

235
Reg



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPARACION DE LA IRRADIACION CON
ELECTRONES Y OTROS METODOS DE
DESINFECCION EN HUEVOS DE GALLINAS
SEMIPESADAS INOCULADOS
EXPERIMENTALMENTE CON *Salmonella enteritidis*

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO
Z O O T E C N I S T A
POR
CECILIA ROSARIO CORTES

Asesores: MVZ. MPA. Ma. del Pilar Castañeda S.
MVZ. Ph. D. Guillermo Téllez I.
MVZ. EA. Ezequiel Sánchez Ramírez



FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**Prosigue... Si espigas te da el escenario,
recuerda la historia sublime de Dios...
Para ir a la gloria se sube al Calvario...
JAMAS HA VENCIDO QUIEN NUNCA LUCHO.**

Antonio Plaza

(Fragmento)

**COMPARACIÓN DE LA IRRADIACIÓN CON ELECTRONES Y OTROS MÉTODOS DE
DESINFECCIÓN EN HUEVOS DE GALLINAS SEMIPESADAS
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON *Salmonella enteritidis***

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

de la

Universidad Nacional Autónoma de México

Para obtener el título de

Médico Veterinario Zootecnista

por:

Cecilia Rosario Cortés

ASESORES

MVZ. MPA. Ma. del Pilar Castañeda Serrano

MVZ. Ph. D. Guillermo Téllez Isaías

MVZ. EA. Ezequiel Sánchez Ramírez

México, D.F.

1995.

DEDICATORIA

A DIOS

Porque junto con la vida me dio los mejores padres, por estar conmigo en los momentos más difíciles y seguirme amando a pesar de mis tropiezos. Gracias por permitirme concluir esta etapa de mi vida, rodeada siempre de gente maravillosa.

A MIS PADRES

Por todo el amor, paciencia, comprensión, por aceptarme con todos mis defectos y porque con su ejemplo nos han marcado el camino de honestidad y rectitud, les dedico este trabajo del que ustedes han sido una parte muy importante. Con la promesa de nunca defraudarlos y la esperanza de que nuestra familia siga tan unida como hasta hoy.

!!!!!!! LOS AMO !!!!!!!!

A MI HERMANO LUIS MANUEL

Porque a pesar de nuestras diferencias nos une un gran amor, por estar a mi lado siempre que te necesito, y darme junto con Mary las 2 más grandes alegrías de mi vida. **Te Quiero Mucho.**

A MIS SOBRINOS JOSÉ MANUEL Y LUIS DANIEL

Gracias por llenar mi corazón con su cariño, sus risas y su alegría. Porque al llegar dieron nueva vida a nuestro hogar y llenaron la casa de amor y de juguetes. Son mis dos grandes tesoros.

A MIS TÍOS Y PRIMOS

Especialmente a mis tíos Diego y Queta por todo lo que he recibido de ustedes, pero especialmente por su cariño, que es lo más importante.

A EDUARDO

Por ser mi gran amigo y apoyarme en todo momento, pues a pesar de estar lejos físicamente, seguimos muy unidos.

A MARU'S

Por ser mi suuuper amiga, por escucharme y compartir mis problemas y mis alegrías.
!!!Gracias Maru!!!

A GRETA

Porque brindarme tu amistad en los momentos que más lo necesite !!!Gracias Amiga!!!

A ANGÉLICA DORANTES MORALES

Por tu ayuda desinteresada, sin la cual no hubiese sido posible la realización de este trabajo. !!!Gracias Angie!!!

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

Milda, Pilar Eguía, Rosalía, Luis Enrique y Sergio, Blanca, Luisita, Donají, Benjamín, Javier Balcázar, Oscar y Alejandro Banda.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Porque de ella recibí uno de los más grandes tesoros: MI FORMACIÓN PROFESIONAL

AL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL AVES

Con el mayor respeto y cariño, por darme la oportunidad de pertenecer a él y crecer profesionalmente.

AL CENTRO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN EN PRODUCCIÓN AVÍCOLA (C.E.I.E.P.A.)

Especialmente a su director técnico el Dr. Ernesto Ávila G., por todo el apoyo recibido, pues sin su colaboración no hubiese sido posible la realización de este trabajo. Así como a todos los académicos y trabajadores que forman parte de la granja.

AL DR. GUILLERMO TÉLLEZ ISAÍAS

Por permitirme tomar parte de este gran departamento y apoyar a todos sus miembros.

A LA DRA. MA. DEL PILAR CASTAÑEDA SERRANO

Porque siempre sentí su apoyo, no solo como asesora, sino como una verdadera amiga, por confiar en mí y por su gran preocupación de que este trabajo saliera adelante.

A LA DRA. ODETTE URQUIZA BRAVO

Mi jurada, maestra, consejera y ante todo, amiga. Un agradecimiento muy especial por haber confiado en mí y darme la oportunidad de trabajar con ella en la sección de Bacteriología.

A MIS ASESORES

Por confiar en mí para la realización de este trabajo, dedicándome parte de su tiempo y apoyándome con sus consejos.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO

Dr. José Antonio Quintana López
Dr. Antonio Verdugo Rodríguez
Dr. Fernando Nuñez Espinosa
Dra. Odette Urquiza Bravo
Dr. Guillermo Téllez Isaías
Por enriquecer este trabajo con sus comentarios.

A LOS SEÑORES JUAN MERINO B. Y ADELFO JUÁREZ M.

Por su ayuda incondicional, disposición al trabajo, y su ejemplo de sencillez y dedicación.

AL SEÑOR RODRIGO MERINO B.

Por su ayuda en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	13
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	21
CONCLUSIONES	24
LITERATURA CITADA	25
CUADROS	33
FIGURAS	36

RESUMEN

ROSARIO CORTÉS CECILIA. Comparación de la irradiación con electrones y otros métodos de desinfección en huevos de gallinas semipesadas inoculados experimentalmente con *Salmonella enteritidis*. (Bajo la dirección de: MVZ. MPA. Ma. del Pilar Castañeda Serrano, MVZ. Ph.D. Guillermo Téllez Isaias y MVZ. EPA Ezequiel Sánchez Ramírez).

En el presente trabajo se evaluaron 4 métodos de desinfección de huevo fértil: 1) Fumigación con formaldehído, 2) aspersión con cuaternarios de amonio, 3) aspersión con desinfectante derivado de cítricos experimental y 4) irradiación con electrones a dosis de 0.5, 1, 2 y 3 kGy. Se utilizaron 270 huevos de gallinas de la estirpe Dekalb Warren divididos en 4 grupos de tratamientos y dos grupos testigo, uno positivo inoculado y no tratado, así como un testigo negativo no inoculado y no tratado. El inóculo fue preparado para una dosis de 10^9 UFC/ml de *Salmonella enteritidis* fagotipo 13 resistente al ácido nalidíxico y a la novobiocina. La eficacia de la desinfección se evaluó por la técnica reportada por Gentry y la técnica de Williams modificada. Con base en los resultados, una dosis mínima de irradiación de 2 kGy fue suficiente para eliminar al 100% de las bacterias tanto en la superficie del cascarón como en las membranas de éste en comparación con el grupo testigo positivo ($P < 0.05$). Se encontró una correlación alta de -0.92 ($P < 0.001$) entre UFC/ml de *S. enteritidis* y la dosis de irradiación. La aspersión con cuaternarios de amonio logró eliminar el 100% de las bacterias en las membranas del cascarón ($P < 0.001$), sin embargo, en la superficie del cascarón la recuperación fue de 0.887 UFC/ml \log_{10} de *Salmonella enteritidis* ($P > 0.05$). La fumigación con formaldehído no mostró ser un buen método de desinfección pues redujo a *S. enteritidis* en un 47.63% en cascarón con respecto al control positivo, y en las membranas del cascarón se logró recuperar la bacteria inoculada ($P > 0.05$). La aspersión con el derivado de cítricos no fue efectiva contra *S. enteritidis* debido a que en cascarón se logró recuperar 3.389 UFC/ml \log_{10} , y en las membranas del cascarón no existió una eliminación total, recuperándose la bacteria del área II en un 30%, en área III en un 23.52%, mientras que en área I se logró eliminar al 100% de las bacterias inoculadas ($P > 0.05$). Por lo anterior se puede concluir que la irradiación a dosis mínima de 2 kGy logra la eliminación de bacterias como *Salmonella enteritidis*, por lo que se puede utilizar como alternativa para la desinfección del huevo.

**COMPARACIÓN DE LA IRRADIACIÓN CON ELECTRONES Y OTROS MÉTODOS DE
DESINFECCIÓN EN HUEVOS DE GALLINAS SEMIPESADAS INOCULADOS
EXPERIMENTALMENTE CON *Salmonella enteritidis***

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos de la explotación de reproductoras o progenitoras es la producción de huevos fértiles, limpios y libres de contaminantes fecales. (4, 43, 51). En el proceso de producción de pollito, la desinfección del huevo fértil es parte vital. Con este propósito, se han utilizado diversos métodos como son las fumigaciones con formol y permanganato de potasio, formol en incubadora, paraformaldehído, exposición a ozono, rayos ultravioleta, calentamiento del huevo, inyección de antibióticos, o simplemente lavado del huevo (43).

