



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**

**TESIS:**

**EVALUACIÓN DE LA SOLUCIÓN ELECTROLIZADA  
DE SUPEROXIDACIÓN CON pH NEUTRO EN LA  
ELIMINACIÓN DE *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Le  
Minor and Popoff serovar Typhimurium (ATCC 14028) Y  
*Escherichia coli* Castellani and Chalmers (ATCC 11229) EN  
HUEVOS PARA PLATO Y HUEVOS EMBRIONADOS**

**QUE PRESENTA:**

**JOCELYN MEDINA GUDIÑO**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TUTORES:**

**DR. JOSÉ ALBERTO CANO BUENDÍA**

**DR. DAVID PAEZ ESQUILIANO**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX**

**2017**



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

**EVALUACIÓN DE LA SOLUCIÓN ELECTROLIZADA DE  
SUPEROXIDACIÓN CON pH NEUTRO EN LA ELIMINACIÓN DE  
*Salmonella enterica* subsp. *enterica* Le Minor and Popoff serovar  
Typhimurium (ATCC 14028) Y *Escherichia coli* Castellani and Chalmers  
(ATCC 11229) EN HUEVOS PARA PLATO Y HUEVOS  
EMBRIONADOS**

## Dedicatorias

A mis padres, por siempre estar a mi lado, por guiarme, por siempre creer en mí, por enseñarme que todo es posible, por darme la vida.

A mis abuelos, por todo su amor y por enseñarme que la familia es lo más importante.

Adolfo, gracias por ser mi inspiración, mi mejor amigo, por recorrer este camino siempre juntos. Te amo.

A mis tíos por ser una parte fundamental a lo largo de toda mi vida y siempre hacerme sentir amada.

A la familia Pardo Tovar por recibirme como un miembro más de su hermosa familia.

A la MVZ Laura Patricia Noé Martínez por guiarme hacía este camino y por ser para mí un modelo a seguir.

A la MVZ Fabiola Arroyo González por estar ahí para mí cuando necesitaba algún consejo tanto profesional como personal.

A el MVZ Francisco Basurto Alcántara por ser parte de mi formación académica y por su amistad.

A Isa, Yaya, Quique, Vic, Ninna, Chiva, Andrés, Lily, Pato, Nao y Lázaro por el apoyo, las risas y los consejos a lo largo de este proyecto. Con ustedes todo fue más fácil.

A Diana y Xareni por estar a mi lado a lo largo de esta etapa de mi vida, las quiero mucho.

Para ustedes, Billy, Pucca, Yuna, Eru, Luna, Soma, Lucky, Momo, Nicky, Shiva, Rayitas y Azul.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por CONACYT, Número del Proyecto: 221000.

A los miembros del honorable jurado:

Presidente: MVZ. Cecilia Rosario Cortes

Vocal: MVZ. Xochitl Hernández Velasco

Secretario: MVZ. Verónica Rojas Trejo.

Suplente: MVZ. José Alberto Cano Buendía

Suplente: MVZ. Lizbeth Yesenia Carrillo González.

Al Dr. José Alberto Cano por la confianza brindada, por esta experiencia que me ha ayudado a crecer tanto profesional como personalmente, por todos los consejos y regaños; gracias por todo.

Al Dr. David Paez Esquiliano por permitirme ser parte de este proyecto y por todo el apoyo brindado.

Al Departamento de Microbiología e Inmunología, por permitirme desarrollarme como profesionalista y al personal por siempre realizar un excelente trabajo.

A Raúl Hernández por su ayuda en la preparación de materiales para realizar mi experimento, pero sobre todo por tu amistad.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por recibirme entre sus aulas y ser parte fundamental de mi formación académica y brindarme la oportunidad de ser Médico Veterinario Zootecnista.

A Esteripharma por el material brindado.

## CONTENIDO

Resumen .....	1
1. Introducción .....	2
1.1 Industria avícola .....	2
1.1.1 Problemas de la industria avícola .....	4
1.2 <i>Salmonella</i> , generalidades .....	10
1.2.1 Clasificación .....	10
1.2.2 Patogenia.....	11
1.2.3 Diagnóstico de <i>Salmonella</i> .....	14
1.3 <i>Escherichia coli</i> , generalidades .....	14
1.3.1 Diagnóstico de <i>E. coli</i> .....	16
1.4 Desinfectantes.....	16
1.4.1 Solución electrolizada de superoxidación .....	17
2. Justificación .....	22
3. Hipótesis .....	23
4. Objetivo general .....	24
5. Objetivos específicos .....	25
6. Material y métodos .....	26
6.1 Obtención de cepas bacterianas .....	26
6.2 Evaluación fisicoquímica de la solución electrolizada de superoxidación .....	26
6.3 Ensayo <i>in vitro</i> .....	27
6.4 Obtención de huevos embrionados .....	27
6.5 Obtención de huevos para plato .....	28
6.6 Mantenimiento de los microorganismos .....	28
6.7 Crecimiento de los microorganismos .....	29
6.8 Titulación de los microorganismos .....	29
6.9 Preparación de las camas .....	29

6.10	Contaminación .....	30
6.11	Tratamiento .....	31
6.12	Integridad de la cutícula .....	31
6.13	Unidades Haugh .....	33
6.14	Análisis estadístico .....	34
7.	Resultados y discusión .....	35
7.1	Obtención de cepas bacterianas .....	35
7.2	Evaluación fisicoquímica de la solución electrolizada de superoxidación .....	36
7.3	Titulación de los microorganismos .....	36
7.4	Tratamientos .....	37
7.5	Evaluación de la SES con pH neutro en la eliminación <i>in vitro</i> de <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> .....	39
7.5.1	Evaluación de la SES con pH neutro en la eliminación de <i>E. coli</i> .....	42
7.5.2	Evaluación de la SES con pH neutro en la eliminación de <i>Salmonella</i> .....	47
7.5.3	Evaluación de la SES con pH neutro en la integridad de la cutícula.....	51
7.5.4	Sobrevida de los embriones.....	55
7.5.5	Unidades Haugh .....	57
8.	Conclusiones.....	62
9.	Referencias.....	64
	Anexos.....	75
	Anexo 1 .....	76
	Anexo 2.....	80
	Anexo 3.....	82
	Anexo 4.....	85

## ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

<b>Figura</b>	<b>Nombre</b>	<b>Página</b>
1	Participación porcentual en la producción pecuaria nacional en 2015 ...	2
2	Consumo <i>per capita</i> de huevo en México .....	3
3	Principales países productores de huevo entero .....	4
4	Estructura microscópica del cascarón del huevo .....	5
5	<i>Salmonella</i> observada en microscopio electrónico .....	10
6	<i>E. coli</i> observada en microscopio electrónico .....	14
7	Síntesis del agua electrolizada .....	18
8	Distribución de los huevos embrionados .....	30
9	Distribución de los huevos para plato .....	32
10	Títulos bacterianos obtenidos en agar TSA y agar <i>Salmonella-Shigella</i>	38
11	Títulos de <i>E. coli</i> en el ensayo <i>in vitro</i> posterior al tratamiento con SSF, AC o SES .....	39
12	Porcentajes de reducción en el título de <i>E. coli</i> en el ensayo <i>in vitro</i> posterior al tratamiento con SSF, AC o SES .....	40
13	Títulos de <i>Salmonella</i> en el ensayo <i>in vitro</i> posterior al tratamiento con SSF, AC o SES .....	40
14	Porcentajes de reducción en el título de <i>Salmonella</i> en el ensayo <i>in vitro</i> posterior al tratamiento con SSF, AC o SES .....	41
15	Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con <i>E. coli</i> tratados con SSF, AC o SES (réplica A) .....	42
16	Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con <i>E. coli</i> tratados con SSF, AC o SES (réplica B) .....	43
17	Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con <i>E. coli</i> tratados con SSF, AC o SES (réplica C) .....	43
18	Porcentajes de reducción en el título de <i>E. coli</i> posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica A) .....	45
19	Porcentajes de reducción en el título de <i>E. coli</i> posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica B) .....	46

20	Porcentajes de reducción en el título de <i>E. coli</i> posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica C) .....	46
21	Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con <i>Salmonella</i> tratados con SSF, AC o SES (réplica A)	47
22	Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con <i>Salmonella</i> tratados con SSF, AC o SES (réplica B)	48
23	Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con <i>Salmonella</i> tratados con SSF, AC o SES (réplica C)	48
24	Porcentajes de reducción en el título de <i>Salmonella</i> posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica A) .....	49
25	Porcentajes de reducción en el título de <i>Salmonella</i> posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica B) .....	49
26	Porcentajes de reducción en el título de <i>Salmonella</i> posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica C) .....	50
27	Delta E de huevos para plato contaminados con <i>E. coli</i> tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica A) .....	52
28	Delta E de huevos para plato contaminados con <i>E. coli</i> tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica B) .....	52
29	Delta E de huevos para plato contaminados con <i>Salmonella</i> tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica A) .....	53
30	Delta E de huevos para plato contaminados con <i>Salmonella</i> tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica B) .....	53
31	Sobrevida de embriones contaminados con <i>E. coli</i> , tratados con SSF, AC o SES .....	56
32	Sobrevida de embriones contaminados con <i>Salmonella</i> , tratados con SSF, AC o SES .....	57
33	Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con <i>E. coli</i> y tratados con SSF, AC o SES (réplica A) .....	58
34	Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con <i>E. coli</i> y tratados con SSF, AC o SES (réplica B) .....	58

35	Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con <i>Salmonella</i> y tratados con SSF, AC o SES (réplica A) .....	59
36	Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con <i>E. coli</i> y tratados con SSF, AC o SES (réplica B) .....	59
37	Clasificación de la frescura del huevo de acuerdo con las Unidades Haugh .....	61

<b>Cuadro</b>	<b>Nombre</b>	<b>Página</b>
1	Sobrevida de embriones contaminados con <i>E. coli</i> , tratados con SSF, AC o SES .....	55
2	Sobrevida de embriones contaminados con <i>Salmonella</i> , tratados con SSF, AC o SES .....	56

## RESUMEN

La industria avícola es una de las más importantes debido a la vasta producción de huevo que genera. El aumento en la prevalencia de enfermedades transmitidas por alimentos la ha llevado a mejorar las medidas sanitarias en la producción. Microorganismos como *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* son contaminantes que ocasionan enfermedades en los consumidores. Como medida para contrarrestar la diseminación de estos patógenos se han utilizado desinfectantes como el ácido cítrico, que afecta las unidades Haugh. Debido a esto se ha buscado nuevas alternativas de desinfección.

En este trabajo se evaluó el efecto bactericida de la solución electrolizada de superoxidación (SES) con pH neutro (Esteripharma México S.A. de C.V.) sobre la superficie de huevos embrionados y para plato comparando su eficacia con respecto al ácido cítrico. Para esto, se contaminaron 100 huevos embrionados añadiendo *Salmonella enterica* o *Escherichia coli*, y se trataron con ácido cítrico al 2% o solución salina fisiológica o SES de pH neutro. Se determinó el título de bacterias en cada huevo embrionado después de cada tratamiento y adicionalmente se evaluó la integridad de la cutícula en huevos para plato mediante espectrofotometría, así como las Unidades Haugh.

La evaluación estadística demostró diferencias significativas en el grupo tratado con SES, que evidencian una reducción bacteriana, así como una menor variación en los parámetros de calidad y ausencia de daño en la cutícula. Estos resultados sugieren que la SES con pH neutro puede ser una alternativa eficaz en la producción de huevo.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Industria Avícola

Dentro de la industria pecuaria, la industria avícola es una de las más importantes debido a la vasta producción que ésta genera. La avicultura participa con el 63% de la producción pecuaria nacional (véase figura 1). Tan solo en 2015 generó 1 221 000 empleos (UNA 2015). Su principal componente lo conforma la producción de carne con un 34.7%, mientras que el huevo participa con el 28.8% (UNA 2016).

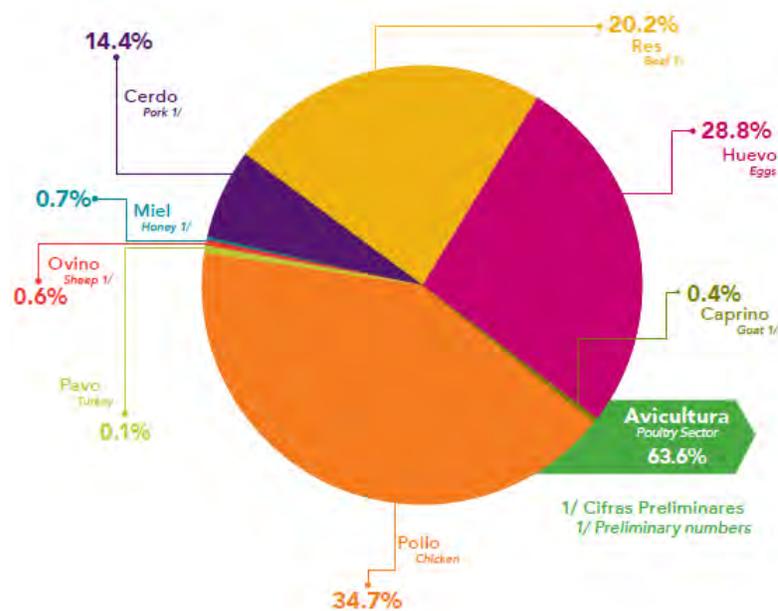


Figura 1. Participación porcentual en la producción pecuaria nacional en 2015. UNA 2016.

En 2015 se produjeron 73.8 millones de toneladas de huevo a nivel mundial de las cuales el 83% corresponde a huevo entero, el 14% a huevo líquido y el 3% a huevo deshidratado (UNA 2015). A nivel mundial México ocupa el sexto lugar con una producción de 2

millones de toneladas de huevo (cerca de 192 mil millones de pesos), superando incluso el valor de la producción de cerdos y bovinos (SAGARPA 2015).

El consumo *per capita* de huevo en 2015 fue de 320, 250, 300 y 200 kg en Asia, Europa, América Central y América del Norte, respectivamente (UNA 2015), mientras que México se considera como el principal país consumidor de huevo a nivel mundial (SAGARPA 2015) con un consumo *per capita* de 22 kg en 2014 (UNA 2015) (véase figura 2).

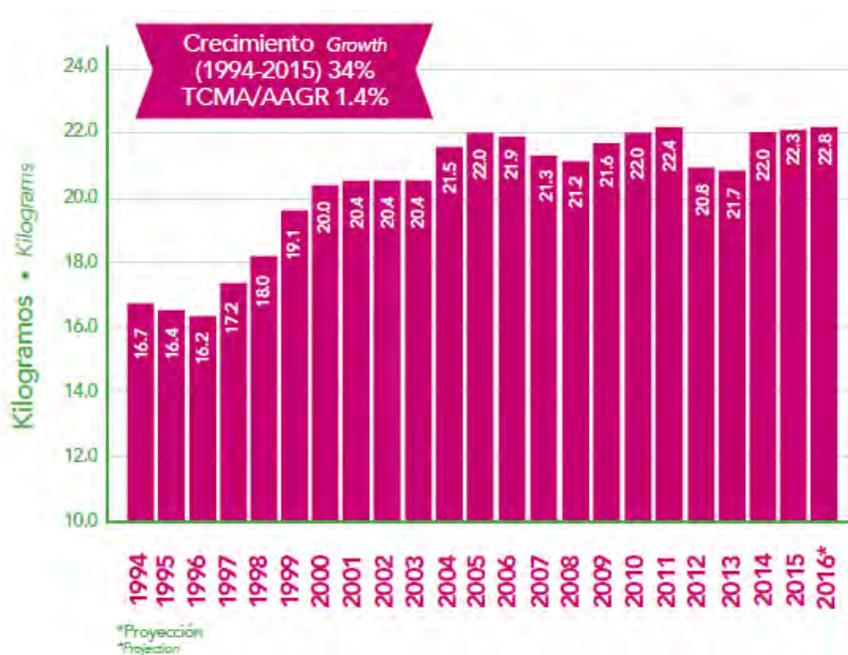


Figura 2. Consumo *per capita* de huevo en México. UNA 2016.

A continuación, se muestran los principales países productores de huevo, los cuales representaron cerca del 64% de la producción mundial en el 2015 (FAO 2015) (véase figura 3).

En el 2013 la parvada nacional se estimó en 472.4 millones de aves de las cuales el 0.3% correspondió a reproductoras ligeras con 1.7 millones; el 3.0%, a reproductoras pesadas con 14.4 millones; y el 40.7%, a ponedoras con 192.4 millones (UNA 2014).

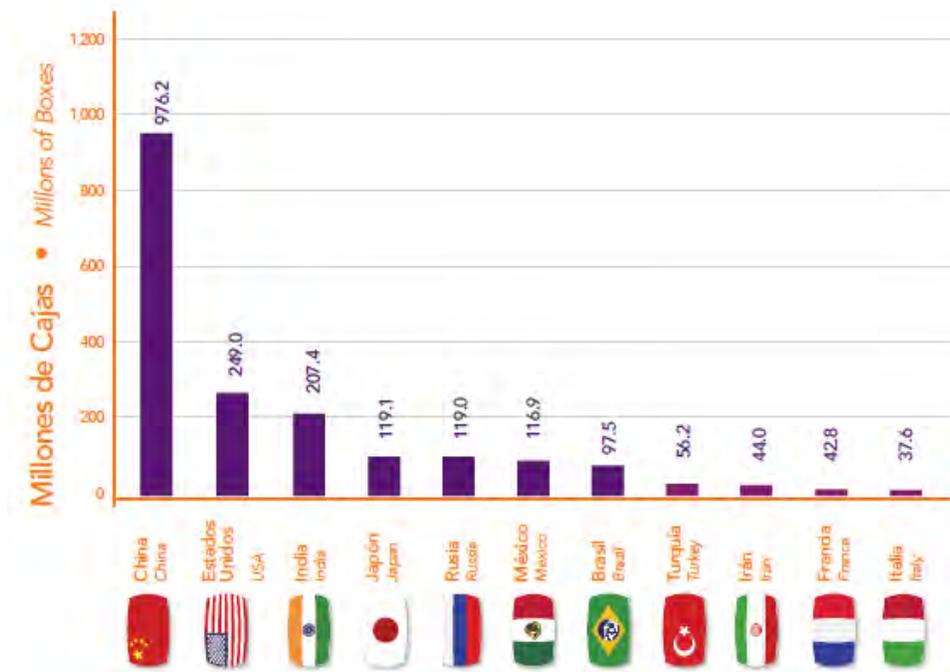


Figura 3. Principales países productores de huevo entero. UNA 2016

### 1.1.1 Problemas en la industria avícola

La vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos como *Salmonella* y *E. coli* es complicada debido a que éstas no son detectadas con frecuencia en las consultas de rutina ni son reportadas de manera adecuada por las instituciones oficiales; por lo que los casos de enfermedad pueden ser superiores a los reportados, generando así que este problema de salud pública llegue a más personas de las identificadas, creando un grave problema a nivel económico tanto en países desarrollados como en aquellos con economías emergentes, ya que una población enferma no genera capital y por el contrario se debe destinar dinero a los servicios médicos (Mead 1999). Solamente en Estados Unidos se destinaron 398 millones de dólares para la salud pública por eventos relacionados con estos patógenos (Pouilliot 2014).

Se ha informado que los principales alimentos que sirven como vehículo para la transmisión de patógenos en Europa y Australia son el huevo y sus derivados (Ray 2015). La contaminación puede ocurrir de dos formas: verticalmente (transováricamente) durante la formación del huevo, ya sea en el ovario o en el oviducto, o bien horizontalmente mientras el huevo es expulsado y se encuentra en contacto con la bacteria contenida en las heces, y es capaz de atravesar el cascarón (Ray 2015) debido a que la presencia de materia orgánica favorece la proliferación de la bacteria en esta zona (Raspoet 2011).

