



**Universidad Nacional
Autónoma de México**

**FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



01673²
24

**EFFECTO DE LA IRRADIACION CON ELECTRONES EN HUEVOS
FERTILES INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON
SALMONELLA ENTERITIDIS. SOBRE LA INCUBABILIDAD
Y DESARROLLO PRODUCTIVO.**

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

**PARA LA OBTENCION DEL GRADO DE :
MAESTRA EN PRODUCCION ANIMAL**

P O R

María del Pilar Castañeda Serrano

**Asesores : MVZ., Ph. D. Guillermo Téllez Isaías
Q., M. en C. Ma. Emilia Bustos Ramírez
MVZ., E.P.A. José Antonio Quintana López
MVZ., E.P.A. Ezequiel Sánchez Ramírez**



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 está 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.

**"La Ciencia da al hombre conocimiento, el cual es poder;
La Religión da al hombre sabiduría la cual es control.
La Ciencia trata principalmente hechos;
La Religión trata principalmente valores.
Las dos no son rivales".**

Martin Luther King, Jr.

**EFFECTO DE LA IRRADIACION CON ELECTRONES EN HUEVOS FERTILES
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON *SALMONELLA ENTERITIDIS*,
SOBRE LA INCUBABILIDAD Y DESARROLLO PRODUCTIVO.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios de Posgrado de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la
Universidad Nacional Autónoma de México

Para la obtención del grado de
MAESTRA EN PRODUCCION ANIMAL

por

Maria del Pilar Castañeda Serrano

Asesores: MVZ., Ph.D. Guillermo Téllez Isafas
Q., M. en C. Ma. Emilia Bustos Ramírez
MVZ., E.P.A. Jose Antonio Quintana López
MVZ., E.P.A. Ezequiel Sánchez Ramírez.

México, D.F.

1995

DEDICATORIA

A mis padres, Miguel Castañeda S. y Ma. del Pilar Serrano de C. por su amor que es mi mejor motivación.

A mi abuelita Remedios Sánchez Bt. por su amor que ha perdurado entre nuestra familia.

A mis hermanos. Jorge G., Alejandra I., Miguel de J., y Ma. de Lourdes por su cariño, apoyo y confianza.

A mis sobrinos, Cristina, Beatriz, Efrain, Marcela, Sayde, Jose Miguel, A. Alejandra y Ma. Fernanda que son mi alegría.

A todos y cada uno de mis amigos, que son mi mayor riqueza.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme concluir esta etapa de mi vida.

A mis asesores Dr. Guillermo Téllez I., Ma. Emilia Bustos R., Jose Antonio Quintana L. y Ezequiel Sánchez R. por su apoyo, colaboración y valiosos consejos, Mil gracias.

Al Instituto Nacional De Investigaciones Nucleares, por su colaboración invaluable sin el cual no hubiera sido posible el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Isidro Castro, Dr. Jose A. Quintana L. y la Lic. Martha A. Acosta A. por el apoyo y la confianza que siempre me brindaron durante esta etapa.

A mis amigos Daniel Camacho F., Fidel Infante R., Julián Elizalde R., Alejandro Banda C., Gustavo Valenzuela I. y Hugo Meza T. por su ayuda durante el desarrollo de este trabajo y por su amistad durante esta etapa de mi vida.

A la MVZ. Miriam Trejo R., y Q. Perla C. Luna C. por compartir conmigo sus conocimientos y por la amistad que me han brindado.

A los MVZ. Jesús Martín Silva C., Luis Alejandro Rojas O. y Felizardo Leon P. Mil gracias por su colaboración y disposición.

Al Ing. Hector López H. y Ma. del Pilar Zuazua G. por su colaboración y vallosos consejos.

A los Sres. Adelfo Juárez M. y Rodrigo Merino B. por su colaboración durante todo el desarrollo del trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
TABLA DE CONTENIDO.....	IV
LISTA DE CUADROS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
Irradiación de alimentos.....	5
Acelerador de electrones.....	9
Salmonelosis.....	12
El huevo y sus mecanismos de defensa contra de la invasión bacteriana.....	14
Justificación.....	20
Hipótesis y Objetivos.....	22
MATERIAL Y METODOS.....	23
RESULTADOS.....	33
DISCUSION.....	39
CONCLUSIONES.....	42
LITERATURA CITADA.....	43

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Dietas utilizadas en los lotes experimentales.....	47
Cuadro 2. Análisis calculado del alimento utilizado en los lotes experimentales.....	48
Cuadro 3. Resultados de las pruebas realizadas para obtener las condiciones constantes de irradiación utilizando dosímetro tinte radiocrómico.....	49
Cuadro 4. Lecturas de absorbancia para las muestras irradiadas con dosímetro de tinte radiocrómico.....	50
Cuadro 5. Unidades formadoras de colonia promedio de <i>Salmonella enteritidis</i> obtenidas de huevo irradiado a diferentes dosis.....	51
Cuadro 6. Porcentajes de recuperación de <i>Salmonella enteritidis</i> en las estructuras internas del huevo.....	52
Cuadro 7. Porcentajes de reducción de <i>Salmonella enteritidis</i> en las áreas de muestreo.....	53
Cuadro 8. Porcentaje de incubabilidad y de fertilidad de huevos irradiados con electrones a dos diferentes dosis.....	54
Cuadro 9. Porcentajes de mortalidad embrionaria por grupos, obtenida mediante el embriodiagnóstico de huevo irradiado a dos diferentes dosis.....	55
Cuadro 10. Causas de muerte embrionaria obtenidas mediante el embriodiagnóstico del huevo irradiado con electrones a dos diferentes dosis.....	56
Cuadro 11. Peso de pollos de un día de edad obtenidos de huevo irradiado con electrones a dos diferentes dosis.....	57
Cuadro 12. Consumo de alimento durante el período de crianza de los pollos obtenidos de huevo irradiado con electrones a dos diferentes dosis.....	58
Cuadro 13. Pesos promedio durante el ciclo productivo de pollos obtenidos de huevo irradiado con electrones a dos diferentes dosis.....	59
Cuadro 14. Índices de conversión comercial en las etapas del ciclo productivo de pollos obtenidos a partir de huevo irradiado.....	60
Cuadro 15. Índice de productividad de pollos obtenidos a partir de huevo irradiado a dos diferentes dosis.....	61

Cuadro 16. Mortalidad presentada durante el ciclo de producción en el pollo obtenido de huevo irradiado con electrones.....	62
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama del espectro electromagnético.....	63
Figura 2. Relación de penetración de electrones en agua dependiendo del nivel de energía.....	64
Figura 3. Esquema de la irradiación industrial con electrones en un producto.....	65
Figura 4. Acelerador de electrones tipo Pelletrón.....	66
Figura 5. Curva de calibración del dosímetro de tinte radiocrómico.....	67
Figura 6. Colocación de los dosímetros de película en los cascarones de huevo.....	68
Figura 7. Posiciones en los cascarones expuestos a irradiación con electrones sobre una base de 10 cm.....	69
Figura 8. Correlación entre UFC/ml. de <i>Salmonella enteritidis</i> y dosis de irradiación.....	70
Figura 9. Correlación entre el porcentaje de recuperación de <i>Salmonella enteritidis</i> del área I y dosis de irradiación.....	71
Figura 10. Correlación entre el porcentaje de recuperación de <i>Salmonella enteritidis</i> del área II y dosis de irradiación.....	72
Figura 11. Correlación entre el porcentaje de recuperación de <i>Salmonella enteritidis</i> del área III y dosis de irradiación.....	73

RESUMEN

CASTAÑEDA SERRANO MARÍA DEL PILAR. EFECTO DE LA IRRADIACIÓN CON ELECTRONES EN HUEVOS FERTILES INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON *SALMONELLA ENTERITIDIS*, SOBRE LA INCUBABILIDAD Y DESARROLLO PRODUCTIVO. (Bajo la asesoría de: MVZ., Ph.D. Guillermo Téllez Isafas; Q.M. en C. Ma. Emilia Bustos Ramírez; MVZ.EPAA. José Antonio Quintana López; MVZ.,EPAA. Ezequiel Sánchez Ramírez.)

La irradiación ionizante es un proceso físico que inhibe eficazmente la división de microorganismos. La irradiación con electrones, se utiliza para tratar productos de espesores menores de 10 cm comparada con la radiación gamma. En este trabajo, se evaluó el efecto de 4 dosis de irradiación con electrones, para lo cual se dividieron en 6 grupos de tratamiento; 0.5kGy, 1kGy, 2kGy, 3kGy, (kiloGray: unidad de dosis absorbida de radiación) testigos positivo y negativo en 3 lotes de huevos fértiles inoculados con *Salmonella enteritidis* fagotipo 13 a una concentración de 10^9 UFC (Unidades Formadoras de Colonia). La evaluación bacteriológica fue realizada por medio de la técnica de Gentry y la técnica de Williams. También se evaluó el desarrollo productivo de pollos obtenidos de huevo fértil de reproductora pesada irradiado con electrones a dosis de 1 y 2 kGy. Se analizó la fertilidad, el porcentaje de incubabilidad y la mortalidad embrionaria. Los pollitos nacidos se criaron durante 8 semanas bajo condiciones comerciales, y se evaluaron mediante el análisis de sus parámetros productivos tales como peso al día de edad, consumo de alimento, peso promedio, índice de conversión, índice de productividad y porcentaje de mortalidad.

Los resultados obtenidos en la Técnica de Gentry mostraron un descenso significativo de la población bacteriana de los huevos irradiados a partir de dosis de 1 kGy con respecto a los huevos tratados a 0.5 kGy y huevos sin irradiar ($P < 0.05$). A 2 kGy se inhibió el crecimiento de *Salmonella*; Obteniéndose una alta correlación negativa ($r = -0.93$) entre dosis de irradiación y UFC ($P < 0.05$). El porcentaje de *Salmonella* que se recuperó por la Técnica de Williams en las estructuras internas disminuyó al aumentar la dosis de irradiación ($P < 0.01$). Y en el área I de muestreo de la membrana interna del cascarón se observó una alta correlación negativa ($r = -0.89$; $P < 0.05$) entre dosis de irradiación y muestreo de estructuras internas, en el área II de muestreo del espacio entre cascarón y membrana externa se observó también una alta correlación negativa ($r = -0.88$; $P < 0.05$) y para el área III de muestreo del espacio entre membrana externa e interna la correlación fue alta y negativa ($r = -0.93$; $P < 0.05$).

Los resultados en el porcentaje de incubabilidad y en los parámetros productivos como son peso al día de edad, consumo de alimento, peso promedio, índice de conversión, índice de productividad y porcentaje de mortalidad de los pollos obtenidos a partir de huevo irradiado no mostraron diferencias significativas entre los grupos de pollo provenientes de huevo irradiado y el grupo testigo ($P > 0.05$).

Los resultados obtenidos sugieren utilizar la irradiación con electrones como un tratamiento eficaz en la inhibición del crecimiento de bacterias importantes en salud pública como es la *Salmonella enteritidis* siendo un mecanismo viable de desinfección de huevo fértil.

INTRODUCCION

La aplicación de la radiación tipo ionizante (rayos gamma, X ó electrones), para la conservación de la carne de pollo y otros productos avícolas es una alternativa segura y efectiva, su investigación y desarrollo llevado por 40 años lo han demostrado (23). Actualmente 37 países han aprobado la aplicación de la radiación ionizante en los alimentos con diferentes propósitos, y existen 50 instalaciones en el mundo que procesan alimentos por irradiación a nivel industrial de las cuales 7 procesan pollo y otros productos cárnicos(23).

La tecnología de fuentes de energía ionizante para tratamiento de alimento está bien establecida. Fuentes similares son ampliamente usadas en hospitales, universidades e industria. Los usos principales de la energía ionizante en el procesamiento de alimentos son eliminar ó reducir la población de microorganismos, parásitos e insectos en alimentos, inhibir la germinación de tubérculos y retrasar maduración en frutas(8).

A principios de los 60's los laboratorios de la Armada de los E.U.A. encontraron que a dosis de tratamiento de 5 kGy de energía ionizante en huevos congelados ó en polvo (usados en la industria pastelera) podrían ser librados de *Salmonella* sin dañar su calidad(8). La Salmonelosis aviar ha tenido una gran repercusión económica dentro de la avicultura mundial desde principios de la década de 1950, ha causado pérdidas a las industrias del pavo, pollo de engorda y huevo, provocando además productos finales contaminados capaces de producir salmonelosis en los seres humanos(30). La Salmonelosis es una zoonosis, de importancia económica a nivel mundial. La infección de los animales con varias especies ó serovariedades de *Salmonella* a veces resulta en una enfermedad seria y siempre se constituyen en reservorios de la enfermedad para los humanos. El fago tipo 4

de *S. enteritidis* en pollo de engorda puede causar morbilidad, mortalidad y pérdidas económicas importantes por causa de los decomisos debidos a pericarditis, perihepatitis y septicemia(26).

La Organización Mundial de la Salud reportó en 1989 que la *S. enteritidis* (fago tipo 4) fue el serotipo más comúnmente aislado en los casos de Salmonelosis humana en casi todos los países Europeos y *S. enteritidis* (fago tipo 13) era el serotipo aislado más comúnmente en los estados del noreste de los Estados Unidos de Norteamérica(26).

Aunque se admite la posibilidad de que la transmisión transovárica pueda ocurrir y ser de importancia en la epidemiología de la salmonelosis en la gallina doméstica(44), el consenso general señala que la contaminación y penetración de la bacteria a través de cascarón es más importante que la primera. Por lo que la producción de huevo incubable libre de contaminación fecal es esencial para la prevención de las infecciones clínicas paratifoideas (25). La contaminación por *Salmonella* en la superficie del cascarón de huevos incubables puede afectar las utilidades de la avicultura y cuando está presente en los huevos de consumo, puede representar un serio problema de salud pública(9).

