Para utilizar al máximo/eficiente/eficacia un desinfectante es necesaria una limpieza previa de la zona a desinfectar, ya que la materia orgánica tiende a neutralizar su efecto en parte o en su totalidad.

3.7.1 Limpieza:

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas. Incluye el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos que interfieren con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes). La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germicidas sólo son activos sobre material previamente limpio. Esta debe llevarse a cabo con cuidado para evitar la exposición a agentes infecciosos. Deben utilizarse materiales que sean químicamente compatibles con los germicidas que vayan a utilizarse después.

3.7.2 Desinfección:

La desinfección es el proceso que consiste en eliminar a microorganismos infecciosos mediante el uso de agentes químicos o físicos.

3.7.2.1 Desinfectantes. Un desinfectante es un agente químico que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulada. Los desinfectantes no necesariamente matan a todos los organismos, pero los reducen a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes perecederos. Los desinfectantes se aplican sobre objetos y materiales inanimados, como instrumentos y superficies para tratar y prevenir la infección.

Las características de un buen desinfectante son:

- Es soluble en agua
- Presenta alta efectividad a temperatura ambiente
- Es estable
- No es corrosivo
- Posee la eficacia de biocida para inactivar a los microorganismos o a los componentes subcelulares.
- No debe reaccionar con materia orgánica ni inactivarse en presencia de esta.
- Tiene un espectro lo más amplio posible
- Muestra una eficacia comprobada en condiciones de campo (máquinas incubadoras) Su uso es seguro para los operarios, animales, equipo, consumidor y el ambiente.
- Presenta bajo o nulo peligro asociado con el uso del biocida y proceso de tratamiento de los sitios a desinfectar y el agua residual.
- Tiene la propiedad de desodorante

3.7.3 Principales desinfectantes utilizados en la avicultura:

3.7.3.2 Formaldehído .- $\text{H}_2\text{C}=\text{O}$ monoaldehído que se ocupa es en forma de gas,. Es un desinfectante poderoso cuando está en solución acuosa al 10% y su principal uso es como gas fumigante. Actúa contra proteínas y el ácido ribonucléico (ARN), generando una coagulación o desnaturalización de proteínas y material genético. (Sumano, 2010)

El formaldehído se ha utilizado durante muchos años para la desinfección de huevos para incubar y material de incubación. Como fumigante, este gas ha demostrado ser un medio muy eficaz para destruir bacterias y virus en huevos, envases de huevos, cajas para polluelos, incubadoras y demás material de incubación, siempre y cuando estos artículos hayan sido limpiados previamente.

En la actualidad, difieren los criterios sobre la concentración óptima de formaldehído necesaria para desinfectar los huevos y el material del establecimiento de incubación (OIE, 2010)

Mecanismo De Acción: Alquilante de grupos sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo o amina. Produce hidroximetilaciones o condensaciones (entrecruzamientos) en las proteínas y en los nitrógenos de los anillos de las bases púricas.

Efectos Adversos: Su contacto con la piel causa blanqueamiento y curtido. Aplicado de forma repetida puede causar dermatitis de contacto. En caso de accidente se recomienda lavar la zona con abundante agua y jabón. Los vapores provocan irritación ocular, nasal y de vías respiratorias altas. Pueden causar tos, edema y espasmos de laringe (más raramente pulmonares), disfagia, bronquitis, neumonía y raramente edema pulmonar. Se han descrito casos de asma tras exposición repetida. Su ingestión accidental causa inflamación, ulceración y necrosis de las mucosas; también vómitos y diarreas sanguinolentas, hematuria, náuseas, anuria, acidosis metabólica, vértigo, convulsiones, pérdida de conciencia e insuficiencia circulatoria. La absorción es rápida, así como su metabolización a ácido fórmico (principalmente en el hígado). La excreción es renal en forma de formiatos. Su tiempo de vida media es de 80-90 minutos, aproximadamente. Tras la ingesta no es recomendable inducir el vómito o el lavado gástrico; sí debe administrarse agua, leche o carbón activado. La acidosis metabólica causada puede requerir la administración endovenosa de bicarbonato sódico o lactato sódico, e incluso la hemodiálisis. No está muy claro su potencial carcinogénico. La mayoría de trabajos lo clasifican como bajo o inexistente. No obstante, la inhalación de vapores supone un riesgo de carcinogénesis y ha de ser manipulado como un carcinógeno potencial. El Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo define unos valores límites ambientales de exposición diaria de 0.3 ppm. Debe evitarse la exposición de formaldehído en el embarazo por su potencial teratógeno.

3.7.3.3 Paraformaldehído.- $\text{OH}(\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ Es la combinación del formaldehído + permanganato de potasio; necesita 75% de humedad y de 25 a 32°C. es muy eficaz, aunque es gas liberado es tóxico, irritante a la piel y ojos.

La desinfección del huevo antes de la incubación con guta y para.. no afecta el porcentaje de nacimientos, siempre y cuando las sustancias que se utilicen estén en concentraciones adecuadas y el tiempo de fumigación no exceda los 25 minutos. Las excesivas fumigaciones en granjas o incubadoras, las altas concentraciones de fumigantes, las bajas humedades al tiempo de fumar y más de 30 minutos de fumigación o muy altas temperaturas pueden eliminar la cutícula del cascarón, de modo que queda desprotegido.

3.7.3.4 Glutaraldehído: $(\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO})$ tiene actividad contra formas vegetativas de bacterias, esporas hongos y virus con y sin envoltura lipídica. No es corrosivo y su acción es más rápida que la del formaldehído. No obstante, tarda varias horas en matar las esporas bacterianas. El glutaraldehído suele suministrarse en forma de solución con una concentración de unos 20g/l (2%); algunos productos antes de ser utilizados necesitan ser activados (alcalinizados) mediante la adición de un compuesto de bicarbonato que se suministra con el producto. La solución activada puede volver a utilizarse durante 1 a 4 semanas, según la formulación, el tipo y la frecuencia de uso. Las soluciones de glutaraldehído deben desecharse si están turbias. El glutaraldehído es tóxico e irritante para la piel y las mucosas; debe evitarse el contacto con él. Debe utilizarse con una campana extractora de vapores o en locales bien ventilados. No se recomienda en forma de pulverización ni de solución para descontaminar superficies. (OMS, 2005)

Mecanismo De Acción: Es alquilante de grupos sulfhidrilo, hidroxilo, carbonilo y amino, alterando así la síntesis de DNA, RNA y proteínas. La célula es incapaz de llevar a cabo sus funciones esenciales. Causa también disrupción de la pared de esporas e inhibe la esporulación y germinación.

Las soluciones deben estar activadas: el pH óptimo de actuación es entre 7.5-8.5. Menos tóxico y más potente que el formaldehído.

Las soluciones de glutaraldehído son más estables a pH ácido (de 3 a 6.3), pero tienen una menor actividad biocida que las soluciones básicas.

La solución de glutaraldehído activada (pH 7.5-8.5) sólo es estable durante 14 días, aunque no es aconsejable utilizarla durante más de una semana. Las moléculas polimerizan a pH superiores a 8.5 y se bloquean los grupos aldehído responsable de la actividad biocida.

Debe almacenarse en recipientes herméticamente cerrados y protegidos de la luz. Deben evitarse temperaturas de almacenamiento elevadas (la temperatura óptima es entre 15 y 30°C). (Sumano Lopez, 2000)

Efectos adversos

Aunque es menos tóxico que el Formaldehído, los efectos adversos y su tratamiento son similares, y dependen de la zona afectada y de la concentración. Las reacciones más frecuentes del personal expuesto suelen ser náuseas, dolor de cabeza, obstrucción de las vías respiratorias, asma, rinitis, irritación ocular y dermatitis (por alergia o por efecto irritante directo). Se han dado casos de taquicardia en personal expuesto por vía tópica e inhalada. Los vapores de glutaraldehído son irritantes y sensibilizantes de los ojos, garganta y tracto respiratorio. Su inhalación puede provocar dificultad respiratoria y agravar una enfermedad pulmonar existente.

3.7.3.5 Ácido peracético y peróxido de hidrógeno: Son desinfectantes eficaces que actúan por oxidación y tienen amplio efecto antimicrobiano. Pueden utilizarse soluciones diluidas, solas o mezcladas, para la desinfección de superficies limpias. En presencia de sustancias orgánicas pierden su actividad más fácilmente que otros desinfectantes y con el tiempo pierden rápidamente su actividad.

El ácido peracético o peroxiacético es un peróxido orgánico que se emplea habitualmente en las desinfecciones de superficies y circuitos en las industrias alimentarias debido a su eficaz acción biocida frente a bacterias, hongos,

levaduras y virus. Además, su uso no genera residuos peligrosos para el medio ambiente ya que se degrada a ácido acético y peróxido de hidrógeno. El ácido peracético no se comercializa en su forma pura, sino que se encuentra en equilibrio en solución acuosa con ácido acético y peróxido de hidrógeno.

El peróxido de hidrógeno puede irritar piel, mucosas, ojos y puede decolorar ropa y cabello. Una concentración al 5% es efectiva como desinfectante de huevos incubables. Esta línea está muy al aire.

El uso de soluciones de ácido peracético como agente antimicrobiano en canales y carne de ave está aceptado en Estados Unidos por la FDA con límites de 220 ppm para el ácido peracético y 110 ppm para el peróxido de hidrógeno (Hazards, 2014, OMS 2005)

Mecanismo De Acción: La actividad desinfectante del ácido peracético radica en su capacidad oxidante sobre la membrana externa de las bacterias, endosporas y levaduras. El mecanismo de oxidación consiste en la transferencia de electrones de la forma oxidada del ácido a los microorganismos, provocando así su inactivación o incluso su muerte. Ejerce su actividad al descomponerse en ácido acético, peróxido de hidrógeno y oxígeno (productos no dañinos). oxida enlaces químicos sulfúricos en proteínas, enzimas, lípidos y otros metabolitos. Interrumpe la función de la membrana celular y así causa ruptura de la pared celular. (Hazards, 2014)

Soluble en agua, alcohol, éter y ácido sulfúrico. Estable en soluciones diluidas acuosas.

Efectos Adversos: El ácido peracético puede ulcerar tejidos e irritar piel, mucosas, ojos, tracto respiratorio y tracto gastrointestinal. No presenta toxicidad una vez preparada la disolución (0.26-0.35% de ácido peracético). El contacto directo del producto concentrado sobre la piel puede producir quemaduras graves. Si el contacto es con los ojos puede producir ceguera. Son frecuentes las irritaciones oculares, nasales y de la mucosa del cuello tras exposición a vapores. Una ingestión accidental puede causar náuseas, vómitos, dificultad de deglución,

quemaduras orales, esofágicas y del tracto gastrointestinal, seguidas de colapso circulatorio

Por sí mismo no es considerado cancerígeno pero algunos estudios en animales han demostrado que puede ser un factor de inducción del cáncer

3.7.4 Efecto de las condiciones ambientales sobre los desinfectantes:

Los factores ambientales que modifican a velocidad y extensión de la actividad de los desinfectantes, tienen que ver con: temperatura, pH, demanda química exigida sobre el desinfectante, y accesibilidad del biocida a los microorganismos blanco.