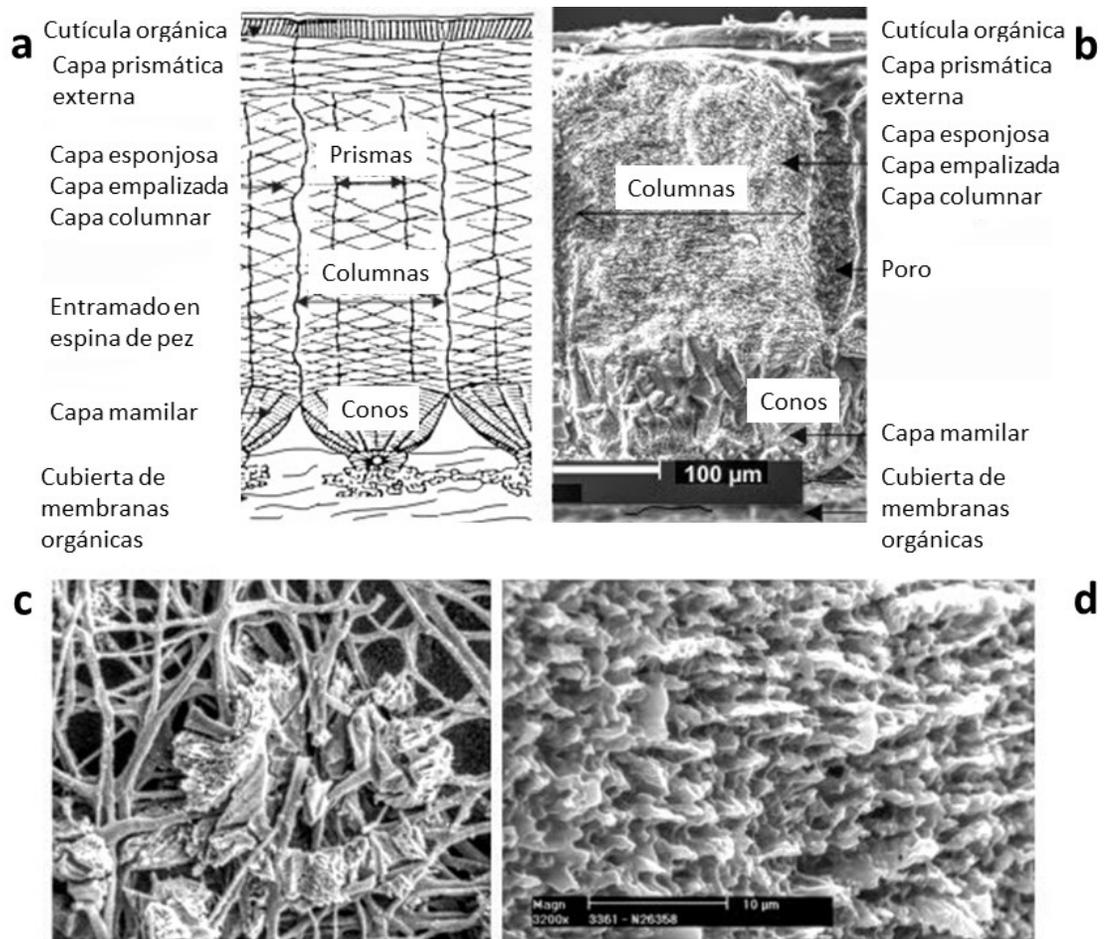


Figura 4. Estructura microscópica del cascarón de huevo. Deeming 2004.

El huevo posee varios mecanismos de defensa contra estos patógenos, uno de ellos es el cascarón que le sirve como una barrera física que presenta unos pequeños poros que permiten el intercambio gaseoso y de agua para el desarrollo del embrión; sin embargo, estos poros también permiten la entrada de diversos microorganismos y la contaminación del contenido del huevo, en consecuencia. Otro mecanismo de defensa es la cutícula, la cual es una capa orgánica muy delgada (12 micras) que cubre la superficie del huevo y limita el movimiento de partículas, agua y bacterias a través del cascarón. Se encuentra principalmente compuesta en un 90% por proteínas y en 10% por polisacáridos y lípidos. Muchas de las proteínas de la cutícula (lisozima, ovotransferrina, ovocalixina y ovocleidina) y algunos lípidos tienen una actividad antimicrobiana. Los huevos que carecen de cutícula o en los cuales ésta se encuentra dañada, son más susceptibles a infecciones (Muñoz 2015) (véase figura 4).

Dentro de los diferentes serotipos de *Salmonella* que pueden afectar a los humanos y que han sido aislados en los Estados Unidos son: Typhimurium (19%), Enteritidis (14%), Newport (9%) y Javiana (5%) (Braden 2005). De los cuales Enteritidis y Typhimurium son los que presentan mayor prevalencia (FAO 2015). De los serotipos mencionados anteriormente, el que más afecta a las aves en los Estados Unidos de América es *Salmonella* serovar Enteritidis con un 64.5% (Raspoet 2011). La presencia de este microorganismo no se limita a países desarrollados. En México existen reportes de la presencia de *Salmonella* Enteritidis en alimentos como chiles rellenos en Puerto Vallarta y Jalisco (Shane 2002). Así como la presencia de *Salmonella* spp. en Tamaulipas en huevo fresco (Espinosa 2009). Debido a la gran importancia que representa este patógeno existen reportes acerca de las condiciones medio ambientales que favorecen el crecimiento de

*Salmonella* spp. en los cuales se relacionan una alta humedad y temperaturas de 20 °C a 25°C como las condiciones ideales para la prevalencia del microorganismo (Suresh 2006). Por ello la prevalencia de *Salmonella* aumenta en el periodo de lluvias y en el periodo posterior a éstas.

Otros reportes informan que cerca del 70% de los casos en infecciones en humanos en los Estados Unidos de América son atribuidos a *E. coli* O157, y más del 85% de los casos de enfermedad causadas por este patógeno ocurren por consumir alimentos contaminados (Martin 2011). En otros reportes se informa la presencia de *E. coli* O157 en la industria avícola por contaminación cruzada con los trabajadores (Munther 2014).

En México no se cuenta con estadísticas nacionales de infecciones por *Salmonella*. Con frecuencia, el médico hace un diagnóstico basándose en el cuadro clínico del paciente, pero sin contar con los estudios microbiológicos necesarios para establecer un diagnóstico certero. La falta de un sistema de vigilancia con comunicación entre epidemiólogos, clínicos, y el sector veterinario, así como la falta de infraestructura necesaria, impide que países como el nuestro pueda identificar las principales serovariedades de *Salmonella* en las diferentes clases de alimentos, así como el riesgo que cada una de estas representa para la salud de los seres humanos. Esta información es indispensable para establecer las intervenciones necesarias para disminuir la morbilidad y mortalidad por las infecciones causadas por *Salmonella*, por esto Zaidi y colaboradores colectaron, entre 2003 y 2005, 2,893 muestras fecales de pacientes con diarrea, 5334 muestras de carne de pollo, puerco y res, y 1,882 muestras de intestinos de pollo, cerdo y bovino en rastros. Se aisló *Salmonella* no tifoidea en 12.8% de los pacientes con diarrea. Las dos serovariedades más frecuentes en estos últimos fueron Typhimurium (22.2%) y Enteritidis (14.5%). La primera se encontró

en los tres tipos de animales y sus carnes crudas, siendo el cerdo el reservorio principal (10.2% de todas las serovariedades aisladas en este animal), seguido por bovino (6.8%) y pollo (4.6%) (Mussaret B. Zaidi, *et al.* 2006).

Para limitar el problema que estos patógenos ocasionan en la salud pública, los países han tenido que adoptar diversas medidas para controlar la exposición a dichos microorganismos. A continuación, se enlistan las Normas Oficiales Mexicanas que rigen la vigilancia para la producción y distribución del huevo, así como de la distribución de alimentos en general:

- NOM-159-SSA1-1996. Estipula los títulos máximos permisibles en unidades formadoras de colonia (UFC) para *Salmonella* spp. y coliformes, que para el huevo fresco y en refrigeración son: 1) ausencia total de *Salmonella* spp. en 25 gramos y 2) 50 UFC por gramo de coliformes totales.
- NOM-114-SSA1-1994. Establece la metodología para la determinación de *Salmonella* spp. que debe realizarse previo a la distribución e importación de alimentos.
- NOM-113-SSA1-1994. Establece la metodología para la determinación de coliformes que debe realizarse previo a la distribución y exportación de productos alimenticios.

Otro de los problemas a los que se enfrenta la industria avícola es la contaminación con microorganismos dentro de las incubadoras. En el momento de la postura el huevo se encuentra a temperatura corporal y la exposición al ambiente lo enfría. Debido a esto, la masa interna disminuye su volumen y forma la cámara de aire, produciéndose un vacío, que hace penetrar aire desde el exterior hacia el interior del huevo (por diferencia de presión), esto favorece la entrada de bacterias a través de los poros del cascarón. Las bacterias involucradas en la contaminación de los huevos son muy variadas y entre las más comunes se encuentran *Pseudomona* spp., *Salmonella* spp. y *E. coli* (Plano 2014).

La contaminación bacteriana causada por cascarones rotos, mala higiene en los ponederos, desinfección inadecuada de huevos o condensación debida a una repentina variación en la temperatura durante el almacenamiento, es una causa común de mortalidad embrionaria durante los primeros días de incubación (Tullett 2010).

Una mala calidad del cascarón es la causa más común de roturas y fisuras, que también predispone a un aumento de la contaminación microbiana, por lo cual para disminuir el riesgo de penetración bacteriana se debe tratar de conservar un cascarón grueso con una gravedad específica mayor a 1.080 acompañada de una estrategia adecuada en la conservación de las propiedades de la cutícula; el tiempo que tarda en ser recolectado el huevo, es otra causa en el incremento de la contaminación bacteriana y fúngica, debe vigilarse la limpieza y desinfección de los nidos, los huevos deben desinfectarse adecuadamente, sin embargo, con óptimas medidas de manejo esto se puede evitar y conservar así la cutícula, actualmente esta práctica es de amplio uso, es recomendable que nunca se incuben los huevos puestos en piso, deben limpiarse y lavarse todas las superficies que tengan o vayan a tener contacto con el huevo a lo largo de todo el proceso previo a la incubación, durante el cual debe vigilarse en todo momento estrechamente la temperatura y humedad relativas con la finalidad de evitar condensaciones de agua sobre la superficie del huevo, lo que puede facilitar la contaminación del interior del mismo (Juárez 2014).

Con la finalidad de disminuir la exposición a estos patógenos, es necesario conocer acerca de ellos para poder desarrollar nuevas y mejores medidas de control que limiten el daño que ocasionan en la industria avícola.

## 1.2 *Salmonella*, generalidades

*Salmonella* es un bacilo, Gram negativo, no esporulado, anaerobio facultativo, que mide 0.3-1.5 mm de ancho y 1-2.5 mm de largo, (véase figura 5). Se encuentra generalmente solo, pero puede formar grupos de 2 o más bacilos (Gast 2013).



Figura 5. *Salmonella* observada en microscopio electrónico. Ohl 2001.

### 1.2.1 Clasificación

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud el género *Salmonella* se clasifica en dos especies *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* basadas en la diferencia de la secuencia del ARNr 16S.

La especie *S. enterica* se clasifica en 6 subespecies con base en su genoma y sus similitudes bioquímicas, dentro de las cuales se encuentran:

- I. *S. enterica* subsp. *enterica*
- II. *S. enterica* subsp. *salamae*

- III. *S. enterica* subsp. *arizonae*
- IV. *S. enterica* subsp. *diarizonae*
- V. *S. enterica* subsp. *houtenae*
- VI. *S. enterica* subsp. *indica*

De todas las subespecies, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* se encuentra en la mayoría de los mamíferos y es la causa del 99% de infecciones en humanos (Brenner *et al.* 2000).

*Salmonella* se clasifica con base en 3 antígenos: O (somático), K (capsular) y H (flagelar).

El antígeno O es un polisacárido termoestable localizado en la membrana externa de la bacteria (Hu y Kopecko 2003). El antígeno H es termolábil, se encuentra presente en el flagelo de la bacteria y está involucrado en la respuesta inmune. El antígeno K sirve para la detección serológica de aves portadoras de pulorosis por *Salmonella Pullorum* y tifoidea aviar por *Salmonella Gallinarum*.

### **1.2.2 Patogenia**

La severidad de las infecciones por *Salmonella* en humanos varía dependiendo del serotipo involucrado y del estado de salud del huésped. Los niños menores de 5 años, adultos mayores y pacientes inmunosuprimidos son más susceptibles a las infecciones por *Salmonella*. Casi todas las cepas de *Salmonella* son patógenas debido a su capacidad para invadir, replicarse y sobrevivir en las células del huésped, resultando en enfermedades potencialmente letales (Eng 2015).

### **Manifestaciones clínicas**

Con base en los patrones clínicos de salmonelosis en humanos, las cepas de *Salmonella* pueden agruparse en tifoideas y no tifoideas. Existen cuatro diferentes presentaciones de la

enfermedad: fiebre entérica, gastroentérica, bacteriemia y otras complicaciones extra intestinales, así como el estado de portador crónico (Sheorey, Darby 2008).

### **Bacteriemia y otras complicaciones extraintestinales**

Casi todos los serotipos de *Salmonella* causan bacteriemia (Woods 2008) También pueden causar complicaciones extraintestinales, siendo el pulmón el órgano más comprometido. Algunas complicaciones incluyen celulitis, infecciones en el tracto urinario, neumonía, endocarditis y meningitis (Arii 2002).

### **Gastroenteritis**

Las cepas de salmonelas no tifoideas se encuentran de manera predominante en reservorios animales. Las infecciones se caracterizan por la inflamación del tracto gastrointestinal acompañada por síntomas como mialgia, dolor abdominal, jaqueca y diarrea no sanguinolenta. La hepatomegalia y esplenomegalia se observan con menor frecuencia en pacientes infectados por salmonelas no tifoideas (Hohmann 2001). También tienen un período de incubación más corto (6-12 h) y los síntomas suelen ser autolimitantes con una duración de 10 días o menos (Crump *et al.* 2008). Las complicaciones gastrointestinales incluyen colecistitis, pancreatitis y apendicitis, mientras que la perforación del íleon terminal no ha sido asociada (Hohmann 2001). Los infantes, jóvenes, adultos mayores e individuos inmunocomprometidos son altamente susceptibles y desarrollan síntomas más severos (Scallan *et al.* 2011).

### **Resistencia a antibióticos**

El surgimiento de resistencia a antibióticos por parte de cepas de *Salmonella* es un grave problema de salud (Chiu 2002). En 1960 se presentó el primer caso de resistencia por parte de *Salmonella* para el fármaco cloranfenicol en humanos (Montville y Matthews 2008), durante años posteriores se ha encontrado resistencia en países como Estados Unidos, Reino Unido y Arabia Saudita para antibióticos como ampicilina y sulfas trimetoprima (Yoke-Kqueen 2008). Se buscó utilizar alternativas como fluoroquinolonas y

cefalosporinas con amplio espectro, sin embargo, existen reportes en países como Pakistán e India en los cuales se ha demostrado que *Salmonella* Typhimurium muestra resistencia a las fluoroquinolonas (Ochiaai 2008). La emergencia que representa la resistencia a antibióticos puede promover un grave riesgo de zoonosis con la *Salmonella* Typhimurium por la ingestión de comida, agua, o productos de origen animal contaminados (Hyeon 2011).

### ***Salmonella enterica* serovar Typhimurium**

El huevo es el responsable del 75% de los casos de salmonelosis asociados a vehículos alimenticios (Braden 2006). Adicionalmente, *Salmonella* Typhimurium puede encontrarse como contaminante en productos derivados del huevo como mayonesa o helado, así como en carne de ave mal cocida (Marcus 2006).

La salmonelosis en humanos produce severas gastroenteritis, caracterizadas por diarrea, dolor de cabeza, náuseas, dolor abdominal y vómito (Bialka 2004).

La infección por *Salmonella* Typhimurium en aves es asintomática, no existe evidencia de mortalidad ni morbilidad en aves, ni en los huevos de gallinas infectadas. El contagio ocurre entre aves infectadas y por fómites (Braden 2006).

El ciego es el órgano principal en donde se replica *Salmonella* Typhimurium en aves, tras infectar el ciego se da la diseminación de la bacteria al ovario. La contaminación del huevo puede generarse antes de la ovoposición (Upadhyaya 2015).

### 1.2.3 Diagnóstico

Su diagnóstico debe de ser confirmado por el aislamiento, identificación y serotipificación de las diferentes cepas de *Salmonella*. Se puede realizar una ELISA para el diagnóstico de *Salmonella* Typhimurium y PCR en tiempo real (Kabir 2010).

### 1.3 *Escherichia coli*, generalidades

*Escherichia coli* fue descrita por primera vez por Theodor Escherich en 1885, y fue hasta 1982 reconocido como un patógeno de humanos asociado a brotes de diarrea hemorrágica en EUA al ser uno de los principales microorganismos transmitidos por alimentos (Lim 2010).

*Escherichia coli* es un bacilo pequeño Gram negativo, usualmente mide 0.3 x 0.6 micrómetros, la mayoría de sus cepas son móviles, presenta un flagelo peritico (véase figura 6).

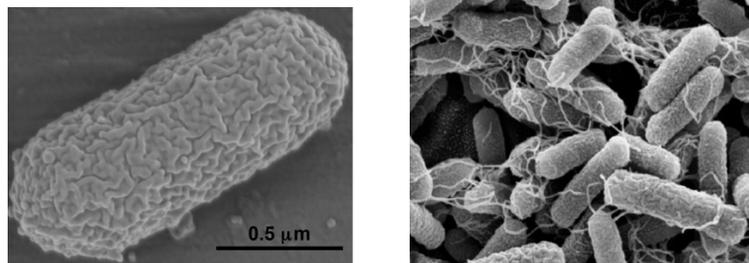


Figura 6. *E. coli* observada en el microscopio electrónico. Blount 2015

El lipopolisacárido (LPS) presente en la pared celular, también conocido como endotoxina, es un complejo fosfolípido-polisacárido que es liberado cuando la célula es sometida a lisis.

**El antígeno O (Somático)** es la parte antigénica del LPS mientras que la parte tóxica de la molécula es el lípido A.

**El antígeno H (flagelar)** son proteínas encontradas en los diferentes tipos de flagelina que conforman el flagelo.

Los antígenos **K (Capsular)** son ácidos poliméricos que contienen 2% de azúcares reducidos, están asociados con la virulencia y se encuentran en la superficie de la célula.

*Escherichia coli* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y al género *Escherichia*, puede crecer tanto en forma anaerobia como aerobia en un rango de temperatura de -4 °C a 18 °C utilizan fuentes simples de carbono y nitrógeno, fermenta carbohidratos produciendo gas (Kabir 2009).

El ácido y el gas son producidos por la fermentación de la glucosa, maltosa manitol, xilosa, glicerol, ramnosa, sorbitol, y arabinosa. La mayoría de las cepas fermentan lactosa, solamente las cepas negativas que deben de ser diferenciadas con *Salmonella*. Las cepas que han sido aisladas y fermentan la rafinosa y sorbosa producen una alta mortalidad en embriones. Reduce el nitrato en nitrito. No crece en presencia de cianuro de potasio, urea hidrolizada, o en medio de citrato (Gast 2013).

Presenta la característica de fermentación tardía de D-sorbitol (>24 h.), una incapacidad de producir beta glucoronidasa, el cual puede hidrolizar una molécula sintética, la 4-metilumbeliferil-Beta-D glucurónido (MUG), así agaros McConkey con sorbitol son suplementados con MUG para detectar *E. coli* O157:H7, para incrementar la selectividad de *E. coli* se le agrega a este medio cefixima, telurito de potasio y vancomicina para inhibir otras Gram negativas (Ji Youn Lim 2010).

### **1.3.1 Diagnóstico**

El diagnóstico se obtiene por el aislamiento de sangre, hígado, bazo, pericardio y médula ósea. Se ha observado que en casos agudos el aislamiento es posible de 6 horas a tres días después de la infección. Se pueden utilizar medios selectivos como McConkey, azul eosina de metileno. Para identificar las colonias aisladas se basa en reacciones bioquímicas como: producción de indol, fermentación de glucosa con producción de gas, presencia de beta galactosidasa, ausencia de sulfito de hidrógeno y de ureasa, incapacidad de usar citrato como fuente de carbono. (Kabir 2009).

### **1.4 Desinfectantes**

Los Centros de Control de Enfermedades de los Estados Unidos informan que no se ha encontrado una disminución en el número de casos reportados de *Salmonella* en la última década, por esto es necesario encontrar alternativas para controlar esta enfermedad (Upadhyaya 2015). Se han estudiado varios enfoques para disminuir la carga bacteriana de este patógeno en las aves, tales como la administración de bacteriófagos, ácidos orgánicos y antibióticos, de los cuales se ha informado que *Salmonella* es resistente a una gran variedad como la ampicilina, neomicina, polimixina B y tetraciclina (Suresh 2005), mientras que la vacunación contra la salmonelosis en aves arroja resultados poco eficientes en la disminución del patógeno (Upadhyaya 2015).