El proceso de irradiación ha sido propuesto como un posible medio de control de *Salmonella* y otros patógenos de origen alimentario (39). La sensibilidad de los organismos vivos a la radiación revela que los efectos de la irradiación en seres vivientes son inversamente proporcionales a la complejidad biológica, es decir los virus son más resistentes que el hombre (23). La sensibilidad a la radiación ha sido informada para un número de importantes serotipos de *Salmonella* con valores de D_{10} (Dosis para lograr 90% de inactivación) que están entre 0.25 y 0.71 kGy en caldo (18,39). Y varía con el serotipo y el medio de tratamiento (19,39,43).

Estudios realizados informaron que la *Salmonella* podría ser inactivada en huevo cuando se expone a dosis de 3 y 6 kGy, sin embargo resultó en deterioro de su calidad, y a dosis de 2 kGy en aire reduciría el número de salmonela en huevo completo en polvo ó huevos sólidos por 100 a 1000 veces sin dañar el sabor ó propiedades (8).

La producción de huevo incubable libre de contaminantes que asegure la obtención de pollito de buena calidad, ha sido una preocupación y objetivo constante de la industria avícola. Se ha determinado que el número de bacterias presentes en el cascarón varía desde 190 hasta 430 000 por huevo, estos microorganismos de origen extragenital son la principal causa de descomposición de huevos (3). El mayor número de oportunidades para la penetración de bacterias a través del cascarón, se da en el nido. La mayoría de los huevos no contienen bacterias cuando son puestos y únicamente se contaminan posteriormente(30), estas al penetrar a través del cascarón causan infecciones en los embriones, disminuyen su viabilidad y provocan mortalidad embrionaria ó durante las primeras semanas de vida del pollito, provocando retraso en el crecimiento (25,30). Unos cuantos huevos contaminados por bacterias introducidos a la incubadora pueden causar un problema de mortalidad y retraso en los pollos de engorda. Se ha considerado incluso que *E. coli* puede ser causa de aerosaculitis y colisepticemia en pollitos que se han infectado en la nacedora.

S. typhimurium es capaz de colonizar en un mayor porcentaje las membranas corioalantoideas y el saco vitelino cuando esta logra penetrar el cascarón; la mayoría de los embriones contaminados por esta vía usualmente eclosionan, por lo que provoca una contaminación en pollitos sanos en las máquinas nacedoras, ya sea por vía aerógena ó por contacto con superficies ó pollitos contaminados (7,30).

IRRADIACION DE ALIMENTOS

Antes de revisar la aplicación de la irradiación de alimentos es conveniente explicar primero el concepto radiación, que es la emisión y propagación de energía a través de espacio ó a través de un medio material en forma de ondas. El término energía radiante se refiere a ondas ó rayos en el espectro electromagnético. El espectro es el rango saturado de frecuencias ó longitudes de ondas de radiación electromagnética. Ejemplos de regiones de el espectro que encontramos regularmente son microondas, rayos infrarrojos, ultravioleta y rayos X (Figua 1). Por lo tanto, irradiación es la exposición ó iluminación por rayos u ondas de todo tipo. La luz visible generalmente considerada, del alcance de longitudes de onda en el espectro electromagnético, la luz no penetra más allá de la piel. Mientras que microondas, rayos X, rayos gamma y rayos cósmicos tienen un poder de penetración mayor (28).

La irradiación de alimentos emplea la energía electromagnética de tipo ionizante. La expresión "radiación ionizante", se utiliza para denominar radiaciones que producen en el material irradiado partículas eléctricamente cargadas denominadas iones (29).

Los objetivos de la irradiación de los alimentos y de otros métodos de tratamiento son; reducir las pérdidas debidas a la alteración y combatir los microbios y otros organismos causantes de enfermedades de transmisión alimentaria (23).

Los tipos de radiación ionizante permitidos en la irradiación de alimentos por el Codex alimentarius son: Rayos gamma de radioisótopos de Co^{60} ó Cs^{137} y

Rayos X generados por fuentes de energía máximo de 5 MeV.

Electrones generados de máquinas operadas a niveles de energía máxima de 10 MeV (10).

Radiación gamma: Radiación electromagnética de longitud de onda muy corta producida por la desintegración espontánea de núcleos atómicos de isótopos radioactivos (10,13).

Rayos X: Radiación electromagnética de longitudes de onda cortas, generalmente producidas por una máquina en la cual un acelerador de electrones rápidos en alto vacío inciden en un blanco metálico como oro ó tungsteno, el campo electromagnético del blanco defleca ó frena al electrón produciendo en este proceso la emisión de radiación X. Los rayos X son llamados también Rayos Roentgen (4).

Electrones: Energía corpuscular que también se utiliza para irradiar alimentos. Los electrones de alta energía se producen de máquinas eléctricas denominadas aceleradores. Los electrones se obtienen de un filamento incandescente formando haces en el interior de un tubo al vacío y emergen a la atmósfera a través de una ventana metálica muy delgada(4). El sistema internacional derivó que la unidad de dosis absorbida se denomina gray (Gy) y se define como la energía media comunicada por la radiación ionizante a la materia por unidad de masa. Un Gy equivale a joule por Kg; otra unidad más antigua de radiación es el rad, equivale a 0.01 Gy (15,29).

$$\begin{aligned}
 1 \text{ Gray (Gy)} &= 1 \text{ Joule / Kilogramo} \\
 &= \text{w}^* / \text{Kilogramo} \\
 &= 100 \text{ rad} \\
 &= 6.24 \times 10^8 \text{ electrón volt / Kilogramo}
 \end{aligned}$$

La dosis absorbida D, es la cantidad de energía absorbida por unidad de masa de material irradiado en un punto en la región de interés (15). El control de calidad de los alimentos irradiados se lleva a cabo en la planta de irradiación por medición de la dosis absorbida, esta cantidad se mide a través de dispositivos denominados dosímetros, los cuales tienen la

capacidad de producir un cambio y este es proporcional a la dosis de radiación (4).

Estudios de validación de resistencia de microorganismos o resistencia de insectos son importantes escalones en el establecimiento de procedimientos de esterilización por irradiación de utensilios médicos o tratamiento de radiación de alimentos y control cuarentenario. En tal ejercicio es esencial que una serie de dosis absorbidas sean dadas con precisión (6).

Dosímetros radiocrómicos en forma de películas delgadas, soluciones líquidas, gels y pellets, propiamente calibrados han demostrado ser útiles en el mapeo de dosis, investigación, ajuste de dosis, validación de procesos y calibración de otros dosímetros de rutina en campos de radiación de fotones y electrones, actuando sobre un amplio rango de dosis absorbidas (1 Gy a 10^6 Gy)(27).

Con el fin de obtener resultados reproducibles en un proceso de irradiación con electrones se utiliza el dosímetro de tinte radiocrómico (TRC), se usa en forma de películas de 1 cm^2 (27,49). Las cuales son incoloras llegando a ser coloreadas si son irradiadas, y son producidas en varios rangos de grosor de unos pocos micrómetros a cerca de un milímetro. Son analizados para dosimetría por espectrofotometría ó densitometría en longitudes de onda adecuadas en un espectro visible. Son generalmente sensibles a la luz ultravioleta y por lo tanto deben ser protegidos contra la luz del día y blanca fluorescente(27).

Las ventajas al usar estas películas bajo muchas condiciones de irradiación son su tamaño, independencia rango-dosis y su habilidad para cubrir amplios rangos de dosis (10^2 - 10^6 Gy) a temperaturas que típicamente pueden encontrarse en la mayoría de aplicaciones de procesos de irradiación (-80°C - $+80^\circ\text{C}$). Las películas son relativamente estables por largos períodos antes y después de la irradiación en condiciones controladas en el

laboratorio(27). La ventaja de estos dosímetros sobre otros dosímetros de película que pueden ser calibrados con gammas de Co^{60} y la curva de calibración obtenida se puede utilizar cuando se hacen irradiaciones con electrones(49).

Dependiendo los fines del tratamiento se aplica una dosis específica:

a) **Radurización:** Tratamiento de alimentos con dosis de radiación suficiente para mantener la calidad del producto y reducir cantidades substanciales de microorganismos causantes de descomposición. (Dosis 0.4 a 10 kGy)(10).

b) **Radición:** Tratamiento de alimentos con dosis de radiación suficiente para reducir el nivel de microorganismos patógenos no formadores de esporas incluyendo parásitos a nivel no detectable. (Dosis 2 a 8 kGy)(10).

c) **Radapertización:** Tratamiento de alimentos con dosis de radiación suficiente para reducir el nivel de microorganismos al punto de la esterilización (Dosis 25 a 45 kGy)(10,23,28).

Las bacterias tienen diferencias morfológicas y estructurales que las hacen más sensibles a la radiación comparada con virus y esporas(13), aunque la sensibilidad a la irradiación de varias especies de bacterias difiere grandemente, por ejemplo el *Vibrio parahaemolyticus* tiene una D_{10} de 60 Gy mientras que el *Clostridium botulinum* su D_{10} es de 3300 Gy.

Desde mediados de los 60's diversas investigaciones, han demostrado que el ADN es la molécula blanco responsable por producir muerte de células expuestas a la radiación. La molécula de ácido nucleico es ionizada ó excitada, iniciando así la cadena de eventos que llevan al cambio biológico e inclusive la muerte celular si el cambio es serio. Esto es llamado efecto directo de la radiación(10).

La radiación puede interactuar con cualquier átomo y/o moléculas de la célula,

principalmente si las bacterias poseen un citoplasma altamente hidratado (70-80% agua) lo que favorece la producción de radicales libres(13), los cuales alteran la función del ADN. Esto es lo que se conoce como daño indirecto por radiación(10).

Parece ser que la membrana citoplasmática es otro componente que contribuye al daño celular por radiación(10,13). El reciente reconocimiento que la membrana está íntimamente asociada con el ADN puede implicar algunas regiones especializadas ó quizás toda la membrana como blanco de la radiación. Complejos ADN-membrana funcionan como sitios de replicación de ADN, así como en procesos de reparación, excisión y resíntesis.

Muchas enzimas que son requeridas para reparar ADN son localizadas en la membrana, y glicolípidos de membrana aparecen al estimular algunas nucleasas en las fracciones ADN-membrana. Esto sugiere una interacción cooperativa funcional entre el ADN y la membrana. Algunos investigadores han sugerido que daño a la membrana puede posiblemente ser transmitido al ADN y daño al ADN puede tener consecuencias para la membrana(13,43).

ACELERADOR DE ELECTRONES

Los aceleradores de electrones a escala comercial, llegaron a ser disponibles en los 50's y han sido mejorados desde entonces. En Vannes Francia a finales de 1986, se inició la operación de irradiar con electrones carne de pollo deshuesada y congelada, el propósito fue mejorar la calidad higiénica destruyendo *Salmonella* y otros microorganismos patógenos causantes de enfermedad(10). EN México comenzaron a utilizarse los aceleradores de electrones en los años 60's, se construyó un acelerador tipo Van de Graaff en la Universidad de Guanajuato(22).

Los aceleradores de electrones como fuente de radiación ionizante están siendo aplicados en diversos tipos de industrias, como la eléctrica, química, farmacéutica, textil, huleña, alimentos, manufactura de medios magnéticos, metalización, impresión y control de contaminación(21). Los aceleradores de electrones producen radiación electrónica que es una forma de radiación ionizante. Los electrones son partículas subatómicas de masa muy reducida y carga eléctrica negativa(28). El rango efectivo de penetración de electrones generados por un acelerador depende del nivel de energía (Figura 2). La energía es el factor que limita el espesor de penetración efectiva de irradiación de un producto(21). Energía de 10 MeV en electrones pueden ser usados para irradiaciones en blancos de 3.9 cm de espesor (equivalente en agua) mientras que electrones de 3 MeV puede solamente ser usado para tratamientos de capas delgadas, puesto que ellos penetran a una profundidad de solamente 1.5 cm en agua(15). Para propósitos de irradiación de alimentos 10 MeV es el límite superior. Como regla práctica, la penetración de un acelerador de electrones en la mayoría de alimentos es de 5 mm por MeV(10).

Una ventaja del sistema de aceleradores es que es un sistema que puede ser prendido ó apagado a voluntad y gracias a que la radiación está concentrada en el haz por lo que es posible procesar grandes volúmenes de producto en poco tiempo (Figura 3) comparada con la radiación gamma que se produce como un proceso continuo y espontáneo del radioisótopo de Co^{60} . Aunque esta ventaja queda contrarrestada por el hecho de que la energía del acelerador de electrones tiene un limitado poder de penetración comparado con los rayos gamma de fuentes de Co^{60} . La irradiación con haces de electrones es especialmente adecuada en casos de irradiar alimentos como cortes delgados de carne, granos(23,28) y canales de animales(10).

Para irradiar los productos, estos son movidos por un transportador del área de almacenamiento al cuarto de irradiación, los electrones producidos por el acelerador penetran al producto, la dosis se obtiene por el tiempo de exposición, el cual está determinado por los siguientes parámetros de operación(4).

I = Intensidad del haz

E = Energía de los electrones acelerados

L_b = Ancho del barredor

P_{kw} = Potencia del haz = $E \cdot I$

I = Espesor del producto

V = Velocidad del transportador

El acelerador de electrones tipo "Pelletrón" construido en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Salazar Edo. de México, esta formado por un generador de alto voltaje, una unidad de aceleración separada del generador, tanque para presurización, sistema de vacfo, sistema de manejo de gases aislantes y su control remoto(22). Los parámetros críticos que deben ser controlados en un proceso de irradiación con electrones en un acelerador tipo Pelletrón para obtener resultados reproducibles son:

- a) Características del haz (energía e intensidad de corriente del haz)
- b) Dispersión del haz como son ancho y frecuencia de barrido
- c) Parámetros de transporte

De los parámetros del acelerador, voltaje y corriente depende que sea apropiado para la aplicación a la que se piensa designar, ya que el voltaje determina la penetración de los electrones en el producto y el número de electrones por segundo que produce el equipo, determina la intensidad de corriente; entre mayor sea la intensidad de corriente, más

rápido podrá ser tratado el material. Por lo que el voltaje del acelerador deberá incrementarse conforme se incrementa el grosor y la densidad del producto(49).