Los métodos antes mencionados no han mostrado una efectividad total; por ello, durante la incubación se produce la explosión de huevos por contaminación bacteriana que ocasiona acumulación de gases como producto del metabolismo de *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp, *Proteus* sp y *Staphylococcus* sp (44).

Es importante que para el control de las poblaciones microbianas en el cascarón del huevo, se utilice un agente sanitizador que sea efectivo y controle la contaminación, pero que a su vez no afecte al embrión (46).

MECANISMOS DEL HUEVO PARA EVITAR LA PENETRACIÓN BACTERIANA

El huevo cuenta con diversos mecanismos para evitar su contaminación:

a) La cutícula es la primera defensa, es la parte más externa y se encuentra adherida a la parte calcificada del cascarón (40, 49, 54, 61). posee dos estratos, uno adyacente al cascarón de apariencia espumosa y otro externo de apariencia compacta. Su

composición es aproximadamente del 90% de proteínas, además de lípidos y polisacáridos, mide de 10 a 30 micras de espesor, no solo recubre el cascarón sino que penetra a los más de 7, 500 poros que tiene éste, impidiendo la entrada de partículas líquidas o sólidas, pero no el intercambio de oxígeno y bióxido de carbono (36, 40, 44). En el huevo después de ser puesto, la cutícula permanece húmeda por algunos segundos, por ello, muchos de los poros se encuentran abiertos lo que favorece la penetración bacteriana antes de que esta madure (49, 51).

En un estudio realizado en campo se observó que un 12% de huevos limpios puestos en nido por reproductoras pesadas habían sido contaminados por diversas bacterias. El 84% de estos tuvieron entre 1 y 20 bacterias por huevo que lograron penetrar hasta la membrana interna (49, 51). Se ha observado una mayor incidencia en la descomposición de huevos con una pobre cutícula o que esta ha sido destruida (49), ya sea por agua, ácido úrico, o un tiempo largo de exposición a formaldehído (32, 40).

b) La segunda barrera que interviene es el cascarón (44, 61). Es una barrera de defensa para el disco germinal contra el ambiente exterior. Los poros del cascarón pueden ser fácilmente penetrados por bacterias como la salmonela que mide de 1 a 3 micras, mientras que un poro puede medir de 9 a 29 micras. Se ha observado que los huevos con un cascarón delgado son más susceptibles a la contaminación bacteriana (40, 61). El grosor de la cáscara y la calidad de la cutícula disminuye con la edad de la gallina (5, 33, 51).

c) La tercera barrera son las membranas del cascarón. Estas se encuentran adheridas a la parte interna del cascarón (44, 54, 61). La membrana externa cuenta con tres capas de fibrina y mucina que se encuentran firmemente unidas a la superficie interna del

cascarón (9, 44, 54). La membrana interna tiene una estructura más densa y cerrada, por lo que se ha demostrado que ofrece mayor resistencia a la penetración bacteriana, esta posee una pequeña capa de material albuminoso que se mezcla con la sustancia del huevo (9, 44, 54, 61). Estas membranas envuelven la superficie interna del huevo y funcionan como un filtro mecánico para evitar la penetración de microorganismos (9, 13, 61).

Al momento de la ovoposición, la temperatura interna del huevo es menor en un grado a la temperatura corporal del ave, al enfriarse el huevo y adquirir la temperatura ambiente (aproximadamente 21°C), succiona a su interior aire para compensar la presión interna con la externa, es en este momento cuando se forma la cámara de aire (9, 13, 17, 51, 54) y pueden penetrar por succión las bacterias y esporas de hongos que se encuentren en ese momento sobre el cascarón (9, 17, 38, 51, 54, 55). Se recomienda que el huevo fértil debe desinfectarse antes de que cumpla una hora de puesto, para protegerlo de contaminación posterior, por penetración bacteriana cuando el huevo se enfríe y se retraiga la cámara de aire (5, 33).

Sotelo (1990) menciona que *E. coli* es el principal agente infeccioso en provocar mortalidad embrionaria y durante la primera semana de vida del pollito (44, 51). Whistler *et al.*, citan que Arhienbuwa comprobó que los microorganismos entéricos pueden penetrar el cascarón, causando infección en el embrión, disminución en la incubabilidad, infecciones a lo largo de su vida productiva y por ende, pobre calidad del pollo (6, 56).

Salmonella sp. es un bacilo gram negativo, móvil, no esporulado, casi nunca fermentan la lactosa o la sacarosa, forma ácido y a veces gas a partir de glucosa, suele producir H₂S. El género *Salmonella* se encuentra subdividido en 65 subgrupos y casi 2000 serotipos antígenicamente distintos (7, 16). Al igual que otras Enterobacteriaceae, las

salmonelas poseen diversos antígenos "O" a partir de un total de más de 60 y diferentes antígenos "H" en una o ambas fases, algunas salmonelas cuentan con antígenos capsulares (K) conocidos como Vi y que se relacionan con la invasividad. Dichos antígenos son la base para la clasificación de las salmonelas. *Salmonella enteritidis* contiene los antígenos somáticos "O" : 1, 9, 12 y antígenos flagelares "H" : g y m (7, 16, 54).

Salmonella enteritidis es capaz de penetrar el cascarón y permanecer entre éste y las membranas del cascarón, multiplicándose durante el almacenamiento a 4°C (6, 13, 26). Padrón (1990) demostró que bastan de 6-20 minutos de exposición a *S. typhimurium* para que la bacteria penetre a través de la cutícula del cascarón y se localice en la membrana interna, donde los desinfectantes ya no tienen efecto alguno (6, 39, 58, 60). El hecho de que la *S. enteritidis* pueda penetrar los huevos y permanecer atrapada entre el cascarón y las membranas, tiene implicaciones importantes para el desarrollo epidemiológico de este agente. Se ha demostrado que las membranas son la base del crecimiento del microorganismo (9).

La salmonelosis causa mortalidad en aves de todas las edades, ocasionando grandes pérdidas en la industria avícola. Se estima que en los Estados Unidos de Norteamérica (EE.UU.) las pérdidas por salmonelosis ascienden a 77 millones de dólares anuales (35). Así mismo, en Latinoamérica se han estimado mortalidades durante la primera semana que sobrepasan el 25% (48, 54). Cervantes menciona que para establecer un programa de control de las salmonelosis se deben considerar a *S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. enteritidis* y probablemente a *S. typhimurium*, por su potencial patagénico, y estas dos últimas porque tienen importancia en salud pública.

Según datos del Centro para el Control de Enfermedades de EE.UU. (US-CDC), junto con la campilobacteriosis y la triquinosis, las salmonelosis provocan anualmente 7,000 muertes en humanos (18).

Una de las bases para la erradicación, consiste en obtener huevos fértiles libres de *Salmonella* sp, y para esto se requiere de un buen control en granjas de reproductoras, así como de métodos de desinfección efectivos. El método más utilizado para la desinfección del huevo y las incubadoras es la fumigación con formaldehído, el cual es fácil de usar, sin embargo, es carcinogénico (2, 5, 10, 34, 56). En 1984 la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) de EE.UU., comenzó a regular el uso del formaldehído por los antecedentes de cáncer nasal en ratas. La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de los EE.UU. (OSHA) enlista algunos efectos de la exposición prolongada y repetida a formaldehído tales como: dolor de cabeza, náuseas, somnolencia, alteraciones respiratorias, lesiones renales, sensibilización pulmonar, desordenes del sueño, irritabilidad, alteración de la sensibilidad y el balance, pérdida de la memoria, disminución en la concentración, y en mujeres desordenes menstruales y esterilidad secundaria (47).

Los cuaternarios de amonio son surfactantes catiónicos (23), el más conocido es el cloruro de benzalconio, poseen un ion hidrofílico (carga negativa) y un ion hidrofóbico (carga positiva), estos han sido también ampliamente utilizados y han mostrado un buen nivel de desinfección contra bacterias gram positivas y negativas, aunque estas últimas solo son susceptibles a altas concentraciones, se dice que el 99% de las bacterias mueren al contacto con el cuaternario de amonio, pero el resto incrementan su resistencia al desinfectante. Los cuaternarios de amonio son capaces de desnaturalizar proteínas, disminuyen la tensión superficial y alterar la permeabilidad de la membrana celular (23, 34).

Al incrementar la temperatura y el pH de la solución incrementa la efectividad de los componentes cuaternarios de amonio (23) (Figura 1).

El desinfectante derivado de cítricos está compuesto por extracto de semillas de cítricos, aceites esenciales, oleoresinas, ácido cítrico y glicerina, libre de solventes de extracción^{*}. Sobre este producto no se cuenta con información ya que se encuentra en fase experimental, por lo que se están realizando pruebas sobre su efectividad.