En de la industria avícola se utilizan una gran variedad de desinfectantes y entre ellos, uno de los más empleados es el cloro, sin embargo, éste presenta algunas desventajas como su fácil inactivación en presencia de materia orgánica, acción altamente dependiente de pH, producción de derivados mutagénicos y carcinogénicos, además de ser corrosivo. Por estas

razones su uso ha sido prohibido en algunos países europeos como Bélgica, Dinamarca, Alemania y Holanda (Meireles 2016).

La preocupación por encontrar sustancias que no ocasionen reacciones adversas en el hombre y sean de gran efectividad para combatir a los microorganismos ha conducido al uso de técnicas como la ionización y la cloración como principales métodos de desinfección, al ser éste último el que menos limitantes presenta en cuanto a su eficiencia, costo, facilidad de manejo, efecto residual, control de olor y facilidad en la determinación de su concentración. El uso del agua electrolizada como un proceso no térmico para la inactivación microbiana, es una buena opción ya que, a diferencia de los desinfectantes clorados tradicionales, la generación de los agentes que inactivan a los microorganismos se produce directamente en el agua.

#### **1.4.1 Solución electrolizada de superoxidación**

La producción de la solución electrolizada de superoxidación consiste en hacer pasar una mezcla de agua de grifo y una solución saturada de NaCl a través de una cámara que cuenta con dos electrodos, uno positivo (ánodo) y otro negativo (cátodo), divididos por una membrana diafragmática. Al inducir una corriente eléctrica en la cámara, los iones de sodio y de hidrógeno son atraídos por el cátodo y generan diversos elementos, principalmente derivados de cloro, hidrógeno y oxígeno (Durán 2010). Tras el proceso de electrólisis diafragmática se obtienen dos soluciones: agua electrolizada ácida o agua electrolizada oxidante generada en el ánodo y agua electrolizada alcalina o reducida generada en el cátodo. Posteriormente, estas dos soluciones pueden combinarse dando lugar al agua electrolizada neutra (véase figura 7).

Aunque todas las soluciones de agua electrolizada son obtenidas por un proceso de electrólisis similar, las variaciones en la concentración activa y en su pH producen agentes antimicrobianos con diferente potencia microbicida. Todas ellas comparten un espectro antimicrobiano amplio, con capacidad microbicida, viricida y bactericida en períodos de exposición inferiores a 5 minutos (Durán 2010).

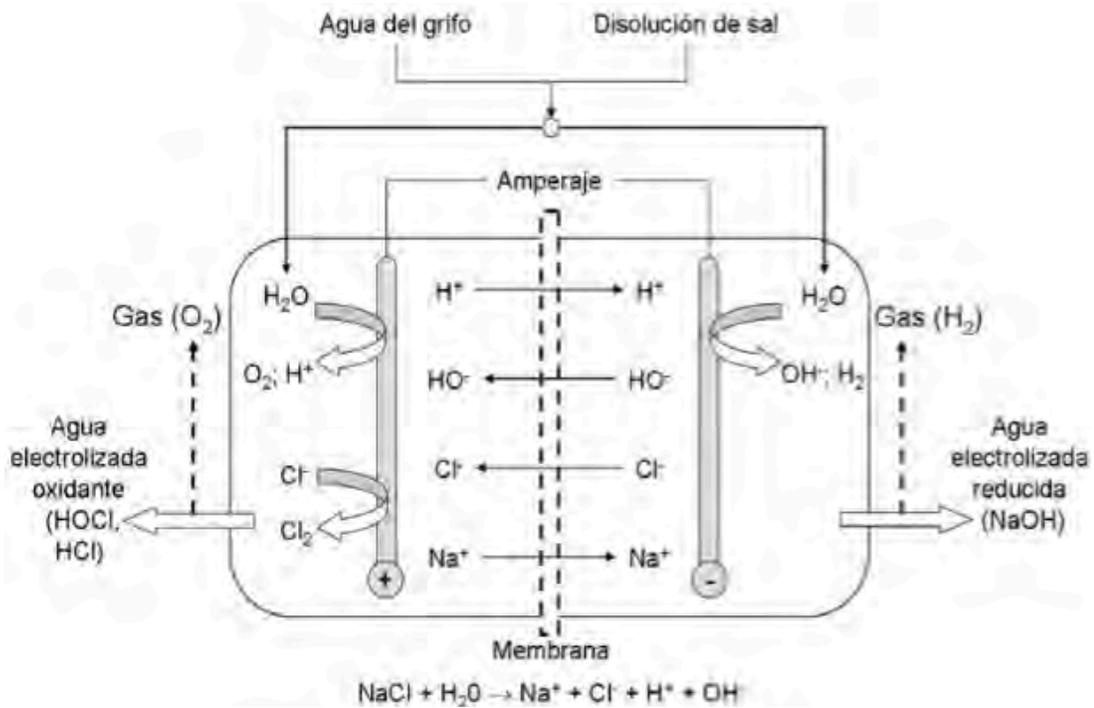


Figura 7. Síntesis del agua electrolizada. Modificado de Tabernero-de-Paz 2013.

El principio activo de la SES es el ácido hipocloroso (HOCl). Este ácido participa en la degradación de antígenos por parte de macrófagos. Éstos degradan a los antígenos mediante las vías oxidativa y no oxidativa. La vía oxidativa utiliza especies reactivas de oxígeno (ROS: del inglés *reactive oxygen species*) y especies reactivas de nitrógeno (RNS: *reactive nitrogen species*). Las primeras son generadas por el complejo enzimático NADPH oxidasa fagosómico (NADPH phox: del inglés *NADPH phagosome oxidase*). Los microorganismos fagocitados se internan en vacuolas llamadas fagosomas, donde se emplean especies

reactivas de oxígeno como microbicidas. El oxígeno consumido por los fagocitos para sustentar la producción de ROS por la enzima phox proviene de un proceso metabólico conocido como estallido respiratorio, durante la cual la captación de oxígeno por la célula aumenta varias veces. Las ROS comprenden una combinación de anión superóxido ( $\bullet\text{O}^-$ ), 2 peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ). La fagocitosis desencadena la generación de ROS por neutrófilos y macrófagos, y activa la oxidasa fagosómica de NADPH, mientras que el complejo enzimático produce superóxido. Las otras especies reactivas de oxígeno altamente tóxicas (peróxido de hidrógeno y ácido hipocloroso) se generan a partir del superóxido (Kindt 2007).

El efecto bactericida del ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) se atribuye a su elevado potencial de óxido-reducción y a la existencia de iones activos, controlados y estables que le confieren un amplio espectro de acción que incluye bacterias, hongos y esporas (Nachón 2008). Su mecanismo de acción sobre bacterias se atribuye al efecto de oxidación sobre los lipopolisacáridos, los grupos sulfhidrilo ( $-\text{SH}$ ) y los aminoácidos de la pared bacteriana. De este modo se afecta el proceso de respiración y nutrición de los microorganismos, al producirse oxidación de los componentes respiratorios, inhibición de la síntesis de proteínas, ruptura de las cadenas de ARN y represión en la síntesis de moléculas del metabolismo celular, con disminución en la síntesis de ATP (Tabernero-de-Paz 2013).

La industria avícola tiene como reto controlar a los agentes patógenos (Laury 2009) que incluyen no solamente a bacterias sino también a virus. El brote de influenza que hubo en México ocasionó que se buscaran medios para descontaminar el huevo. Como resultado de estos hechos se creó el Manual de Procedimientos para la prevención, control y erradicación de la Influenza aviar de Alta Patogenicidad el cual indica que, en caso de ser movilizados, los huevos deben ser lavados con ácido cítrico al 2%. El ácido cítrico puede

ser bactericida o bacteriostático dependiendo del estado fisiológico del organismo y del medio ambiente externo. El pH es considerado como el mecanismo primario de acción del ácido cítrico ya que afecta a la concentración de ácido no disociado formado (Davidson 2001). Los ácidos orgánicos disociados pueden penetrar fácilmente la membrana lipídica de la bacteria y una vez internados, el pH neutro del citoplasma los disocia en aniones y protones (Davidson 2001). Exportar un exceso de protones requiere el consumo de adenosín trifosfato (ATP) y esto resulta en un agotamiento de energía por parte de la célula. Se cree que interfiere con el transporte de nutrientes, causa daño en la membrana produciendo fugas y altera la permeabilidad de ésta (Alakomi *et al.* 2000). Se ha descrito que el ácido cítrico presenta efectos adversos que afectan al cascarón al producir pequeñas fisuras en éste (Fasenko 2009), disminuyendo así la calidad del producto y su vida de anaquel. Esto genera la necesidad de buscar alternativas al uso del ácido cítrico, entre las cuales se encuentra la Solución Electrolizada de Superoxidación (SES).

La SES ha sido utilizada en la industria alimenticia, algunos ejemplos son: la desinfección de tablas donde se prepara la comida (Guentzel 2007), lechuga (Zhao 2008) y carne de res (Fabrizio 2002). Entre sus principales ventajas encontramos que requiere de un tiempo reducido de exposición (30 segundos), no se requiere el uso de muchos químicos ya que producirla solamente se utilizan agua y NaCl (Fabrizio 2002), no es tóxica, tiene un amplio espectro de acción (contra bacterias Gram negativas, Gram positivas, esporas y virus).

Entre de los diferentes tipos de SES (con pH ácido, alcalino o neutro), se ha demostrado que la SES con pH alcalino es poco efectiva eliminando bacterias (Bialka 2004). Mientras que la SES con pH ácido tiene un potencial limitado para su aplicación durante períodos prolongados debido a que el gas cloruro disuelto se volatiliza rápidamente, reduciendo su efecto bactericida (Guentzel 2007). La solución electrolizada de superoxidación con pH

neutro reduce la carga bacteriana de *Salmonella* y *E. coli* hasta en un 99.9% de diversas superficies en donde se prepara comida sin causar efectos alternos (Guentzel 2007). También se ha utilizado contra el virus de influenza ya que reduce el título viral sin causar daño a las células (Cabello 2009).

El impacto que generan los patógenos transmitidos en el huevo, ya sea para plato o embrionado, afectan en gran medida a la industria avícola causando graves pérdidas monetarias además de un gran número de hospitalizaciones (Guentzel 2007). Es por esto que en el siguiente proyecto se evaluó la actividad antimicrobiana de la SES con pH neutro en huevos embrionados, así como el daño producido por la SES con pH neutro en la cutícula y se compararon las tasas de eclosión de huevos embrionados tratados con SES y ácido cítrico.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia que representan las enfermedades producidas por *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en la producción avícola, así como en la salud pública y tomando en cuenta los posibles daños o limitantes en el uso de desinfectantes en productos de origen pecuario como carne o huevo embrionado, se requiere usar alternativas menos agresivas y con una actividad microbicida. Una alternativa es el uso de la solución electrolizada de superoxidación con pH neutro que permita disminuir la carga bacteriana presente en el huevo sin afectar la cutícula. Existen reportes de su uso en diferentes productos alimenticios sin embargo el pH de esos productos es ácido o alcalino. Cabe mencionar que este proyecto fue financiado por CONACYT debido al impacto que tiene su uso en la eliminación de patógenos en alimentos.

Por ello resulta de gran importancia el buscar alternativas que ayuden a mantener inocuos los alimentos derivados de la producción avícola, ya que cuando estas enfermedades llegan a distribuirse entre la población, pueden causar graves síntomas e incluso la muerte.

### **3. HIPÓTESIS**

El uso de la solución electrolizada de superoxidación con pH neutro en la superficie del cascarón de huevos embrionados disminuirá la contaminación bacteriana sin afectar la supervivencia de los embriones, ni la integridad de la cutícula y calidad del huevo para plato.

#### **4. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la actividad de la solución electrolizada de superoxidación con pH neutro, contra *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 y *E. coli* O157:H7 ATCC 11229 en la superficie de huevos embrionados y huevos para plato.

## 5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto bactericida de la solución con pH neutro en comparación con el ácido cítrico al 2% en huevos embrionados contaminados con cama de granja avícola con *Salmonella* y *E. coli*.
- Determinar el factor de riesgo de los huevos embrionados a los 21 días de vida.
- Determinar la integridad de la cutícula en huevos para plato después de realizar la desinfección con ácido cítrico al 2% o solución electrolizada de superoxidación.
- Determinar los parámetros de calidad en huevos para plato después de realizar la desinfección con ácido cítrico al 2% o con solución electrolizada de superoxidación.

## **6. MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Vacunología y Constatación, así como en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

### **6.1 Obtención de cepas bacterianas**

Se adquirieron las cepas de *Escherichia coli* Castellani and Chalmers (ATCC 11229) y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Le Minor and Popoff serovar Typhimurium (ATCC 14028) en el American Type Culture Collection y se realizó su confirmación usando el equipo Vitek 2 (BioMérieux® No. 27630, España)

### **6.2 Evaluación fisicoquímica de la solución electrolizada de superoxidación**

Se realizó la evaluación del pH de la SES con el medidor de pH y el potencial de óxido reducción (ORP) (Hanna®, H198121) a temperatura ambiente con 50 ml de la SES.

Se realizó la medición del ORP de la SES con el medidor de pH y el potencial de óxido reducción (ORP) (Hanna®, H198121) a temperatura ambiente con 50 ml de la SES

Se realizó la medición del cloro libre con el fotómetro de cloro (Hanna®, HI96771) a temperatura ambiente con 50 ml de la SES.

### **6.3 Ensayo *in vitro***

Para evaluar el efecto desinfectante *in vitro* de la Solución Electrolizada de Superoxidación con pH neutro, se comparó su efecto con el del ácido cítrico al 2% así como con solución salina fisiológica (grupo control), tomando como base la NMX-BB-040-SCFI-1999 la cual trata sobre la Determinación de la Actividad Antimicrobiana en productos Germicidas y siguiendo la metodología descrita anteriormente. De acuerdo con la norma se debe de trabajar con un inóculo bacteriano con título de  $10^8$  UFC/ml. Por lo que la suspensión obtenida tras la incubación de las bacterias con título de  $10^9$  UFC/ml fue diluida 1/10 previo a su uso en el experimento.

Se realizó el experimento por triplicado. Se utilizaron 5 tubos para cada uno de los 3 tratamientos (SES, AC y SSF), es decir, 45 tubos en total para las 3 réplicas. Se añadieron 9 ml de SSF en los tubos 2, 3 y 4. En el tubo 1 se agregaron 9 ml de SES y 1000  $\mu$ l de la suspensión bacteriana con  $10^8$  UFC/ml. Se homogeneizó el contenido mediante un vórtex durante 30 segundos y se transfirieron 1000  $\mu$ l de la mezcla hacia el siguiente tubo. El tubo 2 se homogeneizó mediante un vórtex y se transfirieron 1000  $\mu$ l hacia el siguiente tubo. El procedimiento se repitió hasta llegar al tubo 5. Se sembraron 100  $\mu$ l de los tubos 1, 3 y 5 en cajas de Petri con agar TSA las cuales se incubaron durante 24 h a 37 °C. Este procedimiento se utilizó también para los tratamientos con AC y con SSF.

### **6.4 Obtención de huevos embrionados**

Se adquirieron 200 huevos embrionados de 4 días de edad, para el experimento con *Salmonella* y otros 200 para *E. coli* de Aves Libres de Patógenos Específicos S.A De C. V. Los embriones se encuentran libres de los siguientes agentes de acuerdo a sus Resultados

de Control de Calidad: Síndrome de Baja Postura, Leucosis Linfoide, *Mycoplasma sinoviae*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella Pullorum*, *Salmonella Gallinarum*, Enfermedad de Newcastle, Bronquitis Infecciosa e Influenza Aviar, Anexo 1.

Los huevos embrionados fueron examinados al ovoscopio para observar su viabilidad, observándose su irrigación y movimiento como lo describe la NMX-FF-079-SCFI-2004.

Se colocaron los embriones en la incubadora para embriones (FARM MASTER No. 247 509, USA), a una temperatura de 37 °C y con una humedad de 75-80%.

Se realizó el volteo diariamente de los embriones, de forma manual cada dos horas durante el día.

## **6.5 Obtención de huevos para plato**

Se adquirieron 60 huevos para plato en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola dependiente de la FMVZ. Se mantuvieron los huevos a una temperatura de 24 °C.

## **6.6 Mantenimiento de los microorganismos.**

Se formaron alícuotas de cada uno de los microorganismos de prueba (*E. coli* ATCC-11229D-5) y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (ATCC-7251). Se tomó una asada de cada uno de los microorganismos y se sembró en 50 mililitros de medio Luria Bertani y se incubó en agitación a 200 rpm y a una temperatura de 37 °C durante 16 horas. Se sembró cada uno de los microorganismos en una caja de Petri estéril con medio Tripticasa Soya y

se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se mantuvieron las cajas de Petri a una temperatura de 4 °C.

### **6.7 Crecimiento de los microorganismos**

Se tomó una colonia de cada microorganismo de prueba (*E. coli* ATCC-11229D-5) y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (ATCC-7251) y cada una se sembró en una caja de Petri con 25 ml de agar Tripticasa Soya. Se incubó a una temperatura de 37 °C durante 12-16 h. Una vez crecida la bacteria se mantuvo a una temperatura de 4 °C.

### **6.8 Titulación de los microorganismos**

La titulación se realizó de acuerdo a lo indicado e la NOM-092-SSA1 como se describe a continuación. Se tomaron 9 ml de solución amortiguadora de fosfatos. Se agregó 1 ml de la suspensión de los microorganismos de prueba, se mezcló perfectamente en un vórtex y se efectuaron las siguientes diluciones decimales:  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ . Se colocó en cajas de Petri estériles con 25 ml de agar Tripticasa Soya por duplicado 100  $\mu$ L de las diluciones:  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ . Se dejó incubar durante 24 horas a 37 °C. Se contaron las UFC en cada una de las cajas para obtener el título de la suspensión.

### **6.9 Preparación de las camas**

Para simular una contaminación horizontal se utilizaron camas de ave (paja, heces y alimento), obtenidas de un rancho particular. Se pesaron las camas hasta obtener paquetes que contengan 200 gramos. Se esterilizó cada paquete a una temperatura de 121 °C durante una hora. Se secó en horno Pasteur a una temperatura de 160 °C durante 45 minutos.

## 6.10 Contaminación

Todo el procedimiento se llevó a cabo en condiciones de esterilidad.

El procedimiento se efectuó como lo describió Bialka en el 2004. El experimento se realizó por triplicado. Se formaron tres grupos de 22 embriones. El primer grupo incluía los embriones contaminados que fueron tratados con la Solución Electrolizada de Superoxidación (SES); el siguiente grupo incluía los embriones contaminados y tratados con ácido cítrico al 2% (AC); y el último grupo incluía los embriones contaminados que no recibieron tratamiento (ST) (véase figura 8).

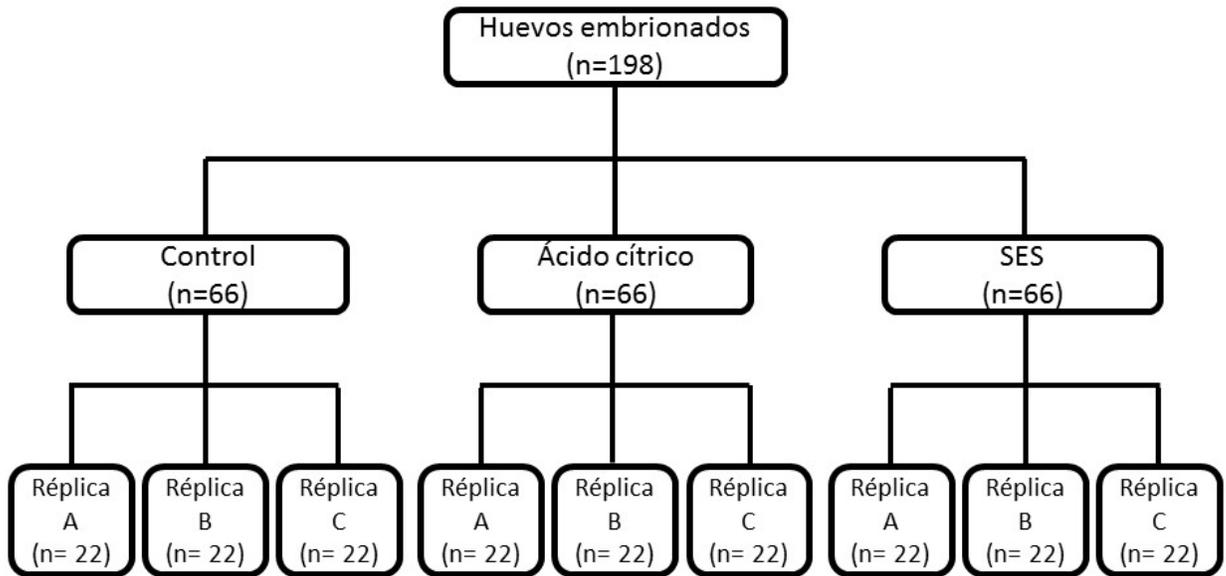


Figura 8. Distribución de los huevos embrionados.