SALMONELOSIS

Desde la aparición de la pulorosis también llamada "diarrea blanca bacilar" de los pollos, pasando por las infecciones "paracolon" de los pavos y paratifoideas de los pollos, hasta que la televisión divulgó la frecuente contaminación de las canales con *Salmonella* y la revelación de que algunos fagotipos de *Salmonella enteritidis* pueden transmitirse a través de huevos grado A, la *Salmonella* ha sido una plaga para la Industria Avícola(41). Una estimación cita pérdidas económicas a la industria de los EU por infecciones paratifoideas en aproximadamente 77 millones de dolares anualmente(5). En México en 1987 los casos de paratifoidea humana ascendieron a 68,423 (37) y para 1991 aumentaron a 104,105 casos(38).

En Europa el aumento en la presentación de enfermedades de origen alimentario debido a *Salmonella enteritidis* fue de 3.5% en 1986 alcanzando hasta 37.5% para 1993(47). Las enfermedades paratifoideas, son entre las enfermedades bacterianas las más importantes en la industria de la incubación. Ello resulta en pérdidas por alta mortalidad en todos los tipos de pollos jóvenes(5).

La *Salmonella* es un género bien definido de la familia *Enterobacteriaceae* que consiste de más de 2000 serotipos definidos antigénicamente y que actualmente se consideran como especies(26). Es un organismo Gram negativo, bacilo no esporogénico mide 0.4 - 0.6 x 1 - 3 μm , ocasionalmente forma filamentos cortos. Móvil por flagelos peritricos, anaerobio facultativo(5). Hasta ahora se han clasificado más de 1,700 serotipos basándose

principalmente en las características de los antígenos "O" para la formación de los serogrupos y en los antígenos "H" ó flagelares para la identificación de la especie. Sus colonias típicas son redondas, escasamente elevadas y brillantes con bordes lisos, midiendo de 1-2 mm. de diámetro(5). Las propiedades patógenas de las salmonelas son debidas a endotoxinas asociadas con la porción somática de el organismo(5) y a exotoxinas las cuales tienen un uso como antígenos ya que son excelentes inmunógenos(1).

La contaminación temprana a través del nido es un importante eslabón en la epizootiología de Salmonelosis(31). Se conoce que bacterias incluyendo *Salmonella* puedan penetrar cascarones de huevo(9).

Desinfectantes usados al lavar el huevo después a la exposición de organismos de *Salmonella* por media hora no alteró los patrones de penetración desde organismos que ya han penetrado las membranas y no fueron alcanzadas(31), y las condiciones que existen durante la incubación de huevos fértiles tiende a favorecer la proliferación de estos microorganismos(9). La bacteria invasiva no causa generalmente descomposición extensiva del huevo y el pollo generalmente eclosiona del huevo contaminado. Esto resulta en el establecimiento de reservorios bacterianos en incubadoras comerciales. Un pollo que llega a ser colonizado en la incubación puede subsecuentemente diseminar la contaminación a otros pollos en la incubadora ó a sus compañeros de parvada durante el crecimiento(9).

En aves de cualquier edad que sobreviven a la enfermedad, la infección tiene un efecto debilitante, incrementando su susceptibilidad a muchas otras enfermedades(31). La presencia y persistencia de contaminación por *Salmonella* en incubadora comercial sugiere que el pollito de un día, de por sí vulnerable, puede ser de mayor riesgo en la incubadora que en la época de crecimiento(9).

La mortalidad por infecciones es más frecuente durante las primeras dos semanas después de la incubación, con las pérdidas más altas entre el 6º y el 10º día(31).

El número de brotes de *Salmonella* que involucran al huevo, se ha incrementado grandemente durante los últimos cinco años, incluso con una disminución del consumo per cápita debido a la presencia de la bacteria en el huevo. Cuando un problema de Salmonelosis se presenta puede recaer en aquellos que manejan inadecuadamente productos como carne ó huevo, pero la mayor responsabilidad está en los productores, depende del área productiva reducir el nivel de invasión bacteriológica con ayuda de la investigación y nueva tecnología(41).

Salmonella enteritidis se difunde de manera rápida y la transmisión que ha sido comprobada es a través de contaminación fecal del cascarón ya sea a nivel de cloaca ó por material de nido. Contaminación y penetración del cascarón de huevos frescos y fértiles constituye un muy importante vínculo (o punto crítico de control) en la transmisión de *Salmonella* en aves jóvenes y subsecuentemente al consumidor. Las salmonelas en heces de gallinas colonizadas pueden contaminar la superficie del cascarón de huevos que bajo ciertas condiciones pueden penetrar rápidamente a través de las estructuras externas del huevo(9). Se ha demostrado que bastan 6 a 20 minutos de exposición a *S.typhimurium* para que la bacteria penetre a través de la cutícula y el cascarón(31,36), se localice en la membrana interna, donde los desinfectantes ya no tienen ningún efecto(9,25,35).

EL HUEVO Y SUS MECANISMOS DE DEFENSA CONTRA LA INVASIÓN BACTERIANA

Aunque el oviducto de la gallina y su cloaca pueden contribuir a la contaminación microbiana de los huevos que pone, la mayor fuente de contaminación es el medio ambiente

en el cual el huevo es puesto.

La contaminación de los huevos en los nidos puede ocurrir en forma directa ó indirecta. La contaminación directa ocurre inmediatamente después de la puesta ó cuando las aves defecan sobre los huevos. La penetración de bacterias a través del cascarón en huevos con contaminación fecal ocurre principalmente debido, a la presencia de agua, lo cual modifica la permeabilidad del cascarón y también a la presencia del ácido úrico en las heces(25).

La contaminación indirecta sucede cuando los huevos recién puestos entran en contacto con superficies contaminadas como el nido. La contaminación del nido puede ocurrir por la presencia de heces, por la introducción al nido del material de la cama al adherirse a las patas de las aves ó por la acumulación del polvo del ambiente en las casetas(25).

El huevo está naturalmente dotado de diferentes estructuras que evitan la fácil penetración de las bacterias a su interior:

1º La primera defensa en contra de la invasión de bacterias es la cutícula(30,46). La cual se forma y deposita sobre el cascarón justo antes de que ocurra la ovoposición y tiene una estrecha relación con el pigmento que provee la coloración a los huevos marrón: La protoporfirina IX (30). La cutícula está formada de dos estratos, uno adyacente al cascarón de apariencia espumosa y otro externo de apariencia más compacta; está compuesta de aproximadamente 90% de proteínas con un alto contenido de mucina(40), glicina, ácido glutámico, lisina, cistina y tirosina. En proporción menor hay polisacáridos como hexosamina, galactosa y manosa. Mide de 10 a 30 micrómetros de espesor, se distribuye en forma irregular sobre la superficie del cascarón y se introduce en los poros formando verdaderos tapones que evitan la invasión microbiana(30,40), pero no el intercambio de oxígeno y bióxido de carbono(36).

La cutícula contribuye a la conservación de agua solamente cuando los huevos son almacenados a bajas humedades (7-30% h.r.)(3).

La contaminación y penetración bacteriana no ocurre únicamente por la contaminación fecal; un estudio de campo realizado en granjas comerciales, se encontró que el 12% de los huevos limpios puestos en nidos por gallinas reproductoras pesadas habían sido penetrados y contaminados por diferentes bacterias. El 84% de los huevos contaminados tuvieron un rango de entre 1 y 20 bacterias por huevo que lograron penetrar hasta membrana interna. Esto se explica ya que la cutícula recién depositada aún se encuentra húmeda y muchos poros pueden encontrarse abiertos, con la consecuente penetración de bacterias antes de la maduración de la cutícula(30).

Estudios han mostrado que hay un incremento en la incidencia de descomposición de huevos con una cutícula pobre ó que ha sido removida, comparada con huevos que poseen una cutícula de buena calidad(3).

Al condensarse el agua en el cascarón de huevo, se humedece la cutícula y al secarse ésta se contrae y forma lagunas que dejan al huevo desprotegido de la contaminación cuando se incuba originando problemas como: huevos explosivos, aspergilosis e infección del saco vitelino en embriones y pollitos(30).

Tanto la cantidad de cutícula como de pigmento depositado sobre el cascarón no permanecen estáticas durante todo el ciclo productivo de la gallina. Su cantidad y calidad son mejores al inicio del ciclo de postura y ambas tienden a declinar conforme la edad de la gallina avanza. La cutícula se deteriora con el tiempo y con la temperatura. Se afecta más rápido cuando son almacenados a 24 °C que a 5 °C (25). La desinfección empleando gas ó soluciones, así como el lavado del huevo reduce la cantidad de cutícula (25,30,40).

Las sustancias como el ácido úrico que se encuentre en las heces tiene la capacidad de destruir la cutícula (25,30).

2°. El cascarón ocupa el segundo lugar como barrera para evitar la entrada de bacterias al interior del huevo (3,36,46).

El cascarón es la defensa para el disco germinal contra el ambiente exterior. Una cáscara de huevo puede tener entre 10,000 y 17,000 poros de diferentes tamaños y estos poros son mucho más grandes que las bacterias como *Salmonella* ó *Pseudomonas spp.* Las dimensiones de los poros en huevos de pollo son de 29 a 90 μ y provee suficiente entrada para el paso de la mayoría de microorganismos(3).

Los huevos con cáscara delgada (gravedad específica < 1.074) son más susceptibles a la invasión microbiana(30).

3°. En la superficie interna del cascarón se encuentran 2 membranas: la membrana interna y la membrana externa. La membrana externa es más pesada y cuenta con tres capas de fibrina y mucina que se encuentran firmemente adheridas a la superficie interior del cascarón(36). La membrana interna tiene una estructura más densa y cerrada, por lo que se ha demostrado que es más importante para la resistencia a la invasión por bacterias, ésta membrana tiene una pequeña capa de material albuminoso que se mezcla con la sustancia del huevo. Estas membranas envuelven toda la superficie interna del huevo cuyo funcionamiento es como un filtro mecánico que evita la penetración de microorganismos hacia el contenido del huevo(36).

El enfriamiento del huevo recién puesto puede ayudar a la penetración bacteriana a través de los poros. La temperatura interna del huevo es menor en un grado a la temperatura corporal del ave y tan pronto como adquiere la temperatura del ambiente succiona a su

interior aire para compensar la presión interna con la externa, en este momento se forma la cámara de aire, al separarse por cambio de presión las membranas. En este momento se introducen por los poros del cascarón las bacterias y esporas de hongos que en ese momento estén sobre ella(30). El más grande decremento de temperatura (3.5°C) ocurre 10 minutos después que el huevo es puesto(31).

La contaminación bacteriana del huevo incubable representa pérdidas por concepto de mortalidad embrionaria, mortandad durante las primeras semanas de vida del pollito y produce un marcado retraso en el crecimiento de las aves. Microorganismos como *Pseudomonas spp* de origen extragenital son la principal causa de descomposición de huevos(3). El mayor número de oportunidades para penetración de bacterias es a través del cascarón, se da en el nido. La contaminación y penetración bacteriana no ocurre únicamente por la contaminación fecal; en un estudio de campo realizado en granjas comerciales, se encontró que el 12% de los huevos limpios puestos en nidos por gallinas reproductoras pesadas habían sido penetrados y contaminados por diferentes bacterias. El 84% de los huevos contaminados tuvieron un rango de entre 1 y 20 bacterias por huevo que lograron penetrar hasta la membrana interna. Esto se explica ya que la cutícula recién depositada aún se encuentra húmeda y muchos poros pueden encontrarse abiertos(30).

Una relación entre contaminación del cascarón e incubabilidad fué demostrada por Quarles et al.(32), por esto la desinfección es muy importante para eliminar agentes patógenos(25).

Los efectos de la irradiación de huevo fértil en la incubabilidad y desarrollo de los pollos ha intrigado a científicos desde los inicios de la industria avícola. Y no solamente a ellos, también gente del negocio de la incubación mostraron su interés. Este interés ha crecido en años recientes por el temor de enfermedades causadas por microorganismos de transmisión

en alimentos(12).

Zakaria indica que pollos obtenidos de huevo sometidos a bajas dosis de radiación gamma no son afectados en su peso al nacer(48).

No existen trabajos que involucren el empleo de la irradiación de electrones en huevo fértil, siendo que este método ofrece la ventaja de poseer una menor capacidad de penetración lo que permite que la energía depositada llegue solamente a membranas sin dañar la viabilidad del embrión, por lo tanto es un proceso viable para el control de bacterias y como sistema de desinfección de huevo fértil, ya que permite procesar una alta cantidad de producto en poco tiempo.

JUSTIFICACION

La avicultura nacional vive momentos difíciles, y su crisis se verá más aguda ante el Tratado Trilateral de Libre Comercio, en el cual se exigirá producir a bajo costo productos de alta calidad. Por lo anterior surge la necesidad de buscar mecanismos y alternativas que permitan ofrecer un producto libre de patógenos de importancia en salud pública. Los tipos de radiación utilizados son la radiación gamma de Co^{60} ó Ce^{137} , la radiación con electrones generados por máquinas llamadas aceleradores y rayos X. La diferencia en estos tipos de radiación es el poder de penetración, los electrones tienen un poder de penetración menor que la radiación gamma y de la radiación X. La penetración en agua para electrones de 10 MeV es de 5 cm, para los rayos X y la radiación gamma con energía menor ó igual a 5 MeV es de 30 cm (34).

Es importante señalar que bacterias como *Salmonella enteritidis* pueda penetrar los huevos y permanecer atrapada entre el cascarón y las membranas, donde los desinfectantes no la pueden alcanzar(25,36).

Uno de los aspectos relevantes en las granjas de reproductoras es la desinfección del huevo fértil debido a que la contaminación por bacterias representa pérdidas por concepto de mortalidad embrionaria, mortalidad durante las primeras semanas de vida del pollito y produce un marcado retraso en el crecimiento de las aves. También causa importantes pérdidas económicas debido a la producción de huevos bomba, los cuales causan contaminación en la incubadora(30). Por lo que surge la necesidad de buscar mecanismos viables de desinfección de huevo fértil que ataque a la bacteria que ya penetró pero sin dañar la viabilidad del embrión.