Temperatura: Por lo general, la acción aumenta conforme aumenta este factor. De acuerdo con algunas reglas empíricas, la velocidad de la reacción química aumenta por cada grado centígrado de elevación; sin embargo esta regla no es del todo válida. El glutaraldehído por ejemplo, es muy eficiente a temperaturas de congelación. (Sumano, 2010)

pH: Es importante conocer el pH del medio durante la desinfección, en particular con algunos desinfectantes, el glutaraldehído requiere una alcalinidad específica para rendir su máxima eficacia, pues los medios ácidos abaten sus efectos. (Sumano, 2010)

Moustafa Gehan ha realizado varios estudios sobre el aislamiento de bacterias y su susceptibilidad a diversos desinfectantes mostrado en la tabla 7 y 8:

Tabla 7 Efecto de los diferentes desinfectantes en el Conteo total de bacterias, coliformes y hongos en la incubadora usando hisopos de arrastre. (Moustafa Z., 2009)									
Desinfectantes utilizados	CONTEO TOTAL			ENTEROBACTERIAS			HONGOS		
	Antes	después	Reducción %	Antes	después	Reducción %	Antes	después	Reducción %
TH4®	50x10 ²	Nulo	100	30x10 ²	Nulo	100	4x10 ²	Nulo	100
Virucidal extra®		Nulo	100		Nulo	100		5 x 10	87.5
Advantage 256®		1 x 10 ²	98		1x50 ²	98.3		1 x 10 ²	75.0
Perasan®		Nulo	100		Nulo	100		Nulo	100

Tabla 8 Eficacia de los desinfectantes contra los hongos bacterias seleccionadas después de 10 minutos de contacto (Mosutafa Gehan, y otros, 2009)

Eficacia del desinfectante												
	Sin materia orgánica						Con materia orgánica					
Producto	Pa	Ec	St	Sa	Af	Fs	Pa	Ec	St	Sa	Af	Fs
Perasan®	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+
H ₂ O ₂ ®	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aldekol®	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quatovet®	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Virkon-S®	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(Mosutafa Gehan, y otros, 2009)

3.7.4 Evaluación de la eficacia de los desinfectantes

La única prueba evidente de que una operación de desinfección ha sido eficaz, se puede observar indirectamente en el estado de salud de los animales o de la salubridad de los alimentos, según sea el caso. Existen varias maneras de evaluar el espectro antimicrobiano de los desinfectantes, pero son escasos los estándares aceptados a nivel internacional para el chequeo y la evaluación de los desinfectantes utilizados en programas de sanidad animal. Existen listas, adoptadas por ciertos países o convenios comerciales regionales, que designan los desinfectantes que se han de usar en situaciones reglamentarias específicas. En otros países, estos desinfectantes deben ser previamente aprobados mediante pruebas implementadas por organismos reglamentarios. Algunos otros aceptan las listas que han sido elaboradas y aprobadas en otros, o determinan arbitrariamente sus propios requisitos para la aprobación. Por último, algunos sólo implementan requisitos mínimos.

Los desinfectantes modernos suelen ser mezclas complejas de sustancias químicas.

Para medir su actividad biocida, un análisis químico no basta, sino que es necesario someterlos a bioensayos complejos. (OIE, 2010)

Hay muchos métodos para la identificación de los microorganismos presentes en la cáscara del huevo. En 1970 Robert Gentry describió un proceso bastante simple en el cual cada huevo es colocado en una bolsa de plástico estéril con 10 mL de una sustancia isotónica o buffer en donde se masajea en toda la superficie del cascarón con la mano por 1 minuto, esta con el fin de remover todas las partículas presentes en este dejándola reposar 5 minutos, pasando este tiempo se vuelve a masajear y se procede a sembrar el contenido de la bolsa o sobrenadante en una placa con distintos tipos de agares los cuales se meten a incubar, dando como resultado el crecimiento bacteriano de las distintas bacterias para su posterior conteo y determinación del grado de contaminación del mismo (Gentry & Quarles, 1971). Robert Gentry clasificó el huevo de acuerdo a su grado de contaminación (tabla 4)

Tabla 9 Conteo bacteriano del cascaron de huevos clasificados como limpios, manchados o sucios. Por examen macroscópico

Grupo	Clasificación	Muestras	Conteo bacteriano		
			Alto	Bajo	Promedio
1	Limpio	9*	6 400	200	3 400
1^a	Limpio	10	5 100	300	3 000
2	Manchado	9*	57 000	11 000	25 700
2^a	Manchado	10	51 000	13 000	28 100
3	Sucio	10	930 000	110 000	390 000
3^a	Sucio	10	14 000 000	130 000	430 000

*Un huevo roto durante el lavado

En nuestro país no existen parámetros microbiológicos establecidos que permitan verificar si el grado de contaminación por bacterias, hongos o levaduras es aceptable o no, debido a esto, los parámetros se establecen realizando monitoreos microbiológicos de cada planta incubadora periódicamente y estableciendo un rango por cada empresa dependiendo de los resultados de los mismos.

4.- Justificación del estudio:

La importancia de la aplicación de sistemas de limpieza y desinfección en las explotaciones avícolas radica en la necesidad de proveer un medio ambiente con bajas cargas microbiológicas. La industria avícola ha tenido un crecimiento acelerado, por ello la planeación y desarrollo de un sistema de limpieza y desinfección aplicado por un departamento específico con sus técnicas y equipos de trabajo, ha sido desarrollada en las empresas avícolas actuales. (Villagómez Pérez, 2000)

Los productos de pollo de engorda y de huevo incubable en todo el mundo se enfrentan continuamente al reto de asegurar que sus productos estén libres de enfermedades. (LIMITED, 2000).

El siguiente estudio se realiza por la importancia de llevar a cabo un monitoreo ambiental en las plantas incubadoras para evitar la contaminación del huevo fértil y así aumentar la tasa de nacimientos de pollito sano, disminuir la incidencia de huevos bombas, muertes embrionarias o nacimiento de pollitos contaminados, que posteriormente contaminarán a las siguientes parvadas. Así como evaluar la eficiencia de dos desinfectantes generalmente utilizados en la industria avícola.

5 Hipótesis y objetivos:

5.1.-Hipótesis.

5.1.1.- Hipótesis General:

Con el uso de desinfectantes a mayores concentraciones habrá una reducción de la carga microbiológica presente en la superficie del cascarón de los huevos procedentes de gallinas reproductoras ligeras.

5.1.2.- Hipótesis específica:

A) La familia enterobacteraceae se encuentra con mayor frecuencia en la superficie del huevo incubable debido a la anatomía de las aves ya que el huevo sale en donde desembocan aparato reproductor, urinario y digestivo que es la cloaca.

B) La presencia de materia fecal en el huevo disminuirá el efecto de los desinfectantes aún usándolos a tiempos y concentraciones recomendadas.

5.2 Objetivos:

5.2.1 Objetivo general: Determinar la carga microbiológica cuantitativa y cualitativa en plantas incubadoras mediante métodos microbiológicos de monitoreo ambiental (Técnica de Gentry)

5.2.2 Objetivos particulares:

1.2.1.- Analizar las ventajas y desventajas de utilizar dos desinfectantes a concentraciones diferentes.

1.2.2.- Evaluar que grupo bacteriano es más frecuente encontrar en la superficie del huevo después de una sanitización y desinfección.

6.- Material y métodos:

6.1 Selección de los huevos de estudio.- Se analizaron 1060 huevos fértiles procedentes de una parvada de gallinas reproductoras ligeras de la estirpe Lohmann de 42 semanas de edad en una granja ubicada en el estado de Jalisco.

La selección de los huevos se baso en los siguientes criterios:

1.- Criterios de inclusión: Huevos sin presencia de fracturas en el cascarón, limpios y sucios, separados respectivamente.

2.- Criterios de exclusión: Huevos en fáfara, huevos quebrados, huevos deformes o de aves sometidas a algún tipo de tratamiento antimicrobiano.

6.2.- Diseño experimental:

Los huevos seleccionados fueron sometidos a los siguientes tratamientos: Se utilizaron dos desinfectantes el primero contenía glutaraldehído al 2% y diluido en agua con un pH final de 7.5-8.5, el segundo fue un producto comercial a base de una mezcla de ácido peracético 5%, peróxido de hidrógeno 25% y otras sustancias 70% con un ph final de 1-2.

El lote total se dividió en huevo limpio y huevo sucio que a su vez se dividió en los siguientes tratamientos los cuales fueron aplicados por aspersión:

Tabla 10 Grupos de tratamientos

Huevo limpio	Huevo sucio
150 ppm de glutaraldehído	150 ppm de glutaraldehído
200 ppm de glutaraldehído	200 ppm de glutaraldehído
250 ppm de glutaraldehído	250 ppm de glutaraldehído
300 ppm de glutaraldehído	300 ppm de glutaraldehído
350 ppm de glutaraldehído	350 ppm de glutaraldehído
400 ppm de glutaraldehído	400 ppm de glutaraldehído
Ácido peracético 5 minutos	Ácido peracético 5 minutos
	Ácido peracético 8 minutos

Las muestras llegaron al laboratorio directamente de la granja en donde se les administró el tratamiento indicado para cada lote de huevos.

*Durante la recepción de las muestras hubo algunos huevos quebrados o con fracturas en el cascarón, los cuales se excluyeron del experimento.

Medios de cultivo:

Para la determinación de bacterias mesófilas aerobias al cual se le llamó el conteo total se utilizó agar de soya tripticaseína (TSA), para las enterobacterias se uso agar Mac Conkey (AMC), para el aislamiento de cocos gran positivos agar de sal y manitol (SMA) y para la cuenta de hongos filamentosos y levaduras agar dextrosa sabouraud (DSA)

Muestreo de la superficie del huevo:

1. Se depositaron 10 mL de PBS 1X estéril en la bolsa que contenía el huevo. (IMAGEN 4)
2. Se frotó la superficie del huevo con las paredes internas de la bolsa para suspender en el líquido toda la materia contenida en la superficie.
3. El huevo se colocó en una de las esquinas de la bolsa para que el PBS 1X lo cubriera completamente y se dobló la bolsa para cerrarla.
4. Se dejó reposar el huevo por 5 min con la bolsa cerrada.
5. Nuevamente el huevo se frotó con las paredes internas de la bolsa para que se resuspendiera el líquido.
6. El huevo fue retirado de la bolsa de forma aséptica.
7. El líquido contenido en la bolsa se depositó en un tubo de ensaye de 16 x 100 estéril con tapón de goma.
8. Se realizaron diluciones decuples 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} a partir del líquido contenido en la bolsa el cual corresponde a la dilución 10^{-1} , las diluciones se realizaron de la siguiente manera. (Tomar 1 ml de la dilución 10^{-1} y depositar en un tubo de 16 x 100 mm que contenga 9 ml de PBS 1X,

homogenizar y transferir 1 mL al siguiente tubo identificado con la leyenda 10⁻² el cual contiene 9 ml de PBS 1X, realizar el paso anterior hasta llegar al tubo 10⁻⁴) (Imagen 5)

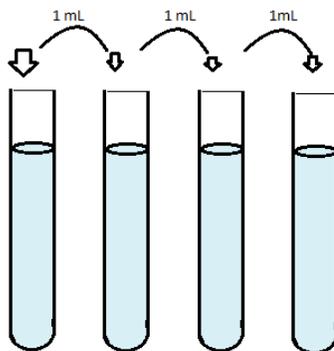


Imagen 8 Diluciones décuples

Metodología del aislamiento

1. Después de realizar las diluciones del muestreo primario se depositó 1 mL de cada dilución en una caja de petri estéril.
2. Se adicionaron aproximadamente 20 mL de agar líquido de los medios TSA, SMA, MCA y DSA (Imagen 6) (El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos) (NOM-113-SSA1-1994,1. NOM-113-SSA1-1994, Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.) (NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.)
3. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada (imagen 7)
4. Preparar una caja control con 15 ml de medio para verificar la esterilidad.
5. La mezcla se dejó solidificar dejando las cajas Petri reposando sobre una superficie horizontal a temperatura ambiente.