Se ajustó el título bacteriano a  $10^6$  UFC/ml de los inóculos de *Salmonella* y *E. coli* en 2 litros de agua peptonada al 0.1%. Se agregaron los 200 gramos de cama estéril y los 22 embriones al contenedor de plástico. Se mezcló perfectamente durante 10 minutos. Se dejaron secar en aire de flujo laminar (Nuair No. 503995, USA) durante 26 minutos.

## **6.11 Tratamiento**

El procedimiento se realizó como lo describe Fasenko 2009. Todo el procedimiento se realizó en condiciones de esterilidad. El experimento se realizó por triplicado. Los huevos embrionados previamente contaminados fueron depositados en las charolas para embriones y se trataron con 20 aspersiones por el frente y 20 aspersiones por la parte posterior con SES (el grupo de 22 embriones destinado para SES), ácido cítrico al 2% (el grupo de 22 embriones destinado para ácido cítrico al 2%) o Solución Salina Fisiológica (el grupo de 22 embriones destinado como control). Los huevos embrionados se dejaron secar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se depositó cada huevo embrionado de forma independiente en bolsas de plástico herméticas marca “Nasco Whirl-Pak” (previamente rotuladas con ST, SES, AC), con 10 ml de agua peptonada al 0.1%. Se frotaron manualmente los huevos embrionados durante un minuto. Se sacaron de las bolsas y se dejaron secar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se colocaron los embriones a una temperatura de 37 °C y con una humedad de 75-80%. Se transfirió 1 ml de suspensión de agua peptonada al 0.1% con el inóculo y se realizaron diluciones decimales desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . 100  $\mu$ L de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$  se colocaron en cajas de Petri estériles con 25 ml de agar Trypticase Soya (para *E. coli* y *Salmonella*). Se dejaron incubar durante 24 horas a 37 °C. Se contaron las UFC en cada una de las cajas.

## **6.12 Integridad de la cutícula**

La medición de la integridad de la cutícula se realizó como lo describe Bialka 2004. Para este experimento se utilizaron huevos para plato. Se formaron tres grupos de 20 huevos. El primer grupo incluyó los huevos contaminados que fueron tratados con la solución electrolizada de superoxidación (SES); el segundo grupo incluyó los huevos contaminados

y tratados con ácido cítrico al 2% (AC); y el último, incluyó los huevos contaminados que no recibieron tratamiento (ST) (véase figura 9).

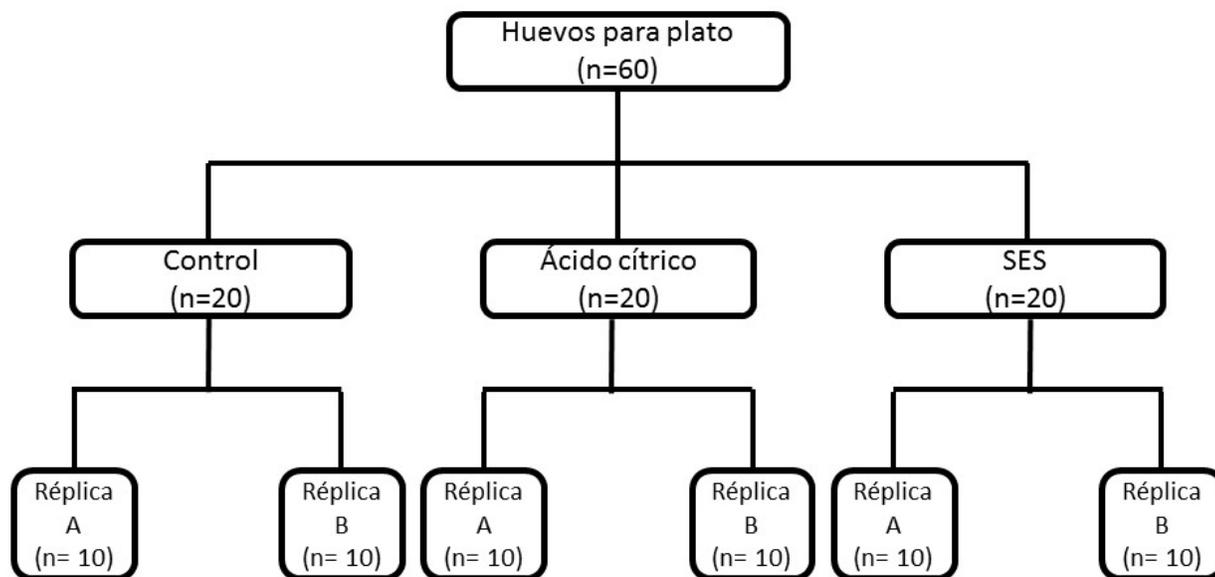


Figura 9. Distribución de los huevos para plato.

Los huevos fueron sumergidos hasta quedar cubiertos por completo en colorante azul tripán al 0.1% durante un minuto. Se lavaron los huevos mediante su inmersión por completo en agua durante tres segundos. Se dejaron secar los huevos durante 20 minutos en el flujo de aire laminar de la campana de bioseguridad. Se midieron los parámetros de color **L** (Luminosidad), **a** (escala rojo-verde) y **b** (escala amarillo-azul) en 5 zonas diferentes del huevo con un espectrofotómetro (Konica Minolta GM-600d No.21011486, México). El espacio de color  $L^*a^*b^*$ , también referido como CIELAB, es actualmente es uno de los espacios de color más populares y uniformes para evaluar el color de un objeto. Este espacio de color es ampliamente usado porque correlaciona los valores numéricos de color consistentemente con la percepción visual humana.

La diferencia de color es definida como la comparación numérica de una muestra con el estándar. Indica las diferencias en coordenadas absolutas de color y se la conoce como

Delta ( $\Delta$ ). Deltas por  $L^*$  ( $\Delta L^*$ ),  $a^*$  ( $\Delta a^*$ ) y  $b^*$  ( $\Delta b^*$ ) pueden ser positivas (+) o negativas (-). La diferencia total de color, Delta E ( $\Delta E^*$ ), sin embargo, siempre es positiva. Éstas son expresadas como:

$\Delta L^*$  = **diferencia en luz y oscuridad** (+ = más luminoso, - = más oscuro)

$\Delta a^*$  = **diferencia en rojo y verde** (+ = más rojo, - = más verde)

$\Delta b^*$  = **diferencia en amarillo y azul** (+ = más amarillo, - = más azul)

$\Delta E^*$  = **diferencia total de color**

6. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular delta e:

- $\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$ .

### 6.13 Unidades Haugh

La medición de las Unidades Haugh se realizó como lo describe la NMX-FF-079-SCFI-2004. Para este experimento se utilizaron huevos para plato.

Se formaron tres grupos de 10 huevos. El primer grupo incluía los huevos contaminados que fueron tratados con la Solución Electrolizada de Superoxidación (SES); El siguiente grupo incluía los huevos contaminados y tratados con ácido cítrico al 2% (AC); y el último grupo incluía los huevos contaminados que no recibieron tratamiento (ST). Los huevos fueron pesados individualmente. Los huevos fueron quebrados, posteriormente la yema fue extendida en un vidrio.

Con el Micrómetro de Haugh (Baxlo®, España) se midió por triplicado el albumen denso.

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular las Unidades Haugh:

- $U. H. = 100 \log_{10} [A - \sqrt{G(30P.37 - 100) + 1.9}] 100$

Dónde:

U. H son las unidades Haugh.

A: es la altura de albúmina en milímetros.

G: es 32.2, siendo una constante.

P: es el peso del huevo en gramos.

### **6.14 Análisis estadístico**

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS Statistics, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) y pruebas a posteriori DMS y Tukey, para observar si existía una diferencia significativa entre tratamientos. Para calcular la sobrevivencia de los embriones se empleó la prueba no paramétrica de logaritmo de rango.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Obtención de cepas bacterianas

Se confirmó la identificación en el Vitek 2 de las cepas bacterianas *Escherichia coli* Castellani and Chalmers (ATCC 11229) y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Le Minor and Popoff serovar Typhimurium (ATCC 14028) como se confirma en el reporte emitido por el ATCC anexo 2.

Se eligieron las cepas bacterianas *Escherichia coli* Castellani and Chalmers (ATCC 11229) y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Le Minor and Popoff serovar Typhimurium (ATCC 14028) debido a la importancia que tienen en las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) a nivel mundial, tal como lo reportan la CDC, la EFSA y la EDCD al causar hospitalizaciones e incluso fallecimientos. Siendo responsable *Salmonella Typhimurium* del 17.5% de los casos reportados en humanos en los Estados Unidos en el 2013, teniendo un incremento en su prevalencia con respecto a los años anteriores a diferencia de otras cepas (EFSA 2013).

Se ha encontrado a *E. coli* en 18 brotes de alimentos en la Unión Europea de los cuales 4 requirieron hospitalización, así como contaminante del medio ambiente en la industria y en la clínica, produciendo enfermedades digestivas, urinarias y respiratorias. El ATCC menciona que la cepa bacteriana de *Escherichia coli* Castellani and Chalmers (ATCC 11229) se puede utilizar para evaluar sanitizantes y desinfectantes, tal como ha sido reportado en el artículo *Antibacterial activity of gemini quaternary ammonium salts* (Obak 2014) y en la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SSA1-1998 de Salud ambiental.

## 7.2 Evaluación fisicoquímica de la solución electrolizada de superoxidación

Se realizó la evaluación química de la Solución Electrolizada de Superoxidación en dos diferentes periodos de tiempo obteniendo los siguientes resultados:

- 11 de mayo de 2015 (ppm Cl 56 mg/l, pH 6.99, ORP 888 mV)
- 11 de junio de 2015 SES (ppm Cl 52 mg/l, pH 7.18, ORP832 mV)

La SES con pH neutro tiene varias ventajas en comparación con la SES alcalina o la ácida, ya que es menos corrosiva y relativamente más estable que las otras presentaciones, tiene una mayor proporción de ácido hipocloroso (principio activo de la solución) y adicionalmente se le considera más efectiva contra microorganismos que otros desinfectantes, como el cloro en forma de gas (Afari *et al.* 2015). Diversos estudios han demostrado que la SES puede emplearse de forma efectiva para la eliminación de patógenos como *Salmonella* y *E. coli* 0157:H7 en productos como tomates (Afari, Hung y King 2015) y lechuga (Abadias *et al.* 2008).

## 7.3 Titulación de los microorganismos

Las bacterias se titularon de la siguiente manera:

Primero se calculó el factor de dilución (FD):

$$FD = a \times b \times c \times d \times e \times f$$

Donde:

$$a = 1/10, b = 1/10, c = 1/10, d = 1/10, e = 1/10, f = 1/100$$

$$a = 10^{-1}, b = 10^{-1}, c = 10^{-1}, d = 10^{-1}, e = 10^{-1}, f = 10^{-2}$$

$$FD = 10^{-7}$$

El FD se multiplicó por el número de UFC obtenidas anteriormente:

$$(1.66 \times 10^2) (10^7) = 1.66 \times 10^9$$

Estandarizando los títulos de los microorganismos a  $10^6$ /ml.

Bialka y Fasenko emplearon un título de  $10^6$ /ml por lo que se ajustó el título diluyendo mil veces la suspensión. Con la finalidad de obtener resultados más homogéneos, que faciliten la comparación de los mismos entre cada una de las réplicas efectuadas, se estandarizó la titulación de los microorganismos en aproximadamente  $10^6$  UFC, respetando el procedimiento establecido en la norma anteriormente mencionada. La estandarización del título de *E. coli* y de *Salmonella* simplificó la metodología de trabajo e incrementó la confianza de las mediciones realizadas al evidenciar la similitud en los resultados de las diferentes réplicas de cada grupo de prueba.

## 7.4 Tratamientos

Antes de realizar los experimentos de este trabajo, se hizo un ensayo previo en donde se comparó el título bacteriano de los tratamientos con SES, AC y el grupo control tanto en un medio general (TSA) como en un medio selectivo (*Salmonella-Shigella*) para identificar si el uso de uno u otro medio puede interferir en el número de UFC encontradas; para este fin se recurrió a la prueba paramétrica conocida como análisis de varianza.

El ensayo previo al experimento se realizó considerando que el título bacteriano podría disminuir de manera significativa en medios selectivos en comparación con los medios generales, lo que traería como consecuencia una sobreestimación del efecto de los tratamientos evaluados. Esta posible sobreestimación interferiría a su vez con la

interpretación de los resultados, al obtener mediciones menos exactas del efecto bactericida de los desinfectantes probados.

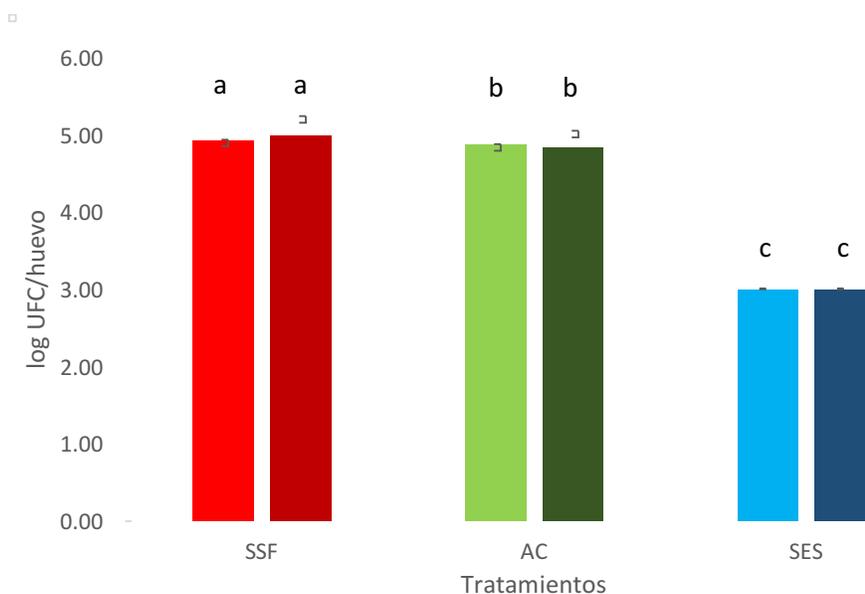


Figura 10. Títulos bacterianos obtenidos en agar TSA y agar *Salmonella-Shigella*. Comparación del título bacteriano entre tratamientos, empleando medio TSA (barras con tonos claros) y medio *Salmonella-Shigella* (barras oscuras) ( $p < 0.05$ ).

El análisis estadístico del crecimiento en diferentes medios de cultivo bacterianos resultó indispensable debido a que permitió concluir que no existe una diferencia estadística que justifique el uso de un medio general en lugar de un medio selectivo ni viceversa ya que, si bien podrían encontrarse ligeras diferencias entre uno y otro medio, estas no serían significativas y no afectarían la interpretación de los resultados del presente experimento.

Se decidió emplear el medio general (TSA) con la finalidad de evaluar el desempeño de la SES en la eliminación de patógenos contaminantes de la manera más amplia, excluyendo dentro de la metodología las posibles subestimaciones que resultarían del uso de un medio selectivo.

## 7.5 Evaluación de la SES con pH neutro en la eliminación *in vitro* de *E. coli* y *Salmonella*

Antes de realizar el experimento en los huevos embrionados y para plato se realizó el experimento de forma *in vitro* para evaluar la efectividad de la Solución Electrolizada de Superoxidación, comparando su efecto con el del ácido cítrico al 2% así como con solución salina fisiológica (grupo control), tomando como base la NMX-BB-040-SCFI-1999 siguiendo la metodología descrita anteriormente. Se utilizó la prueba de análisis de varianza.

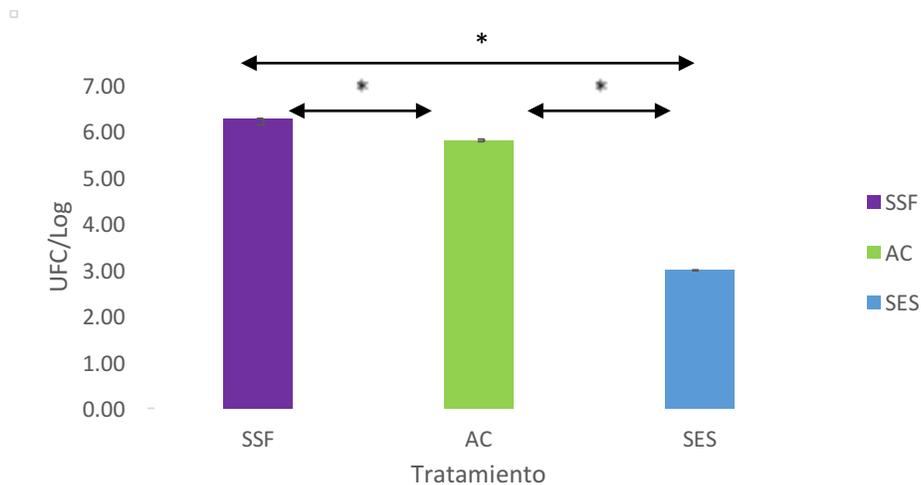


Figura 11. Títulos de *E. coli* en el ensayo *in vitro* posterior al tratamiento con SSF, AC o SES. El crecimiento bacteriano fue menor en el grupo tratado con SES. Existe diferencia significativa entre los tratamientos, ( $p < 0.05$ ).

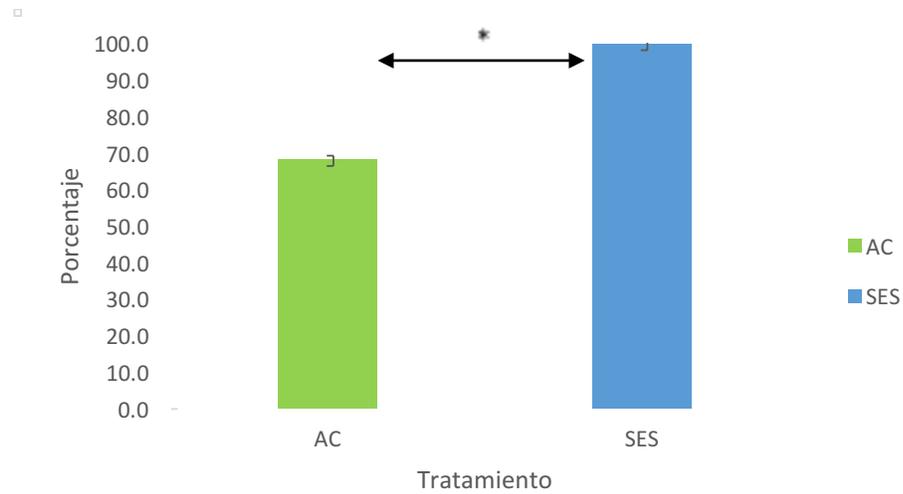


Figura 12. Porcentajes de reducción en el título de *E. coli* en el ensayo *in vitro* posterior al tratamiento con SSF, AC o SES, ( $p < 0.05$ ).

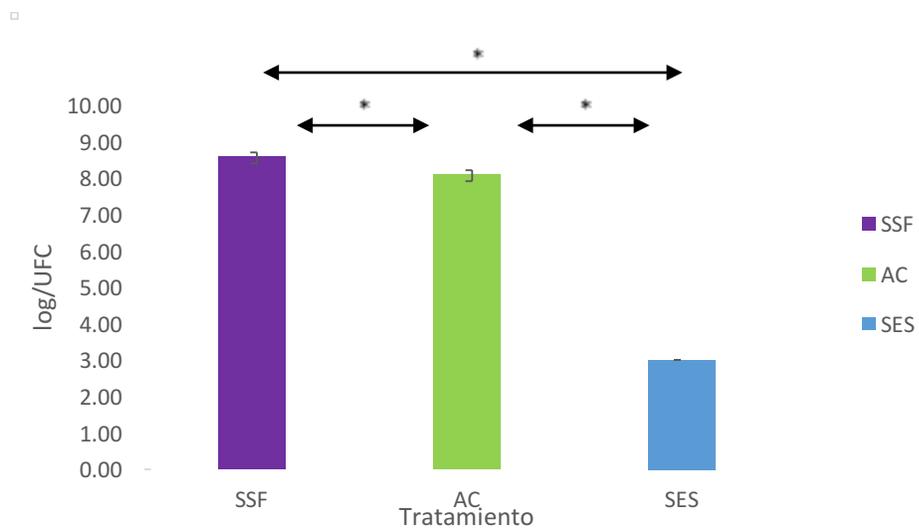


Figura 13. Títulos de *Salmonella* en el ensayo *in vitro* posterior al tratamiento con SSF, AC o SES. El crecimiento bacteriano fue menor en el grupo tratado con SES, ( $p < 0.05$ ).