No existen trabajos que involucren el empleo de la irradiación de electrones en huevo fértil,

siendo que este método ofrece la ventaja de que la radiación no llegue a afectar al embrión, debido a que la penetración de los electrones esta controlada por las condiciones de voltaje y corriente en las que se opera el acelerador.

HIPOTESIS

- 1) La irradiación con electrones es eficiente para inhibir el desarrollo de *Salmonella enteritidis* en huevos fértiles y puede utilizarse como un método de control en la salmonelosis.
- 2) La irradiación con electrones, como método de desinfección de huevos fértiles no afecta su incubabilidad.
- 3) Los parámetros productivos de pollos obtenidos a partir de huevo fértil irradiado no se ven afectados.

OBJETIVOS

- 1) Determinar la dosimetría y elaborar el diseño de irradiación para huevo utilizando un acelerador de electrones tipo "pelletron".
- 2) Evaluar la presencia de *Salmonella enteritidis* en el cascarón y membranas en huevo fértil inoculado experimentalmente e irradiado con electrones.
- 3) Evaluar el efecto de la irradiación de electrones sobre la incubabilidad y viabilidad de embriones.
- 4) Evaluar los parámetros productivos de pollos obtenidos a partir de huevo fértil irradiado con electrones.

MATERIALES Y METODOS**DOSIMETRIA DE HUEVO FERTIL****Equipo utilizado.**

Para realizar este trabajo se utilizó el acelerador de electrones "Pelletrón" (Figura 4) construido en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Salazar Edo. de México., el acelerador esta diseñado para operar 0.8 MeV y corriente de $50 \mu\text{A}$ en atmósfera de SF_6 a 7 Kg/cm^2 y se usa como gas aislante una mezcla de 80% de N_2 y 20% de CO_2 . Está formado por un generador de alto voltaje, una unidad de aceleración separada del generador, tanque para la presurización, sistema de vacío, sistema de manejo de gases aislantes y su control remoto(22). Opera generando un haz de electrones similar a un lápiz dentro de una cámara evacuada. Este haz es deflectado horizontalmente y barrido en dirección perpendicular al movimiento del transportador a través de una ventana de titanio de 40μ de espesor; los electrones son emitidos de manera continua y su energía es controlada por el voltaje de la terminal(49).

Dosimetría y Diseño de irradiación.

Para conocer la dosis absorbida en el huevo se seleccionó el dosímetro de referencia de película de tinte radiocrómico¹, sus características son:

Rango de Dosis $10^2 - 10^6 \text{ Gy}$, Densidad 1.14 g/cm^3 , Precisión $\pm 3\%$ y Absorbancia 510 y 600 nm.

La calibración del dosímetro utilizando la fuente de gammas de Co^{60} del Depto. de Materiales e Ingeniería Nuclear de la Universidad de Maryland a una Dosis de 20 kGy/h .

La curva de calibración presentada en la figura 5 es la que sirvió para determinar

¹ Conocido comercialmente FWT-60 (Fart-West Technology, Inc.)

finalmente la dosis absorbida en el cascarón.

Huevos.

El mecanismo para determinar la dosis absorbida fue de la siguiente manera, se trabajaron con huevos fértiles de una parrada de gallinas reproductoras tipo pesadas de la estirpe Avian Farm de 40 semanas de edad.

Los cascarones se cortaron por la mitad y se lavaron para eliminar residuos de albúmina sin remover membranas y se mantuvieron a temperatura ambiente por 2 hrs. Los dosímetros de película cortados en cuadros de 1 cm², se colocaron sobre las caras interna y externa del cascarón. (Figura 6)

A cada dosímetro se les midió el grosor, utilizando micrómetro² y la absorbancia inicial antes de ser colocados. A las 24 hrs de la irradiación se realizó la lectura de absorbancia final en espectrofotómetro³, a una longitud de onda 510nm y una lectura de ventana 0.5nm. El factor de dosis de irradiación se calculó con la ecuación 1.

$$F = \frac{A_f - A_o}{E} \quad (1)$$

Donde:

F = Factor de dosis

A_o = Absorbancia inicial

A_f = Absorbancia final

E = Espesor del dosímetro

² Marca Mitutoyo

³ Varian Techtron serie 634.

Este factor se comparó en la curva de calibración para obtener la dosis absorbida en el cascarón.

En una superficie de 18 cm frente a la ventana de titanio del acelerador se colocaron 5 cascarones (Figura 7).

Debido a que el objetivo era que la energía penetrara solamente cascarón y que no llegara al interior para evitar daño a estructuras internas por el efecto de la irradiación se realizaron pruebas a diferentes condiciones de operación del acelerador.

Una vez obtenidas las dosis por cascarón se obtuvo la dosis media total absorbida y el radio de uniformidad con las siguientes fórmulas.

$$D_{\mu} = \frac{D_{\max} + D_{\min}}{2} \quad (2)$$

$$U.R. = \frac{D_{\max}}{D_{\min}} \quad (3)$$

Donde:

D_{μ} = Dosis media total absorbida

D_{\max} = Dosis máxima promedio

D_{\min} = Dosis mínima promedio

U.R. = Radio de Uniformidad (15)

EVALUACION BACTERIOLOGICA

Salmonella y Preparación del Inóculo. El inóculo se elaboró de un aislamiento a partir de aves de *Salmonella enteritidis* fagotipo 13, obtenido en el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios (NVSL), Ames, Iowa. Aprobado para su uso por Servicios de

Inspección en Salud Animal y Agrícola de E.U.A. Fue seleccionado por su resistencia a novobiocina y ácido nalidíxico y mantenido en agar nutritivo. Importado por el Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M., con No. de permiso 239722 del Departamento de Autorizaciones Zoonositarias de la Subsecretaría de Ganadería de la Dirección General de Salud Animal de la S.A.R.H. Para la preparación del inóculo se incubó previamente la bacteria en caldo infusión cerebro corazón por 18 hrs a 37°C y posteriormente a la incubación se diluyó en solución salina fosfatada estéril (PBS). Se preparó un inóculo a una concentración de 10⁹ UFC de *Salmonella enteritidis* por ml. El medio usado para cultivo del aislamiento en este trabajo contenía 25µg de novobiocina/ml y 20µg de ácido nalidíxico/ml para inhibir el crecimiento de otra bacteria.

Huevo Fértil. El huevo fértil se obtuvo de una parvada tipo reproductoras pesadas de la estirpe Avian Farm de 40 semanas de edad. El huevo fue seleccionado por integridad, ya que el huevo no debía presentar fracturas, restos de materia fecal y/o sangre. Y no fue sometido a ningún sistema de desinfección.

Se utilizaron 150 huevos, los cuales fueron ovoscopiados, para marcar la cámara de aire y determinar el área a inocular. Esta zona fue delimitada fuera de la cámara de aire. Se aplicaron 10⁹ UFC en 100 µl sobre el área seleccionada a inocular. Después de la inoculación los huevos se mantuvieron por 2 horas a temperatura ambiente, antes de ser irradiados.

Diseño Experimental. Los huevos se dividieron en 5 grupos de tratamientos de 10 huevos cada uno.

Los grupos experimentales quedaron conformados de la siguiente manera:

Grupo 1: Se inoculó y se irradió a dosis de 0.5 KGy

Grupo 2: Se inoculó y se irradió a dosis de 1.0 KGy

Grupo 3: Se inoculó y se irradió a dosis de 2.0 KGy

Grupo 4: Se inoculó y se irradió a dosis de 3.0 KGy

Grupo 5: Se inoculó y no se irradió (testigo positivo)

Grupo 6: No se inoculó y no se irradió (testigo negativo)

Para cada grupo se realizaron 3 repeticiones.

Irradiación de las Muestras. Las muestras inoculadas se irradiaron con el acelerador de electrones pelletron del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, y se colocaron a 10 cm de la ventana de titanio del acelerador en una superficie de 18 cm para ser irradiadas y alcanzar una dosis de 0.5, 1, 2 y 3 kGy

Las pruebas bacteriológicas se llevaron a cabo en el Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Determinación de la presencia de *Salmonella enteritidis* en el cascarón. Una vez irradiados los grupos 1, 2, 3 y 4, todos los grupos se mantuvieron en refrigeración a 4°C por 48 hrs para detener el crecimiento de las bacterias sobrevivientes a la radiación(14). Para la determinación de la presencia de *Salmonella enteritidis* en el cascarón se utilizó la Técnica desarrollada por Gentry y Quarles(11).

Los huevos fueron colocados en bolsas de plástico estériles, donde se agregó 10ml de PBS, frotando el huevo en esta solución durante 1 minuto, después se procedió a tomar 1 ml de la solución de lavado del huevo y recibirla en un tubo con 9 ml de PBS y agitándose; este

paso se repitió 2 veces más para contar con 4 diluciones por huevo.

De cada una de las diluciones se tomó 100 μ l para colocar la gota en una caja de petri con medio selectivo de crecimiento el cual fue agar verde brillante adicionado con novobiocina y ácido nalidíxico. A las 24 hrs se realizó conteo de colonias por dilución, con un cuenta colonias Central Scientific Co.

Determinación de la presencia de *Salmonella enteritidis* en las estructuras internas.

Para determinar la presencia de *Salmonella* en las membranas, en clara y yema se utilizó la técnica de Williams(46).

Los huevos fueron abiertos por su parte más ancha vaciando el contenido y tomando 1 ml. de clara y 1ml. de yema.

Después muestreando con un hisopo estéril la membrana interna (área I). Después se realizó el desplazamiento de la cámara de aire, la cual está formada por la membrana externa tomando un segundo muestreo con hisopo estéril del espacio entre cascarrón y membrana externa. (área II) y el último muestreo se realizó tomando con una pinzas una porción de la membrana interna y externa, lo cual corresponde al espacio entre las 2 membranas (área III).

Cada uno de los muestreos fue depositado en un tubo con caldo tetratonato y fueron incubados durante 24 hrs. a 37° C para poder ser sembrados en cajas de petri con agar verde brillante adicionado con novobiocina y ácido nalidíxico como medio selectivo de crecimiento.

A las 24 hrs. se realizó la lectura determinando presencia ó ausencia de colonias de *Salmonella enteritidis* por área de muestreo. De los resultados obtenidos se obtuvo el porcentaje de reducción por área y por dosis de irradiación.

Para obtener el porcentaje de reducción se utilizó la fórmula:

$$\frac{\% \text{ Testigo} - \% \text{ Experimental}}{\% \text{ Testigo}} = \% \text{ Reducción}$$

Análisis Estadístico. Una vez obtenidos los resultados fueron procesados mediante el paquete estadístico SAS (Statistical Analytical System).

Las Unidades Formadoras de Colonia que se obtuvieron a partir del cascarón se evaluaron mediante un Análisis de Varianza y cuando se encontraron diferencias entre las medias de tratamientos se compararon con la prueba de Duncan.

También se realizó un análisis de correlación en donde la variable independiente fue la dosis de irradiación y la variable dependiente fueron las UFC/ml

Los resultados obtenidos en la recuperación de la *Salmonella enteritidis* a partir de estructuras internas se procesaron mediante la prueba de Ji-cuadrada, realizándose pruebas de correlación en donde la variable independiente fue la dosis de irradiación y la variable dependiente es el porcentaje de recuperación de la *Salmonella enteritidis*.

EVALUACION DE PARAMETROS PRODUCTIVOS

Huevo Fértil. Se utilizaron 180 huevos fértiles de una parvada de gallinas reproductoras tipo pesadas de la estirpe Avian Farm de 32 semanas. El huevo no fué sometido a ningún sistema de desinfección.

Diseño Experimental. Los huevos se dividieron en tres grupos de tratamiento de 20 huevos cada uno.

Los grupos experimentales quedaron conformados de la siguiente manera:

Grupo 1: Se irradió a dosis de 1 kGy

Grupo 2: Se irradió a dosis de 2 kGy

Grupo 3: Testigo, no se irradió.

Para cada grupo se realizaron 3 repeticiones.

Incubación. Los huevos se identificaron según el tratamiento de dosis de irradiación y se manejaron como un solo lote en la incubadora.

Después del tratamiento de irradiación los huevos se incubaron artificialmente en una incubadora comercial localizada en el Estado de Morelos. Las condiciones fueron; incubadora 37.7°C y 55% humedad relativa durante 18 días, nacedora 37.2°C y 65% humedad relativa durante 3 días.

A los huevos que no desarrollaron embrión se les realizó el embriodiagnóstico. Esta es una técnica mediante la cual se evalúan las posibles causas de mortalidad embrionaria, dividiendo en grupos de acuerdo a la edad de incubación de los embriones. Se determinó el porcentaje en los 4 grupos del embriodiagnóstico; el grupo I corresponde a los embriones muertos de 0 - 4 días de incubación, el grupo II a embriones muertos de 5 - 10 días, el grupo III a embriones muertos de 11 - 17 días y el grupo IV a embriones muertos de 18 - 21 días(2).

Los pollitos nacidos fueron examinados y clasificados según sus características como pollo de primera o de segunda.

Crianza. Al día de nacimiento los pollitos obtenidos se pesaron individualmente y se criaron durante 7 semanas bajo condiciones comerciales en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPA), de la Facultad de Medicina

Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

El alimento balanceado que se les proporcionó fué elaborado en este Centro bajo sus estándares y de acuerdo al NRC. (National Research Council). Según las etapas en el ciclo productivo. (Cuadro 1 y 2)

Durante las 7 semanas cada pollito de cada lote se pesó semanalmente.

Con los pesajes de los pollitos y la cantidad de alimento consumido por cada uno de ellos medido semanalmente durante el periodo de crianza se obtuvieron los parámetros: consumo de alimento, peso semanal, conversiones alimenticias, porcentaje de mortalidad e índice de productividad con el objeto de medir la calidad de las parvadas obtenidas tanto en el huevo irradiado como en los controles.