Actualmente, la preocupación constante por la baja de calidad en el cascarón a medida que se incrementa la edad en las parvadas de reproductoras (5, 33, 40), ha obligado a buscar otros métodos de sanitización del huevo incubable (33, 57).

IRRADIACIÓN CON ELECTRONES

La emisión y propagación de energía a través del espacio ó de un medio material en forma de ondas, se conoce como radiación. La irradiación se define como la exposición o iluminación por rayos u ondas de todo tipo (9).

Existen dos tipos de radiaciones: la no ionizante o de ondas larga y la ionizante o de onda corta, la primera, tiene longitud de onda de 200 a 295 nm comprende a las radiaciones que no alteran la estructura atómica de los elementos como la luz ultravioleta, estas pueden causar excitación e interferir en los procesos de replicación del ADN; la segunda, puede dividirse en dos: Radiación por partículas como los electrones acelerados y radiaciones electromagnéticas como la radiación gamma, los rayos X y los rayos cósmicos (14, 18, 42); este tipo de radiación tiene energía lo suficientemente alta para desalojar a los electrones de los átomos y moléculas, y convertirlos en iones (18, 42), los rayos X, rayos gamma y

^{*} Comunicación personal Dr. Rebollo. Datos no publicados.

electrones acelerados fueron seleccionadas para utilizarlas en la industria de los alimentos debido a que no producen residuos radioactivos (12).

La utilización de la radiación ionizante para tratar alimentos, no es algo nuevo como pudiera pensarse, Prescott en 1904 sugirió la utilización de rayos x o radioactividad en la conservación de alimentos (50).

En 1921 Shwartz en EE.UU., obtiene la primera patente para tratar con rayos x carne de cerdo y así eliminar *Triquinella spiralis* (45).

En 1961 la irradiación llamó la atención a varios organismos internacionales, fue entonces cuando se realizó la primera reunión internacional en Bruselas, Bélgica para evaluar los trabajos sobre la inocuidad de los alimentos tratados con radiación (22, 38).

Es en 1958 cuando la Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas otorga el primer permiso para irradiar alimentos de consumo humano; en 1960 Canadá y en 1963 EE.UU. otorgan el permiso para irradiar trigo, tocino y papas.

En 1983 la Comisión del Codex Alimentarius acepta las recomendaciones del Comité Mixto de Expertos (FAO, OMS y OIEA) para incorporarlas a la Norma General del Codex para Alimentos Irradiados y a su norma conexa para el Funcionamiento de Instalaciones de Irradiación (Norma Codex Alimentarius, 1983).

Los rayos gamma son radiaciones electromagnéticas de longitud de onda corta, originados de la desintegración radioactiva de ciertos elementos, como en el caso de los isótopos radiactivos Cobalto-60 y Cesio-137, que el Codex Alimentarius aprobó en 1983 para tratar alimentos (1, 14, 18, 31). Los rayos X son de la misma naturaleza que los rayos gamma, se producen cuando electrones acelerados chocan con un material denso como

tungsteno o bien oro. Ambos tipos de radiaciones son muy penetrantes (1, 14, 18, 29, 31, 42).

Los electrones son partículas cargadas negativamente, su penetración es menor y depende de la energía; aproximadamente 5 mm por millón de electrón voltios (MeV) en agua u otra sustancia de densidad semejante (14, 31).

Un acelerador esta integrado fundamentalmente por: Una fuente de radiación, sistema de control y seguridad, blindaje y sistema de manejo de productos (29). Existen dos parámetros importantes en el uso de aceleradores, la energía dada en MeV (29) (Mega electrón Volt) y los Kw. Un eV (electrón Volt) es el equivalente a la energía cinética requerida para acelerar un electrón a través de un diferencial de potencial de 1 volt (29).

Los electrones acelerados se producen en un filamento incandescente donde son emitidos dentro de una cámara al vacío, los electrones son atraídos por un potencial eléctrico positivo y son dirigidos en un estrecho rayo. Al final del acelerador, este rayo pasa entre los polos de un campo electromagnético, al cambiar el campo magnético, provocan que el rayo haga un barrido de lado a lado, en la unidad de aceleración, los electrones son acelerados por 1 MeV lo que provoca que casi alcancen la velocidad de la luz (12). En el paso de la radiación a través de la materia, la partícula ionizante choca con los protones del núcleo de los átomos y se transfiere energía a un electrón orbital, después del choque el electrón es disparado del átomo con alta energía y a gran velocidad saliendo de su órbita y chocando con nuevos átomos que a su vez se ionizan (1, 42). Se menciona que existen dos efectos por los que la radiación puede afectar a la célula:

a) Efecto Directo: Este ocurre por transferencia de energía, no es muy importante, sin embargo puede causar formación y ruptura de enlaces de hidrógeno en el ADN, con la consecuente alteración de estructuras moleculares secundarias (1, 42).

b) Efecto Indirecto: Ocurre por la ionización del agua, se considera la más importante; hay formación de radicales libres como el OH^\cdot es cual es altamente reactivo con macromoléculas como el ADN, desnaturalizando las dos cadenas de este (1, 42).

En la Norma de Irradiación de Alimentos y en su Conexo de Plantas de Irradiación se permite el uso de máquinas aceleradoras de electrones de hasta 10 MeV y uso de máquinas productoras de rayos X con energía de hasta 5 MeV (14, 18, 29, 31). Para eliminar salmonelas típicas de carne de pollo se recomienda la utilización de 2 a 3 kGy (20).

En la actualidad 37 países han aprobado la utilización de radiación ionizante para conservar alimentos. En ellos existen 50 instalaciones que procesan alimentos a nivel industrial, y uno de sus objetivos es eliminar o inactivar microorganismos patógenos (14, 18, 31). En Francia hay varios irradiadores a nivel comercial en donde se utilizan aceleradores de electrones (31). Un reporte de la Comisión de Alimentos e Higiene de los Estados Unidos menciona que la irradiación de alimentos es una importante suma a los métodos de control de patógenos de origen alimenticio (20).

La dosis de radiación es la cantidad de energía absorbida en la materia. La unidad utilizada para su medición es el Gray (Gy) y sus múltiplos; la unidad antigua era el rad, (14, 29, 31), las equivalencias son las siguientes:

$$1 \text{ Gray} = 1 \text{ J / kg} \text{ ó } 10^7 \text{ erg / kg.}$$

$$1 \text{ Gray} = 100 \text{ rads}$$

$$1 \text{ rad} = 100 \text{ erg / gr}$$

Las dosis que se utilizan depende del alimento y del objetivo que se persiga al irradiarlo, estas dosis se describen a continuación:

I) Dosis Bajas: Son dosis menores a 1 kGy y se utilizan para inhibir la germinación de tubérculos y bulbos, como en el caso de papas, ajos, camotes, cebollas, etc.; retarda la maduración y así, se extiende la vida de anaquel de productos tales como papaya, plátanos, y otras frutas tropicales. También se utiliza para desinfectar granos y otros productos almacenados así como para eliminar la *Trichinella spiralis*.

II) Dosis Medias: Son dosis entre 1 y 10 kGy, se utilizan para destrucción de los microorganismos, y retraso en su crecimiento, también para el mejoramiento de las propiedades tecnológicas de los alimentos.

III) Dosis Altas: Son dosis de más de 10 kGy, son usados para esterilizar equipo de hospital, eliminar virus y bacterias, etc. (54).

Se han realizado estudios con bajas dosis de irradiación gamma en huevos fértiles y se ha visto que no afecta la incubabilidad ni el peso del pollo, incluso se menciona que la incubabilidad de los huevos puede ser mejorada con este tipo de radiación (62), pero los conteos bacterianos no se reducen por lo que es necesario aumentar la dosis, el problema que se presenta a dosis altas de irradiación gamma es que se ven afectadas las características físicas del huevo y por lo tanto la viabilidad embrionaria (54).

Castañeda (1995), obtuvo buenos resultados en cuanto a la fertilidad, incubabilidad, ganancia de peso, e índice de conversión, demostrando que dosis de hasta 2 kGy no afectaban la calidad del pollo obtenido de huevo irradiado.

HIPÓTESIS

La irradiación con electrones posee mejor grado de desinfección del huevo inoculado, en comparación con los huevos que sean asperjados con formalina y cloruro de benzalconio, asperjados con un derivado de cítricos, o fumigados con formol y permanganato de potasio.