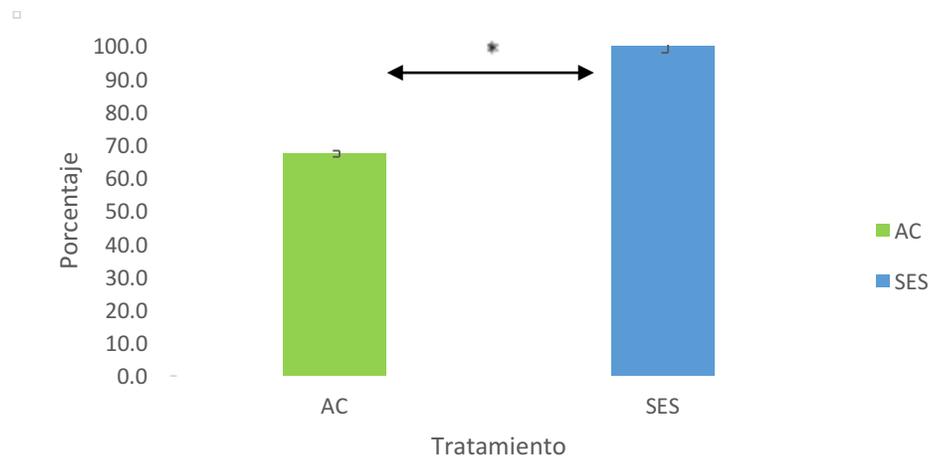


Figura 14. Porcentajes de reducción en el título de *Salmonella* en el ensayo *in vitro* posterior al tratamiento con SSF, AC o SES, ( $p < 0.05$ ).

A pesar de que tanto el tratamiento con AC como con SES mostraron una diferencia estadísticamente significativa con respecto al tratamiento control con SSF, el análisis estadístico de los resultados vuelve evidente una gran diferencia entre los dos desinfectantes que se probaron. El tratamiento con AC arrojó títulos bacterianos muy similares al inóculo original tanto en el caso de *E. coli* como en el de *Salmonella*. Por su parte, el tratamiento con SES redujo de manera más notoria el título de ambas bacterias.

La literatura informa que la exposición *in vitro* de *E. coli* y *Salmonella* contra desinfectantes como la SES ácida, trae como resultado una disminución de hasta 6 logaritmos en el título bacteriano con un tiempo de exposición de 60 segundos (Abdulsudi *et al.* 2010). Estos resultados son similares a lo que se encontró en este experimento en el cual, tanto en el caso de *E. coli* como en el de *Salmonella*, se obtuvieron reducciones de hasta 6 logaritmos en el título bacteriano original ( $10^8$  UFC) en un período de exposición con la SES de tan solo 30 segundos.

### 7.5.1 Evaluación de la SES con pH neutro en la eliminación de *E. coli*

Se muestran los resultados de los títulos bacterianos obtenidos a partir de los huevos embrionados contaminados con *E. coli*, los cuales fueron posteriormente tratados con SSF, AC o SES. El análisis estadístico se efectuó mediante la prueba de análisis de varianza.

Se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos con SES (grupo de prueba) y con SSF (grupo control) por lo que se confirma la hipótesis alterna en todos los casos, es decir, se comprueba estadísticamente que el uso de la SES con pH neutro en la superficie del huevo disminuye la contaminación bacteriana. Adicionalmente se demuestra que difiere el comportamiento de la SES y el AC en la eliminación de bacterias, ya que en todos los casos se obtuvieron títulos bacterianos significativamente inferiores en los huevos embrionados tratados con SES, por su parte en los huevos tratados con AC se obtuvieron títulos bacterianos significativamente más altos. Sólo en la réplica C se obtuvo un título bacteriano significativamente inferior en el grupo tratado con AC con respecto al control.

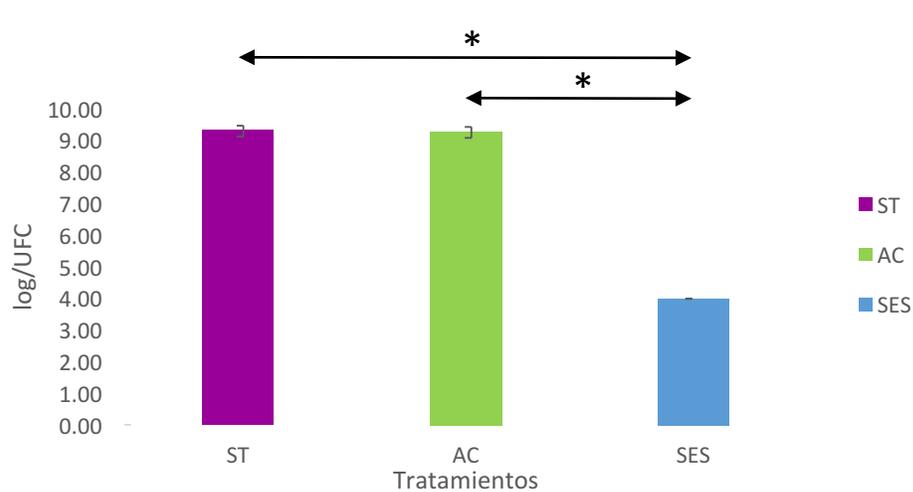


Figura 15. Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con *E. coli*, tratados con SSF, AC o SES (réplica A). El crecimiento bacteriano fue menor en el grupo tratado con SES, ( $p < 0.05$ ).

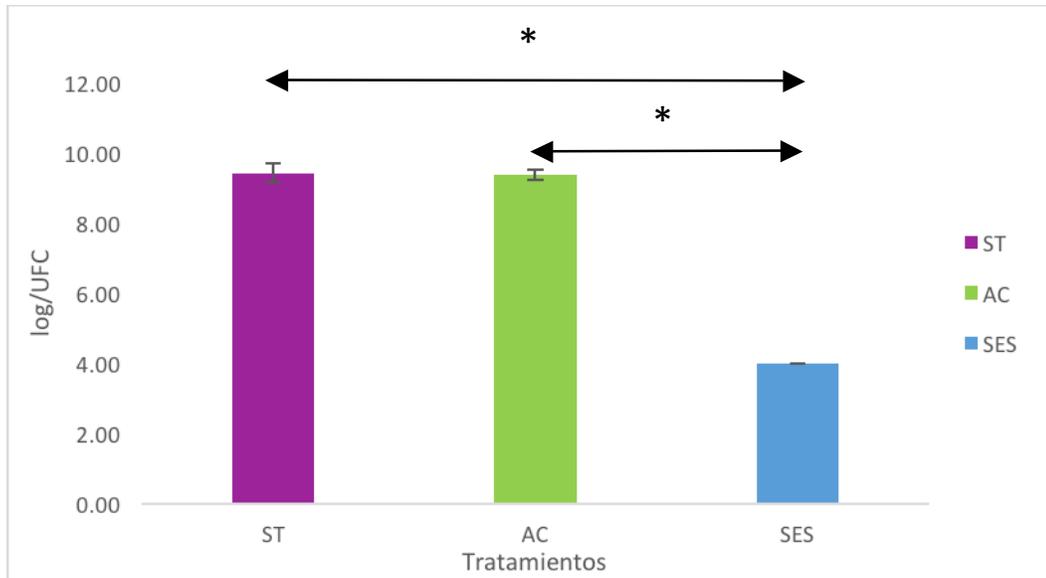


Figura 16. Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con *E. coli*, tratados con SSF, AC o SES (réplica B). El crecimiento bacteriano fue menor en el grupo tratado con SES, ( $p < 0.05$ ).

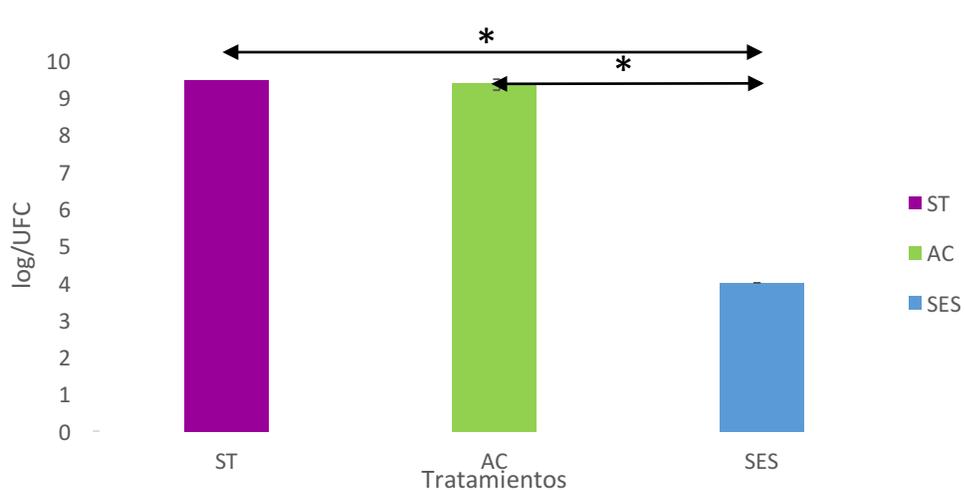


Figura 17. Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con *E. coli*, tratados con SSF, AC o SES (réplica C). El crecimiento bacteriano fue menor en el grupo tratado con SES, ( $p < 0.05$ ).

Los resultados obtenidos demuestran que el tratamiento con SES disminuye drásticamente el crecimiento de *E. coli* en el huevo embrionado existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, no se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento del huevo embrionado con AC. Debido a esto, se concluye que el tratamiento con SES fue

más efectivo que el tratamiento con AC en la eliminación de *E. coli*. La importancia que estos resultados tienen para la industria avícola son que la SES es un desinfectante que se puede utilizar de manera exitosa ya que se ha demostrado que actúa de manera eficaz contra este patógeno, siendo uno de los más importantes en la industria al considerar que entre el 10% y 15% de las cepas de *E. coli* son patógenas (Barnes 1997) y que es frecuente encontrar a esta bacteria tanto en la industria avícola (Munther *et al.* 2015) como en productos agrícolas, entre ellos el tomate (Afari, Hung y King 2015), lechuga (Abadias *et al.* 2008) y arándano (Pangoli y Huang 2013). Si tomamos en cuenta todo esto es de suma importancia encontrar alternativas efectivas como la SES con pH neutro que le brinden a la industria una alternativa eficaz contra patógenos que producen un gran efecto en la salud pública y en la economía del país.

### **Porcentajes de reducción en el título de *Escherichia coli***

A continuación, se muestran los porcentajes de reducción en el título *Escherichia coli* obtenidos tras el tratamiento de los huevos embrionados con SES o AC, en comparación con el grupo control tratado con SSF. Para la comparación se tomaron en cuenta los resultados de las tres réplicas cuya evaluación se realizó mediante la prueba estadística no paramétrica del análisis de varianza.

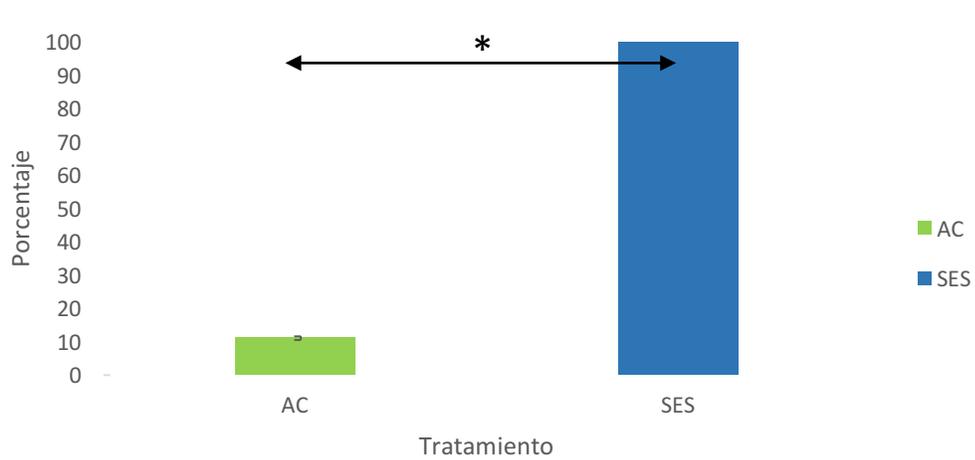


Figura 18. Porcentajes de reducción en el título de *E. coli* posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica A). El porcentaje de reducción de *E. coli* fue mayor en el grupo tratado con SES (99.99%) que en el grupo tratado con AC (11.02%), ( $p < 0.05$ ).

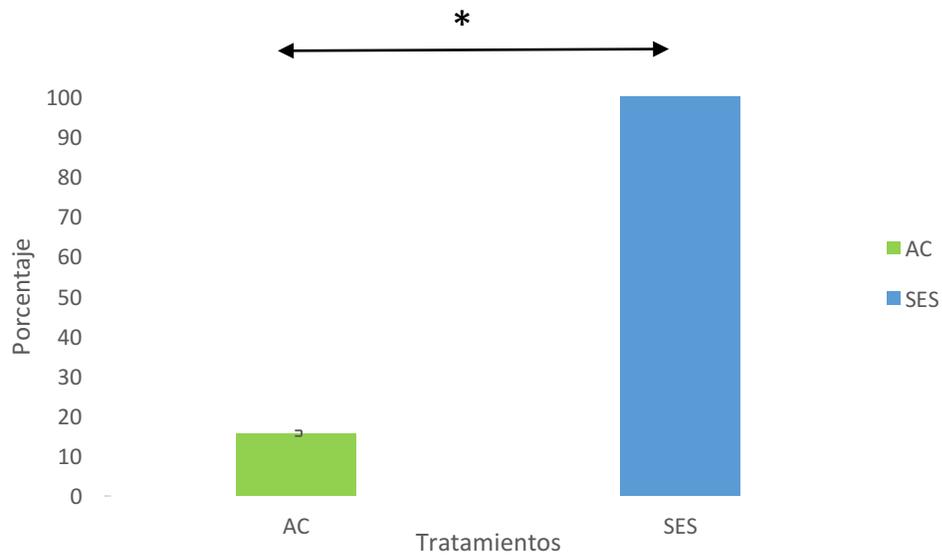


Figura 19. Porcentajes de reducción en el título de *E. coli*, posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica B). El porcentaje de reducción de *E. coli* fue mayor en el grupo tratado con SES (99.99%) que en el grupo tratado con AC (15.66%), ( $p < 0.05$ ).

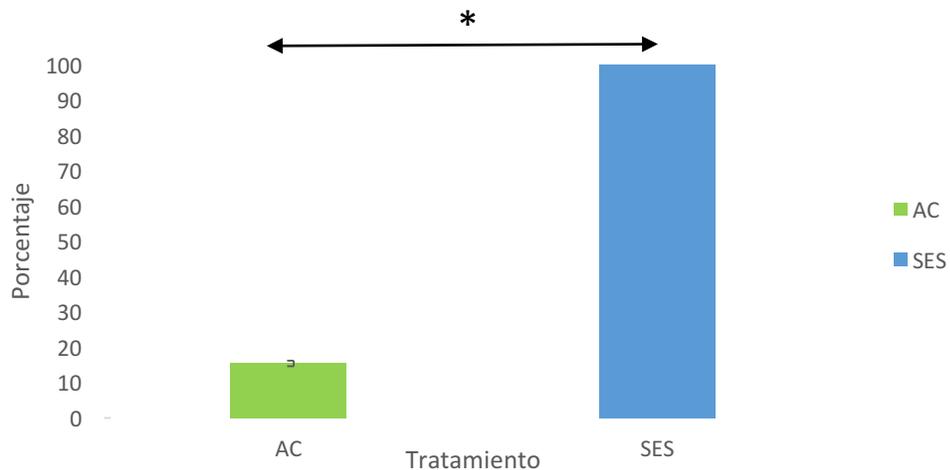


Figura 20. Porcentajes de reducción en el título de *E. coli*, posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica C). El porcentaje de reducción de *E. coli* fue mayor en el grupo tratado con SES (99.99%) que en el grupo tratado con AC (15.39%), ( $p < 0.05$ ).

Los resultados obtenidos permiten concluir que tanto el tratamiento con AC como el tratamiento con SES disminuyen la carga bacteriana de *E. coli* en la superficie del huevo, sin embargo, tal como se demostró en el análisis previo, resulta evidente que, de ambos tratamientos, la SES es el desinfectante más efectivo ya que permitió reducir el crecimiento en un 99.99% en todas las réplicas, mientras que el AC sólo lo redujo en un 14.02% en promedio. La diferencia promedio entre ambos desinfectantes para la eliminación de *E. coli* en la superficie de huevos embrionados fue del 99.99%.

### 7.5.2 Evaluación de la SES con pH neutro en la eliminación de *Salmonella*

A continuación, se muestran los resultados de los títulos bacterianos obtenidos a partir de los huevos embrionados contaminados con *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, los cuales fueron posteriormente tratados con SSF, AC o SES.

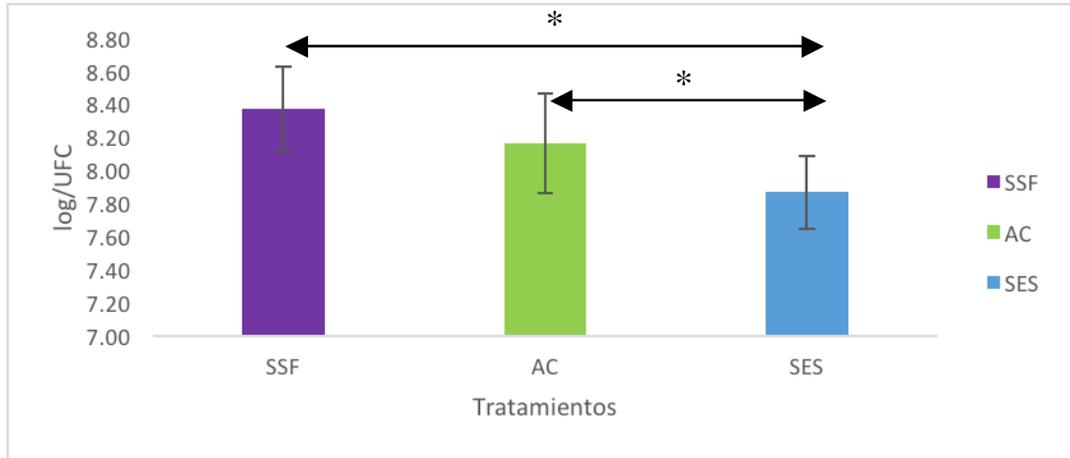


Figura 21. Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con *Salmonella*, tratados con SSF, AC o SES (réplica A), ( $p < 0.05$ ).

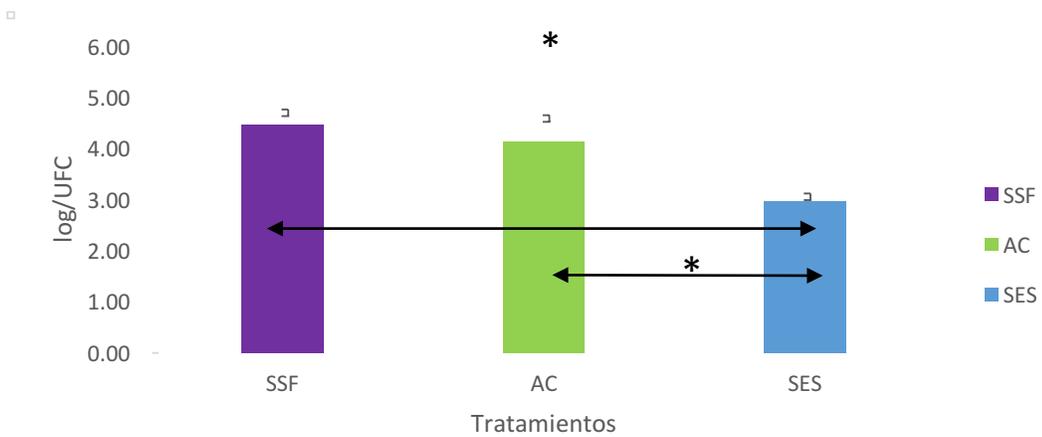


Figura 22. Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con *Salmonella*, tratados con SSF, AC o SES (réplica B), ( $p < 0.05$ ).