6. Una vez solidificado el medio, se procedió a incubar las placas de forma invertida en una estufa bacteriológica a una temperatura de 35 ± 2 °C por 48 horas.
7. En el caso de los hongos la incubación se realizó a temperatura ambiente en una caja de unigel para brindarles oscuridad y se revisó diariamente durante 10 días.

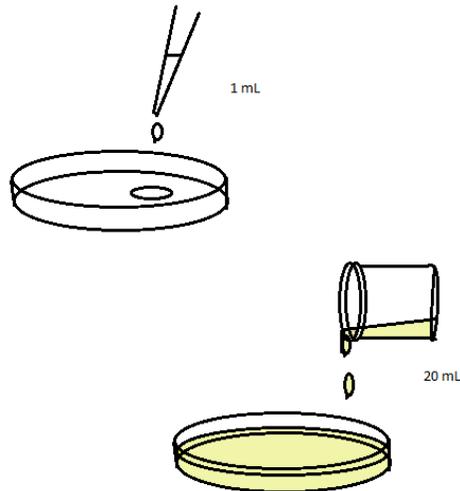


Imagen 9 vaciado de muestra y agar en placa

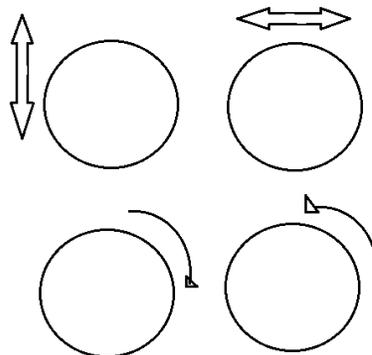


Imagen 10 Movimientos para homegenizar la muestra

7.- Resultados:

De acuerdo a los aislamientos obtenidos de las 1060 muestras trabajadas de huevos limpios y sucios de gallinas reproductoras ligeras

7.1 Análisis estadístico:

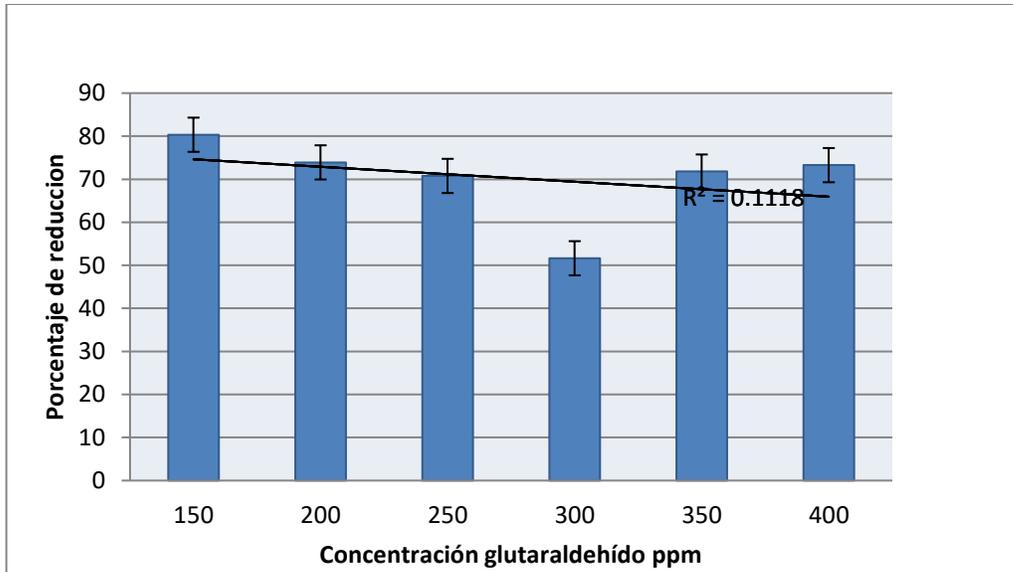
Para el análisis estadístico se utilizó el Programa Excel con la herramienta análisis de varianza de un factor. En el cual se metieron los resultados de las 1060 muestras analizadas.

Los datos fueron evaluados en logaritmo 10 con la finalidad de hacer un análisis más representativo.

7.1.1 Huevo limpio + glutaraldehído:

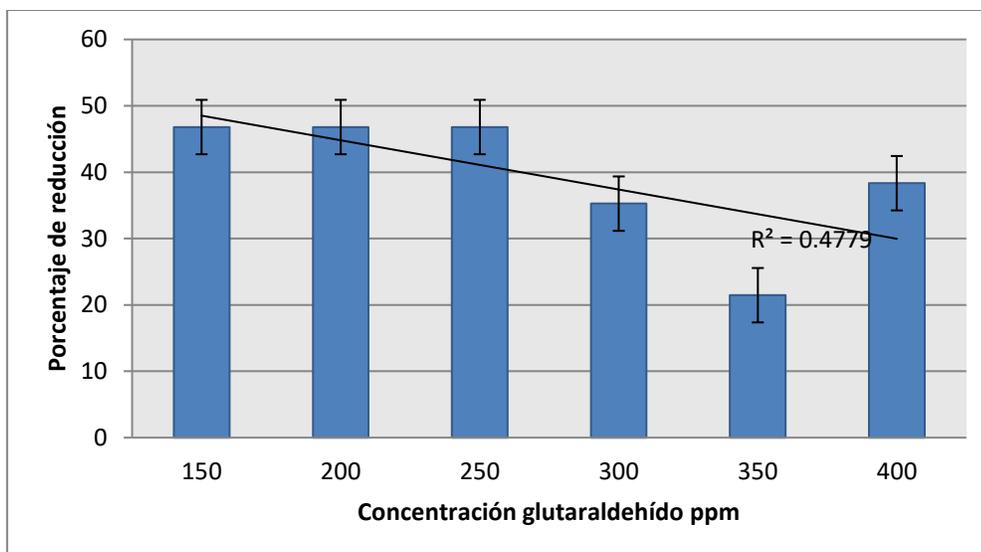
En el análisis de varianza del conteo total de las UFC observamos una varianza entre grupos de 15.79 y un resultado de F mayor a 1 ($F > 1$) entendiéndose que existe diferencia entre los tratamientos. El resultado para la probabilidad es de 3.7912 E-0.05 indicando que alguno de los tratamientos tiene una diferencia verdadera significativa; al realizar la prueba de Tukey (Anexo III) encontramos que el único tratamiento diferente es el testigo, confirmando que los grupos experimentales tuvieron efecto sobre la carga bacteriana.

En los porcentajes de reducción el conteo total podemos observar que el grupo al 150 ppm tiene la mayor reducción con un 80.33%, mientras que el grupo con una concentración de glutaraldehído a 300 ppm nos muestra un 51.64% de reducción, los y tratamientos a 200, 250, 350 y 400 ppm son iguales en cuanto a la reducción mostrando valores entre un 70% y un 73.90%, siendo solamente los grupos con 150 y 300 ppm diferentes (gráfica 1) (Anexo I).



Gráfica 1.- Porcentaje de reducción conteo total vs glutaraldehído en huevo limpio

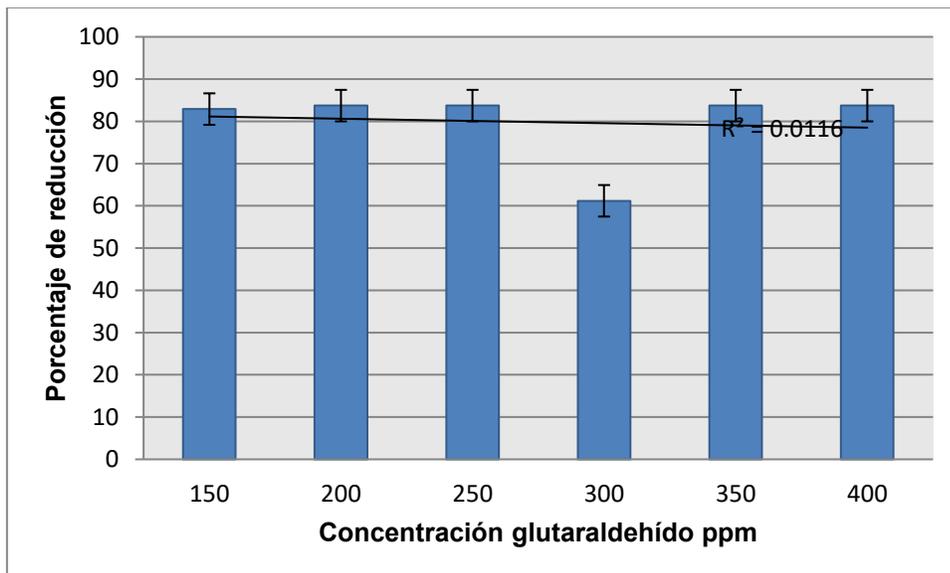
En el análisis estadístico del la carga microbiológica de enterobacterias, podemos observar que los grupos experimentales tienen desviaciones estándares menores a 1 (Anexo IV) esto debido a que en la mayoría de los casos el conteo de este grupo bacteriano fue nulo como se observa en la gráfica 12. Hay una diferencia entre grupos mayor a 1 lo que nos muestra que hay una diferencia entre ellos. En este tratamiento la probabilidad fue mayor a 0.05, con un valor de 0.1712 los resultados de este caso no tienen diferencia verdadera significativa.



Gráfica 2.- Porcentaje de reducción enterobacterias vs glutaraldehído en huevo limpio

En los resultados obtenidos del aislamiento de cocos (Anexo VI) podemos observar que el dentro de todos los aislamientos el grupo testigo tiene un promedio de 6.1413 que los grupos a 150, 200, 250, 350 y 400 ppm tienen un promedio de 1 lo cual nos dice que hubo un efecto del desinfectante mientras que el tratamiento a 300 ppm tiene promedio de 2.3835, los tratamientos tienen desviaciones estándares de 0 a excepción del 300 ppm en el que hubo casos con aislamientos positivos y el Testigo en el cual los aislamientos bacterianos fueron muy abundantes pero fueron de conteos desiguales. Haciendo el análisis de varianza en el anexo VII observamos que el valor de F es mayor a uno, por lo tanto los tratamientos tienen efecto, mientras que nuestra probabilidad es menor a 0.05 teniendo un resultado de 4.2687 E-07 para lo cual se realizó un análisis de diferencia verdadera significativa por prueba de Tukey (anexo VIII) dando como resultado que el único grupo diferente es el testigo aceptando entonces que los tratamientos tuvieron efecto.

La reducción muestra en la mayoría de los tratamientos porcentajes superiores al 80% con excepción del tratamiento a 300 ppm mostrado en la gráfica 3.



Gráfica 3.- Porcentaje de reducción cocos vs glutaraldehído en huevo limpio

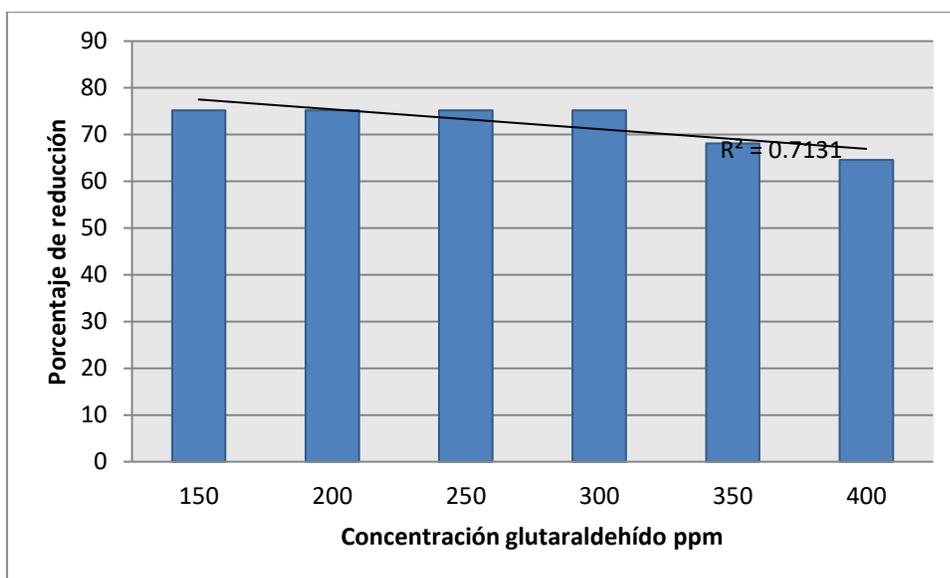
El conteo de hongos filamentosos para el caso del tratamiento en huevo limpio nos muestra resultados con conteos menores a diez (<10) Anexo IX tanto en el grupo control como en los grupos de tratamientos, por lo que el porcentaje de reducción dio nulo.