Las conversiones alimenticias fueron obtenidas con las siguientes fórmulas(33):

$$C.A.Com. = \frac{C.A.}{P.V.}$$

Donde:

C.A.Com. = Conversión Alimenticia Comercial

C.A. = Consumo de Alimento

P.V. = Peso Vivo

La fórmula empleada para obtener el índice de productividad fue(33):

$$I.P. = \frac{G.D. \times V}{I.C. \times 10}$$

Donde:

I.P. = Índice de Productividad

G.D. = Ganancia Diaria de Peso

V. = Viabilidad de la parvada

I.C. = Índice de Conversión

10 = Constante

Análisis Estadístico. Los resultados obtenidos fueron procesados mediante el paquete estadístico SAS. Los resultados en los parámetros productivos como pesos, consumo de alimento y conversiones alimenticias en las tres etapas fueron analizados mediante un Análisis de Varianza y para las diferencias entre medias se utilizó la prueba de Duncan. El porcentaje de nacimientos y el porcentaje de mortalidad durante el ciclo se evaluó mediante la prueba de Ji-cuadrada.

RESULTADOS**DOSIMETRIA**

La dosis absorbida se midió en las membranas por lo que fue importante la dosis obtenida en el dosímetro interno.

En la prueba 1 (Cuadro 3) se observó que la energía no fue la suficiente para obtener lectura del dosímetro interno, por lo que se decidió aumentar el voltaje para aumentar la penetración de los electrones realizándose pruebas a 0.40 y 0.50 MeV. A estos voltajes se obtuvo lectura en el dosímetro interno, sin embargo a 0.50 MeV la dosis fue alta para el dosímetro interno lo que podría causar daño a estructuras internas, por lo que las constantes de operación del acelerador fueron:

Voltaje: 0.40 MeV

Corriente: 15 μ amp

Frecuencia de barrido: 45 Hz.

Vacío: 25-5 ¹⁰⁴

Distancia de la ventana: 10 cm

Tiempo de exposición: 3 minutos

En el cuadro 4 se puede observar los resultados obtenidos en la lectura de absorbancia de los dosímetros colocados en la cara interna y externa del cascarón así como el factor de dosis y la dosis en kGy, los cuales muestran que existe una homogeneidad en la lectura de dosis para las posiciones de los cascarones 1, 3 y 5, por lo que se decidió únicamente usar estas posiciones.

La dosis media para la cara interna del cascarón fue:

$$D_{\mu} = \frac{5.66 + 5.0}{2} = 5.33 \text{ kGy/3min}$$

Por lo que razón de dosis es la siguiente:

$$\text{Razón de dosis} = \frac{5.33 \text{ kGy}}{3 \text{ min.}} = 1.77 \text{ kGy/min.}$$

El radio de uniformidad fue el siguiente:

$$U.R. = \frac{5.66}{5.0} = 1.13$$

El cual nos indica que se observa una variación de 13% en el proceso de irradiación, el cual se expresa de la siguiente manera:

$$1.77 \text{ kGy/min.} \pm 13\%$$

Los tiempos de exposición de acuerdo a la dosis fueron:

Dosis	Tiempo
0.5 kGy	18 segundos
1.0 kGy	35 segundos
2.0 kGy	1 minuto y 10 segundos
3.0 kGy	1 minuto y 45 segundos

EVALUACION BACTERIOLOGICA

Los resultados en la determinación de *S. enteritidis* del cascarón se pueden observar en el cuadro 5 donde el grupo 1 y el 5 fueron los grupos que mostraron el mayor número de UFC/ml difiriendo estadísticamente del grupo 2, el cual mostró un descenso en la población bacteriana de 2.82 log₁₀ *Salmonella*/ml. Los grupos 3, 4 y 6 fueron los grupos que no

presentaron crecimiento bacteriano, por lo tanto no se encontraron diferencias significativas entre estos grupos, debido a que el valor obtenido fue de cero para los tres.

Se encontró una alta correlación negativa ($r=-0.93$) siendo significativa ($P<0.05$) entre las UFC/ml y la dosis de irradiación (Figura 8) que se representa por la siguiente ecuación:

$$Y = 5.83 - 2.23 X_i$$

Lo que indica que por cada kGy de dosis de irradiación la población bacteriana disminuye en 2.23 UFC/ml.

La recuperación de *Salmonella enteritidis* de las estructuras internas del huevo se puede observar en el cuadro 6, donde se encontró que el área de muestreo I de los grupos 1 y 2 tuvieron un porcentaje de recuperación de 30 y 21.87% respectivamente y no mostraron diferencias significativas respecto al grupo 5. En los grupos 3, 4 y 6 el porcentaje de recuperación fue de cero mostrando diferencias altamente significativas ($P<0.01$) con respecto al grupo 5. Se observa (Figura 9) una correlación significativa ($P<0.05$) inversamente proporcional ($r=-0.89$) representada por la ecuación:

$$Y = 45.73 - 16.91 X_i$$

En el área II los grupos 1 y 2 tuvieron un porcentaje de recuperación de 25 y 18.75% respectivamente y no mostraron diferencias significativas con respecto al grupo 5. Los grupos 3, 4 y 6 tuvieron un porcentaje de recuperación de cero, mostrando diferencias altamente significativas ($P<0.01$) con respecto al grupo 5. Se observa una correlación significativa ($P<0.05$) inversamente proporcional ($r=-0.88$) (Figura 10) representada por la siguiente ecuación:

$$Y = 34.75 - 12.92 X_i$$

El área III el grupo I tuvo un porcentaje de recuperación de 35, y no mostró diferencia

significativa con respecto al grupo 5. El grupo 2 tuvo un porcentaje de recuperación de 28.12% y los grupos 3, 4 y 6 tuvieron un porcentaje de recuperación de cero mostrando diferencias altamente significativas con respecto al grupo 5. También se observó una correlación significativa ($P < 0.05$) inversamente proporcional ($r = -0.93$) (Figura 11) representada por la ecuación:

$$Y = 67.95 - 26.13 X_i$$

En cuanto a la recuperación de *Salmonella enteritidis* a partir de yema y clara fue de cero para todos los grupos.

En el cuadro 7 se observa que para dosis de 0.5 kGy el porcentaje de reducción fue bajo, aumentando para dosis de 1 kGy y para dosis de 2 y 3 kGy la reducción fue de 100%.

EVALUACION PARAMETROS PRODUCTIVOS

El porcentaje de nacimientos para el grupo testigo fué mayor por 1.6% aunque no hubo diferencia significativa entre los tres grupos. En cuanto a clasificación de calidad de los pollos nacidos, el grupo 1 tuvo dos pollos de segunda, mientras que los grupos 2 y 3 el 100% de los pollos nacidos fué de primera (Cuadro 8).

En el embriodiagnóstico (Cuadro 9) se observa que para los grupos I y 3 se encuentra elevada la mortalidad embrionaria del grupo I de embriodiagnóstico, ya que el porcentaje normal de mortalidad en esta etapa para la edad de la gallina de 30 a 42 semanas es de 2.0% (2), mientras que para el grupo 2 fué de 1.6%. Para el grupo II y III de embriodiagnóstico el porcentaje normal es de 0.5% observándose de cero en la mortalidad de estas etapas. Y para el grupo IV de embriodiagnóstico para los dos grupos de tratamiento y el control se observó una mortalidad de 1.6% mientras que el porcentaje que se considera

normal es de 2.0% (2).

El cuadro 10 muestra las causas de muerte obtenidas mediante el embriodiagnóstico donde se observa que los grupos 1 y 3 presentaron pollos con deformidades. Para el grupo 1 se presentó un pollo con pico de tijera y para el grupo 3 un pollo con deformidad de patas. Pollos retrasados al nacimiento solo se presentaron en el grupo 2, huevos contaminados solo se presentaron en el grupo 1.

La mortalidad embrionaria temprana fué la siguiente; para el grupo 1 se presentaron tres embriones, para el grupo 2 se presentó un embrión muerto y para el grupo 3 se presentaron tres. En su mayoría las mortalidades embrionarias se presentaron debido al inadecuado transporte.

Los huevos infértiles que se presentaron fueron los siguientes; en el grupo 1 solo uno, en el grupo 2 se presentaron tres y uno en el grupo 3.

En el peso de pollitos de un día de edad (Cuadro 11) se puede observar que el mayor peso lo obtuvo el grupo 3 pero no hubo diferencia significativa entre los tres grupos. En cuanto al consumo de alimento (Cuadro 12) en la etapa de iniciación el grupo 1 fué el que tuvo un mayor consumo aunque no hubo diferencias significativas entre los tres grupos.

En la etapa de crecimiento el grupo 1 fue el que tuvo un mayor consumo, pero tampoco se encontró diferencia significativa entre los tres grupos. Y para la etapa de finalización el grupo 2 fué el que tuvo mayor consumo pero no hubo diferencia significativa entre los tres grupos.

Los pesos promedios durante el ciclo productivo (Cuadro 13) muestran que en la etapa de iniciación el grupo 3 fué el que ganó mayor peso, en la etapa de crecimiento el grupo 2 ganó mayor peso y en la etapa de finalización el grupo 2 obtuvo mayor peso al mercado.

En ninguna de las etapas se encontró diferencias significativas entre grupos.

El índice de conversión para la etapa de iniciación (Cuadro 14) en el grupo 2 fué el más bajo, en la etapa de crecimiento el grupo 3 mostró el índice de conversión más bajo y para la etapa de finalización el grupo 2 tuvo el índice más bajo. En ninguna de las etapas se encontraron diferencias significativas entre grupos.

El índice de productividad (Cuadro 15) para el grupo 1 fué de 120.86, para el grupo 2 fué de 152.23 y para el grupo 3 fué de 142.63 lo que muestra que el grupo 2 fué el que tuvo mejor comportamiento productivo.

La mortalidad presentada durante toda la crianza (Cuadro 16) fué para el grupo 1 de 5.5%, siendo la más alta mortalidad, para el grupo 2 fué de 1.85% y para el grupo 3 de 1.81%.

No se encontró diferencias significativa entre los tres grupos.

DISCUSION

DOSIMETRIA

Con las condiciones de operación establecidas en este trabajo se logra la irradiación del cascarón de 407 micras, con lo cual se produce la letalidad de *Salmonella enteritidis* que permanece atrapada en las membranas del cascarón de huevos infectados, sin afectar estructuras internas. Esto cobra importancia para ser aplicado como un sistema de desinfección de huevo fértil que no afecte la viabilidad embrionaria.

EVALUACION BACTERIOLOGICA

El hecho de que *S. enteritidis* pueda penetrar los huevos y permanecer atrapada entre el cascarón y las membranas, puede tener implicaciones importantes para la epidemiología de esta enfermedad. Una vez que el microorganismo está entre el cascarón y las membranas, es posible que pueda multiplicarse durante el manejo y almacenamiento bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura. Se ha demostrado que las membranas pueden ser la base del crecimiento de microorganismos(20).

Tanto en la recuperación de *S. enteritidis* del cascarón como en las membranas se obtuvo un descenso significativo de la población bacteriana en los grupos irradiados a partir de dosis de irradiación de 1 kGy.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por Mallet *et al.*(24) y Trejo *et al.*(45) quienes al utilizar radiación gamma concluyen que 1 kGy parece ser capaz de reducir la viabilidad de *Salmonella enteritidis* por 3 log. La disminución de la población bacteriana esta basada en la alteración que sufren los microorganismos en su ADN perdiendo así su capacidad reproductora, además del efecto secundario que está dado por la presencia de radicales libres.

Mientras que el ADN ha sido identificado como el sitio de acción responsable por la muerte celular, el mecanismo preciso de daño a la molécula de ADN es todavía oscuro. Se piensa que enlaces covalentes pueden ser rotos resultando en la pérdida de bases de purina y pirimidina llevando a la mutación ó la cadena por sí misma puede ser rota resultando en escisión de bandas y así afectar la replicación de ADN(13,42).

Existe un efecto indirecto a la bacteria por la radiación el cual induce radicales libres que producen cambios letales ó no letales en los componentes celulares incluyendo ADN. Efectos indirectos pueden ser modificados por presencia en el medio de moléculas potenciales del efecto de la radiación (por ejemplo oxígeno)(13).

Gerrits encontró que el número de UFC en el cascarón de huevos irradiados con Rayos X a una dosis de 4-17 rads fue la misma que el grupo control, log 4.17 y log 3.79 unidades por cascarón de huevo, esto explica que con dosis menores de 2 kGy la población bacteriana no se ve afectada(12).

PARAMETROS PRODUCTIVOS

El porcentaje de incubabilidad y de nacimientos no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos de huevo irradiado y huevo sin irradiar por lo que se puede deducir que no existe daño debido a la radiación de huevo fértil antes de la incubación.

Los porcentajes altos de mortalidad en los grupos de 1 kGy y en el control, en el grupo I del embriodiagnóstico, están influenciados porque la mortalidad mayor fué por muerte embrionaria temprana y la causa de esta fue por excesivo movimiento en el transporte.

Kostin(16); Kuzin et al.(17) encontraron un incremento del 2 al 4% en la incubabilidad por el uso de pequeñas dosis de irradiación gamma durante el periodo de incubación.

Essenberg irradió con Rayos X con dosis de 30 a 600 rads huevo fértil y lo incubó 243 hrs resultando que a pequeñas dosis (<80 rad) aceleró el desarrollo embrionario. Bless y Romanoff, encontraron que una dosis moderada parece tener un efecto estimulante en el desarrollo embrionario. Bocharova irradió huevo fértil con Rayos X a una dosis de 50 rad y encontró un mejoramiento en la incubabilidad de 3.2%. Jozsef Simon encontró que con dosis bajas (20 rads) de Rayos X se acortaba el período de incubación (1-2 días). Mas tarde Gerrits and Dijk a dosis de 4-17 rads de Rayos X observaron nacimientos ligeramente más tempranos para el huevo irradiado, aunque también se observó mayor cantidad de infértiles y mortalidad embrionaria temprana(12). En el presente estudio no se observó un mejoramiento en la incubabilidad, ni se observaron nacimientos tempranos, como lo indican los trabajos antes citados, de hecho la incubabilidad bajó 1.6% en los grupos tratados comparados con el testigo. Es importante resaltar que las investigaciones en irradiación de huevo fértil sólo se han realizado con irradiación gamma ó rayos X, los cuales tienen un poder de penetración alto. Aunque cuando se ha aumentado la dosis de irradiación con rayos gamma ó rayos X hay un efecto nocivo en el desarrollo embrionario.