OBJETIVOS

Determinar el grado de desinfección en huevos comerciales inoculados con *S. enteritidis* de huevos comerciales desinfectados por aspersión con formalina y cloruro de benzalconio, aspersión con un derivado de cítricos, fumigación con formol y permanganato de potasio, e irradiación con electrones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon 270 huevos comerciales de gallinas Dekalb Warren de 51 semanas, procedentes del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPA) de la FMVZ. Los huevos se recolectaron con guantes estériles después de ser puestos, fueron descartados aquellos que presentaban fracturas, restos de materia fecal o sangre, así como los deformes. Los huevos se dividieron en 7 grupos de 10 huevos cada uno, además se contó con dos grupos testigos, uno positivo y otro negativo con 10 huevos cada uno, realizándose tres réplicas.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Los grupos se establecieron como se describe a continuación:

GRUPO	MÉTODO DE DESINFECCIÓN	SISTEMA DE DESINFECCIÓN	NÚMERO DE HUEVOS
1	ASPERSIÓN CON CUATERNARIOS DE AMONIO	-	10
2	ASPERSIÓN CON UN DERIVADO DE CÍTRICOS	-	10
3	FUMIGACIÓN	3 X	10
4	IRRADIACIÓN	0.5 kGy	10
5	IRRADIACIÓN	1 kGy	10
6	IRRADIACIÓN	2 kGy	10
7	IRRADIACIÓN	3 kGy	10
8	TESTIGO (+)	Inoculados No tratados	10
9	TESTIGO (-)	No inoculados No Tratados	10

Los huevos fueron ovoscopiados para marcar la cámara de aire y se delimitó el área a inocular.

Se utilizó como inóculo una cepa mutante de *S. enteritidis* (resistente al ácido nalidíxico y a la novobiocina) fagotipo 13. La bacteria fue incubada por 18 horas a 37°C, a partir de ésta, se elaboró un inóculo con 1×10^8 UFC/ml, del cual se aplicó 100 µl sobre el área seleccionada a inocular. Posteriormente, los huevos se mantuvieron por 2 horas a temperatura ambiente para asegurar la penetración de la bacteria a través del cascarón, imitando las condiciones naturales antes de ser desinfectados.

IRRADIACIÓN

Para la irradiación de las muestras se empleó un acelerador de electrones tipo Pelletron que se encuentra en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (carretera federal México-Toluca, km 36.5, Salazar, Edo. de Mex.).

Para llevar a cabo la irradiación se utilizó la misma dosimetría que Castañeda (1995), por lo que se manejaron las siguientes constantes:

Voltaje:	0.40 MeV
Corriente:	15 µAMP
Frecuencia de barrido:	45 Hz
Vacío:	25×10^{-6}
Distancia de la ventana:	10 cm
Tiempo de exposición:	3 MIN.

ASPERSIÓN

Se realizó la aspersión con dos diferentes desinfectantes, la primera, con la fórmula mencionada por Garza de la F. (17, 21) (Agua 980 ml, Cuaternario de Amonio al 11% 10 ml y Formalina al 37% 10 ml); la segunda con un desinfectante derivado de cítricos que se encuentra en la fase experimental, a una dilución de 1:10 000^{*}, ambas se llevaron a cabo en el Departamento de Producción Animal: Aves, (DPA:A) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

FUMIGACIÓN

La fumigación se efectuó también en el DPA:A con formol y permanganato de potasio, en una relación de 42.4 ml : 21.2 g por m³ (3X) respectivamente, en el gabinete de fumigación (37), donde se mantuvieron las siguientes constantes, una temperatura no menor a 24°C, Humedad relativa de 75% y un tiempo de 25 minutos (33).

Los testigos positivos fueron inoculados, pero no recibieron ningún tratamiento de desinfección; los testigos negativos, no se inocularon y tampoco fueron tratados.

Una vez desinfectado el huevo, se mantuvo en refrigeración (4°C) por 24 horas.

Con objeto de determinar la contaminación bacteriana en el cascarón de cada una de las muestras, se empleó la técnica desarrollada por Gentry (19), utilizándose únicamente como medio selectivo de crecimiento, agar verde brillante adicionado con 200 µg de ácido nalidixico y 25 µg de novobiocina (9).

* Comunicación personal Dr. Rebollo. Datos no publicados.

Para establecer la contaminación bacteriana de las estructuras internas del huevo (membrana externa, membrana interna, espacio entre éstas y albúmina) se utilizó la técnica descrita por Williams (61). Dicha técnica fue modificada como se describe a continuación:

Área I: Muestreo de la cara interna de la membrana interna. Para ello se vacía el contenido del huevo por su extremo más angosto, después con un hisopo humedecido previamente con caldo tetrionato, se toma la muestra en el área de inoculación por la cara interna del huevo con un movimiento rotatorio (Figura 2).

Área II: Muestreo de la cara interna de la membrana externa. Una vez tomado la muestra del área I, se retira la membrana interna, por lo tanto quedará a la vista la membrana externa, se humedece un hisopo y se toma la muestra de la misma manera que en el Área I (Figura 3).

Área III: Muestreo del espacio entre membrana interna y membrana externa. Se hace una perforación en la cámara de aire marcada en el cascarón, se desplaza la membrana interna por presión de aire a través del orificio hecho en el cascarón, una vez que se obtiene esta membrana se deposita en el caldo tetrionato (Figura 4).

Área IV: Muestreo de albúmina. El contenido del huevo se vacía sobre una placa de acrílico, se toman 5 ml de clara, los cuales se depositan en un tubo con caldo tetrionato (Figura 5).

Al finalizar el muestreo, los tubos conteniendo las muestras de las cuatro áreas fueron homogenizados e incubados por 24 horas a 37°C. después de las cuales, el caldo tetrionato fue sembrado en agar verde brillante, adicionado con ácido nalidixico y novobiocina para determinar presencia o ausencia de colonias lactosa negativas, ácido

nalidixico y novobiocina resistentes a las cuales se les realizaron pruebas bioquímicas para comprobar la identificación de la especie.

ANALISIS ESTADISTICO

Las UFC recuperadas en la Técnica de Gentry fueron analizadas mediante un Análisis de Varianza y se obtuvieron las diferencias significativas entre tratamientos mediante la prueba de Duncan, utilizando el programa de análisis estadístico SAS (SAS INST.,CARY, N.C.) (30). Se utilizó también un análisis de regresión donde la variable independiente fue la dosis de irradiación y la dependiente las UFC de *Salmonella enteritidis*/ ml obtenidas en el tratamiento por irradiación .

El número de positivos por tratamiento obtenidos en la Técnica de Williams fueron analizados mediante una prueba de Ji cuadrada (X^2) para determinar las diferencias significativas entre los grupos de huevos inoculados con *S.enteritidis*.

Para evaluar la reducción de *Salmonella enteritidis* de las estructuras internas del huevo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{\% \text{ Testigo} - \% \text{ Experimental}}{\% \text{ Testigo}} \times 100 = \% \text{ Reducción}$$

RESULTADOS

Los resultados de la recuperación de *Salmonella enteritidis* a partir de la técnica de Gentry después de su desinfección, se pueden observar en el Cuadro 1, en él se observa que el testigo positivo y el grupo irradiado a 0.5 kGy, son los que mayor número de UFC/ml presentaron; en el grupo asperjado con un derivado de cítricos así como el irradiado a 1 kGy hubo una reducción de 1 log 10. El grupo que fue fumigado presentó una disminución de 2.229 log 10 en comparación con el testigo positivo, la aspersión con cuaternarios de amonio tuvo una reducción de 3.37 log 10 y finalmente, en los grupos donde no hubo crecimiento fue en los irradiados a 2 kGy, 3 kGy y el testigo negativo ($P < 0.05$). Mediante el análisis de regresión se encontró que hay una alta correlación negativa entre las UFC y la dosis irradiación, $r = -0.92$, que resultó altamente significativa $P < 0.0001$, representada por la siguiente ecuación:

$$Y = 5.844 - 1.61 X_i$$

Lo anterior indica que por cada kGy de dosis de irradiación, la población bacteriana disminuye en 1.61 UFC/ml. (Figura 10)

La recuperación de la bacteria de las estructuras internas del huevo mediante la técnica de Williams modificada, puede observarse en el Cuadro 2.

En el Área I los grupos irradiado a 0.5 kGy, 1 kGy, y fumigación no presentaron diferencia estadística ($P > 0.05$) con respecto al testigo positivo. Los grupos de irradiación a 2 y 3 kGy, aspersión con cuaternarios de amonio, aspersión con el derivado de cítricos y testigo negativo, mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

En el Área II los grupos irradiados a 0.5 kGy, 1 kGy y el fumigado, no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$); el grupo asperjado con el derivado de cítricos, presentó una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), en tanto que los grupos irradiados a 2 kGy, 3 kGy, asperjado con cuaternarios de amonio y testigo negativo presentó una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.001$).

En el Área III, los grupos que no presentaron diferencias estadísticamente significativa ($P > 0.05$) fueron el irradiado a 0.5 kGy y fumigación. Los grupos irradiados a 1 kGy, asperjados tanto con cuaternarios de amonio como con el derivado de cítricos presentaron una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$); los grupos irradiados a 2 y 3 kGy, así como el testigo negativo presentaron una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.001$).

Con lo que respecta al área IV no hubo recuperación en ningún grupo, incluso en el testigo positivo.

Los porcentajes de reducción de *Salmonella enteritidis* de las estructuras internas del huevo, se presentan en el Cuadro 3.

Se puede apreciar que en el Área I sólo los grupos irradiados a 0.5 y 1 kGy, así como el grupo fumigado presentaron un porcentaje de reducción de 0%; los grupos irradiados a 2 y 3 kGy y los asperjados con cuaternarios de amonio y derivados de cítricos presentaron un porcentaje de reducción del 100%.