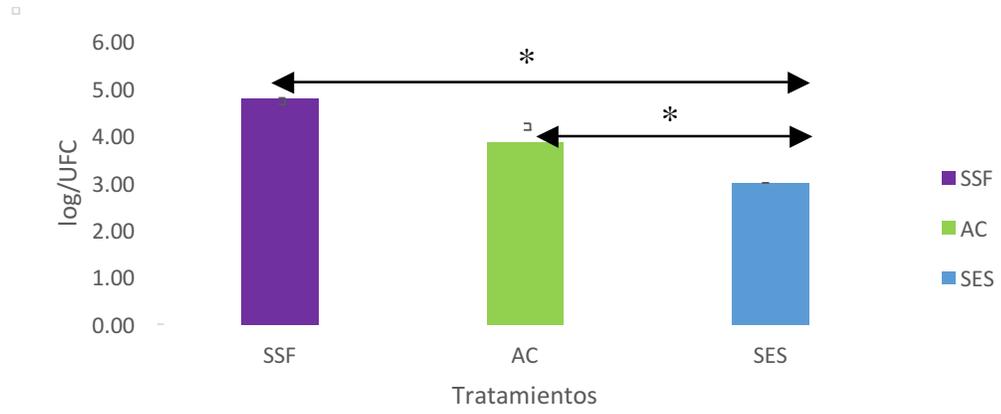


Figura 23. Títulos bacterianos obtenidos a partir de huevos embrionados contaminados con *Salmonella*, tratados con SSF, AC o SES (réplica C), ( $p < 0.05$ ).

## Porcentajes de reducción en el título de *Salmonella*

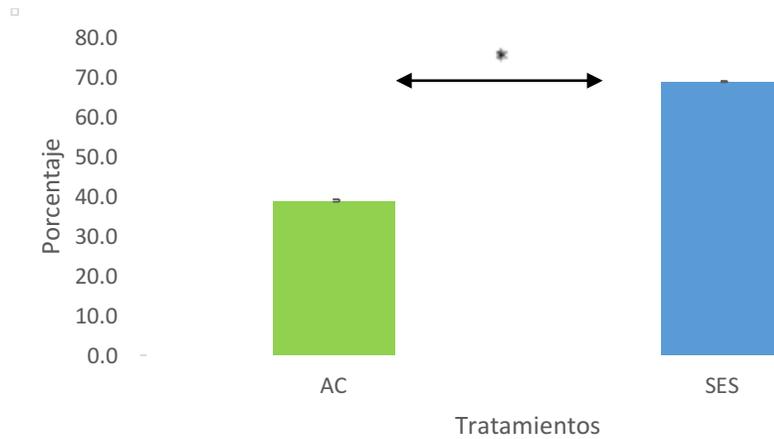


Figura 24. Porcentajes de reducción en el título de *Salmonella* posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica A). El porcentaje de reducción de *Salmonella* fue mayor en el grupo tratado con SES (68.80%) que en el grupo tratado con AC (38.80%), ( $p < 0.05$ ).

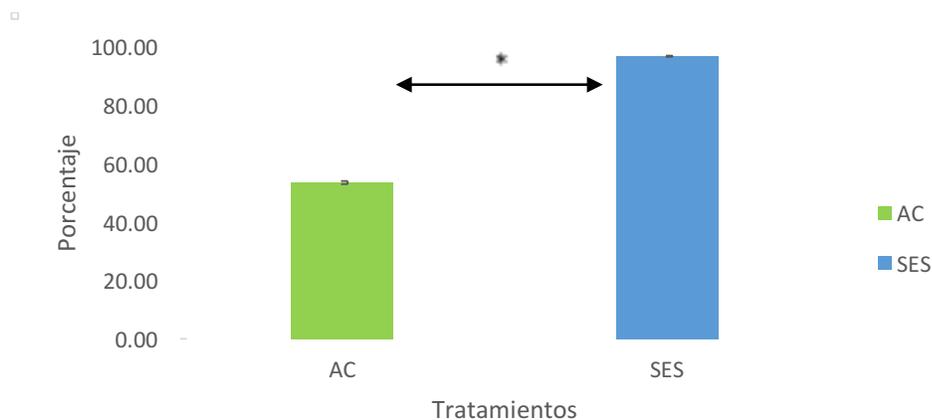


Figura 25. Porcentajes de reducción en el título de *Salmonella* posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica B). El porcentaje de reducción de *Salmonella* fue mayor en el grupo tratado con SES (96.86%) que en el grupo tratado con AC (53.58%), ( $p < 0.05$ ).

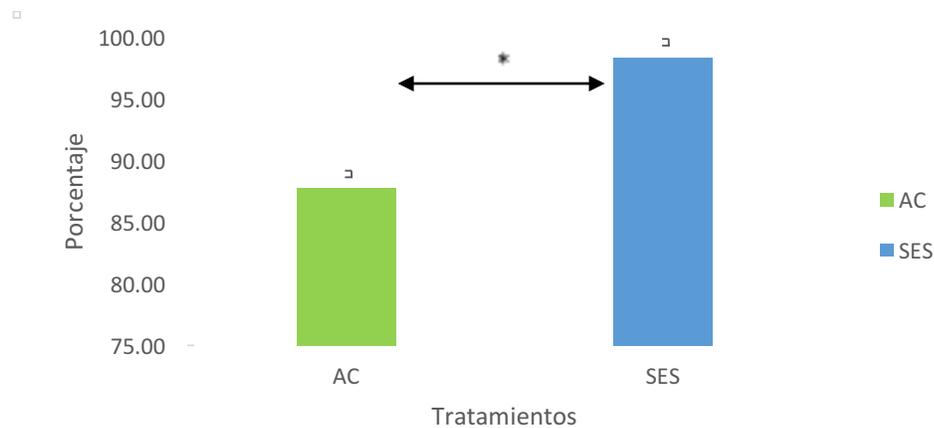


Figura 26. Porcentajes de reducción en el título de *Salmonella* posterior al tratamiento de los huevos embrionados con AC o SES (réplica C). El porcentaje de reducción de *Salmonella* fue mayor en el grupo tratado con SES (98.36%) que en el grupo tratado con AC (87.71%), ( $p < 0.05$ ).

Los resultados muestran que tanto el tratamiento con AC como el tratamiento con SES son eficaces para disminuir la carga bacteriana por *Salmonella* en la superficie del huevo, y que la SES es el desinfectante más efectivo de los dos, ya que permitió reducir el crecimiento en un 87.89% en promedio, mientras que el AC sólo lo redujo en un 61.31%. La diferencia promedio entre ambos desinfectantes para la eliminación de *Salmonella* fue del 26.58%.

### **Comparación de los porcentajes de reducción de *E. coli* y de *Salmonella***

La SES obtuvo un mayor porcentaje de reducción en el título de *E. coli* (99.99%) que en el de *Salmonella* (87.89%) al ser un 12.10% más efectiva contra *E. coli*. Así mismo, el AC obtuvo un mayor porcentaje de reducción en el caso de *Salmonella* (61.31%), que en el de *E. coli* (15.05%).

Al comparar los promedios de los porcentajes de reducción obtenidos para *E. coli* y *Salmonella*, se vuelve evidente que tanto el tratamiento con SES resultaron más efectivos en la eliminación de *E. coli* que en la de *Salmonella*; y que la SES tuvo un mejor

desempeño que el AC en todos los casos. Los resultados obtenidos en este experimento concuerdan con lo que se ha informado en otros estudios.

La SES es sumamente efectiva al utilizarla en alimentos como lechuga (Guentzel 2007), aguacate (Rodríguez 2011) y carne (Fabrizio 2002) al reducir en un 99.9% la carga bacteriana. Mediante este experimento se ha corroborado que su efecto contra estos patógenos es sumamente efectivo (Fasenko 2009), ya que en los resultados de los títulos bacterianos de las réplicas de *E. coli* y *Salmonella* el grupo tratado con SES fue el que tuvo el mejor comportamiento. Por ello se asegura que la SES funge como un buen desinfectante, ya que actúa contra proteínas de la pared y/o membrana celular, inhibe reacciones enzimáticas e inactiva ácidos nucleicos (Henaó 2003). Con esto se sugiere el uso de la SES en la rotación de desinfectante empleados en la industria avícola, al demostrar su efectividad contra dos de los patógenos más importantes a nivel mundial tanto en la producción avícola como en la producción agropecuaria en general. También podría utilizarse para la prevención de “huevos bomba” en las incubadoras ayudando así a aumentar la sobrevivencia de los embriones en la industria.

### **7.5.3 Evaluación de la SES con pH neutro en la integridad de la cutícula**

El valor de delta E permite medir de manera precisa las variaciones perceptibles entre un color y otro (diferencia total de color). Entre más grande es la variación de color, más se incrementa el valor de delta E. Esto permite inferir el grado de alteración de la cutícula del huevo después de su interacción con una solución. En otras palabras, el aumento de delta E es directamente proporcional al nivel de daño en la cutícula.

Se muestran los resultados de delta E en huevos para plato contaminados con *E. coli* o *Salmonella* que fueron tratados con SSF, AC o SES y posteriormente teñidos con azul de tripano. La evaluación estadística se llevó a cabo mediante la prueba de análisis de varianza.

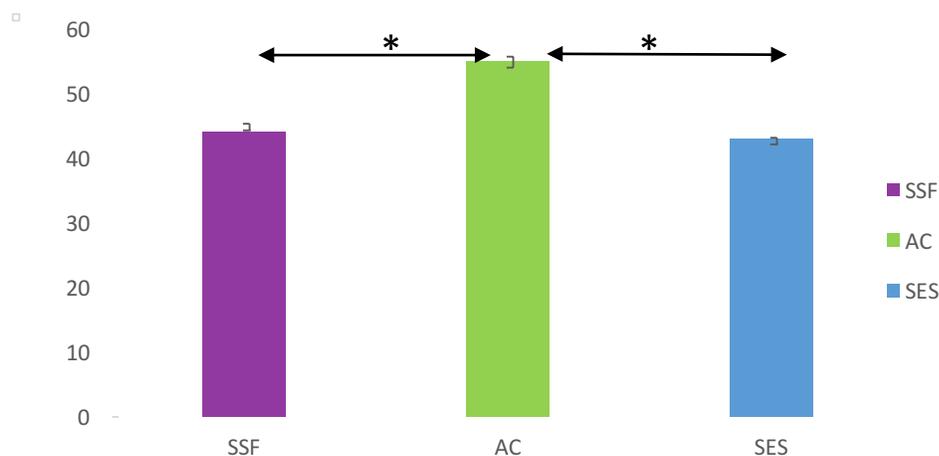


Figura 27. Delta E de huevos para plato contaminados con *E. coli* tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica A), ( $p < 0.05$ ).

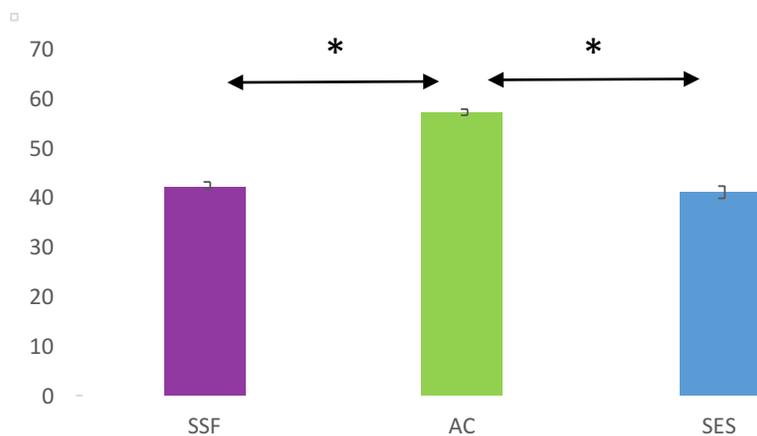


Figura 28. Delta E de huevos para plato contaminados con *E. coli* tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica B), ( $p < 0.05$ ).

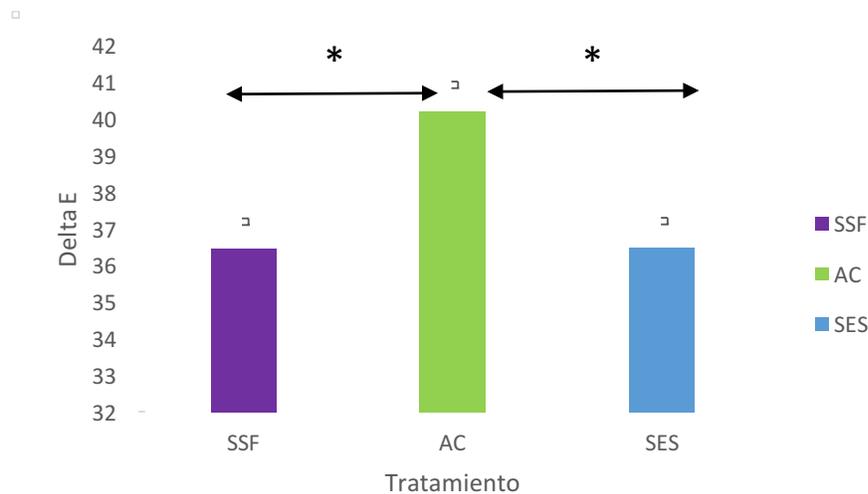


Figura 29. Delta E de huevos para plato contaminados con *Salmonella* tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica A), ( $p < 0.05$ ).

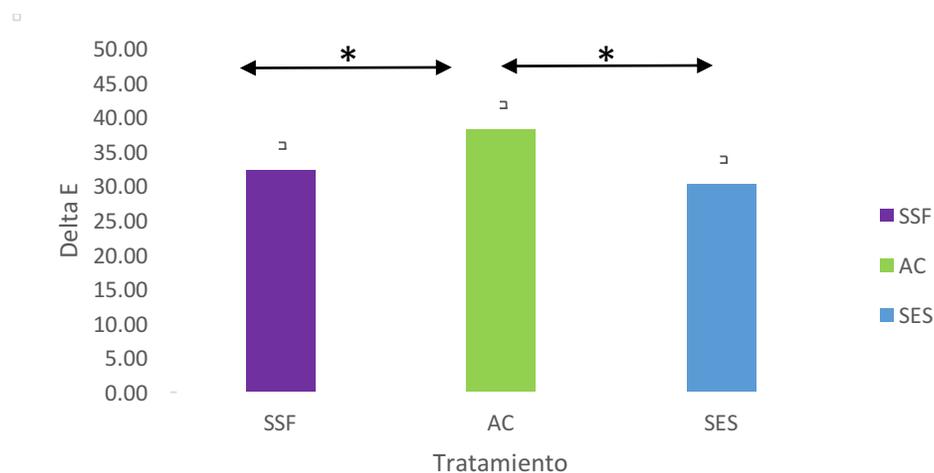


Figura 30. Delta E de huevos para plato contaminados con *Salmonella* tratados con SSF, AC o SES y teñidos con azul de tripano (réplica B), ( $p < 0.05$ ).

La cutícula está compuesta por polisacáridos, cristales de hidroxiapatita, lípidos y glicoproteínas como la ovoalbúmina (Pickman *et al.* 2003) y es importante en la defensa contra microorganismos al actuar como una barrera natural que es susceptible al deterioro mediante su disminución o remoción mecánica debido al lavado con desinfectantes, que

aumentan la posibilidad de una posterior contaminación y disminuyen la vida de anaquel de los huevos (Park *et al.* 2003). Se ha demostrado que el uso de ácido cítrico en la superficie del cascarón reduce la presencia de ovoalbúmina en la cutícula (Tomoaki Hagiwara *et al.* 2015) lo que ocasiona un daño que vuelve más poroso al cascarón debido a la interacción del ácido cítrico con las proteínas que la conforman la cutícula.

Cabe recalcar que la presencia de anomalías en el cascarón de los huevos potencializa la entrada de patógenos al interior del huevo (De Reu *et al.* 2008) y que con esto puede incrementarse el número de microorganismos que penetran el cascarón (Smith *et al.* 2000).

La diferencia total de color fue menor en los grupos tratados con SES y SSF lo que indica una mayor integridad de la cutícula evidenciada por una menor fijación del colorante en el cascarón. No hubo diferencia significativa entre los tratamientos con SSF y SES lo que indica que la SES no afecta al cascarón ya que tiene un comportamiento similar a los huevos que solamente fueron tratados con SSF.

Con los resultados obtenidos se concluye que el tratamiento de los huevos con ácido cítrico es el más dañino para el cascarón independientemente del agente bacteriano contaminante ya que el ácido cítrico presenta una mayor fijación al cascarón, modificando y dañando la cutícula. Debido a que en la literatura científica no se han descrito ensayos en los que se empleó una metodología con colorantes similares, se carece de parámetros para la comparación de los resultados obtenidos en este experimento. Por esta razón se enfatiza la necesidad de probar la SES en ensayos similares que den una mayor validez a los resultados mostrados en este trabajo.

#### 7.5.4 Sobrevida de los embriones

Para comparar la sobrevida de los embriones contaminados con *E. coli*, después de ser sometidos a los tratamientos, se empleó la prueba no paramétrica de logaritmo de rango cuyos resultados se muestran en el cuadro 1. La prueba consiste en comparar las muertes en grupos con números iguales contra las muertes esperadas y se evalúa el comportamiento a lo largo de todo el proceso.

Cuadro 1. Sobrevida de embriones contaminados con *E. coli*, tratados con SSF, AC o SES.

	Riesgo	P	DS*
<b>Control-AC</b>	5.39	7.8 E-27	Sí
<b>Control- SES</b>	5.23	1.9 E -26	Sí
<b>AC-SES</b>	0.97	0.00012	Sí

\*( $p < 0.05$ )

Existe 5.39 veces más probabilidad de muerte si se compara el grupo control con el grupo tratado con ácido cítrico, 5.23 si se compara el control con el grupo tratado con SES y 0.97 si se compara el grupo tratado con AC con respecto al grupo tratado con SES, lo que indica que existe un menor riesgo de mortalidad al utilizar la SES a dejar a los embriones sin desinfectar ayudando a prolongar las posibilidades de sobrevivir de los embriones.

Se construyó una gráfica de Función de riesgo con en el software SPSS para los huevos embrionados contaminados con *E. coli* (véase figura 35).

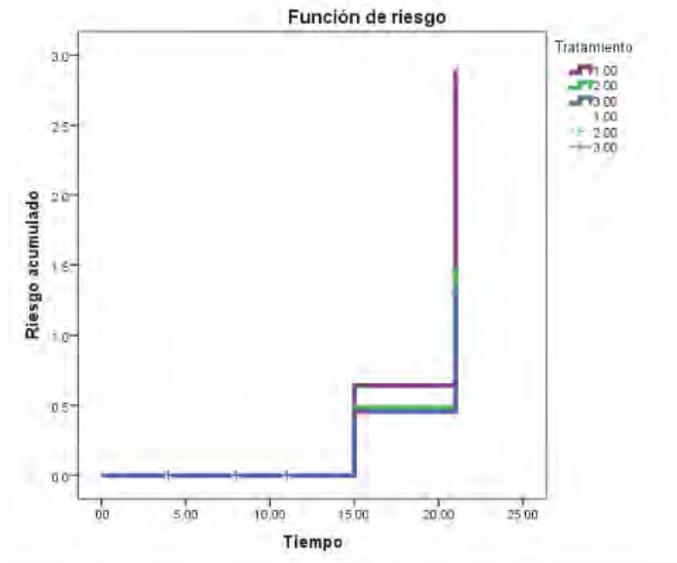


Figura 31. Sobrevida de embriones contaminados con *E. coli*, tratados con SSF, AC o SES.

Para comparar la sobrevida de los embriones contaminados con *Salmonella*, después de ser sometidos a los tratamientos, se empleó la prueba no paramétrica de logaritmo de rango. Los resultados se muestran en el cuadro 2.

Existe 1.38 veces más probabilidad de riesgo de muerte si se compara control con ácido cítrico, 1.35 si se compara control con SES y 0.87 si se compara Ac con SES lo que indica que existe un menor riesgo de mortalidad al comparar la SES con el AC al dejar a los embriones desinfectados con la SES que con el AC.

Cuadro 2. Sobrevida de embriones contaminados con *Salmonella*, tratados con SSF, AC o SES.