Jozsef Simon reporta que con dosis de 20 rads de Rayos X se encontraban efectos como: Cerca de 8% más de pollos, 4% menos mortalidad durante crianza y un incremento del peso corporal (30 a 60 g) después de una crianza de 6 semanas(12).

Estos efectos no fueron encontrados en el presente estudio, de hecho no se encontraron diferencias significativas entre los parámetros productivos a las 7 semanas. Esto concuerda con lo indicado por Gerrits que no encontró diferencias entre parámetros como conversión alimenticia, peso a las 6 semanas y mortalidad al irradiar huevos a dosis de 4 - 17 rads de Rayos X (12).

CONCLUSIONES

De los estudios realizados bajo las condiciones experimentales empleadas se puede inferir que la irradiación utilizando un acelerador de electrones bajo condiciones controladas de voltaje y corriente permite que la energía sea depositada en cascarón y membranas sin llegar a estructuras internas.

La irradiación como control de *Salmonella enteritidis* es un método viable a dosis mínima de 2 kGy para inactivación del 100% de bacterias. Es importante señalar que al utilizarse irradiación con electrones la energía tendrá un nivel de penetración que permitirá la eliminación de las salmonellas que se encuentren en cascarón y membranas, lo cual solo cubre la infección por contacto de heces ó material contaminado.

En cuanto a la irradiación de huevo fértil de reproductora pesada los resultados mostraron que la irradiación con electrones es un proceso viable para la desinfección de huevo fértil sin dañar el comportamiento productivo de los pollos obtenidos.

LITERATURA CITADA

- 1.- Balcasar, Q.J.: Determinación de la existencia de un gene para una enterotoxina LT-like en *Salmonella gallinarum*. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (1993).
- 2.- Barbosa, E.J.E.: Control Microbiológico de la Planta Incubadora. I curso de manejo para la prevención de problemas aviarios. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Producción Animal: Aves. México D.F. 1989. pp.98-126. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. DPA:Aves.* México D.F. (1989).
- 3.- Board, R.G. and Halls, N.A.: The cuticle: A barrier to liquid and particle penetration of the shell of the hen's egg. *Br. Poultry Sci.*, 14:69-97 (1973).
- 4.- Bustos, R.M.E.: El desarrollo de la tecnología de irradiación en la conservación e higiene de los alimentos. *Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.* Gerencia de Investigación Aplicada., Salazar, Edo. de México. (1993)
- 5.- Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Reid, W.M. and Yoder, H.W.: Diseases of Poultry. *Iowa State University Press*, Ames IOWA USA, Ninth Edition. (1991).
- 6.- Chadwick, K.H. and Oosterbeert, W.F.: Dosimetry Concepts and Measurements in Food Irradiation Processing. *Appl. Radiat. Isot., Int. J. Radiat. Appl. Instrum., Part A.* 37:47-52 (1986).
- 7.- Cason, J.A., Bailey, J.S. and Cox, N.A.: Location of *Salmonella typhimurium* during incubation and hatching of inoculated eggs. *Poultry Sci.* 72:2064-2068 (1993).
- 8.- Council for Agricultural Science and Technology. Ionizing Energy in Food Processing and Pest Control: II Application. *Task Force Report. No.115* Iowa USA (1989).
- 9.- Cox, N.A.,Boiley, J.S., Maukkin, J.M. and Blankenship, L.C.: Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. *Poultry Sci.* 69:1606-1609 (1990).
- 10.- Diehl, J.F.: Safety of Irradiated Foods. *Marcel Dekker, Inc., New York, USA*, (1990).
- 11.- Gentry, R.F., y Quarles, C.L.: The measurement of bacterial contamination on egg shells. *Poultry Sci.* 51:930-933 (1972).
- 12.- Gerrits, A.R.: Effect of X-ray Irradiation of hatching eggs. *World Poultry* 10:49-51.(1994).

- 13.- Grecz, N., Rowley, D.B. and Matsuyama A.: The action of radiation on Bacteria and viruses. Preservation of Food by Ionizing Radiation. Vol.II E. Josephson E.S. and Peterson M.S. *CRC Press Inc.* Boca Raton Florida USA pp. 167-202 (1983).
- 14.- Hammack, T.S., Sherrod, S.P., Bruce, R.V., June, A.G., Satchell, F.B. and Andrews, W.H.: Growth of Salmonella enteritidis in grade A eggs during prolonged storage. *Poultry Sci.* 72:373-377. (1993).
- 15.- International Atomic Energy Agency: Manual of Food Irradiation Dosimetry Technical Reports. Serie No.178. *IAEA.* Viena Austria (1977).
- 16.- Kostin, I.G.: Experience with the use of microdoses of gamma irradiation in poultry breeding. *Biophysika* 5(4):503-504 (1960).
- 17.- Kuzin, A.M., Kostin, I.G., Shershunova, L.N. and Zubareva, L.A.: The use of ionizing radiation in poultry raising. *Radiobiology* 2:311-316 (1963).
- 18.- Licciardello, J.J., Nickerson, J.T.R. and Goldblith S.A.: Inactivation of Salmonella in poultry with gamma radiation. *Poultry Sci.* 49:663-667. (1970)
- 19.- Licciardello, J.J., Nickerson, J.T.R. and Goldblith S.A.: Recovery of Salmonella from irradiated and unirradiated foods. *J.Food. Sci.* 35:620-625. (1970).
- 20.- Lifshitz, A.: The exterior structures of the egg as nutrients for bacteria. *J. Food. Sci.*, 30:516-519 (1965)
- 21.- López, V.H. y Hernández, M.V.: Instalaciones con Aceleradores de Electrones. Curso regional de capacitación sobre la explotación segura de instalaciones para irradiación industrial. *Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.* Centro Nuclear de México., Salazar, Edo. de México (1991)
- 22.- López, V.H., Valdovinos, A.M.A., Hernández, M.V. y Alba, P.U.: Diseño, construcción y pruebas del acelerador de electrones pelletron. Simposio: Aceleradores de electrones en México. *Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares,* Salazar, Edo. de México, pp. 91-104. (1986)
- 23.- Luna, C.P.C.: Empleo de la irradiación para garantizar la calidad higiéfica de los alimentos de origen animal. Tesis de Licenciatura. *Facultad de Química.* Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1991).
- 24.- Mallet, J., Eberiel, D. Gonzalez, E. and Osborne, G.: Reduction of Salmonella bacteria in intact, fresh eggs by gamma irradiation. Department of Biological Science. *University of Massachusetts at Lowell.* En prensa (1993).

- 25.- Mayren, S.R.: Efecto de tres desinfectantes sobre la integridad de la cutícula de huevos incubables de gallinas raza leghorn. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. (1991).
- 26.- Mc. Ilroy, S.G.: La epidemiología y el control de la Salmonelosis en parvadas de reproductoras pesadas. I Simposium Avícola. *Sección Nac. de Progenitores de Aves de la Unión Nacional de Avicultores.* Zacatecas, Zac. pp.159-168 (1994).
- 27.- Mc.Laughlin, W.L., Humphreys, J.C., Dene Hocken and Chappas, W.J.: Radiochromic Dosimetry for Validation and Commissioning of Industrial Radiation Processes. *Radiat. Phys. Chem.* 31:505-514 (1988).
- 28.- Morton, S.: Food Irradiation. A Guidebook. *Technomic Publishing Co. Inc.* Lancaster Pennsylvania USA (1993).
- 29.- Organización Mundial de la Salud.: La irradiación de los alimentos. Técnica para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos. *Organización Mundial de la Salud.* Ginebra (1989).
- 30.- Padrón, N.M.: Calidad microbiológica del huevo incubable. *Avicultura Profesional* 6:173-178 (1992).
- 31.- Padrón, N.M.: *Salmonella typhimurium* penetration through the eggshell of hatching eggs. *Avian Diseases* 34:463-465 (1990).
- 32.- Quarles, C.L., Gentry, R.F. and Bressler, G.O.: Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. *Poultry Sci.* 49:60-66 (1970).
- 33.- Quintana, L.J.A.: Avitecnia., 2a.Ed., *Ed. Trillas*, México D.F. (1991)
- 34.- Ramler, J.W.: Machine Sources. Preservation of Food by Ionizing Radiation. Vol.I E. Josephson E.S. and Peterson M.S. *CRC Press Inc.* Boca Raton Florida USA pp. 165-205 (1983).
- 35.- Rizk, S.S., Ayres, J.C. and Kraft, A.A.: Disinfection of eggs artificially inoculated with *Salmonellae*. 1. Application of several disinfectants. *Poultry Sci.* 45:764-769 (1966).
- 36.- Rosales, N.Z.J., Téllez, I.G., Sánchez, R.E., Trejo, R.M., Quintana, J.A., Urquiza, B.O. y Hargis, B.M.: Penetración de *Salmonella enteritidis* en huevos fértiles y huevos infértiles a diferentes estados de incubación. IV Jornada Médico Avícola. *Depto. de Aves. Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. (1993).
- 37.- Secretaría de Salud. Anuario de Información Epidemiológica de Morbilidad en los Estados Unidos Mexicanos, 1988. *Dirección General de Epidemiología, Departamento de Morbilidad*, México, D.F. (1989).

- 38.- Secretaría de Salud. Anuario de Información Epidemiológica de Morbilidad en los Estados Unidos Mexicanos, 1991. *Dirección General de Epidemiología, Departamento de Morbilidad*, México, D.F. (1992).
- 39.- Shamsuzzaman, K., Goodwin, M., George, I. and Singh, H.: Radiation survival of two nalidixic acid resistant strains of *Salmonella typhimurium* in various media. *Radiat. Phys. Chem.* 34:985-989 (1989).
- 40.- Simons, M.C.P. and Wiertz, G.: The ultra-structure of the surface of the cuticle of the hen's egg in relation to egg-cleaning. *Poultry Sci.*, 45:1153-1162 (1966).
- 41.- Stephens, J.F.: A Perspective on Poultry related Salmonellosis. *Poultry Adviser*. 26:77-85 (1993).
- 42.- Suárez, G.F. y Flores, C.R.: Esterilización y Desinfección. *Bacteriología General, Principios Químico-Biológicos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. México D.F. pp.343-360. (1990)
- 43.- Tallentire, A.: The Spectrum of Microbial Radiation Sensitivity. *Radiat. Phys. Chem.* 15:83-89 (1980).
- 44.- Thiagarajan, D., Saeed, A.M. and Asem, E.K.: Mechanism of Transovarian Transmission of *Salmonella enteritidis* in laying hens. *Poultry Sci.* 73:89-98. (1994)
- 45.- Trejo R.M.: Efecto de la irradiación gamma sobre huevos comerciales de gallina tipo Leghorn inoculados con *Salmonella enteritidis*. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., (1993).
- 46.- Williams, J.E. and Whittemore A.D.: A method for studying microbial penetration through the outer structures of the avian egg. *Avian Dis.* 11:467-490 (1967).
- 47.- Winkel, P.T.: Enfoque europeo al control de la Influenza y de la *Salmonella* Aviar. I Simposium Avícola, *Sección Nac. de Progenitores de Aves de la Unión Nacional de Avicultores*. Zacatecas, Zac. pp.86-90 (1993).
- 48.- Zakaria A.H.: Effect of low doses of gamma irradiation before incubation on hatchability and body weight of broiler chickens hatched under commercial conditions. *Poultry Science*. 68:1150 - 1152 (1989).
- 49.- Zuazua, G.M.P., y Hernández, M.V.: Caracterización del haz de electrones del acelerador Pelletron. *Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares*. México D.F. (1992).

CUADRO 1. DIETAS UTILIZADAS EN LOS LOTES EXPERIMENTALES

Ingrediente	Iniciación1 (%)	Crecimiento2 (%)	Finalización3 (%)
Sorgo 9%	53.5	58.6	61.4
Pasta de Soya 45%	33.3	28	25.3
Pigmento	---	0.4	0.4
Antioxidante	0.02	0.02	0.02
Aceite	2.9	3.4	3.6
Minerales	0.1	0.1	0.09
Car.de Calcio (CaCo ₃)	2	1.8	1.8
Ortofosfato	1.7	1.6	1.56
Sal	0.35	0.35	0.35
DL-Metionina	0.2	0.22	0.17
L-Lisina (HCl)	0.32	0.23	0.19
Clor. Colina(60%)	0.1	0.1	0.08
Vitaminas	0.25	0.25	0.25
Coccidiostato	0.06	0.06	0.06
Promotor	0.05	0.05	0.05
Gluten de Maíz	5.0	5.0	5.0
Luctamold	0.1	0.1	0.1

1 Etapa de día 1 al 21

2 Etapa del día 22 al 35

3 Etapa del día 36 al 49

CUADRO 2. ANALISIS CALCULADO DEL ALIMENTO UTILIZADO EN LOS LOTES EXPERIMENTALES

	Iniciación 1 a 21 días	Crecimiento 22 a 35 días	Finalización 36 a 49 días
Proteína (%)	22	20	19
Lisina (%)	1.30	1.10	1.0
Met + Cist (%)	0.93	0.90	0.82
Calcio (%)	1.10	1.0	0.95
Fósforo disponible (%)	0.50	0.47	0.45
Energía Metab. Kcal/Kg.	2950	3050	3100

CUADRO 3. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS PARA OBTENER LAS CONDICIONES CONSTANTES DE IRRADIACION UTILIZANDO DOSIMETRO DE TINTE RADIOCROMICO.

Condiciones de operación	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Voltaje (MeV)	0.30	0.40	0.50
Frecuencia de barrido (Hz)	45	45	45
Corriente (μ amp)	25	15	25
Distancia de la ventana de titanio a la muestra (cm)	10	10	10
Tiempo de irradiación (min)	3	3	1
Dosis (kGy)			
Dosímetro externo	41.34	18.99	*
Dosímetro interno	*	5.33	6.92
Razón de dosis (kGy/min)			
Dosímetro externo	13.78	6.33	*
Dosímetro interno	*	1.77	6.92

* La curva de calibración se manejó entre factores de dosis 1 y 7, por lo que valores menores de 1 y mayores de 7 no es posible determinar la dosis basándose en la curva.