En lo que respecta al Área II, el grupo fumigado no presentó reducción (0%); el grupo irradiado a 0.5 kGy mostró una reducción del 30%; a 1 kGy la reducción fue de 39.99%; cuando se asperjó con derivados de cítricos la reducción fue de 69.99% y al

irradiar a 2 y 3 kGy, así como cuando se asperjó con cuaternarios de amonio la reducción fue del 100%.

En el Área III, el grupo con menor reducción fue el fumigado (23.52%); el grupo irradiado a 0.5 kGy en el tuvo 41.17%; a 1 kGy la reducción fue de 52.94%, mientras que en el grupo asperjado con derivados de cítricos fue de 76.47%, y en los irradiados a 2 y 3 kGy, así como el asperjado con cuaternarios de amonio la reducción fue de 100%.

DISCUSIÓN

Un hecho importante es que *Salmonella enteritidis*, así como otros patógenos, puede penetrar el huevo y permanecer entre el cascarón y las membranas, puede tener implicaciones importantes para la epidemiología de esta enfermedad (8, 9, 39, 54, 56) .

En este trabajo, cuando se utilizó la fumigación la reducción en la superficie del cascarón fue de 2.494 log 10 de la población bacteriana en el cascarón, en contraste con la aspersión con cuaternarios de amonio donde hubo una reducción de 3.635 log 10, este resultado coincide con los obtenidos por Arhienbuwa (3) y Lin *et al.* (28) quienes mencionan que la desinfección con cuaternarios de amonio fue más efectiva que la fumigación con formaldehído.

El hecho de que en las estructuras internas del huevo la fumigación no haya tenido efecto, se debe a que el gas no penetra por debajo del cascarón y por lo tanto no hay un poder bactericida residual (51, 52, 57). Por los riesgos de cáncer nasal por exposición a formaldehído, se recomienda que la exposición debe ser menor a 0.75 ppm, pero se ha observado que cuando se fumiga en incubadoras, puede exceder grandemente este nivel (47).

Los cuaternarios de amonio mostraron un buen grado de desinfección en las membranas del cascarón; estos compuestos pueden eliminar un gran porcentaje de las bacterias, sin embargo, las que sobreviven incrementan su resistencia (23).

Los cuaternarios de amonio por sí mismos desnaturalizan las proteínas (23), por lo que eliminan la cutícula, sin embargo, cualquier desinfectante líquido aplicado ya sea en

spray o lavado puede destruirla (8, 32, 52), por lo que los huevos son más susceptibles a contaminación posterior (52).

En cuanto a la aspersión con derivados de cítricos los resultados obtenidos en este trabajo, fueron similares a los encontrados en otros estudios cuando se probó este desinfectante a diferentes diluciones contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella gallinarum*, *Escherichia coli* y *Shigella* sp, el desinfectante fue efectivo contra todas las bacterias, pero en la dilución 10^{-4} (es decir 1:10 000) ya no fue efectivo contra *Salmonella gallinarum*.

En el caso de la irradiación, los resultados obtenidos en este estudio, a partir de 2 kGy, hubo una reducción del 100% de las bacterias, esto coincide con los resultados obtenidos por Castañeda (1995) y Trejo (1993); Josepson (1983) y Giddings (1991), quienes encontraron que irradiar entre 2 y 3 kGy es efectivo contra *S. enteritidis*.

La irradiación actúa a nivel del ADN, por ruptura de los puentes de hidrógeno, esto es conocido como efecto directo (1, 12, 24, 42), el efecto indirecto se da cuando hay ionización del agua. Se ha postulado la Teoría del Blanco, la cual dice que hay moléculas específicas que son inactivados por la radiación, se dice que el ADN es el blanco más importante (24). Se ha observado que cuanto mayor es el contenido de agua en el citoplasma hay mayor concentración de radicales libres y por lo tanto mayores lesiones (24).

Se ha demostrado que las bacterias después de irradiarlas repetidamente pueden desarrollar radioresistencia. Josephson (1983) encontró que esta puede ser consecuencia

* Comunicación personal Dr. Rebollo. Datos no publicados.

de mutaciones y selección en ambientes radioactivos naturales por grandes periodos. Por repetidas exposiciones se produjo una cepa radioresistente de *S. typhimurium* tiene una D10 de 150 Krads (1.5 kGy) en la fase logarítmica y 194 kGy (1.94 kGy) en la fase estacionaria (24). La D10 son los rads requeridos para decrecer la población en un log (24). Sin embargo, se ha visto que a pesar de que aumentaba la radioresistencia, las bacterias eran menos infectantes (12).

A partir de albúmina no hubo recuperación en ningún grupo, esto posiblemente se deba a que las membranas son la base del crecimiento de microorganismos (9, 54), además se ha demostrado que las salmonellas son inhibidas y algunas veces muertas por la conalbumina y la transferrina del huevo las cuales se encuentran en altas concentraciones en la clara (26).

En contraste con lo que ocurre cuando se utiliza la aspersión con cuaternarios de amonio o cualquier desinfectante líquido, posiblemente la irradiación con electrones no afecta a la cutícula, ya que las proteínas son las partículas más resistentes a la irradiación comparada con lípidos o vitaminas, por lo que es necesario realizar más estudios al respecto.

CONCLUSIONES

La desinfección con gas formaldehído a una concentración 3X, no fue capaz de reducir la población bacteriana inoculada.

La desinfección con cuaternarios de amonio no resultó efectiva, ya que se logró recuperar *S. enteritidis* a partir de cascarón.

Los desinfectantes derivados de cítricos no fueron efectivos contra el género *Salmonella* sp. a una concentración de 1:10 000.

La irradiación con electrones a una dosis mínima de 2 kGy logró una reducción del 100% de la población bacteriana tanto en la superficie del cascarón como en las estructuras internas del huevo, es decir, sólo es efectiva cuando el huevo ha sido contaminado después de la ovoposición. Por lo que puede ser una buena alternativa para la desinfección de huevo fértil.

LITERATURA CITADA

- 1) Alexander, P.: Fundamentos de Radiobiología. *Acribia*. Capítulo 1 Interacción de las radiaciones ionizantes con la materia, Capítulo 2 Acciones directa e indirecta en sistemas biológicos, Capítulo 9 Efectos a nivel celular. Zaragoza, España 1964.
- 2) Anónimo: Formaldehyde may face regulation. *Chem. Eng. News*. 62: 8 (1984).
- 3) Arhienbuwa, F.E., Adler, H.E. and Wiggins, A.D.: A method of surveillance for bacteria on the shell of turkey eggs. *Poult. Sci.* 59: 28 - 33 (1980).
- 4) Austic, R.E. and Nesheim, M.C.: Poultry Production. Cap. 4 Incubation and hatchery management 89-121, 30th ed., -*Lea & Febiger*, U.S.A., 1990.
- 5) Barbosa, E.J.E.: Control microbiológico de la planta incubadora. Memorias del I Curso de Manejo para la Prevención de Problemas Aviarios. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, México, D.F. 98-120. México, D.F. 1989.
- 6) Berrang, M.E., Cox, N.A., Bayley, J.S. and Blankenship, L.C.: Methods for inoculation and recovery of Salmonella from chicken eggs. *Poult. Sci.* 70: 2267-2270 (1991).
- 7) Brooks, G.F., Jawetz, E., Butel, J.S., Orson, L.N., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A.: Microbiología Médica. Capítulo 16 Bastoncillos intestinales gram negativos (Enterobacteriaceae) 231 - 234, 14 ed. *El Manual Moderno*. México, D.F. 1992.
- 8) Buhr, R.J., Mauldin, J.M., Bailey, J.S. and Cox, N.A.: Automated spray sanitizing of broiler hatching eggs. 1. Physical characteristics of the egg. *J. Appl. Poult. Res.* 3: 219 - 225 (1994).

- 9) Castañeda S. M. P.: Efecto de la irradiación con electrones en huevos fértiles inoculados experimentalmente con *Salmonella enteritidis*, sobre la incubabilidad y desarrollo productivo. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1995.
- 10) Castel, S.W., Vernon, R.J. and Bailey, E.M.: Formaldehyde: Toxicology and hazards. *Vet. Hum. Toxicol.* 29: 31-33 (1987).
- 11) Cervantes, H.: Control de Salmonella en reproductoras pesadas. Memorias del XIII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Santo Domingo, 12 R.D. Santo Domingo, R.D. (1993).
- 12) Council for Agricultural Science and Technology: Ionizing energy in food processing and pest control: II. Applications. Task Force Report No. 115. June (1989).
- 13) Cox, N.A., Bailey, J.S., Berrang, M.E., Buhr, R.J. and Mauldin, J.M.: Automated spray sanitizing of broiler hatching eggs. 3. Total bacteria and coliform recovery after using an egg spraying machine. *J. Appl. Poult. Res.* 3: 234-237 (1994).
- 14) FAO/OIEA/OMS: Bases Técnicas para la Legislación Referente a los Alimentos Irradiados. *FAO/OMS/OIEA*. Roma 1966.
- 15) Farcas, A.: Desinfección y desinfectantes. Memorias del XIII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Santo Domingo, R.D. 61-64. Santo Domingo, R.D.(1993).
- 16) Freeman, B.A.: Microbiología de Burrows. Capítulo 19 Bacilos estéricos: *Salmonella*, *Arizona* y *Citrobacter*, 525-541, 22 ed. Ed. *Interamericana McGraw-Hill*, México, D.F. 1989.