	Riesgo	P	DS*
<b>Control-AC</b>	1.38	0.1	Sí
<b>Control- SES</b>	1.35	0.1	Sí
<b>AC-SES</b>	0.82	0.02	Sí

\*(p<0.05)

Se construyó una gráfica de Función de riesgo con en el software SPSS para los huevos embrionados contaminados con *Salmonella* (véase figura 36).

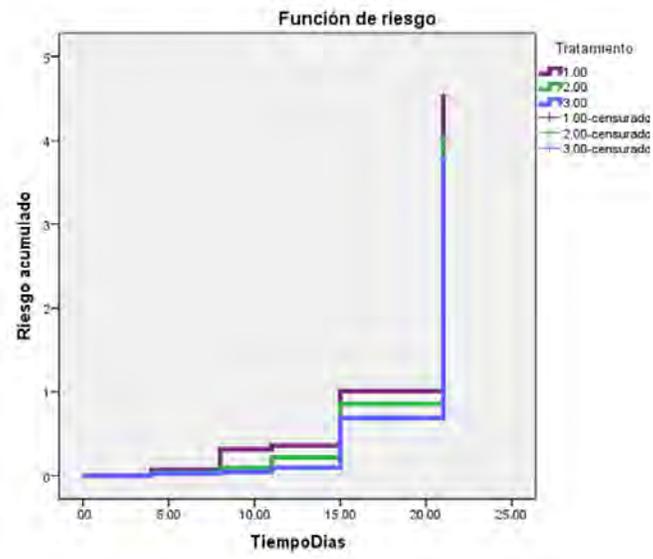


Figura 32. Sobrevida de embriones contaminados con *Salmonella*, tratados con SSF, AC o SES.

### 7.5.5 Unidades Haugh

A continuación, se muestran las gráficas de los huevos para plato contaminados con *E. coli*.

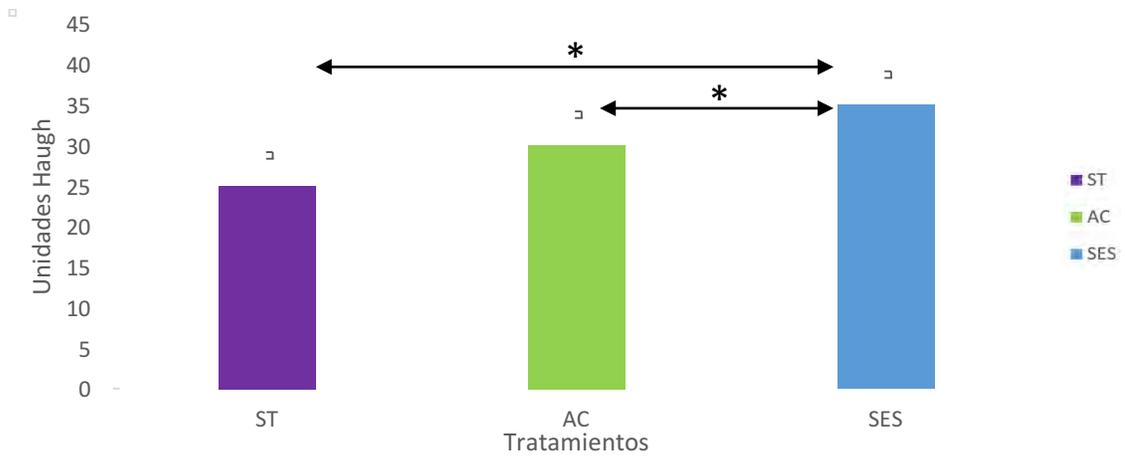


Figura 33. Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con *E. coli* y tratados con SSF, AC o SES (réplica A), ( $p < 0.05$ ).

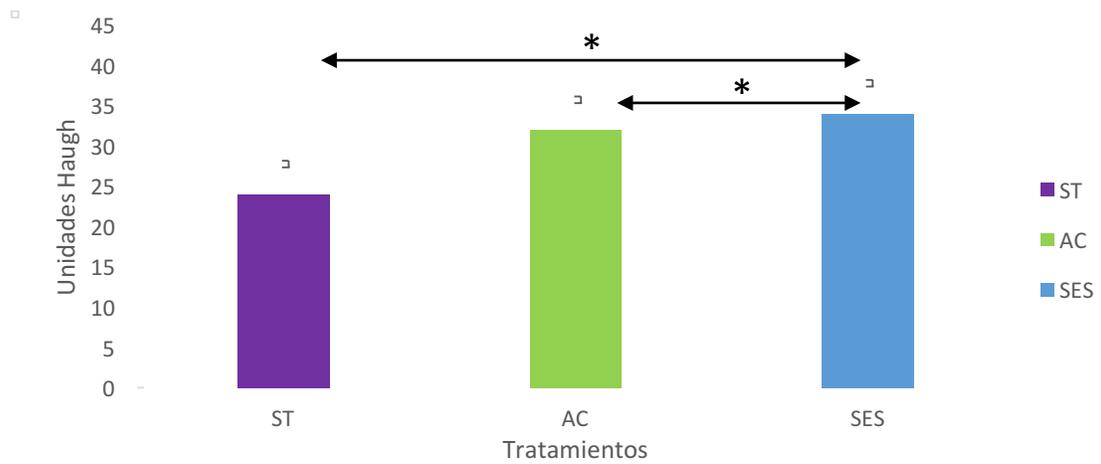


Figura 34. Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con *E. coli* y tratados con SSF, AC o SES (réplica B), ( $p < 0.05$ ).

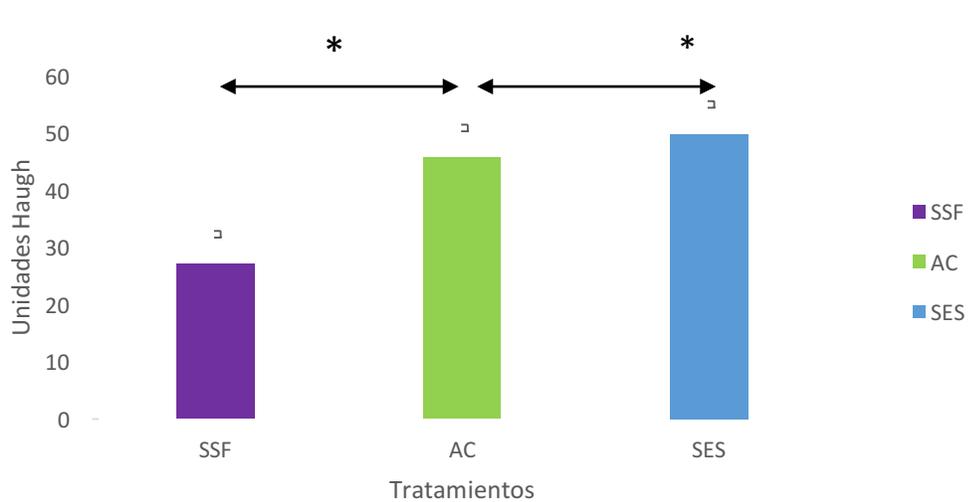


Figura 35. Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con *Salmonella* y tratados con SSF, AC o SES (réplica A), ( $p < 0.05$ ).

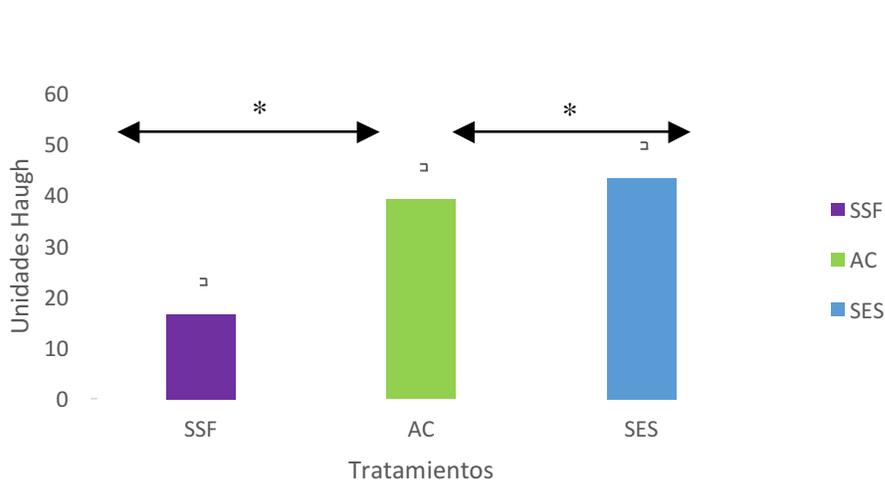


Figura 36. Unidades Haugh de huevos para plato contaminados con *E. coli* y tratados con SSF, AC o SES (réplica B), ( $p < 0.05$ ).

Las unidades Haugh, la densidad de la albúmina y el pH de la yema son modificados por el tiempo y temperatura de almacenamiento (Ahmadi y Rahimi 2011). Por ello estos parámetros son recomendables para determinar la calidad y la frescura del huevo (Huang *et al.* 2012). La preservación del huevo depende del tiempo y temperatura de almacenamiento (Yucer *et al.* 2014). Durante su acopio, los huevos son sometidos a cambios fisicoquímicos,

como la pérdida de agua y dióxido de carbono a través del cascarón, que reducen la humedad y aumentan el pH de la albúmina y yema (Samli *et al.* 2005). La migración del agua de la albúmina a través de la membrana vitelina debilitada, causa aplastamiento de la yema, mientras que la estructura de la albumina se deteriora (probablemente por cambios en el complejo lisosima-ovomicina) y eventualmente ocurre un adelgazamiento de la albumina (Ragni *et al.* 2007).

Se obtuvo un promedio de 55 UH para las réplicas de *E. coli* y de 56 UH para las réplicas de *Salmonella* en los huevos tratados con SES, teniendo una buena frescura de acuerdo con los parámetros mencionados en la literatura (>79 extra; 55-78 buena; 31-54 regular; <30 mala) (Ahmadi 2011) (véase figura 37). La SES puede usarse como una alternativa eficaz para preservar la frescura del huevo para plato ya que, las unidades Haugh y por ende la frescura del huevo se ven menos afectadas (Samli 2005).

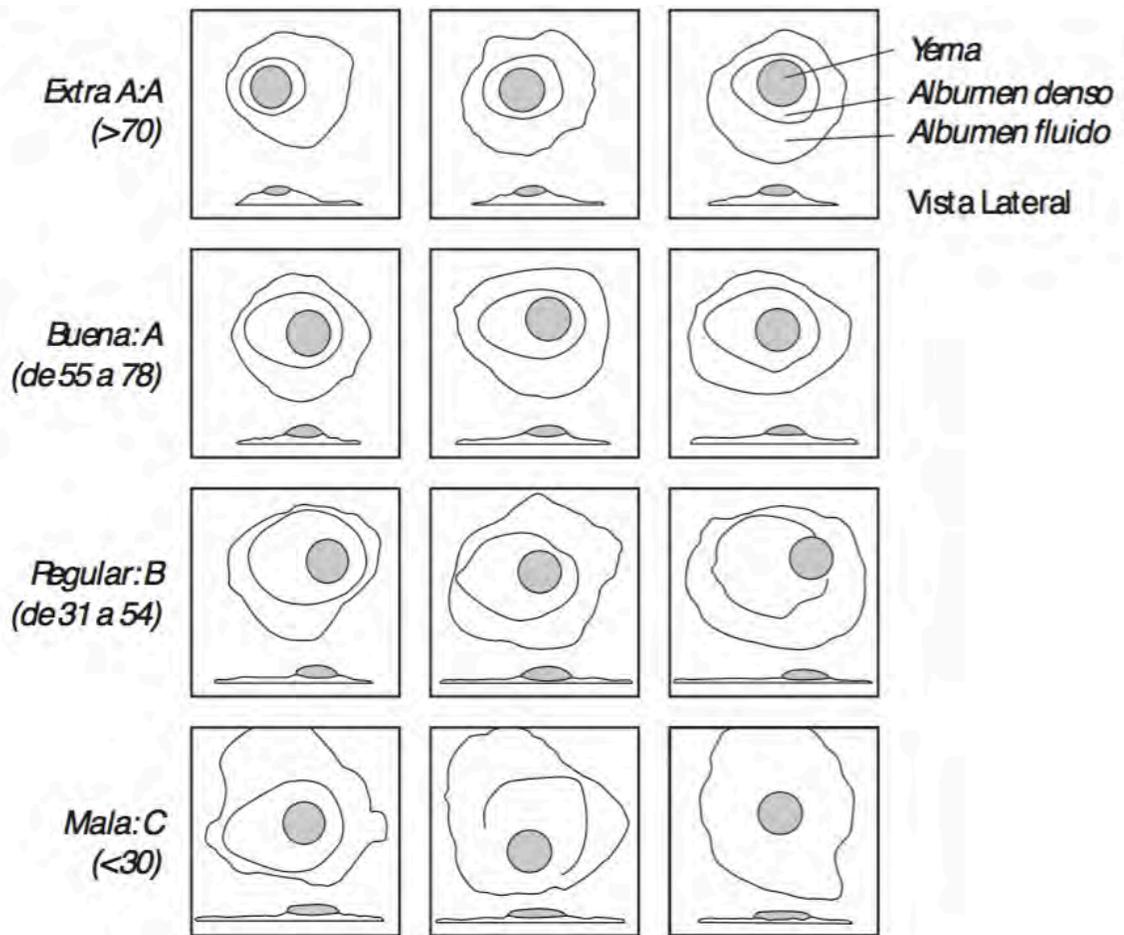


Figura 37. Clasificación de la frescura del huevo de acuerdo con las Unidades Haugh.  
Fuentes-Pérez 2002.

## 8. CONCLUSIONES

- La SES con pH neutro es un desinfectante eficaz contra *Salmonella enterica* debido a que su uso ocasionó una reducción bacteriana del 99.9% en el experimento *in vitro* mientras que el grupo tratado con ácido cítrico mostro una reducción del 27.26%.
- La SES con pH neutro es un desinfectante eficaz, debido a que su uso en huevos embrionados contaminados con *Salmonella enterica* ocasionó una reducción del 87.89% y el grupo tratado con ácido cítrico del 26.58%.
- La SES con pH neutro es un desinfectante eficaz contra *Escherichia coli* debido a que su uso ocasionó una reducción bacteriana del 99.9% en el experimento *in vitro* con respecto al grupo control y los tratados con ácido cítrico mostraron una reducción del 28.3%.
- La SES con pH neutro es un desinfectante eficaz debido a que su uso ocasionó una reducción bacteriana del 99.99% en huevos embrionados contaminados con *E. coli*, mientras que los huevos tratados con ácido cítrico mostraron una reducción del 15.6%.
- La SES puede emplearse como un producto eficaz para el huevo embrionado, ya que existe un menor riesgo de muerte al utilizar la SES en comparación con el grupo tratado con ácido cítrico y que el grupo tratado con SSF.
- La cutícula de los huevos tratados con SES se mantuvo mayor integridad en comparación con los tratados con ácido cítrico. Por lo que el uso del desinfectante puede considerarse como efectivo en la producción de huevo.

- Los huevos para plato tratados con SES preservan las características de calidad en mayor medida que los tratados con ácido cítrico o la SSF. Obteniendo en promedio a los 40 días de almacenamiento: 40.5 UH para los grupos tratados con SES, 36.75 UH para los grupos tratados con AC (9.3% menor calidad con respecto a la SES) y 23.25 UH para el grupo control (42.6% menor calidad con respecto al tratamiento con SES).

## 9. REFERENCIAS

- Abadias M *et al.* 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*.
- Afari GK, Hung YC, King CH. 2015. Efficacy of Neutral pH Electrolyzed Water in Reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium DT 104 on Fresh Produce Items using an Automated Washer at Simulated Food Service Conditions. *Journal of Food Science*.
- Ahmadi, F, & Rahimi F. 2011. Factors Affecting Quality and Quantity of Egg Production in Laying Hens: A Review. *World Applied Sciences Journal*. 12(3), 372-384.
- Alakomi HL *et al.* 2000. Lactic acid permeabilizes Gram negative bacteria by disrupting the outer membrane. *App Environ Microbiologic*.
- Arii J, Tanabe Y, Miyake M, Mukai T, Matsuzaki M, Niinomi N, Watanabe H, Yokota Y, Kohno Y, Noda M. 2002. Clinical and pathologic characteristics of nontyphoidal salmonella encephalopathy. *Neurology*. 58(11):1641-1645.
- Bakowski MA, Braun V, Brumell JH. 2008. Salmonella-containing vacuoles: directing traffic and nesting to grow. *Traffic*. 9:2022-2031.
- Bhan MK, Bahl R, Bhatnagar S. 2005. Typhoid and paratyphoid fever. *Lancet*. 366(2):749-762.
- Bhattacharya SK, Agtini MD, Bhutta ZA, Canh do G, Ali M, Shin S, *et al.* 2008. A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for

controls. Bulletin of the World Health Organization. 86:260-268.

- Bialka KL, Demirci A, Kanabel SJ, Patterson PH, Puri VM. 2004. Efficacy of Electrolyzed Oxidizing Water for the Microbial Safety and Quality of Eggs. Poultry Science. 83:2071-2078.
- Blount DZ. 2015. The unexhausted potencial of *E. coli*. eLife 4.
- Braden C. 2006. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs. A National Epidemic in the United States. Oxford Journals. Vol. 43:512-517.
- Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. 2000. Salmonella nomenclature. J Clin Microbiol. 38:2465-2467.
- Cabello-Gutiérrez CO, Rosete DP, Zavala-Manjarrez ME. 2009. Efecto de una Solución Electrolizada de superoxidación con pH neutro sobre la infección del virus de influenza A en células MDCK. Revista Nacional de Enfermedades Respiratorias México. 280-287.
- Centers for Disease Control and Prevention [actualización: 25 abr 2011]. Estimaciones sobre enfermedades transmitidas por alimentos en los EE. UU. en el 2011. <https://www.cdc.gov/spanish/Datos/EnfermedadesAlimentos/> [consulta: 26 Nov 2016].
- Centers for Disease Control and Prevention [actualización: 28 jul 2016]. Estimates of Foodborne Illness in the United States. Atlanta, Georgia, USA. <http://www.cdc.gov/foodborneburden/attribution-1998-2008.html> [consulta: 12 ago 2016].
- Centers for Disease Control and Prevention. 2015. Morbidity and Mortality Weekly Report. Vol. 64. No. 43.

- Connor BA, Schwartz E. 2005. Typhoid and paratyphoid fever in travellers. *The Lancet Infectious Diseases*. 5:623–628
- Crump JA, Kretsinger K, Gay K, Hoekstra RM, Vugia DJ, Hurd S, Segler SD, Megginson M, Luedeman LJ, Shiferaw B, *et al.* 2008. Clinical response and outcome of infection with *Salmonella enterica* serotype Typhi with decreased susceptibility to fluoroquinolones: a United States foodnet multicenter retrospective cohort study. *Antimicrob Agents Chemother*. 52:1278-1284.
- Chacana P, Terzolo H. 2003. Revisión sobre Pullorosis y Tifosis Aviar; Nuevos enfoques para viejos conceptos. *Revista de Medicina Veterinaria*. 84 (1):14-20.
- Chiu CH, Wu TL, Su LH, Chu C, Chia JH, Kuo AJ, Chien MS, Lin TY. 2002. The emergence in Taiwan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis. *The New England Journal of Medicine*. 346:413-419.
- Davidson P.M., Taylor TM. 2001. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Washington, DC. American Society for Microbiology. 593-627 p.
- Deeming DC, Ferguson MW. 2004. Egg incubation: its effects on embryonic development in birds and reptiles. Cambridge, UK. Cambridge University Press.
- Dho-Moulin M, Fairbrother JM. 1999. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary Research*. BioMed Central, 3:299-316.
- Durán-Vega HC. 2010. Soluciones de Superoxidación y su evolución tecnológica. *Dol Foro Nal de Invest Clín Méd.* (7) 3: 3-7.
- Eng S. *et al.* 2015. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science* 8:3, 284-293.