El análisis de varianza Anexo X nos muestra que solo hubo un tratamiento que fue la concentración de 400 ppm en el que se aislaron pero con un promedio de 1.6 siendo no significativo en comparación a los otros grupos teniendo un valor de $P > 0.05$ anexo XI

El conteo de levaduras en el huevo limpio nos dio un conteo elevado en el lote testigo anexo XI, el cual tiene una desviación estándar de 1.4 debido a una variación en los aislamientos individuales del mismo grupo. Los tratamientos con glutaraldehído nos muestran que los conteos en su mayoría fueron menores a 10 con excepción de los grupos a 350 y 400 ppm dando aislamientos con medias de 1.42 y 1.28 respectivamente. El valor de la probabilidad que arrojó el análisis de varianza en el anexo XII nos da un valor de $6.0365E-09$ haciendo el análisis de

diferencia verdadera significativa (Anexo XIII) el grupo testigo en comparación con los grupos en los cuales se administró el tratamiento.

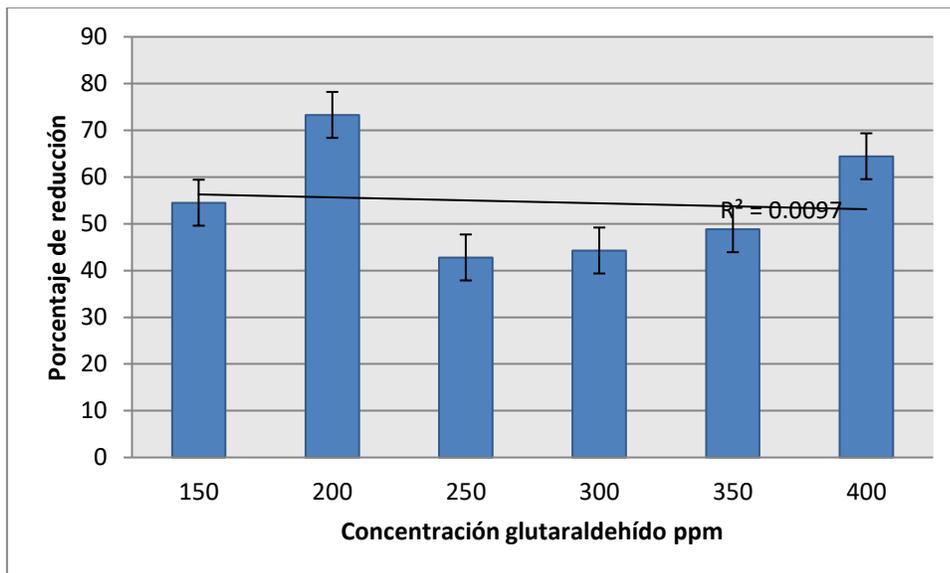
El porcentaje de reducción nos da resultados entre un 64 y 75 % Gráfica 4.



Gráfica 4.- Porcentaje de reducción levaduras vs glutaraldehído en huevo limpio

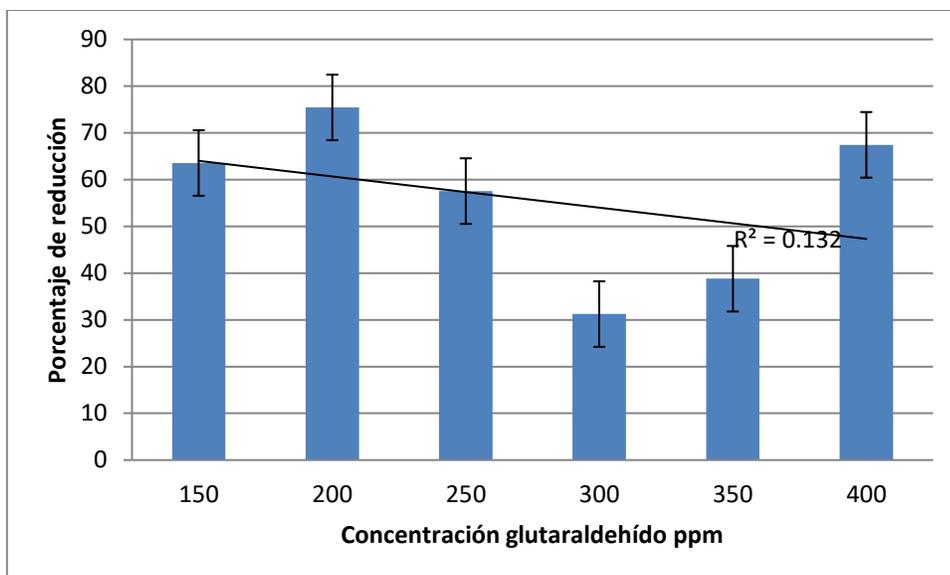
7.1.2 Huevo sucio glutaraldehído:

En la gráfica 5 los resultados obtenidos del grupo experimental de huevo sucio contra glutaraldehído muestra que los porcentajes de reducción en el conteo total son muy variables, teniendo como mayor el grupo a 200 ppm con un 73.30%, seguido por el concentrado a 400 ppm con un porcentaje 64.44%, mientras que el grupo a 250 ppm es menor teniendo el 44.83% En este caso los valores para error estándar varían siendo el grupo 3 y el testigo los más altos, es debido a que hubo grupos que dieron aislamientos bajos mientras que otros tuvieron números de UFC muy altos anexo XIV, Para este caso en el análisis de varianza mostrado en el anexo XV el valor de P nos muestra un valor de 1.4195 y una probabilidad de 0.023 no existiendo una diferencia verdadera significativa.



Gráfica 5.- Porcentaje de reducción conteo total vs glutaraldehído en huevo sucio

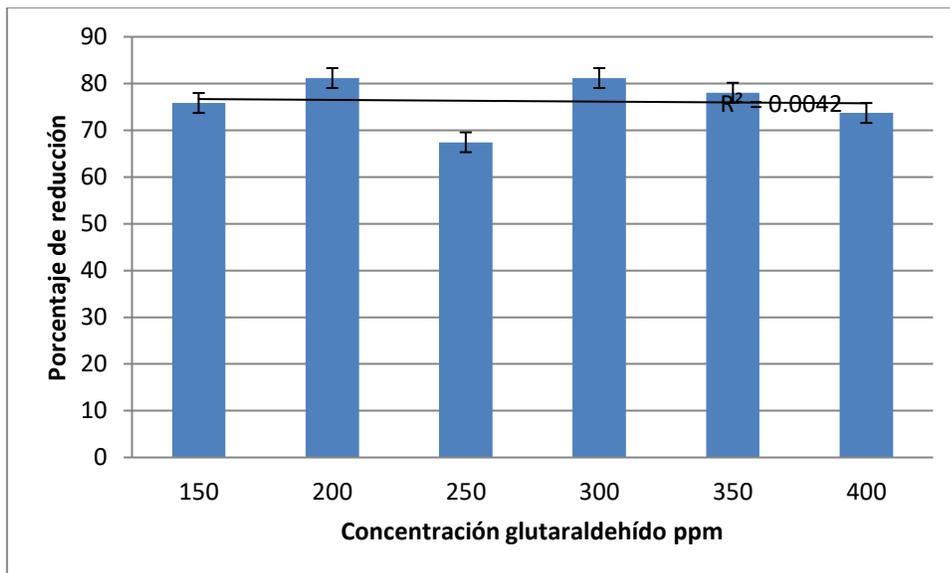
En el caso de aislamientos de enterobacterias podemos observar en el anexo XVI que el promedio en caso del grupo testigo es el más elevado, seguido por el grupo a 300 y a 350 ppm teniendo desviaciones estándar mayores a los demás. El aislamiento en estos tratamientos no fue uniforme, aún así los conteos dieron muy elevados, el valor de P en el anexo XVII es mayor a 0.05 ($P > 0.05$), dando como resultado no diferencias significativas entre grupos, de igual manera el porcentaje de reducción vemos que el mayor es en el grupo a 200 ppm mientras que los menores son a 300 y 350 ppm debido a los altos números de UFC/ml encontrados. Los errores estándar vuelven a ser elevados, principalmente en los tratamientos a 300 ppm y 350 ppm, resulta difícil tener un conteo uniforme con la presencia de materia fecal en el cascarón de los huevos estudiados.



Gráfica 6.- Porcentaje de reducción enterobacterias vs glutaraldehído en huevo sucio

Los resultados para el aislamiento de cocos en el presente estudio muestran un excelente desempeño en la reducción de estos desafíos contra el glutaraldehído en huevo sucio mostrados en la gráfica 7, los aislamientos en el huevo control anexo XVIII nos muestran promedios bajos entre 1.0 y 1.73 entendiéndose que los conteos de UFC en algunos fue muy escaso a nulo como lo es en el caso de 200 y 300 ppm teniendo promedios de 1.0

Para este análisis de varianza el anexo XIX nos muestra un resultado para P de 9.0988×10^{-6} , haciendo el análisis de Tukey (Anexo XX) para encontrar la diferencia verdadera significativa, encontramos que todos los grupos varía con el grupo Testigo, interpretando por ende que todos tuvieron efecto significativo sobre la carga microbiológica de esta familia bacteriana. Igualmente tenemos un valor de F elevado de 8.7025 encontrando por ende que las variables independientes son diferentes a la dependiente.

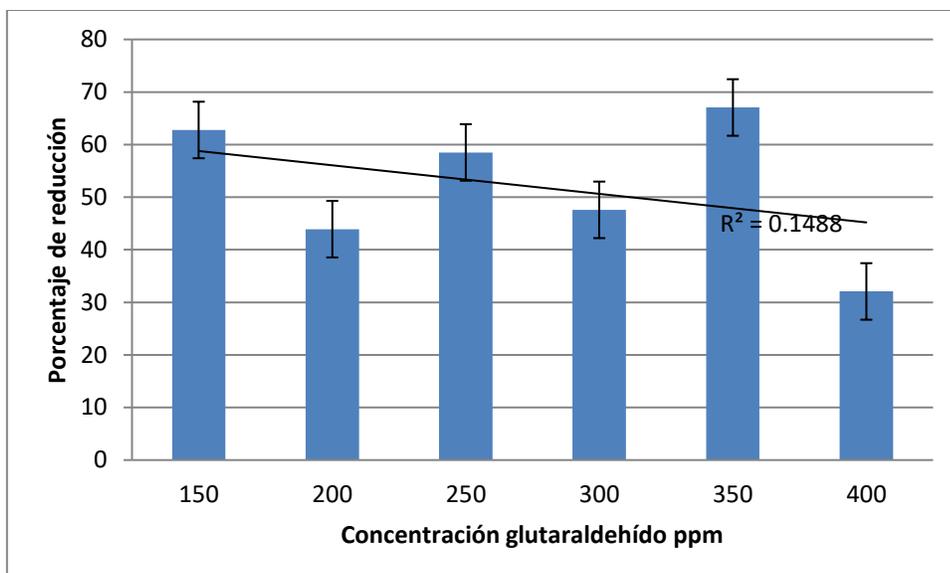


Gráfica 7.- Porcentaje de reducción cocos vs glutaraldehído en huevo sucio

Para el caso de los hongos filamentosos en este estudio tenemos aislamientos muy bajos en el grupo al 200 y 250 ppm, dando más elevados que el grupo testigo que nos dio un logaritmo de 1 siendo nulo su aislamiento, por lo cual no se procedió a hacer un análisis de porcentaje de reducción ANEXO XXI

Las levaduras aisladas en el tratamiento del huevo sucio y glutaraldehído son realmente bajas (Anexo XXII) en la mayoría de los tratamientos con excepción del tratamiento a 400 ppm siendo este el que tuvo un menor porcentaje de reducción gráfica 8.