- 17) Garza, F.R.: Bajo nacimiento y mala calidad del pollito 1. *Tec. Avip.*, 14: 20 - 25 (1989).
- 18) GCIIA: La Irradiación de Alimentos: Hechos y Realidades. Serie de Fichas Descriptivas. *GCIIA*. Viena, Austria. 1991.
- 19) Gentry, R.F. and Quarles, C.L.: The measurement of bacterial contamination on egg shell. *Poult. Sci.*, 21: 930-933 (1972).
- 20) Giddings G.G. and Marcotte M.: Poultry Irradiation: for hygiene / safety and market-life enhancement. *Food Rev. Int.* 7: 259-282 (1991).
- 21) Gillingham, S.: Programa de control de calidad para el huevo incubable. Implante hoy el suyo propio. Memorias de la XX Convención Anual de Especialistas en Ciencias Avícolas. Acapulco Gro. México, 125-143, Acapulco Gro. México, 1995.
- 22) International Atomic Energy Agency (IAEA). Food processing by irradiation: world facts and trends. Nex features No. 5, Viena, Austria, 1989.
- 23) Jones, L.M.: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 3a ed. Part 8 Chemotherapy- A. Local Anti-Infective Drugs, 434. Iowa State University Press. USA, 1965.
- 24) Josephson, E.S. and Peterson, M.S.: Preservation of food by ionizing radiation. Vol II. *CRC Press Inc.* Boca Raton Florida, USA, 1983.
- 25) Kerns, W.D., Pavkov, K.L., Donofrio, D.J., Gralla, E.J. and Swenberg, J.A.: Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. *Cancer Res.* 43:4382-4392 (1983).

- 26) Kim, C.J., Emery, D.A., Rinke, H., Nagaraja, K.V. and Halvorson, D.A.: Effect of time and temperature on growth of *Salmonella enteritidis* in experimentally inoculated eggs. *Av. Dis.*, 33: 735-742 (1989).
- 27) Land, C.E.: Estimating cancer risks from low doses of ionizing radiation. *Science* 209:1197-1203.
- 28) Lin, M.Y., Wu, H.S., Huang, T.T. and Huang, K.J.: Comparasion the bactericidal and fungicidal activities of disinfectans against the pathogens isolated from poultry. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.* 17: 27 - 35 (1991).
- 29) López, V.H. y Hernández, M.V.: Instalaciones con aceleradores de electrones. Memorias del Curso regional de capacitación sobre la explotación segura de instalaciones para irradiacion industrial. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleres. Centro Nuclear de México., Salazar Edo. de Mex, 1-34. Salazar Edo. de Mex., México (1991).
- 30) Luginbuke, R.C. and Sholotzhaver, S.D.: SAS/STAT Guide for Personal Computers. 6th ed. SAS Institute. Carry N.C., 1987.
- 31) Luna, C.P.: Conservación de productos avícolas por irradiación. *Nuestro Acontecer Avícola. I*:34-41 (1993).
- 32) Mayren, S.R.: Efecto de tres desinfectantes sobre la integridad de la cutícula de huevos incubables de gallinas de raza Leghorn. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1991.

- 33) Medina, J.S.: Programa de producción de huevo incubable de alta calidad en reproductoras pesadas. Memorias del I Curso de Manejo para la Prevención de Problemas Aviares. FMVZ-UNAM, México, D.F. 49-68. México, D.F (1989).
- 34) Mejía, A., Morishita, T.Y. and Lam K.M.: The effects of seven chicken hatchery disinfectants on a *Staphylococcus aureus* strain. *Prev. Vet. Med.* 18: 193-201 (1994).
- 35) Nagaraja, K.V., Pomeroy, B.S. and Williams, J.E.: Paratyphoid infections. In: Diseases of Poultry. 9th. ed. Edited by Calnek. B.W. 99-103 *State University Press, Ames Iowa*. 1991.
- 36) Nilipour, A.: Manejo óptimo del huevo fértil. *Industria Avícola* 30-32 (1994).
- 37) North, M.O.: Manual de Producción Avícola. Capítulo 7 Conservación de la calidad del huevo en la caseta de postura 81-95 y Capítulo 9 Operación de la planta incubadora 129-152, 3a. ed *El Manual Moderno*, México, D.F. 1993.
- 38) Organización Mundial de la Salud. La comestibilidad de los alimentos irradiados. Informe de un Comité Mixto FAO/OIEA/OMS de expertos. Serie de informes técnicos No. 659, Ginebra, 1981.
- 39) Padrón, N.M.: *Salmonella thyphimurium* penetration through the egg shell of hatching egg..., *Av. Dis.* 3-4: 463-465 (1990).
- 40) Padrón, N.M.: Calidad microbiológica del huevo incubable. *Av. Prof.* 9: 173-178 (1992).
- 41) Partanen, T.: Formaldehyde exposure and respiratory cancer: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Scand. J. Environ. Health.* 19: 8-15 (1993).

- 42) Pérez, M.J.A., Suárez, G.F., Flores, C.R.: *Bacteriología General: Principios Químicos Biológicos*. 349-351, *FMVZ-UNAM*. México, D.F. 1990.
- 43) Quintana, J.A.: *Avitecnia. Capítulo 11 "Reproducción"* 188-213. 2a ed. Ed. *Trillas*, México, D.F. 1991 .
- 44) Rosales, N.Z.: Penetración de *Salmonella enteritidis* en huevos fértiles e infértiles a diferentes estadios de incubación. Trabajo final del IV seminario de Titulación en el área de: Aves Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1993.
- 45) Rubio, T.: Aplicaciones de la irradiación de alimentos. Seminario Nacional de la Irradiación de Alimentos. México, D.F. 1990. 50 - 57. ININ, OMS, OPS y SSA. México, D.F., (1991).
- 46) Sacco, R. E., Renner, P. A., Nestor, K. E., Saif, Y. M. and Dearth, R. N.: Effect of hatching egg sanitizers on embryonic survival and hatchability of turkey eggs from different lines and on egg shell bacterial populations. *Poult. Sci.* 68: 1179-1184 (1989).
- 47) Scott, T.A. and Swetnam, C.: Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. I. Environmental and user friendliness. *J. Appl. Poult. Res.* 2: 1 - 6 (1993).
- 48) Shane, S.M.: Los avicultores de Latinoamérica enfrentan el reto de nuevas enfermedades. *Tec. Avip.* 6: 7-11(1993).
- 49) 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. *Poult. Sci.* , 45: 1153-1162 (1966).

- 50) Sivinsky, J.S.: Transferencia de la industria de la tecnología del tratamiento de los alimentos por irradiación. International Atomic Energy Agency (IAEA). Viena, 1985.
- 51) Sotelo, S.H.: Contaminación bacteriana del huevo incubable. *Tec. Avip.* 6: 31 (1990).
- 52) Sparks, N.H.C. and Burgess, A. D.: Effect of spray sanitising on hatching egg cuticle efficacy and hatchability. *Brit. Poul. Sci.* 34: 655 - 662 (1993).
- 53) Swenberg, J.A., Kerns, W.D., Mitchell, R.I., Gralla, E.J. and Pavkov, K.L.: Induction of squamous cell carcinomas of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapor. *Cancer Res.* 40: 3398-3402 (1980).
- 54) Trejo, R.M.: Efecto de la irradiación gamma sobre huevos comerciales de gallinas tipo Leghorn inoculados con *Salmonella enteritidis*. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1993.
- 55) Tullett, S.G.: Science and the art of incubation. *Poult. Sci* 69: 1 - 15 (1990)
- 56) Whistler, P.E. and Sheldon, B.W.: Bactericidal activity, egg shell conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection. *Poult. Sci.* 68: 1074-1077 (1989).
- 57) Williams J.E.: Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial populations on the surface of chicken hatching eggs. *Av. Dis.* 14: 386 - 392 (1970).
- 58) Williams, J.E.; Dillard, L.H.: Penetration of chicken egg shell by members of the Arizona group. *Av. Dis.*, 12: 645-649 (1968).
- 59) Williams, J.E.; Dillard, L.H.: Salmonella penetration of fertile and infertile chicken eggs at progressive stages of incubation. *Av. Dis.*, 12: 629-635 (1968).