CUADRO 4. LECTURAS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS IRRADIADAS CON DOSIMETROS DE TINTE RADIOCROMICO.

Posición ^a	Absorbancia Final	Absorbancia Inicial	Grosor Dosímetro	Factor	Dosis (kGy)
1 Externa	0.2066	0.069	0.045	3.05	17.97
Interna	0.1166	0.070	0.046	1.01	5.03
2 Externa	0.2274	0.075	0.045	3.38	20.09
Interna	0.1514	0.091	0.044	1.37	7.30
3 Externa	0.2080	0.075	0.045	2.95	17.33
Interna	0.1140	0.069	0.045	1	5.0
4 Externa	0.2438	0.083	0.044	3.65	21.81
Interna	0.1438	0.081	0.044	1.42	7.62
5 Externa	0.1996	0.070	0.044	2.94	17.27
Interna	0.1099	0.061	0.045	1.08	5.47
1 Externa	0.2172	0.083	0.044	3.05	17.97
Interna	0.140	0.096	0.044	1	5.0
2 Externa	0.206	0.045	0.044	3.65	21.81
Interna	0.1628	0.098	0.044	1.47	7.93
3 Externa	0.227	0.089	0.044	3.12	18.42
Interna	0.1472	0.097	0.045	1.11	5.66
4 Externa	0.2286	0.077	0.047	3.22	19.12
Interna	0.1438	0.088	0.044	1.26	6.61
5 Externa	0.223	0.077	0.047	3.08	18.16
Interna	0.128	0.078	0.047	1.06	5.35

^a La posición corresponde a la distribución de las muestras en una base de 18 cm. cada muestra contó con un dosímetro en la cara externa y otro en la cara interna de los cascarones.

CUADRO 5. UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA PROMEDIO DE *Salmonella enteritidis* OBTENIDAS DE HUEVO IRRADIADO A DIFERENTES DOSIS.

Gpo. Trat.	Dosis irradiación	Media \pm DS UFC	Valor Mfínimo	Valor Máximo
1	0.5 kGy	5.9563 \pm 0.4405 _a	5.0	6.1627
2	1 kGy	3.1325 \pm 2.6387 _b	0	5.6989
3	2 kGy	0 _c	0	0
4	3 kGy	0 _c	0	0
5	Testigo (+)**	5.5855 \pm 1.5075 _a	0	6.6901
6	Testigo (-)***	0 _c	0	0

Medias con literales diferentes son estadísticamente diferentes ($P < 0.01$)

C.V. = 58.370

** Huevo inoculado y no irradiado

*** Huevo no inoculado y no irradiado

CUADRO 6. PORCENTAJES DE RECUPERACION DE *Salmonella enteritidis* EN LAS ESTRUCTURAS INTERNAS DEL HUEVO.

Areas	Dosis de Irradiación				Testigos	
	0.5 kGy	1 kGy	2 kGy	3 kGy	Neg. ^e	Pos. ^f
I^b	6/20 ^a	7/32	0/32	0/32	0/32	12/32
	(30%)**	(21.87%)**	(0%)*	(0%)*	(0%)*	(37.5%)
II^c	5/20	6/32	0/32	0/32	0/32	9/32
	(25%)**	(18.75%)**	(0%)*	(0%)*	(0%)*	(28.12%)
III^d	7/20	9/32	0/32	0/32	0/32	20/32
	(35%)**	(28.12%)*	(0%)*	(0%)*	(0%)*	(62.5%)

a Valores expresados: positivos/totales (%)

b Muestreo de la membrana interna

c Muestreo del espacio entre cascarrón y membrana externa

d Muestreo del espacio entre membrana externa e interna

e Huevo no inoculado y no irradiado

f Huevo inoculado y no irradiado

* Diferencia altamente significativa al ($P < 0.01$)

** No hay diferencia significativa

CUADRO 7. PORCENTAJES DE REDUCCION DE *Salmonella enteritidis* EN LAS AREAS DE MUESTREO.

Areas	Dosis de Irradiación				Testigo
	0.5 kGy	1 kGy	2 kGy	3 kGy	Positivo <i>d</i>
Ia	20%	41%	100%	100%	37.5
IIb	11.09%	33.32%	100%	100%	28.12%
IIIc	44%	55%	100%	100%	62.5%

a Muestreo de la membrana interna

b Muestreo del espacio entre cascarón y membrana externa

c Muestreo del espacio entre membrana externa e interna

d Huevo inoculado y no irradiado

CUADRO 8. PORCENTAJE DE INCUBABILIDAD Y DE FERTILIDAD DE HUEVOS IRRADIADOS CON ELECTRONES A DOS DIFERENTES DOSIS.

Gpo. Trat.	Dosis	Pollos nacidos			Nacimientos (%)	Fertilidad (%)
		1 ^a	2 ^a	Total		
1	1 kGy	52	2	54	90%**	98.3%
2	2 kGy	54	0	54	90%**	93.33%
3	Testigo ^a	55	0	55	91.66%	98.3%

** No hay diferencia significativa

^a Huevo no irradiado

CUADRO 9. PORCENTAJES DE MORTALIDAD EMBRIONARIA POR GRUPOS OBTENIDAS MEDIANTE EL EMBRIODIAGNOSTICO DE HUEVO IRRADIADO A DOS DIFERENTES DOSIS.

Gpo Trat.	Dosis	Gpo Ia	Grupo II ^b	Grupo III ^c	Grupo IV ^d
1	1 kGy	4 (6.6%)	0	0	1 (1.6%)
2	2 kGy	1 (1.6%)	0	0	1 (1.6%)
3	Testigo	3 (5.0%)	0	0	1 (1.6%)
Porcentaje normal para gallinas de 30-42 semanas (2)		2.0%	0.5%	0.5%	2.0%

a Grupo I: 0-4 días de incubación

b Grupo II: 5-10 días de incubación

c Grupo III: 11-17 días de incubación

d Grupo IV: 18-21 días de incubación

CUADRO 10. CAUSAS DE MUERTE EMBRIONARIA OBTENIDAS MEDIANTE EL EMBRIODIAGNOSTICO DEL HUEVO IRRADIADO CON ELECTRONES A DOS DIFERENTES DOSIS.

Gpo. Trat.	Dosis	Deformidades	Retrasados	Contaminado	Mortalidad Embrionaria Temprana	Infertilidad Aparente
1	1 kGy	1 ^b	0	1	3	1
2	2 kGy	0	1	0	1	3
3	Testigo ^a	1 ^c	0	0	3	1

^a Huevo no irradiado.

^b Pico de tijera.

^c Deformidad de patas.

CUADRO 11. PESO DE POLLOS DE UN DIA DE EDAD OBTENIDOS DE HUEVO IRRADIADO CON ELECTRONES A DOS DIFERENTES DOSIS

Gpo. Trat.	Dosis Irradiación	Media \pm DS (Gramos)	E.E.
1	1 kGy	42.034 \pm 3.684a	0.501
2	2 kGy	41.380 \pm 2.870a	0.394
3	Testigo*	42.310 \pm 3.164a	0.422

Medias con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

* Huevo no irradiado

CUADRO 12. CONSUMO DE ALIMENTO DURANTE EL PERIODO DE CRIANZA DE LOS POLLOS OBTENIDOS DE HUEVO IRRADIADO CON ELECTRONES A DOS DIFERENTES DOSIS

Gpo. Trat.	Dosis	Iniciación ^a Media ± DS (Gramos)	Crecimiento ^c Media ± DS (Gramos)	Finalización ^b Media ± DS (Gramos)
1	1 kGy	940.59 ± 91.23a	1218.1 ± 233.47a	2178.8 ± 93.54a
2	2 kGy	821.42 ± 28.45a	1157.9 ± 56.40a	2226.3 ± 268.73a
3	Testigo ^d	842.10 ± 28.46a	1019.7 ± 83.05a	2126.6 ± 86.67a

Medias con diferente literal son estadísticamente diferentes (P<0.05)

^a Huevo no irradiado

^b Etapa de día 1 al 21

^c Etapa del día 22 al 35

^d Etapa del día 36 al 49

CUADRO 13. PESOS PROMEDIO DURANTE EL CICLO PRODUCTIVO DE POLLOS OBTENIDOS DE HUEVO IRRADIADO CON ELECTRONES A DOS DIFERENTES DOSIS.

Gpo. Trat.	Dosis de Irradiación	Iniciación ^a Media ± DS	Crecimiento ^b Media ± DS	Finalización ^c Media ± DS
1	1 kGy	506.096 ± 47.7a	1055.20 ± 159.1a	1778.33 ± 253.4b
2	2 kGy	493.791 ± 50.8a	1099.97 ± 202.8a	1889.85 ± 212.1a
3	Testigo ^d	497.184 ± 50.0a	1071.53 ± 117.7a	1809.11 ± 216.2ab

Medias con literales distinta son diferentes estadísticamente (P<0.05).

^a Etapa del día 1 al 21. C.V.= 6.63

^b Etapa del día 22 al 35 C.V.= 12.96

^c Etapa del día 36 al 49 C.V.= 7.88

^d Huevo no irradiado

CUADRO 14. INDICES DE CONVERSION DE LAS ETAPAS DEL CICLO PRODUCTIVO DE POLLOS OBTENIDOS A PARTIR DE HUEVO IRRADIADO.

Gpo.	Dosis	Iniciación Media \pm DS	Crecimiento Media \pm DS	Finalización Media \pm DS
1	1 kGy	1.71 _a \pm 0.063	2.03 _a \pm 0.23	2.54 _a \pm 0.28
2	2 kGy	1.67 _a \pm 0.119	1.82 _a \pm 0.15	2.20 _a \pm 0.24
3	Testigo	1.75 _a \pm 0.170	1.76 _a \pm 0.10	2.22 _a \pm 0.89

Medias con letra distinta son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$)

CUADRO 15. INDICE DE PRODUCTIVIDAD DE POLLOS OBTENIDOS A PARTIR DE HUEVO IRRADIADO A DOS DIFERENTES DOSIS.

Gpo.	Dosis	Media	Indice de Productividad Desviación Estandar	Error Estandar
1	1 kGy	120.86a	27.809	16.055
2	2 kGy	152.23a	22.184	12.808
3	Testigo	142.63a	11.424	6.596

Medias con letra distinta son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$).

CUADRO 16. MORTALIDAD PRESENTADA DURANTE EL CICLO DE PRODUCCION EN EL POLLO OBTENIDO DE HUEVO IRRADIADO CON ELECTRONES.

Grupo Tratam.	Dosis de Irradiación	Número de muertos			Porcentaje Mortalidad
		Ini. ^a	Crec. ^b	Fin. ^c	
1	1 kGy	2	0	1	5.55†**
2	2 kGy	1	0	0	1.85†**
3	Testigo ^d	0	1	0	1.81

** No hay diferencia significativa

^a Etapa del día 1 al 21

^b Etapa del día 22 al 35

^c Etapa del día 36 al 49

^d Huevo no irradiado

Figura 1. Diagrama del espectro electromagnético.

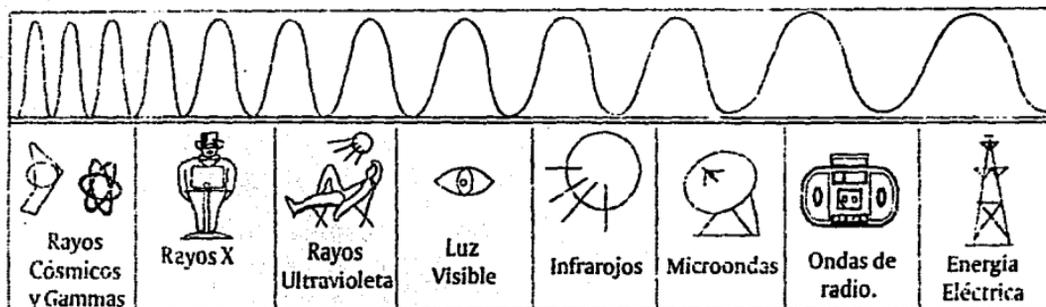


Figura 2. Relación de penetración de electrones en agua dependiendo del nivel de energía.

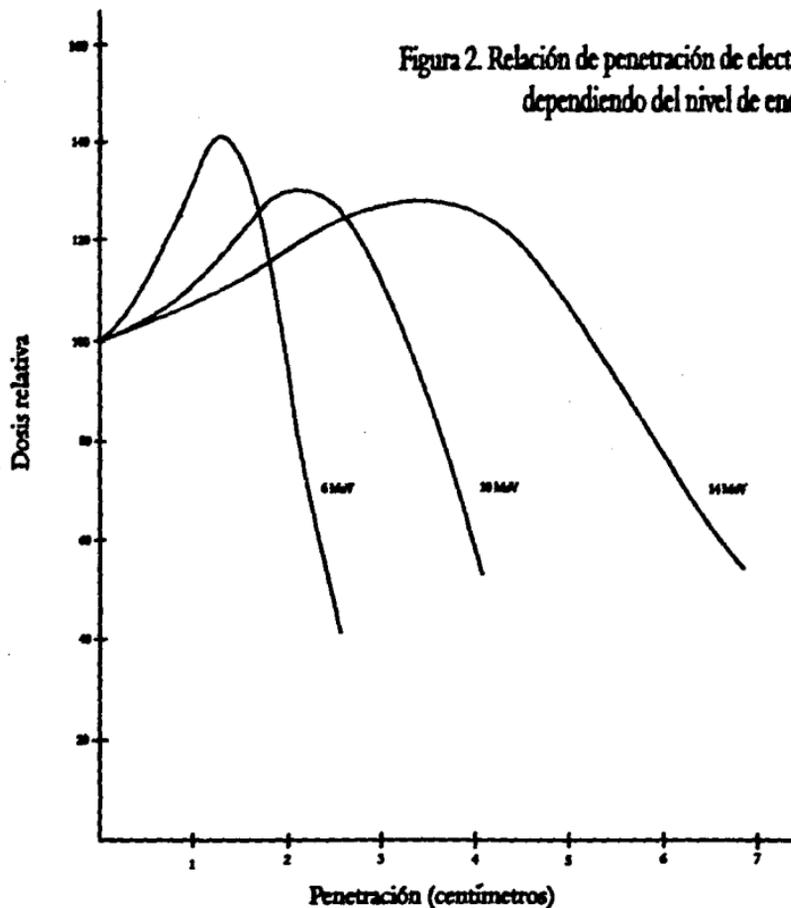


Figura 3. Esquema de la irradiación industrial con electrones en un producto.