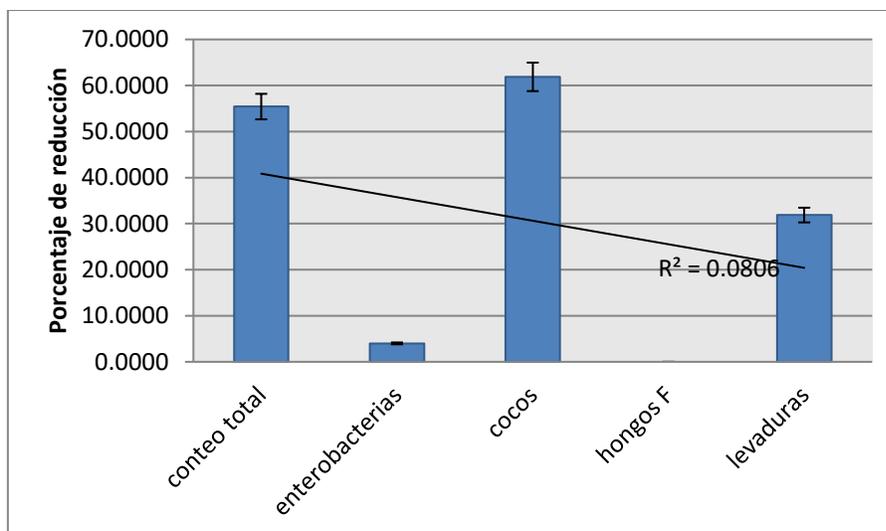
Haciendo el análisis estadístico mostrado en el anexo XXIV encontramos un valor de $P < 0.05$, por lo que se procedió a hacer la prueba de Tukey encontrando que solamente los tratamientos a 150 y 350 ppm son verdaderamente significativos en cuanto al grupo Testigo, siendo entonces los únicos con eficacia.



Gráfica 8.- Porcentaje de reducción levaduras vs glutaraldehído en huevo sucio

7.2 Tratamiento ácido peracético + peróxido de hidrógeno

El tratamiento de peróxido de hidrógeno más ácido peracético nos da porcentajes de reducción diferentes dependiendo del grupo bacteriano al cual este enfrentado, el grupo más sensible es el caso de los cocos con un 61.86 % de reducción, el siguiente grupo bacteriano es el grupo de las levaduras las cuales ya presentan una menor reducción teniendo un 31% y por último las enterobacterias con apenas 4% de reducción mostrado en la gráfica 10 y los insertos al XXVI al XXXV, en este caso encontramos un único valor de $P < 0.05$ que es el grupo de los cocos en el cual hubo una diferencia con el grupo testigo indicando que es verdaderamente significativo el resultado y por ende el porcentaje de reducción



Gráfica 9.- Porcentaje de reducción de bacterias en huevo limpio tratado con peróxido de hidrógeno + ácido peracético durante 5 minutos.

El conteo total de UFC en el tratamiento de huevo sucio nos dio un promedio de 8 para el conteo total, las enterobacterias y los cocos, mientras que para los hongos filamentosos nos dio un resultado de 1 y las levaduras 4.34. Los porcentajes de reducción del huevo sucio tratado con la mezcla del peróxido de hidrógeno y ácido peracético nos muestran mejores resultados en el tratamiento a ocho minutos comparado con el tratamiento a cinco minutos gráfica 10, siendo los cocos los más sensibles con un porcentaje de reducción de 87.5%, seguido por las enterobacterias con un 80.42% y los menos sensibles las levaduras teniendo un porcentaje de reducción de 52%.

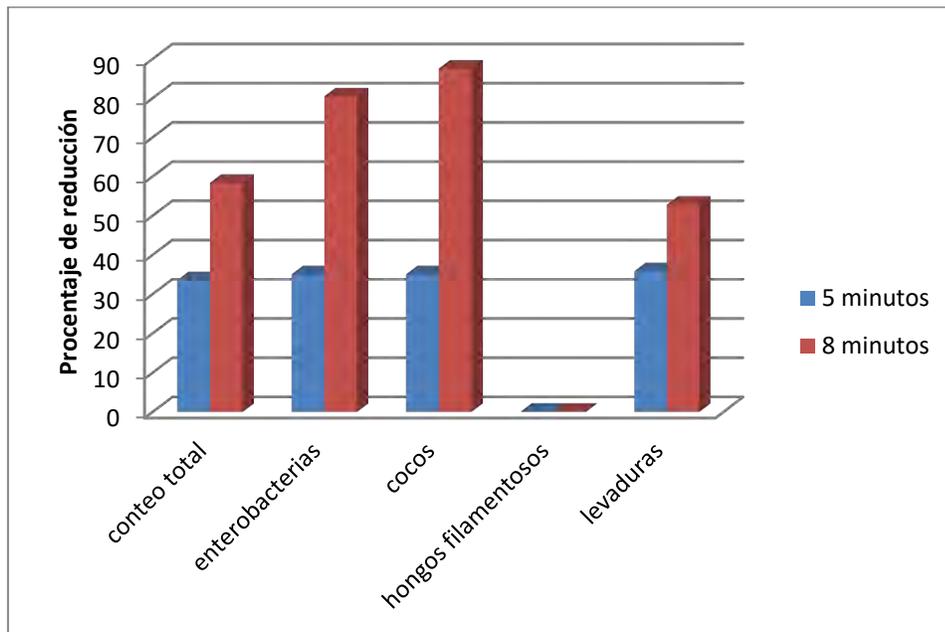
Aunque en este caso las enterobacterias estadísticamente no dieron una diferencia verdadera significativa comparada con los otros grupos su porcentaje de reducción es bastante bueno con respecto al grupo a cinco minutos. En este caso tenemos un valor de F mayor a uno, siendo diferencia entre grupos (Anexo XXXIX)

Para el caso de los cocos tenemos un alto valor de reducción respecto al lote testigo y al de 5 minutos de contacto, siendo así el más eficiente a ocho minutos, en este caso observamos que tiene una desviación estándar de 0 mostrada en el

anexo XL siendo un logaritmo 1 de promedio, entendiendo que la reducción fue bastante aceptable.

Para el aislamiento de las levaduras tenemos valores de 4.34 en el lote testigo y en ambos tratamientos un valor de 2 teniendo valores de 50.74% para el grupo a 8 minutos siendo este el más eficaz, el anexo XLV nos muestra que el valor de P es mayor a 0.05 no existiendo diferencia verdadera significativa.

En los análisis de varianza de estos tratamientos vemos que no existe un valor de $P < 0.05$ para ninguno de ellos (anexos XXXVII, XXXIX, XLI, XLIII, XLIV)



Gráfica 10.- Porcentaje de reducción de bacterias en huevo sucio tratado con peróxido de hidrógeno + ácido peracético durante 5 y 8 minutos

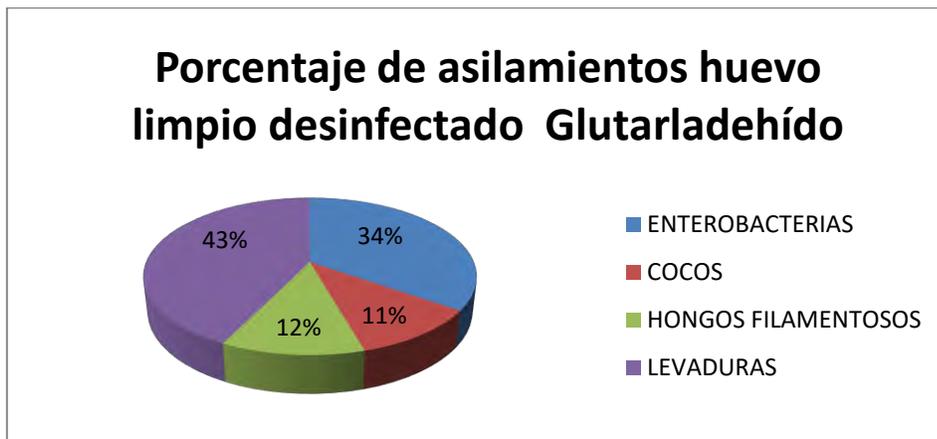
De acuerdo a los aislamientos obtenidos de las 1060 muestras analizadas: podemos observar que en cuanto al aislamiento de bacterias presentes en el huevo limpio (Gráfica 12) el grupo más representativo son los cocos dando un 99%, esto debido a que los aislamientos dieron resultados por encima de un millón

de UFC en promedio, seguido por las levaduras, las enterobacterias y los hongos, estos últimos dando resultados negativos.

Una vez desinfectado el huevo, al hacer el conteo bacteriano nos muestra en este caso que el principal aislamiento es el de las levaduras con un 43%, seguido de las enterobacterias con un 34%, los hongos con un 12% y al final los cocos con un 11% (gráfica 13)



Gráfica 11 Porcentaje de aislamiento huevo limpio testigo glutaraldehído



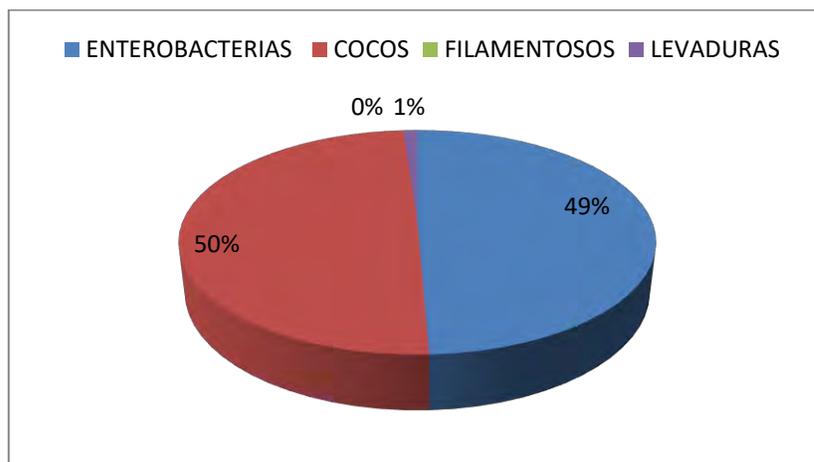
Gráfica 12.- Porcentaje de aislamientos huevo limpio desinfectado glutaraldehído

Los resultados obtenidos en los aislamientos del huevo sucio nos muestran que el grupo bacteriano con mayor incidencia fue el de las enterobacterias, los resultados de los aislamientos nos lanzaron conteos por arriba de 10^7 UFC, mientras que los grupos de cocos, hongos filamentosos y levaduras dan resultados muy bajos o casi nulos. (gráfica 14).