- 60) Williams, J.E.; Dillard, L.H. and Hall, G.O.: The penetration patterns of *Salmonella typhimurium* through the outer structure of chicken egg. *Av. Dis.*, 12: 445-466 (1968).
- 61) Williams, J.E. and Whittemore, A.S.D.: A method for studying microbial penetration through the outer structures of the avian egg. *Av. Dis.*, 11: 467-490 (1967).
- 62) Zacaria, A.H.: Effect of low doses of gamma irradiation before incubation on hatchability and body weight of broiler chickens hatched under commercial conditions. *Poult. Sci.* 68: 1150-1152 (1989).

CUADRO 1. PROMEDIO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA/ml DE *Salmonella enteritidis* RECUPERADAS MEDIANTE LA TÉCNICA DE GENTRY EN HUEVO DESPUÉS DE LA DESINFECCIÓN. *

GRUPO TRATAMIENTO	MÉTODO DE DESINFECCIÓN		MEDIA ± DS* (UFC LOG 10)
1	IRRADIACIÓN	0.5 kGy	4.257 ^a ± 0.0900
2	IRRADIACIÓN	1 kGy	3.111 ^b ± 0.0682
3	IRRADIACIÓN	2 kGy	0 ^a
4	IRRADIACIÓN	3 kGy	0 ^a
5	FUMIGACIÓN	3X	2.028 ^c ± 0.3811
6	ASPERSIÓN	CUATERNARIOS DE AMONIO	0.887 ^d ± 0.3003
7	ASPERSIÓN	DERIVADOS DE CITRICOS	3.389 ^e ± 0.3504
8	TESTIGO (+)	INOCULADO NO TRATADO	4.522 ^a ± 0.0762
9	TESTIGO (-)	NO INOCULADO, NO TRATADO	0 ^a

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

* Desviación Estándar

* Los huevos fueron inoculados con 10⁹ UFC/ml en el área marcada del cascarón fuera de la cámara de aire posteriormente fueron desinfectados con el método correspondiente, 24 hrs. después se realizó el muestreo del cascarón utilizando la Técnica de Gentry.

CUADRO 2. RECUPERACIÓN DE *Salmonella enteritidis* EN LAS ESTRUCTURAS INTERNAS DE HUEVO MEDIANTE LA TÉCNICA DE WILLIAMS POSTERIOR A LA DESINFECCIÓN.

GRUPO DE TRATAMIENTO	VALORES EXPRESADOS POSITIVOS / TOTALES (%)		
	ÁREA I a	ÁREA II b	ÁREA III c
IRRADIACIÓN 0.5 kGy	9 / 30 (30 %)	7 / 30 (23.33 %)	10 / 30 (33.33 %)
IRRADIACIÓN 1 kGy	7 / 30 (23.33 %)	6 / 30 (20 %)	8 / 30 ** (26.66 %)
IRRADIACIÓN 2 kGy	0 / 30 ** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)
IRRADIACIÓN 3 kGy	0 / 30 ** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)
FUMIGACIÓN	6 / 30 (20 %)	10 / 30 (33.33 %)	13 / 30 (43.33 %)
ASPERSIÓN CUATERNARIOS DE AMONIO	0 / 30 ** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)	0 / 30 ** (0 %)
ASPERSIÓN DERIVADOS DE CITRICOS	0 / 30 ** (0 %)	3 / 30 ** (10 %)	4 / 30 ** (13.33 %)
TESTIGO (+) d	6 / 30 (20 %)	10 / 30 (33.33 %)	17 / 30 (56.66 %)
TESTIGO (-) e	0 / 30 ** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)	0 / 30 *** (0 %)

a Muestreo de la cara interna de la membrana interna

b Muestreo de la cara interna de la membrana externa

c Muestreo del espacio entre la membrana externa e interna

** Diferencia estadísticamente significativa (P < 0.05)

*** Diferencia estadística altamente significativa (P < 0.001)

d Huevo inoculado, no tratado

e Huevo no inoculado, no tratado

CUADRO 3. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE *Salmonella enteritidis* EN LAS ÁREAS DE MUESTREO POSTERIOR A LA DESINFECCIÓN.

GRUPO DE TRATAMIENTO	VALORES EXPRESADOS EN PORCENTAJE (%)		
	ÁREA I a	ÁREA II b	ÁREA III c
IRRADIACIÓN 0.5 kGy	0	30	41.17
IRRADIACIÓN 1 kGy	0	39.99	52.94
IRRADIACIÓN 2 kGy	100	100	100
IRRADIACIÓN 3 kGy	100	100	100
FUMIGACIÓN	0	0	23.52
ASPERSIÓN C. A. d	100	100	100
ASPERSIÓN D. C. e	100	69.99	76.47
TESTIGO (+) f	0	0	0
TESTIGO (-) g	100	100	100

- a** Muestreo de la cara interna de la membrana interna
- b** Muestreo de la cara interna de la membrana externa
- c** Muestreo del espacio entre la membrana externa e interna
- d** Cuaternarios de Amonio
- e** Derivados de Cítricos
- f** Huevo inoculado, no tratado
- g** Huevo no inoculado, no tratado

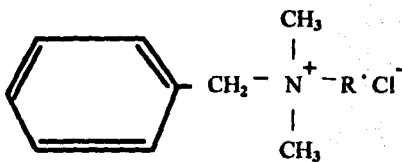


Figura 1. Estructura química del Cloruro de Benzalconio

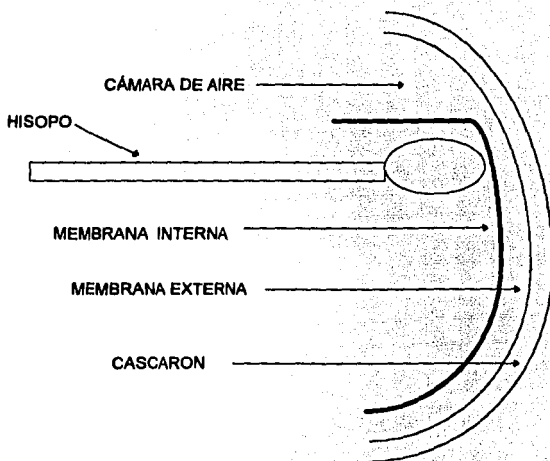


Figura 2. Área I: Muestreo de la cara interna de la membrana interna

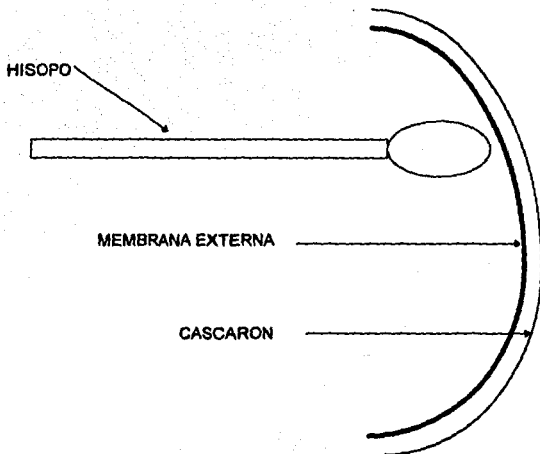


Figura 3. Área II. Muestreo de la cara interna de la membrana externa

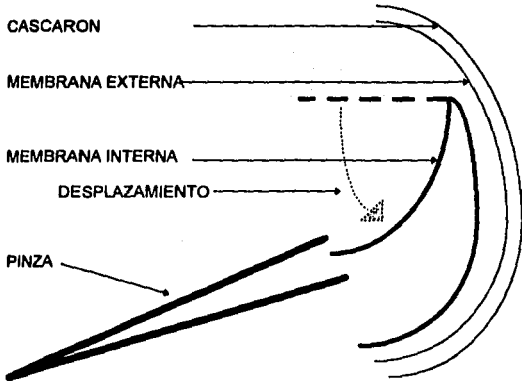


Figura 4. Área III. Muestreo del espacio entre la membrana externa e interna.