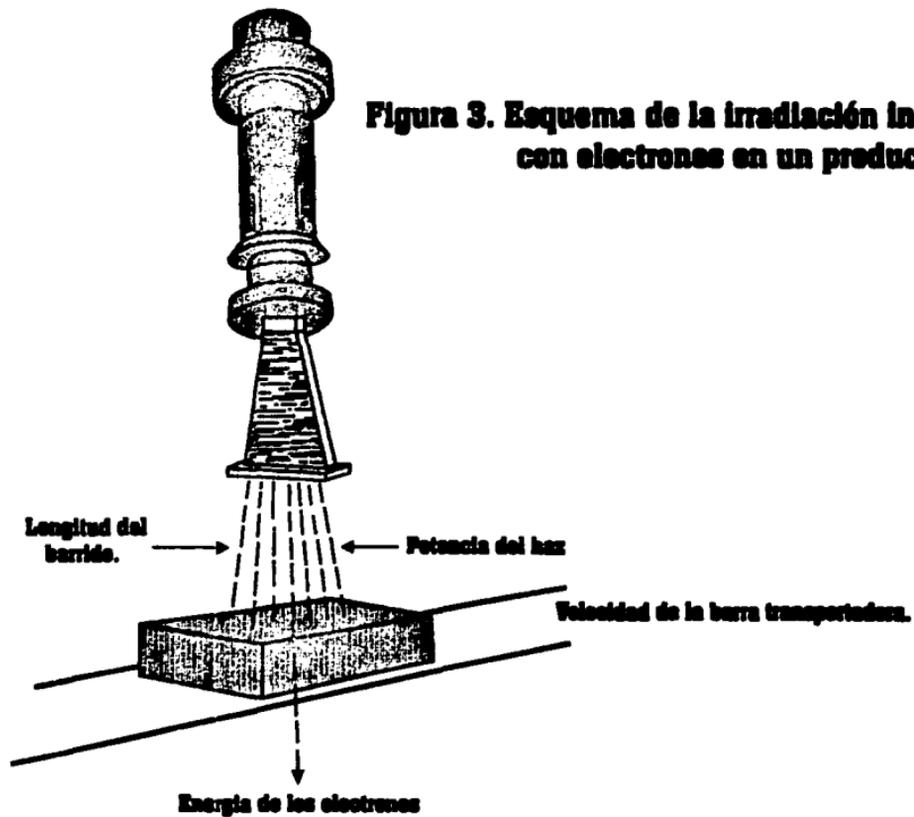


Figura 4. Acelerador de Electrónes Tipo Pelletrón .

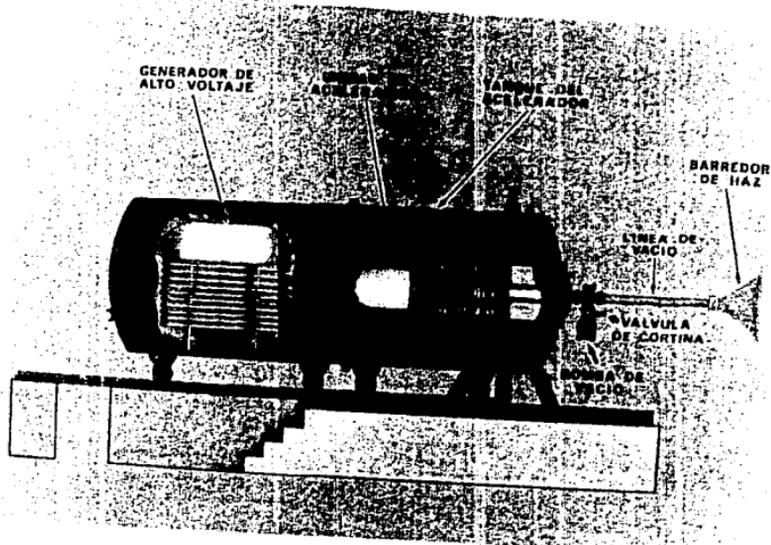


Figura 5. Curva de calibración del dosímetro de tinte radiocrómico con gammas de Co-60

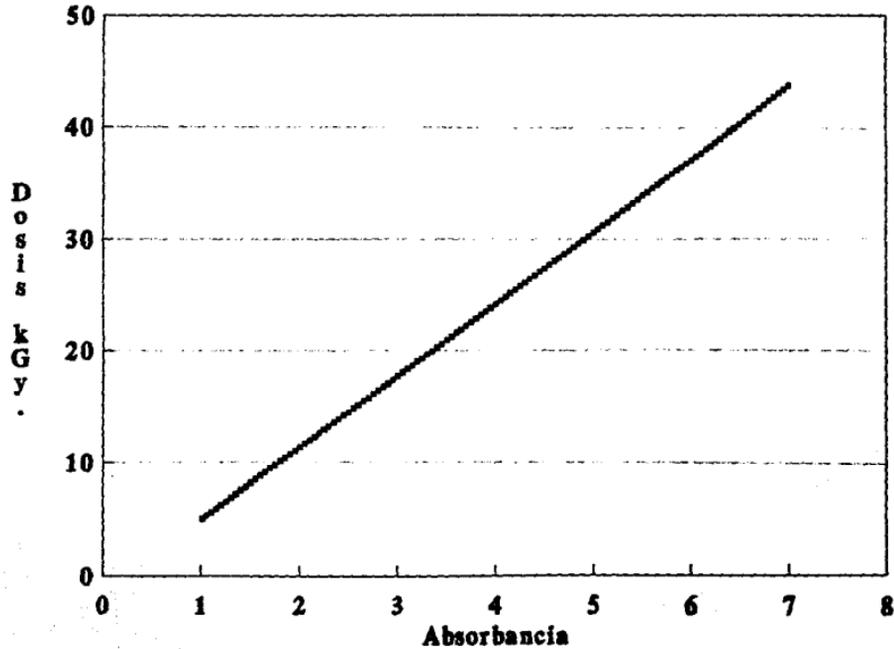
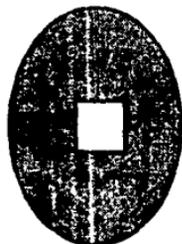
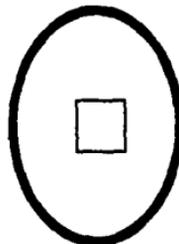


Figura 6. Colocación de los dosímetros de película en los cascarones de huevo



Vista de la cara externa

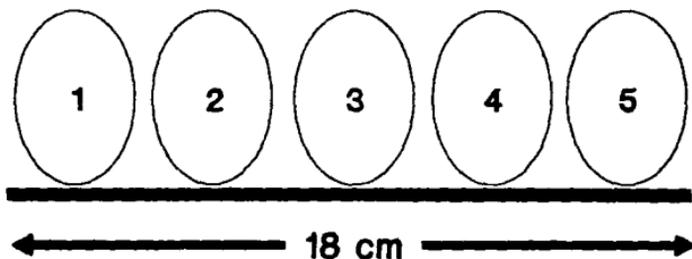


Vista de la cara interna



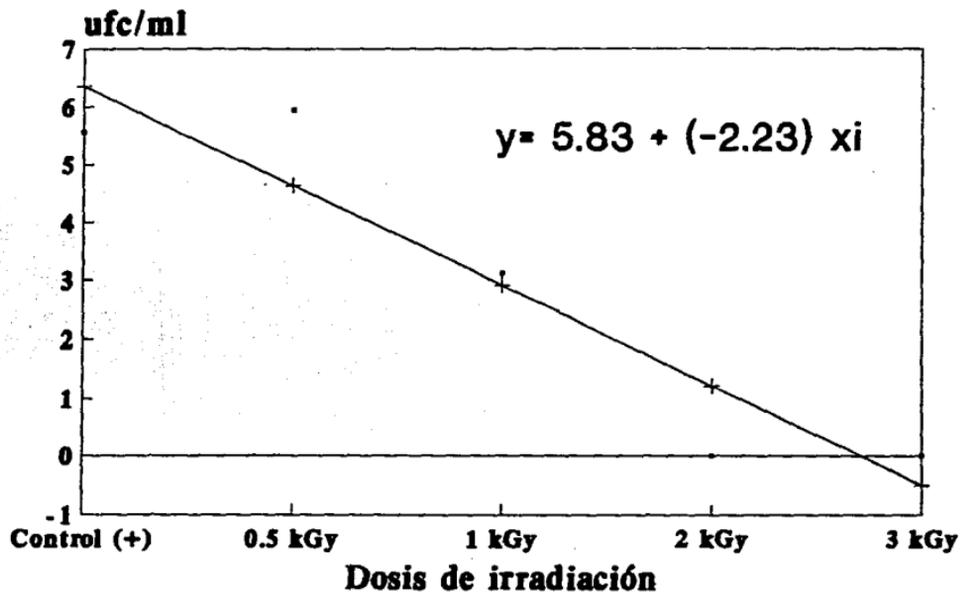
Vista lateral

Figura 7. Posiciones de los cascarones expuestos a irradiación con electrones sobre una base de 18 cm.



**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Figura 8. Correlación entre ufc/ml de S. enteritidis y dosis de irradiación.



$r = -0.93; P < 0.05$

Figura 9. Correlación entre el % de recuperación de SE del área I y dosis de irradiación.

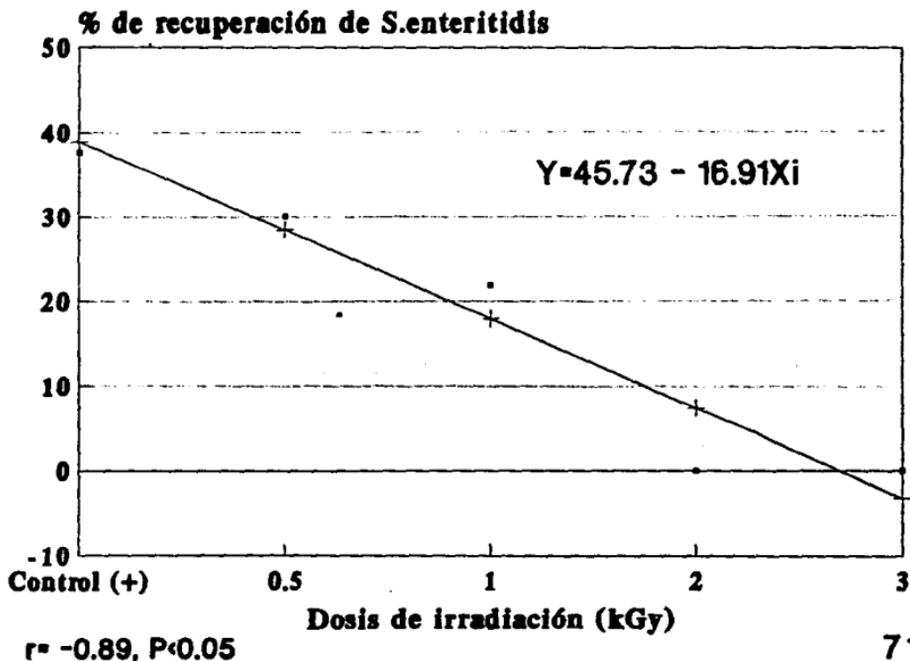


Figura 10. Correlación entre el % de recuperación de SE del área II y dosis de irradiación

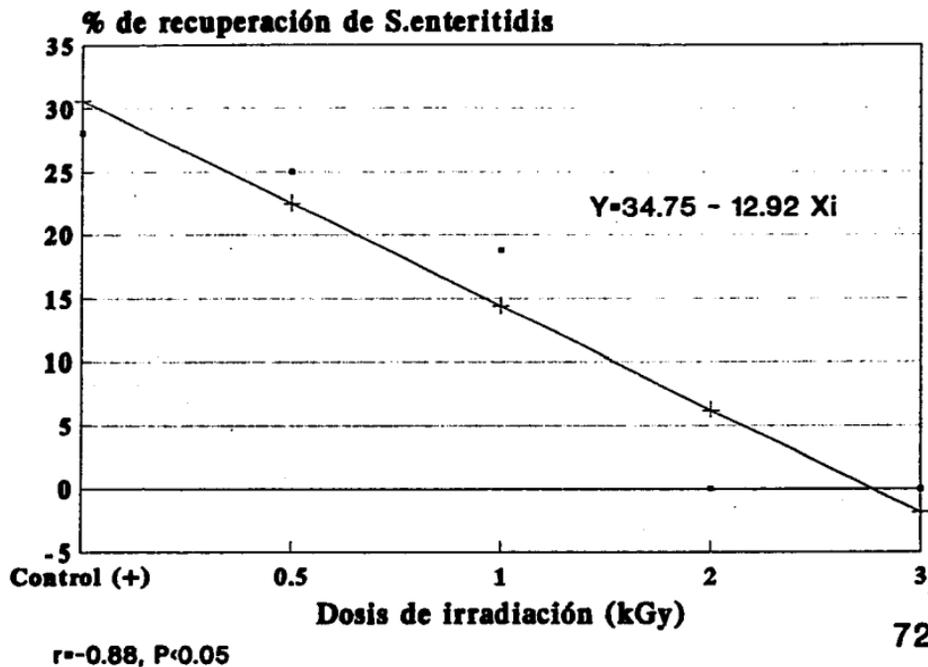


Figura 11. Correlación entre el % de recuperación de SE del área III y dosis de irradiación