Gráfica 13 Porcentaje de aislamientos huevo sucio desinfectado con glutaraldehído

Se obtuvieron en los aislamientos de huevo sucio resultados de un 50% para cocos, un 49% para enterobacterias y un 1% para levaduras en los huevos sucios del lote testigo, los hongos filamentosos no dieron resultados positivos.



Gráfica 14.- Porcentaje de aislamientos en huevo sucio testigo

8.- Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos observar que en cuanto al aislamiento de bacterias presentes en el huevo limpio el grupo más representativo son los cocos. En comparación con Higenyi & Kabasa, 2014 quienes obtuvieron aislamientos Del 18 % de *staphylococcus* y un 51% de grupos no significativos entre los cuales pueden estar *micrococcus* y algunos tipos de *streptococcus* (que son organismos capaces de crecer en SMA aunque los segundos con menor probabilidad), con Moustafa Z., 2009 quien tuvo una incidencia del 10.93% y del 7.81% y con Oviasogie, Ogboghodo, Beshiru, Omoregie, & Ogofure, 2016 podemos observar que sus aislamientos son elevados, la literatura citada no nos da un dato si el estudio se realizó en huevos ausentes de materia fecal de las aves, esto podría explicar sus altos aislamientos de enterobacterias en sus resultados obtenidos. En cuanto a los huevos sucios los aislamientos principales son de enterobacterias y cocos, representando un 50% cada una aproximadamente, el aislamiento de levaduras y hongos filamentosos dio un porcentaje menor al uno por ciento, debido a que el conteo de los otros dos grupos fue demasiado elevado, dando resultados mayores a un millón de UFC y estos dieron resultados relativamente bajos, cabe mencionar que en aislamientos en los cuales el conteo fue nulo se tomó el mínimo que marca la NOM-092-SSA1-1994, ya que al ser un valor estimado no podemos descartar la presencia de alguna UFC.

Con esto podemos descartar la hipótesis hablando de huevo limpio de que en el cascarón del huevo el grupo bacteriano con mayor incidencia es el de las enterobacterias. En este experimento hablando de huevos limpios, el grupo bacteriano con mayor incidencia fue el de los cocos, existe una carga muy baja de enterobacterias, probablemente se deba a que al ovopositar la gallina existe un prolapso fisiológico que dura unos segundos y corresponde al inmediato posterior a la postura con el consiguiente retroceso de la cloaca a su posición normal, esto evita el contacto del proctodeo con la parte del coprodeo y el urodeo en la cloaca, evitando la contaminación de bacterias presentes en las heces fecales, mientras que en los huevos sucios podemos ver un aislamiento tanto de enterobacterias

como cocos Gram positivos, esto es debido a la presencia de heces en el cascarón del huevo, en el cual están las enterobacterias, es importante mencionar que en un gramo de heces puede haber una concentración de $10^{10} - 10^{11}$ UFC, hablando de animales sanos, si llegara a haber presencia de diarreas en la parvada la carga aumentaría significativamente en primer lugar por cloacas con la periferia sucia y otra por la cama húmeda que resultaría en tarsos y patas con presencia de excremento el cual iría a dar directamente a los nidos en donde es ovopositado el huevo.

En cuanto a la eficacia de los desinfectantes podemos observar los siguientes resultados:

El glutaraldehído contra el conteo bacteriano en huevo limpio:

Conteo total, tenemos porcentajes elevados de reducción en la mayoría de los casos, siendo la concentración del desinfectante a 150 ppm el más eficaz con 80.33% y a 300ppm con una eficacia menor de 73.27%, realmente todos los tratamientos tuvieron un desempeño aceptable, podemos observar que hubo una diferencia significativa de todos los grupos con el grupo testigo, aunque, en comparación con Z. Moustafa Gehan en 2009 en dos de sus estudios quien concuerda que el glutaraldehído es un desinfectante eficaz sin la presencia de materia orgánica, dando porcentajes de reducción del 100% en ensayos dentro de laboratorio contra diferentes cepas de bacterias con concentraciones de 0.5%, tenemos una diferencia de casi 50% en algunos casos,

Enterobacterias, En este caso, los resultados nos mostraron porcentajes menores al 50% respecto al conteo del Testigo (gráfica 2), debido a que los conteos fueron nulos en algunos casos pero no es posible registrar ese dato como cero, cabe mencionar que en estudios previos hechos por Moustafa Gehan 2009 y Higenyi & Kabasa, tienen aislamientos menores a 10% de enterobacterias en huevos limpios y las propias incubadoras en las que se incuban los mismos.

Cocos: Los resultados obtenidos en el porcentaje de reducción son altos, teniendo como mínimo el tratamiento a 300 ppm dando el 61.1819%, y con una mayor eficacia los grupos de 200, 250, 300, 350 y 400ppm dando resultados entre el 82 y 83% (gráfica 3) en este resultado se procedió a hacer un análisis de varianza, en el cual obtuvimos una probabilidad (p) menor a 0.05. Haciendo el análisis podemos observar que la única diferencia verdadera significativa es con el grupo testigo, aceptando los resultados de los tratamientos experimentales en comparación con la hoja de seguridad del producto utilizado el cual nos habla que según la AOAC y la EPA existe una reducción del 99.99%, igualmente Moustafa Gehan, en sus estudios del 2009 nos muestra que es eficiente contra este grupo bacteriano en un ambiente libre de materia orgánica. Aumentar la concentración en la mayoría de los casos no aumenta la eficacia del producto, los efectos del glutaraldehído sobre la pared celular de las bacterias van a seguir actuando eficientemente.

En el caso de los hongos filamentosos los resultados dieron un valor de 10 dando como negativo el aislamiento en la mayoría de los casos concordando con la literatura citada.

De acuerdo a la literatura citada (CAS) y la definición de los desinfectantes, no cumple en el sentido estricto los puntos para llamarse un desinfectante a nivel de campo, es importante mencionar que los resultados obtenidos comparados con un desinfectante probado contra diferentes tipos de microorganismos *in vitro* puede dar resultados diferentes, ya sea por factores ambientales o propios de las gallinas o del huevo.

El análisis de resultados en el huevo sucio nos muestra que no existen diferencias verdaderas significativas en la mayoría de los tratamientos a excepción del caso de la reducción de cocos y levaduras, los cocos suelen ser un grupo bacteriano con menor resistencia a los desinfectantes, y solo dos concentraciones en las levaduras a 150ppm y 350 ppm dieron diferencias significativas. Es importante mencionar que la presencia de materia orgánica disminuye la eficacia de los desinfectantes en una forma considerable aunque Jones , en su estudio realizado

en el 2004 coincide que al tener presencia de materia orgánica los conteos bacterianos más altos fueron en huevos con un logaritmo de $10^{4.2}/\text{ml}$. Análisis hechos por Moustafa Gehan en 2009 nos muestran que el glutaraldehído en presencia de materia orgánica es eficiente y no hay crecimiento de organismos, aunque este estudio fue realizado en condiciones de laboratorio, lo cual favorece el efecto de los desinfectantes al no tener factores que puedan afectar de manera directa este efecto como lo es la dureza del agua con la que se preparó el desinfectante, la cantidad de materia orgánica, y que tipos de microorganismos, ya que en el presente estudio no se llegó a la identificación bacteriana.

Para la mayoría de los casos con excepción de las levaduras el uso a 200 ppm nos muestra los mejores porcentajes de reducción.

Los resultados del peróxido de hidrógeno nos muestran principalmente que igual que en los obtenidos en los hechos con el glutaraldehído tenemos un aislamiento de cocos principalmente, los porcentajes de reducción nos muestran que los más elevados fueron para el caso del conteo total y de los cocos los cuales probablemente sean los aislados en ambos agares TSA y SMA respectivamente. en el caso de los estudios realizados por Moustafa en el 2009 y las pruebas de eficacia del producto hechas por el Departamento Británico del Ambiente, Alimentos y asuntos rurales (UK DEFRA) muestran que en diluciones desde 1:10000 son eficaces contra bacterias de los géneros *Escherichia* Y *Pseudomonas*, para el caso de los cocos las concentraciones van de 1:100 a 1:1000 teniendo nosotros la concentración de 1:10 tendríamos reducciones del 100%, es importante mencionar como en el caso anterior que los desinfectantes probados en condiciones de laboratorio van a dar mejores resultados que al enfrentamiento en campo.

En cuanto al huevo sucio podemos observar que los estudios realizados nos muestran aislamientos de enterobacterias, cocos y levaduras, evidentemente el grupo bacteriano más aislado es el de las enterobacterias y los cocos, esto debido a la presencia de materia fecal, los estudios realizados por Moustafa en el 2009 nos muestran que en presencia de materia orgánica los conteos de bacterias

siempre van a mantenerse en niveles elevados, esto debido a que esta materia disminuye el mecanismo de acción de los desinfectantes, en este caso el peróxido de hidrógeno.

9.- Conclusiones y recomendaciones

-El grupo bacteriano más aislado en el cascaron del huevo fértil incubable es el de los cocos tanto en huevo limpio como en huevo sucio, seguido de las enterobacterias, las levaduras y finalmente el grupo de los hongos filamentosos, este grupo que se aisló en mayores porcentajes es probablemente debido a que en su mayoría los cocos son microorganismos ambientales presentes en la tierra, la cama de los animales, e inclusive hasta en la piel de los mismos.

-El grupo de las enterobacterias fue aislado mayormente en el huevo sucio, esto es debido a la presencia de materia fecal que es en donde se encuentra este grupo bacteriano, es importante mencionar que aislamientos tan elevados de enterobacterias en la superficie del cascarón nos pueden hablar inclusive de contaminaciones internas del huevo, por eso es importante tener un ambiente lo más limpio posible en los nidos en donde ovopositan las gallinas y más importante aún, mantener una buena salud gastrointestinal de los animales para evitar diarreas que puedan manchar la cloaca y comprometer la esterilidad del huevo al salir.

-Como se observa en los resultados obtenidos, el uso del glutaraldehído, por aspersión, es capaz de lograr una desinfección bastante aceptable en las incubadoras y sobre todo en la superficie del cascarón de huevo fértil. El uso de este desinfectante a diferentes concentraciones nos muestra que existen diferencias entre los aislamientos bacterianos, esto quiere decir que no es necesario usar mayores concentraciones para tener una mayor eficacia del producto sobre las bacterias presentes en el cascarón.

-Es evidente en los resultados del presente trabajo que la materia orgánica disminuye en gran porcentaje la eficacia de los desinfectantes contra las bacterias ya que actúa como resguardo de estas y principalmente afecta en el desempeño del mecanismo de acción de estos ya sean glutaraldehído o la combinación de ácido peracético mas peróxido de hidrógeno. Es importante mencionar que el desempeño in vitro de los desinfectantes en comparación a las pruebas hechas en

campo van a tener un diferencia muy grande ya que la dureza del agua y factores ambientales y propios de las gallinas van a interactuar con el desinfectantes disminuyendo su eficacia.

-Como se observa el efecto del glutaraldehído es mayor al del peróxido de hidrógeno aún con presencia de materia orgánica.

-La clave para una buena desinfección es una limpieza previa de los huevos con presencia de materia fecal, esto con el debido cuidado de no comprometer a la cutícula del mismo, ya que una vez que la cutícula es retirada del cascarón la contaminación interna por bacterias es mucho más probable.

Con esto podemos descartar la hipótesis hablando de huevo limpio de que en el cascarón del huevo el grupo bacteriano con mayor incidencia es el de las enterobacterias.