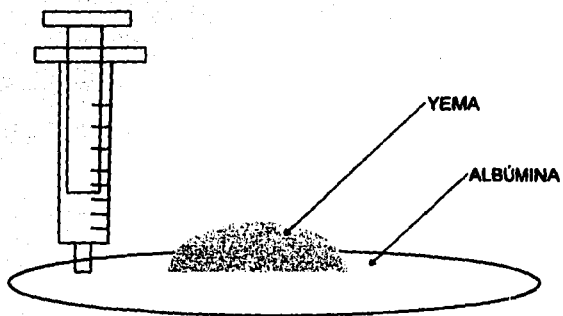
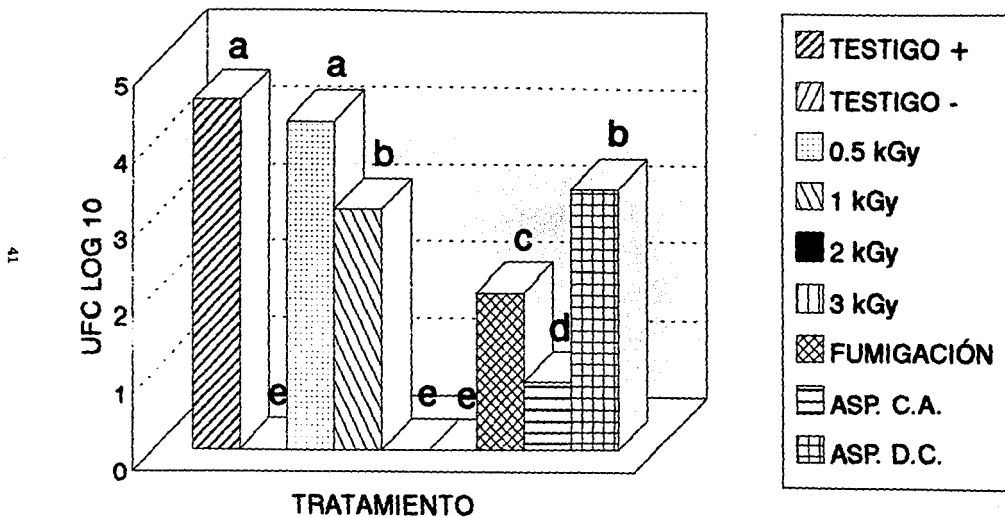


Figura 5. Área IV. Muestreo de la albúmina del huevo

FIGURA 6. PROMEDIO DE LAS UFC*/mi DE *Salmonella enteritidis* OBTENIDAS MEDIANTE TÉCNICA DE GENTRY EN HUEVO DESINFECTADO

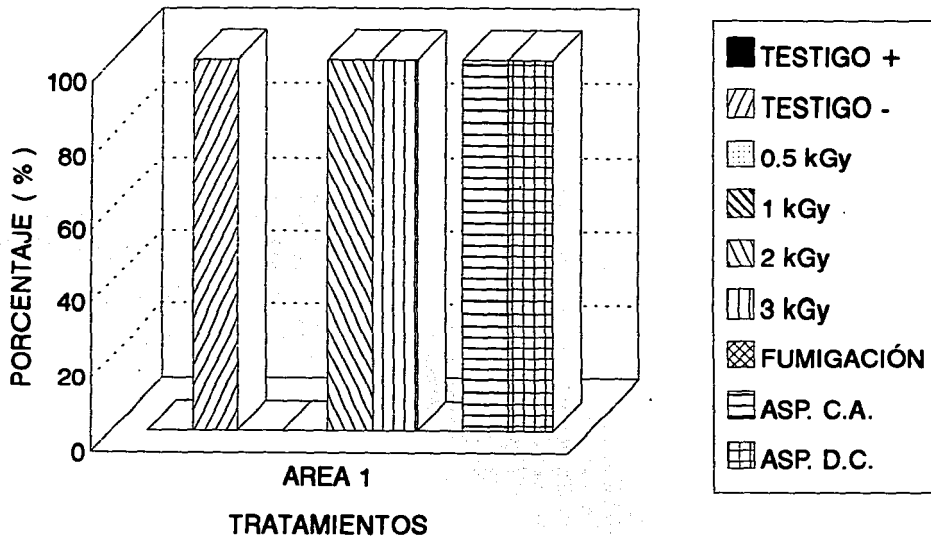


* Unidades Formadoras de Colonia

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

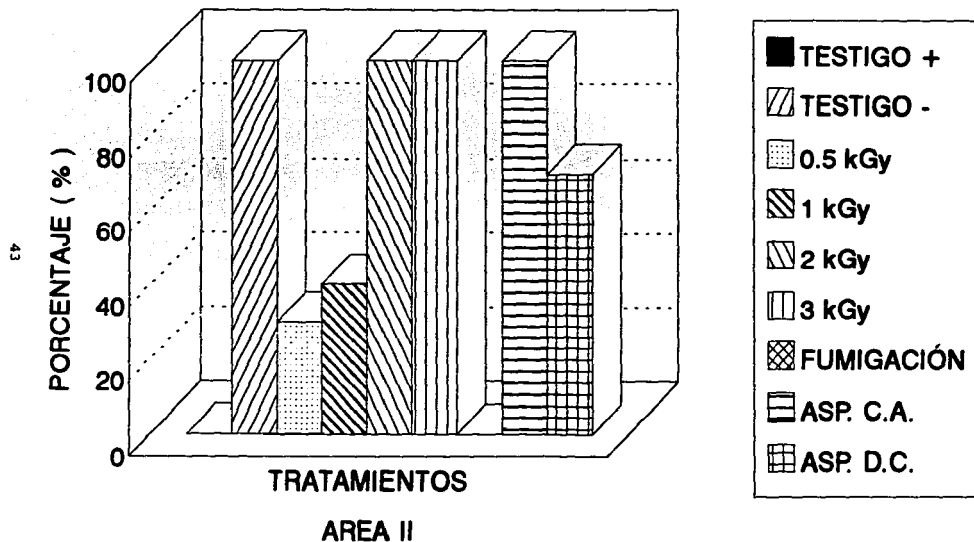
**FIGURA 7. REDUCCIÓN DE *S. enteritidis* EN ÁREA I*
 MEDIANTE LA TÉCNICA DE WILLIAMS EN HUEVO DESINFECTADO**

42



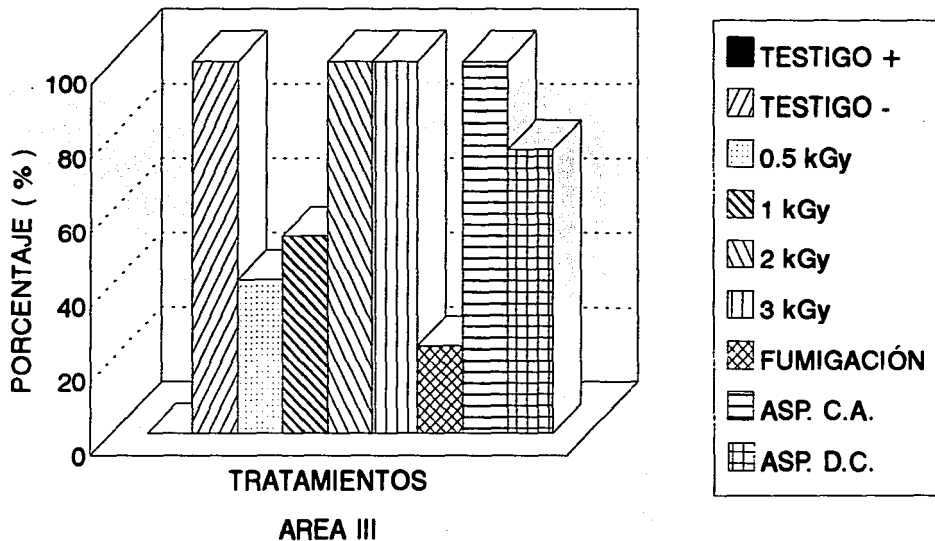
*Muestreo de la cara interna de la membrana interna

**FIGURA 8. REDUCCIÓN DE *S. enteritidis* EN ÁREA II*
MEDIANTE LA TÉCNICA DE WILLIAMS EN HUEVO DESINFECTADO**



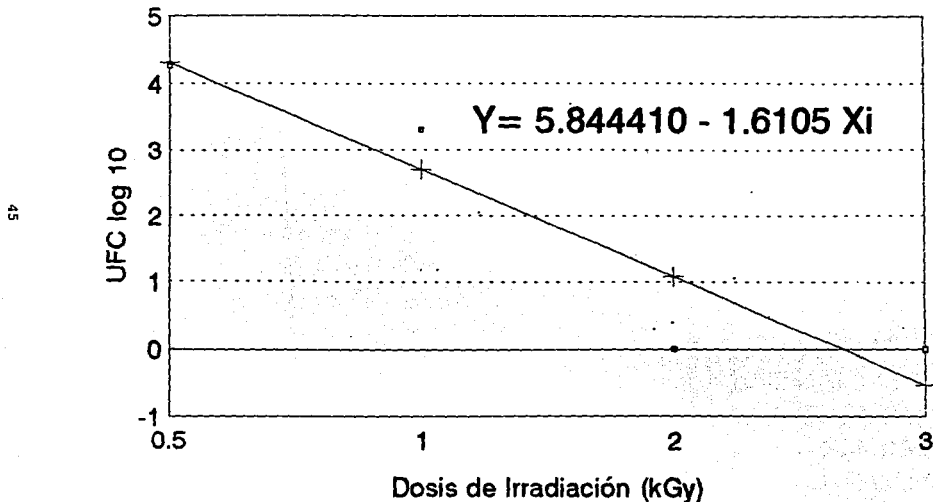
* Muestreo de la cara interna de la membrana externa

**FIGURA 9. REDUCCIÓN DE *S. enteritidis* EN ÁREA III*
MEDIANTE LA TÉCNICA DE WILLIAMS EN HUEVO DESINFECTADO**



* Muestreo del espacio entre la membrana interna y la externa

FIGURA 10. CORRELACIÓN ENTRE UFC/ml DE *S. enteritidis* Y DOSIS DE IRRADIACIÓN



$r = -0.927$

$P < 0.0001$