10.- Bibliografía

1. A.D Grimont, P., & Weill, F.-X. (2007). *antigenic formulae of the salmonella serovars 2007* (Novena edición ed.). Francia: OMS.
2. Alcántara, L. A. (2005). *Microbiología práctica*. (J. O. Ferado, Ed.) Distrito Federal, México: IPN.
3. Bell, D. D., & Weaver, J. W. (2002). *Commercial Chicken Meat and egg production*. New York: Kluwer Academic Publishers.
4. Berry, J. G. (05 de Agosto de 2010). *El sitio avícola*. Obtenido de <http://www.elsitioavicola.com/articles/1802/incubacion-artificial/#sthash.dMHdCQ1r.dpuf>
5. Carmona Mendero, J. R., Merino Guzmán, R., Calderón Apodaca, N. L., Castañeda Serrano, M. d., Juárez Estrada, M. A., Hernández Velasco, X., y otros. (2009). *Zootecnia Avícola*. D.F, México: UNAM-FMVZ.
6. Egaña, C. S. (1964). *Enciclopedia de la avicultura*. Madrid: Espasa-Calpes.
7. Gentry, R., & Quarles, L. (1971). The measurement of bacterial contamination on egg shells. *Poultry science* , 51-53.
8. Gil Hernandez, A. (2010). *Tratado de nutrición* (2da ed.). Madrid, España: Panamericana.
9. Hazards, E. P. (2014). Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of peroxyacetic acid solutions for reduction of pathogens on poultry carcasses and meat. *EFSA Journal* .
10. Higényi, J., & Kabasa, J. D. (2014). Microbial contamination load of hatching eggs in Butaleja, eastern Uganda. *Animal and Veterinary Sciences* , 22-30.
11. ICMSF. (2001). *Microorganismos de los alimentos Ecología microbiana de los productos alimentarios*. Zaragoza: ACRIBIA, S.A.
12. Immerseel, F. V. (2011). *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products, 1st Edition* (Vol. 2 Egg Safety and Nutritional Quality). Turquía: Woodhead Publishing.
13. Jeanne Bruguère-Picoux, J.-P. V. (2015). *Manual de Patología aviar*. México: ANECA.

14. Johnson, A. L. (1986). *Avian Physiology*. (P. D. Ph.D., Ed.) New York: Springer.
15. Jones, D. R., Musgrove, T. M., & Northcutt, K. J. (2004). Variations in external and internal microbial populations in shell eggs during extended storage. *Journal of Food Protection* , 2657-2660.
16. LIMITED, R. B. (2000). Procedimientos de limpieza y desinfección de casetas avícolas. *Tecnología Avípecuaria en Latinoamérica* , 40-44.
17. Mosutafa Gehan, Z., Anwer, W., Amwer, W., Amer, H., EL-Sabagh, I., Rezk, A., y otros. (2009). In vitro efficacy comparisons of disinfectants used in the commercial poultry farms. *International Journal of Poultry Science* , 237-241.
18. Moustafa Z., G. (2009). A new Approach to evaluate the Hygienic condition of Comercial Hatcheries. *International Journal of Poultry Science* , 1047-1051.
19. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
20. NOM-113-SSA1-1994,1. NOM-113-SSA1-1994, Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
21. OIE. (2010). Código Sanitario para los Animales Terrestres.
22. OMS. (2005). *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio*. Ginebra: OMS.
23. Oviasogie, E. F., Ogboghodo, B. I., Beshiru, A., Omoregie, O. B., & Ogofure, G. A. (2016). The microbial burden load of eggshells from different poultry rearing systems in Ekosodin Village, Edo State, Nigeria. *African Journals* , 227-231.
24. Padron N, M. (1992). Calidad microbiológica del huevo incubable. *Avicultura profesional* , 173-178.
25. Padrón N., M. (1992). Calidad microbiológica del huevo incubable. *Avicultura profesional* , 173-178.
26. Pascual Anderson, M. d., & Calderon y Pascual, V. (2000). *Microbiología alimentaria*. (2da ed.). Madrid, España: Diaz de Santos.
27. Pattison, M., McMullin, P., Bradbury, J. M., & Alexander, D. (2008). *Poultry Diseases* (6th Edition ed.). China: Elsevier.

28. Quintana, J. A. (2011). *AVITECNIA*. México: trillas.
29. Rose, S. (1997). *Principios de la ciencia avícola*. zaragoza: acribia.
30. Salazar, A. I. (2003). Perspectivas para una incubación eficaz en el próximo siglo. *Tecnología avipecuaria* , 54-56.
31. Sotelo Salas, H. (2000). Contaminación bacteriana del huevo incubable. *Tecnología avipecuaria* .
32. Soto, E. (2001). Controles Bacteriológicos Relacionados con el Huevo Fertil. *Los avicultores* , 62-69.
33. Sumano Lopez, H. (2000). Evaluación del Efecto Residual de Varios Desinfectantes. *Tecnología Avipecuaria* , 8-12.
34. Sumano, L. H. (2010). *Farmacología clínica en aves comerciales*. México: McGraw-Hill.
35. Swayne, D. E. (2013). *Diseases of Poultry* (13th Edition ed.). United States: willey-blackwell.
36. UNA. (2014).
37. UNA. (2016).
38. VACA, A. L. (2003). *Producción avícola*. San Jose Costa rica: EUNED.
39. Valladares de la Cruz, J. C. (2010). El monitoreo microbiológico de las plantas incubadoras.
40. Valle, R. (2001). Manejo de huevos fértiles. in Seminario tecnológico de incubación. (C. M. s.n., Ed.)
41. Van Immerseel, F., Nys, Y., & Bain, M. (2011). *Improving the safety and quality of egg and egg products*. Philadelphia: Woodhead .
42. Villagómez Pérez, J. F. (2000). Sistemas de Limpieza en Granjas Avícolas. *Acontecer Avícola* , 64-70.

11.- Anexos:

HUEVO LIMPIO GLUTARALDEHÍDO

CONTEO TOTAL

Anexo I Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra conteo total de baterías en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.2168 ^a	0.4021	80.3340
200 ppm	1.6144 ^b	0.6341	73.9083
250 ppm	1.8091 ^b	1.4148	70.7626
300 ppm	2.9924 ^{ab}	2.6268	51.6384
350 ppm	1.7462 ^b	1.1658	71.7788
400 ppm	1.6540 ^b	0.9286	73.2679
Testigo	6.1875 ^a	1.9183	

Anexo II Análisis de varianza de glutaraldehído contra el conteo total en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	94.1489353	6	15.6914892	7.45589243	3.7912E-05	2.3803127
Dentro de los grupos	71.5555701	34	2.10457559			
Total	165.704505	40				

DVS= 2.623677

	150	200	400	350	250	300	T	
	1.2168	1.6144	1.6540	1.7462	1.8091	2.9924	6.1875	
150	1.2168	0	-0.3976	-0.4372	-0.5293	-1.7755	-4.9707	
200	1.6144	0.3976	0	-0.0396	-0.1318	-1.378	-4.5731	
400	1.6540	0.4372	0.0396	0	-0.0921	-1.338	-4.5335	
350	1.7462	0.5293	0.1318	0.0921	0	-1.246	-4.4413	
250	1.8091	0.5922	0.1946	0.1550	0.0629	0	-4.3785	
300	2.9924	1.7755	1.3779	1.3383	1.2462	0	-3.1952	
T	6.1875	4.9707	4.5731	4.5335	4.4413	4.3785	3.1952	0

Anexo III Prueba de Tukey para huevo limpio glutaraldehído contra conteo total

ENTEROBACTERIAS:

Anexo IV Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones(ppm) contra enterobacterias en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.0000 ^b	0.0000	46.7972
200 ppm	1.0000 ^b	0.0000	46.7972
250 ppm	1.0000 ^b	0.0000	46.7972
300 ppm	1.2169 ^b	0.5311	35.2608
350 ppm	1.4762 ^b	0.7513	21.4608
400 ppm	1.1590 ^b	0.3896	38.3358
Testigo	1.8796 ^b	1.3310	

 Anexo V análisis de varianza de glutaraldehído contra enterobacterias en huevo limpio

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.45686746	6	0.57614458	1.62193004	0.17124754	2.3803127
Dentro de los grupos	12.0775342	34	0.3552216			
Total	15.5344017	40				

COCOS:

Anexo VI Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra cocos en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.0501 ^b	0.1229	82.8998
200 ppm	1.0000 ^b	0.0000	83.7168
250 ppm	1.0000 ^b	0.0000	83.7168
300 ppm	2.3835 ^{ab}	2.8003	61.1889
350 ppm	1.0000 ^b	0.0000	83.7168
400 ppm	1.0000 ^b	0.0000	83.7168
Testigo	6.1413 ^a	2.0139	

Anexo VII análisis de varianza de glutaraldehído contra cocos en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	114.954476	6	19.1590793	11.7356613	4.2687E-07	2.3803127
Dentro de los grupos	55.5067738	34	1.63255217			
Total	170.461249	40				

DVS= 2.3108

		200	250	350	400	150	300	T
		1	1	1	1	1.0502	2.3835	6.1413
200	1	0	0	0	0	-0.0502	-1.3835	-5.1413
250	1	0	0	0	0	-0.0502	-1.3835	-5.1413
350	1	0	0	0	0	-0.0502	-1.3835	-5.1413
400	1	0	0	0	0	-0.0502	-1.3835	-5.1413
150	1.0502	0.0502	0.0502	0.0502	0.0502	0	-1.3333	-5.0911
300	2.3835	1.3835	1.3835	1.3835	1.3835	1.3333	0	-3.7578
T	6.1413	5.1413	5.1413	5.1413	5.1413	5.0911	3.7578	0

Anexo VIII Prueba de Tukey para huevo limpio glutaraldehído contra cocos

HONGOS FILAMENTOSOS:

Anexo IX Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra hongos filamentosos en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
200 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
250 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
300 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
350 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
400 ppm	1.1667 ^b	0.4082	0
Testigo	1.0000 ^b	0.0000	

Anexo X análisis de varianza de glutaraldehído contra hongos filamentosos en huevo limpio

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.14227642	6	0.02371274	0.96747967	0.4617829	2.3803127
Dentro de los grupos	0.83333333	34	0.0245098			
Total	0.97560976	40				

LEVADURAS:

Anexo XI Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra levaduras en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>%Reducción</i>
150 ppm	1.0000 ^b	0.0000	75.1639
200 ppm	1.0000 ^b	0.0000	75.1639
250 ppm	1.0000 ^b	0.0000	75.1639
300 ppm	1.0000 ^b	0.0000	75.1639
350 ppm	1.2832 ^b	0.6936	68.1313
400 ppm	1.4261 ^b	0.6911	64.5825
Testigo	4.0264 ^a	1.4123	

Anexo XII análisis de varianza de glutaraldehído contra levaduras en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	38.1970248	6	6.3661708	16.947113	6.0365E-09	2.3803127
Dentro de los grupos	12.7720755	34	0.37564928			
Total	50.9691003	40				

DVS= 1.1085

		150	200	250	300	350	400	T
		1	1	1	1	1.2832	1.4261	4.0264
150	1	0	0	0	0	-0.2832	-0.4261	-3.0264
200	1	0	0	0	0	-0.2832	-0.4261	-3.0264
250	1	0	0	0	0	-0.2832	-0.4261	-3.0264
300	1	0	0	0	0	-0.2832	-0.4261	-3.0264
350	1.2832	0.2832	0.2832	0.2832	0.2832	0	-0.1429	-2.7432
400	1.4261	0.4261	0.4261	0.4261	0.4261	0.1429	0	-2.60030
T	4.0264	3.0264	3.0264	3.0264	3.0264	2.7432	2.6003	0

Anexo XIII Prueba de Tukey para huevo limpio glutaraldehído contra levaduras

HUEVO SUCIO GLUTARALDEHÍDO

Conteo total

Anexo XIV Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra el conteo total en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	2.4337 ^{ab}	2.7579	54.5073
200 ppm	1.4286 ^b	1.1339	73.2957
250 ppm	3.0603 ^{ab}	2.7598	42.7947
300 ppm	2.9806 ^{ab}	3.0746	44.2833
350 ppm	2.7372 ^{ab}	2.9193	48.8334
400 ppm	1.9020 ^b	1.0437	64.4450
Testigo	5.3496 ^a	3.0397	

Anexo XV análisis de varianza de glutaraldehído contra conteo total en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	51.770554	6	8.62842567	1.41959287	0.23580989	2.3803127
Dentro de los grupos	206.655358	34	6.07809876			
Total	258.425912	40				

ENTEROBACTERIAS:

Anexo XVI Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra enterobacterias en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.4838 ^b	1.1852	63.5624
200 ppm	1.0000 ^b	0.0000	75.4439
250 ppm	1.7285 ^b	1.3550	57.5544
300 ppm	2.8000 ^{ab}	3.0332	31.2428
350 ppm	2.4924 ^{ab}	2.8091	38.7969
400 ppm	1.3257 ^b	0.5200	67.4457
Testigo	4.0723 ^a	3.6283	

Anexo XVII análisis de varianza de glutaraldehído contra enterobacterias en huevo sucio

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	37.83823	6	6.3063728	1.463905	0.2200004	2.380312
Dentro de los grupos	146.4689	34	4.3079104			
	55		5			
Total	184.3071	40				
	92					

COCOS:

Anexo XVIII Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra cocos en huevo sucio			
Grupos	Promedio	Desv. Est.	%REDUCCION
150 ppm	1.2832 ^b	0.6936	75.8496
200 ppm	1.0000 ^b	0.0000	81.1790
250 ppm	1.7300 ^b	1.1373	67.4389
300 ppm	1.0000 ^b	0.0000	81.1790
350 ppm	1.1667 ^b	0.4082	78.0421
400 ppm	1.3967 ^b	0.7183	73.7126
Testigo	5.3132 ^a	3.0047	

Anexo XIX análisis de varianza de glutaraldehído contra cocos en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	74.3296428	6	12.3882738	8.70252032	9.0988E-06	2.3803127
Dentro de los grupos	48.3999225	34	1.42352713			
Total	122.729565	40				

DVS= 2.1627

		200	300	350	150	400	250	T
		1	1	1.1667	1.2832	1.3967	1.7300	5.3132
200	1	0	0	-0.1667	-0.2832	-0.3967	-0.7300	-4.3132
300	1	0	0	-0.1667	-0.2832	-0.3967	-0.7300	-4.3132
350	1.1667	0.1667	0.1667	0	-0.1165	-0.2300	-0.5634	-4.1465
150	1.2832	0.2832	0.2832	0.1165	0	-0.1135	-0.4469	-4.0300
400	1.3967	0.3967	0.3967	0.2300	0.11354021	0	-0.3333	-3.9165
250	1.7300	0.7300	0.7300	0.5634	0.44687354	0.33333333	0	-3.5831
T	5.3132	4.3132	4.3132	4.1465	4.0300	3.9164	3.5831	0

Anexo XX Prueba de Tukey para huevo sucio glutaraldehído contra cocos

FILAMENTOSOS:

Anexo XXI Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones (ppm) contra hongos filamentosos en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
200 ppm	1.0682 ^b	0.1803	0.0000
250 ppm	1.0502 ^b	0.1229	0.0000
300 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
350 ppm	1.0000 ^b	0.0000	0
400 ppm	1.1667 ^b	0.4082	0.000
Testigo	1.0000 ^b	0.0000	0

Anexo XXII análisis de varianza de glutaraldehído contra hongos filamentosos en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.13717291	6	0.02286215	0.70410506	0.64832508	2.3803127
Dentro de los grupos	1.10397324	34	0.0324698			
Total	1.24114614	40				

LEVADURAS:

Anexo XXIII Análisis Estadístico glutaraldehído en diferentes concentraciones contra levaduras en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est</i>	<i>%REDUCCION</i>
150 ppm	1.1297 ^b	0.3177	62.7803
200 ppm	1.7024 ^b	1.3265	43.9131
250 ppm	1.2594 ^b	0.4018	58.5074
300 ppm	1.5908 ^b	1.0745	47.5867
350 ppm	1.0000 ^b	0.0000	67.0532
400 ppm	2.0618 ^b	1.2474	32.0689
Testigo	3.0352 ^a	1.4809	

 Anexo XXIV análisis de varianza de glutaraldehído contra levaduras en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	15.7226	6	2.6204	2.6964	0.0299	2.3803
Dentro de los grupos	33.0411	34	0.9718			
Total	48.7637026	40				

DVS= 1.7869

		350	150	250	300	200	400	T
		1	1.1297	1.2594	1.5908	1.7024	2.0618	3.0352
350	1	0	-0.1297	-0.2594	-0.5908	-0.7024	-1.0618	-2.0352
150	1.1297	0.1297	0	-0.1297	-0.4612	-0.5727	-0.9322	-1.9055
250	1.2594	0.2594	0.1297	0	-0.3315	-0.4430	-0.8025	-1.7758
300	1.5908	0.5908	0.4612	0.3315	0	-0.1115	-0.4710	-1.4443
200	1.7024	0.7024	0.5727	0.4430	0.1115	0	-0.3595	-1.3328
400	2.0618	1.0618	0.9322	0.8025	0.4710	0.3595	0	-0.9733
T	3.0352	2.0352	1.9055	1.7758	1.4443	1.3328	0.9733	0

Anexo XXV Prueba de Tukey para huevo sucio glutaraldehído contra levaduras

HUEVO LIMPIO ÁCIDO PERÁCETICO+ PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

CONTEO TOTAL:

Anexo XXVI Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco minutos de exposición contra el conteo total de bacterias en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est</i>	<i>%REDUCCIÓN</i>
Testigo	8	0	
5 minutos	3.5665	2.7191	55.4187

Anexo XXVII análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra conteo total en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	32.7598	1	32.7598	4.9230	0.0508	4.964
Dentro de los grupos	66.5437	10	6.6544	6		6
Total	99.3036	11				

ENTEROBACTERIAS:

Anexo XXVIII Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco minutos de exposición contra el conteo de enterobacterias en huevo limpio

<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est</i>	<i>%REDUCCIÓN</i>
Testigo	2.5	2.1213	
5 minutos	2.4	2.9515	-4

Anexo XXIX análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra enterobacterias en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.0167	1	0.0167	0.00	0.9651	4.9646
Dentro de los grupos	82.9000	10	8.2900	2		
Total	82.9167	11				

COCOS:

Anexo XXX Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco minutos de exposición contra el conteo de cocos en huevo limpio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est</i>	<i>%REDUCCIÓN</i>
Tratamiento	8	0	
5 minutos	3.0505	2.8124	61.8685

Anexo XXXI análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra cocos en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	40.8290	1	40.8290	5.735	0.0376	4.9646
Dentro de los grupos	71.1880	10	7.1188	4		
Total	112.0170	11				

HONGOS FILAMENTOSOS

Anexo XXXII Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco minutos de exposición contra el conteo de hongos filamentosos en huevo limpio

<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est</i>	<i>%REDUCCIÓN</i>
Testigo	1	0	0
5 minutos	1.2511	0.3905	

Anexo XXXIII análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra hongos filamentosos en huevo limpio

Origen de las variaciones	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.1050	1	0.1050	0.7656	0.4021	4.9646
Dentro de los grupos	1.3721	10	0.1372			
Total	1.4772	11				

LEVADURAS

Anexo XXXIV Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco minutos de exposición contra el conteo de levaduras en huevo limpio

<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est</i>	<i>%reducción</i>
Testigo	4.4538	0.0432	
5 minutos	3.0344	2.7157	31.8685

Anexo XXXV análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra levaduras en huevo limpio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3.3576	1	3.3576	0.505	0.4932	4.9646
Dentro de los grupos	66.3768	10	6.6377			
Total	69.7344	11				

HUEVO SUCIO ÁCIDO PERÁCETICO+ PERÓXIDO DE HIDRÓGENO:

CONTEO TOTAL:

Anexo XXXVI Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco y ocho minutos de exposición contra el conteo total de bacterias en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>% Reduccion</i>
5 minutos	5.3204	3.6753	33.4949
8 minutos	3.3333	4.0415	58.3333
Testigo	8.0000	0.0000	0.0000

Anexo XXXVII análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra conteo total en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	26.1695	2	13.0847	1.056	0.3972	4.7374
Dentro de los grupos	86.6993	7	12.3856	4		
Total	112.8689	9				

ENTEROBACTERIAS:

Anexo XXXVIII Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco y ocho minutos de exposición contra el conteo de enterobacterias en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>% Reduccion</i>
5 minutos	5.2	3.8341	35
8 minutos	1.5663	0.9809	80.4210
Testigo	8	0	0

Anexo XXXIX análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra enterobacterias en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	52.4807	2	26.2403	3.024	0.1130	4.7374
Dentro de los grupos	60.7243	7	8.6749	8		
Total	113.2050	9				

COCOS:

Anexo XL Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco y ocho minutos de exposición contra el conteo de cocos en huevo sucio

<i>Grupos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>% Reducción</i>
5 minutos	5.2	3.8340579	35
8 minutos	1	0	87.5
Testigo	8	0	0

Anexo XLI análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra cocos en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	63.7	2	31.85	3.7917	0.0766	4.7374
Dentro de los grupos	58.8	7	8.4			
Total	122.5	9				

HONGOS FILAMENTOSOS:

Anexo XLII Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco y ocho minutos de exposición contra el conteo de hongos filamentosos en huevo sucio

<i>Grupos</i>	Promedio	Des. Est	% Reducción
5 minutos	1	0	0
8 minutos	1	0	0
Testigo	1	0	0

Anexo XLIII análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra hongos filamentosos en huevo sucio

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0	2	0	65535	0	4.7374
Dentro de los grupos	0	7	0			
Total	0	9				

LEVADURAS:

Anexo XLIV Análisis Estadístico ácido peracético+ peróxido de hidrógeno a cinco y ocho minutos de exposición contra el conteo de levaduras en huevo sucio			
<i>Grupos</i>	Promedio	Desv. Est	% Reducción
5 minutos	2.7902	1.6440	35.8050
8 minutos	2.0538	1.8252	52.7473
Testigo	4.3466	0.0345	

Anexo XLV análisis de varianza de ácido peracético + peróxido de hidrógeno contra levaduras en huevo sucio

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6.390300	2	3.195150	1.279847	0.3359612	4.737414
Dentro de los grupos	17.47556	7	2.496509			
Total	23.86586	9				
	75					

Imágenes:



Imagen 12 medición del PBS en una probeta

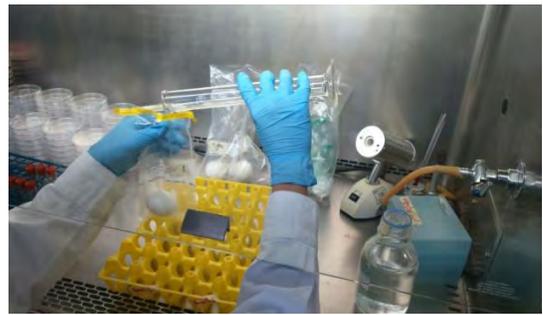


Imagen 11 Vaciado de PBS en la bolsa con el huevo



Imagen 13 Masajeado del huevo dentro de la bolsa



Imagen 14 Vaciado de la muestra a un tubo de 16 x 100



Imagen 16 Muestras con agar SMA



Imagen 15 Vaciado del agar en la placa con muestra