- Espinosa-Argüelles A *et al.* 2010. Seroprevalence of antibodies against *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Gallinarum in wild doves (*Zenaida asiatica* and *Zenaida macroura*) from the Northeast of Mexico. Preventive Veterinary Medicine 93:77-79.
- Fabrizio KA, Sharma RR, Demirci A, Cutter CN. 2002. Comparison of Electrolyzed Oxidizing Water with various Antimicrobial Interventions to Reduce Salmonella Species on Poultry. Poultry Science 81:1598-1605.
- FAOSTAT (actualización: 2015). EUA: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Fasenko G.M. O’Dea CEE, McMullen LM. 2009. Spraying hatching eggs with electrolyzed oxidizing water reduces eggshell microbial load without compromising broiler production parameters. Poultry Science. 88:1121-1127.
- Financiera Nacional de Desarrollo. 2014. Panorama de Productos de Ave. SHCP.
- Fuentes-Pérez P. 2002 Lecciones sobre el huevo: Calidad interna del huevo y su conservación. 1ª ed. Madrid, España. Instituto de Estudios del Huevo.
- Gast RK, Nolan HJ *et al.* 2013. Diseases of Poultry: Bacterial diseases. 13<sup>th</sup> ed. USA. Wiley-Blackwell.
- Grassl GA, Finlay BB. 2008. Pathogenesis of enteric *Salmonella* infections. Current Opinion in Gastroenterology. 24:22–26.
- Guentzel LJ *et al.* 2007. Reduction of bacteria on spinach, lettuce and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. Food Microbiology 36-41.

- Hagiwara T *et al.* 2015. Pretreatment with citric acid or a mixture of nitric acid and citric acid to suppress egg white protein deposit formation on stainless steel surfaces and to ease its removal during cleaning. *Food Control*. 53:35-40.
- Harris K, Miller MF, Loneragan GH, Brashears MM. 2005. Validation of the use of Organic Acids and Acidified Sodium Chlorite to Reduce *Escherichia coli*. 0157 and *Salmonella* Typhimurium in Beef Trim and Ground Beef in Simulated Processing Environment. 2005. *Journal of Food Protection* 69 (8) 1802-1807.
- Henao-Riveros SC, Sierra-Parada CR, Gaitán-Álvarez JA. 2003. Actividad bactericida del ácido hipocloroso. *Revista Facultad de Medicina* 51(3):136-142
- Hohmann EL. 2001. Nontyphoidal salmonellosis. *Clinical Infectious Disease*. 15(32):263–269.  
<http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/es/c/284415/>  
[consulta: 24 abril 2016].
- Hu L, Kopecko DJ. 2003. International handbook of foodborne pathogens: Typhoid Salmonella. New York. Marcel Dekker, Inc. 151-165 p.
- Huang *et al.* 2012. Estimation of egg freshness using S-ovalbumin as an indicator. *Poultry Science*. 91, 739–743.
- Hyeon JY *et al.* 2011. Prevalence, antibiotic resistance, and molecular characterization of *Salmonella* serovars in retail meat products. *J Food Prot*. 74:161–166.
- Issa-Zacharia A *et al.* 2010. *In vitro* inactivation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. using slightly acidic electrolyzed water. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 110. No. 3:308-313.

- Juárez-Estrada MA. 2014. Embrodiagnóstico. Evaluación causística del fracaso en el desarrollo embrionario durante el proceso de Incubación. Parte 1. Los Avicultores y su entorno. N° 84.
- Kabir Lutful S.M. 2009. Avian Colibacillosis and Salmmonellosis: A closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. International Journal of Environment Research and Public Health. 1660-4601.
- Kindt TJ *et al.* 2007. Inmunología de Kuby. 6<sup>a</sup> Ed. España McGraw-Hill Interamericana.
- Kuvandik C, Karaoglan I, Namiduru M, Baydar I. 2009. Predictive value of clinical and laboratory findings in the diagnosis of the enteric fever. The New Microbiologica. 32: 25-30.
- Laury AM, Alvarado MV, Nace G, Alvarado CZ, Brooks JC, Echeverry A, Brashears MM. 2009. Validation of a lactic acid and citric acid based antimicrobial product for the reduction of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella* on beef tips and whole chicken carcasses. Journal of Food Protection 72 (10) 2208-2211.
- Lim JY, Yoon J, Hovde CJ. 2010. A brief overview of *Escherichia coli* 0157:H7 and it's plasmid 0157. J. Microbiol Biotechnol. 20 (1): 5-14.
- Marcus R. *et al.* 2007. Reassessment of risk factor for sporadic *Salmonella* serotype Enteritidis infections: a case-control study in five Food Net Sites, 2002-2003. Epidemiology Infections 135: 84-92.
- Martin A, Beutin. 2011. Characteristic of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from meat and milk products of different origins and association with food

producing animals as main contamination sources. *International Journal of Food Microbiology*. 146:99-104.

- McQuiston JR, Fields PI, Tauxe RV, Logsdon JM. 2008. Do *Salmonella* carry spare tyres? *Trends in Microbiology*. 16:142–148.
- Mead PS. *et al.* 1999. Food related illness and death in the United States. *Emerging Infections Disease*. 5: 607-625.
- Meireles A, Giaouris E, Simoes M. 2016. Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh cut industry. *Food Research International*. 82:71-85.
- Monack DM, Mueller A, Falkow S. 2004. Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nat Rev Microbiol*. 2:747–765.
- Montville TJ, Matthews KR. 2008. *Food microbiology: an introduction*. 2nd ed. Washington, USA: ASM Press.
- Munther D *et al.* 2016. Modeling cross contamination during poultry processing, Dynamics in the chiller tank. *Food control* 59:271-281.
- Muñoz A *et al.* 2015. Importance of eggshell cuticle composition and maturity for avoiding trans-shell *Salmonella* contamination in chicken eggs. *Food control* 55: 31-38.
- Mussaret BZ, López-Macías C, Calva E. 2006. Estudios mexicanos sobre *Salmonella*: epidemiología, vacunas y biología molecular. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. Vol. 48 N° 2, pp. 121-125.
- Nachón-García FJ *et al.* 2008. Esterilización por inmersión. Estudio comparativo entre glutaraldehído al 2%, agua electrolizada superoxidada con pH neutro y

solución electrolizada por selectividad iónica con pH neutro. Revista Médica. U.V.3.:1-6.

- NMX-BB-040-SCFI-1999, Métodos generales de Análisis-Determinación de la Actividad Antimicrobiana en Productos Germicidas.
- NOM-047-ZOO-1995, Requisitos Mínimos para las Vacunas, Bacterinas y Antígenos Empleados en la Prevención y Control de la Salmonelosis Aviar.
- NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.
- NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en Placa.
- NOM-114-SSA-1994, Bienes y Servicios. Método para la Determinación de Salmonella en Alimentos.
- NOM-159-SSA1-1996, Bienes y Servicios. Huevo, Sus Productos y Derivados. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias.
- Ochiai RL *et al.* 2008. A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for controls. Bulletin of the World Health Organization. 86:260–268.
- Ohl ME, Miller SI. 2001. *Salmonella*: A model for Bacterial Pathogenesis. Department of Medicine. 52:259–74
- Park YS *et al.* 2003. Effects of various eggshell treatments on the egg quality during storage. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 16(8), 1224–1229.
- Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. 2002. Typhoid fever. The New England Journal of Medicine. 347:1770–1782.
- Patel TA, Armstrong M, Morris-Jones SD, Wright SG, Doherty T. 2010. Imported

enteric fever: case series from the hospital for tropical diseases, London, United Kingdom. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 82:1121–1126.

- Plano CM, Di Mateo AM. 2014. *Atlas de Patología de la incubación del pollo*. Primera Edición. Buenos Aires, Argentina. Gazlop editoras. 119 pp.
- Pouilliot R. *et al.* 2014. Assessment of the risk of salmonellosis from internally contaminated shell eggs following initial storage at 18 °C (65 °F) compared with 7°C (45°F). *Food Microbiology*. 43:16-19.
- Ragni L, Al-Shami A, Mikhaylenko G, Tang J. 2007. Dielectric characterization of hen eggs during storage. *Journal of Food Engineering*. 82, 450–459.
- Raspoet R. *et al.* 2011. *Internal Contamination of eggs by Salmonella Enteritidis*. Woodhead Publishing Limited. 61 p.
- Ray A *et al.* 2015. Eggshell penetration by *Salmonella* Typhimurium in table eggs: Examination of underlying eggshell structures by micro computed tomography and scanning electron microscopy. *Food Research International*. 7 p.
- Samli HE *et al.* 2005. Effects of storage time and temperature on egg quality in old laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 14, 548–553.
- Scallan E *et al.* 2011. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. 17:7–15.
- Shane AL *et al.* 2002. Foodborne disease in our global village: a multinational investigation of an outbreak of *Salmonella* serotype Enteritidis, phage type 4 infection in Puerto Vallarta, Mexico. *International Journal of Infectious Diseases*.6: 98-102.

- Sheorey H, Darby J. 2008. Searching for *Salmonella*. Australian Family Physician. 37:806–810.
- Shu-Kee Eng *et al.* 2015. *Salmonella*: A review pathogenesis, epidemiology and resistance. Frontiers in Life Science. Vol. 8: 284-293.
- Suresh AAM *et al.* 2006. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* enteritidis and other salmonellas in the eggs and egg-storing trays from retail markets of Coimbatore, South India. Food Microbiology 23, 294-299.
- Taberero-de-Paz MJ *et al.* 2013. Agua electrolizada como higienizante y producción animal. Efectos en sanidad y productividad. Valladolid. España, Instituto Tecnológico Agrario Subdirección de Investigación y Tecnología. 61: 13-23.
- Takaya A *et al.* 2003. Lon, a stress-induced ATP- dependent protease, is critically important for systemic *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection of mice. Infect Immun. 71:690–696.
- Tanaka H *et al.* 1995. Antimicrobial activity of superoxidized water. Journal of Hospital Infection 34: 43-49.
- The Center for Food Security and Public Health. 2010. Tifosis aviar y Pullorosis. Iowa State University.
- Thielman NM, Guerrant RL. 2004. Acute infectious diarrhea. The New England Journal of Medicine. 350:38–47.
- Tullett S. 2010. Investigación de las prácticas de producción. Ross Tech.

- UNA (actualización: 26 jun 2016) México: Unión Nacional de Avicultores. <http://www.una.org.mx/index.php/component/content/article/2-uncategorised/19-indicadores-economicos> (consulta: 30 jun 2016).
- Upadhaya Indu. 2015. In-Feed Supplementation of *trans*-Cinnamaldehyde Reduces Layer-Chicken Egg-Borne Transmission of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Applied and Environmental Microbiology*. 81:2985-2994.
- Wattiau P, Boland C, Bertrand S. 2011. Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: gold standards and alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*. 77:7877–7885.
- Woods DF *et al.* 2008. Rapid multiplex PCR and real-time TaqMan PCR assays for detection of *Salmonella enterica* and the highly virulent serovars Choleraesuis and Paratyphi C. *J Clin Microbiol*. 46:4018–4022.
- Yoke-Kqueen C *et al.* 2008. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* Subsp. *enterica* isolated from indigenous vegetables and poultry in Malaysia. *Lett Appl Microbiol*. 46:318–324.
- Yuceer M, Caner C. 2014. Antimicrobial lysozyme-chitosan coatings affect functional properties and shelf life of chicken eggs during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 153–162.
- Zhao T, Zhao P, Doyle PM. 2008. Inactivation of *Salmonella* and *Escherichia coli* 0157: H7 on Lettuce and Poultry Skin by Combinations of Leuulinic Acid Sodium Dodecyl Sulfate. *Journal of Food Protection* 72 (5) 928-936.

## **ANEXOS**

# Anexo 1

OFICINA  
7 NORTE 416  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 3803840  
FAX: (238) 3803842



HUEVOS ALPES II

LABORATORIO  
INVESTIGACIÓN APLICADA  
S.A. DE C.V.  
7 NORTE 602  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 383-52-04

## RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD

PARVADA ALBOCH-I-26

MUESTREO MAS RECIENTE 23-abr-15

FECHA DE NACIMIENTO 04-jul-14

AGENTE	CEPA	ENSAYO
SINDROME DE BAJA POSTURA	McFerran	HI
LEUCOSIS LINFOIDE	A,B,C,D,E	ELISA
MYCOPLASMA SINOVIAE	Comercial	PCR
MYCOPLASMA GALLISEPTICUM	Comercial	ARP
SALMONELLA PUL-GALL	Comercial	ARP
BRONQUITIS INFECCIOSA	MASS	ELISA (MG)
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE	SOTA	HI (MG)
INFLUENZA AVIAR		AISLAMIENTO VIRAL

TITULO / RESULTADO	MUESTREO
(-)	23-abr-15
MG. 4230	23-abr-15
MG. 604	17-abr-15
(-)	20-feb-15

ARP = Aglutinación Rápida en Placa  
ELISA = Inmuno Ensayo Enzimático  
HI = Inhibición de la Hemoaglutinación  
PCR = Reacción de Polimerasa en Cadena

\* Investigación Aplicada, S.A. de C.V.  
Laboratorio Auxiliar de Certificación, Licencia Zootécnica 02659  
ante la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos  
(exp.4410)

*Mónica Vergara*

MVZ MÓNICA VERGARA LLERENA  
GERENTE DE VENTAS Y SERVICIO TÉCNICO

06-may-15  
FECHA

Cliente:	UNAM, DEPTO. MICROBIOLOGÍA, DR. JOSÉ A. CANO
Cantidad entregada:	90
Producto:	Embrión ALPES II, 9 días
Fecha de Entrega:	18 de mayo de 2015

OFICINA  
7 NORTE 416  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 3803840  
FAX: (238) 3803842



HUEVOS ALPES II

LABORATORIO  
INVESTIGACION APLICADA  
S.A. DE C.V.  
7 NORTE 902  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 383-62-04

RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD

PARVADA ALBOCH-I-26 MUESTREO MAS RECIENTE 23-abr-15 FECHA DE NACIMIENTO 04-jul-14

AGENTE	CEPA	ENSAYO
SINDROME DE BAJA POSTURA	McFerran	HI
LEUCOSIS LINFOIDE	A,B,C,D,E,	ELISA
MYCOPLASMA SINOVIAE	Comercial	PCR
MYCOPLASMA GALLISEPTICUM	Comercial	ARP
SALMONELLA PUL-GALL	Comercial	ARP
BRONQUITIS INFECCIOSA	MASS	ELISA (MG)
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE	SOTA	HI (MG)
INFLUENZA AVIAR		AI SLAMIENTO VIRAL

TITULO / RESULTADO	MUESTREO
(-)	23-abr-15
MG. 4230	23-abr-15
MG. 604	17-abr-15
(-)	20-feb-15

ARP = Aglutinación Rápida en Placa  
ELISA = Inmuno Ensayo Enzimático  
HI = Inhibición de la Hemoaglutinación  
PCR = Reacción de Polimerasa en Cadena

\* Investigación Aplicada, S.A. de C.V.  
Laboratorio Auxiliar de Constatación, Licencia Zoosanitaria 02659  
ante la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos  
(esp.6410)

*Mónica Vergara*

MVZ MONICA VERGARA LLERENA  
GERENTE DE VENTAS Y SERVICIO TÉCNICO

05-may-15  
FECHA

Cliente: UNAM, DEPTO. MICROBIOLOGÍA, DR. JOSÉ A. CANO  
Cantidad entregada: 200  
Producto: Embrión ALPES II, 4 días  
Fecha de Entrega: 18 de mayo de 2015

OFICINA  
7 NORTE 416  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 3803840  
FAX: (238) 3803842



HUEVOS ALPES II

RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD

LABORATORIO  
INVESTIGACION APLICADA  
S.A. DE C.V.  
7 NORTE 602  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 383-52-04

PARVADA ALBOCH-I-26 MUESTREO MAS RECIENTE 23-abr-15 FECHA DE NACIMIENTO 04-jul-14

AGENTE	CEPA	ENSAYO
SINDROME DE BAJA POSTURA	McFerran	HI
LEUCOSIS LINFOIDE	A,B,C,D,E	ELISA
MYCOPLASMA SINOVIAE	Comercial	PCR
MYCOPLASMA GALLISEPTICUM	Comercial	ARP
SALMONELLA PUL-GALL	Comercial	ARP
BRONQUITIS INFECCIOSA	MASS	ELISA (MG)
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE	SOTA	HI (MG)
INFLUENZA AVIAR		AISLAMIENTO VIRAL

TITULO / RESULTADO	MUESTREO
(-)	23-abr-15
MG. 4230	23-abr-15
MG. 604	17-abr-15
(-)	20-feb-15

ARP = Aglutinación Rápida en Placa  
ELISA = Inmuno Ensayo Enzimático  
HI = Inhibición de la Hemoaglutinación  
PCR = Reacción de Polimerasa en Cadena

\* Investigación Aplicada, S.A. de C.V.  
Laboratorio Auxiliar de Constatación, Licencia Zootécnica 02659  
ante la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos  
(exp.6410)

*Mónica Vergara*

MVZ MÓNICA VERGARA LLERENA  
GERENTE DE VENTAS Y SERVICIO TÉCNICO

09-may-15  
FECHA

Cliente: UNAM, DEPTO. MICROBIOLOGÍA, DR. JOSÉ A. CANO  
Cantidad entregada: 200  
Producto: Embrión ALPES II, 4 días  
Fecha de Entrega: 11 de mayo de 2015

OFICINA  
7 NORTE 418  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 3803840  
FAX: (238) 3803842



HUEVOS ALPES II

RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD

LABORATORIO  
INVESTIGACION APLICADA  
S.A. DE C.V.  
7 NORTE 602  
TEHUACAN, PUE.  
MEXICO  
TEL: (238) 383-52-04

PARVADA ALBOCH-I-26 MUESTREO MAS RECIENTE 21-may-15 FECHA DE NACIMIENTO 04-jul-14

AGENTE	CEPA	ENSAYO
SINDROME DE BAJA POSTURA	McFerran	HI
LEUCOSIS LINFOIDE	A,B,C,D,E,	ELISA
MYCOPLASMA SINOVIAE	Comercial	PCR
MYCOPLASMA GALLISEPTICUM	Comercial	ARP
SALMONELLA PUL-GALL	Comercial	ARP
BRONQUITIS INFECCIOSA	MASS	ELISA (MG)
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE	SOTA	HI (MG)
INFLUENZA AVIAR		AI SLAMIEN TO VIRAL

TITULO / RESULTADO	MUESTREO
(-)	23-abr-15
(-)	23-abr-15
(-)	23-abr-15
(-)	21-may-15
(-)	23-abr-15
MG, 4441	23-abr-15
MG, 604	17-abr-15
(-)	20-feb-15

ARP = Aglutinación Rápida en Placa  
ELISA = Inmuno Ensayo Enzimático  
HI = Inhibición de la Hemoaglutinación  
PCR = Reacción de Polimerasa en Cadena

Investigación Aplicada, S.A. de C.V.  
Laboratorio Auxiliar de Certificación. Licencia Zoosanitaria 02659  
ante la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos  
(exp.6410)

MVZ JOSÉ MARÍA PÉREZ CAMPOS GONZALEZ  
GERENTE DE PRODUCCIÓN

05-jun-15  
FECHA

Cliente:	UNAM, DEPTO. MICROBIOLOGÍA, DR. JOSÉ A. CANO
Cantidad entregada:	200
Producto:	Embrión ALPES II, 4 días
Fecha de Entrega:	15 de junio de 2015

## Anexo 2

### LABORATORIO BIOTEST

Nº de cliente: 7277

### Informe de examen

Editado 20-feb-2013 07:09 CST

Equipo Nº:

Editado por: areyes

Nombre del paciente:

Nº paciente:

Examen: Cepario-1

Bionúmero: 0405610440422611

Organismo seleccionado: Escherichia coli

Comentarios:	Cepario ATCC 11229

Información de identificación	Tarjeta: GN	Nº de lote: 241244240	Fecha caduc.: 21-ago-2013 12:00 CST
	Finalizado: 12-feb-2013 14:14 CST	Estado: Final	Tiempo de análisis: 4,00 horas
Organismo seleccionado	99% Probabilidad Escherichia coli		Nivel de confianza: Identificación excelente
Organismo SRF	Bionúmero: 0405610440422611		
Organismos de análisis y pruebas a separar:			
Mensajes análisis:			
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s)			

Detalles bioquímicos																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	SKG	-
40	dLATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	LATa	-			

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 04.02  
 Guía de interpretación de CMI:  
 Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:  
 Última modificación de parámetros de AES:

LABORATORIO BIOTEST

Nº de cliente: 7277  
Equipo N°:

Informe de examen

Editado 11-sep-2015 08:24 CST  
Editado por: AREYES

Nombre del paciente: CEPARIO GENERAL  
Examen: CEPARIO-5-1

Nº paciente: C-15

Bionúmero: 0015610541566210  
Organismo seleccionado: Salmonella ser.Typhimurium

<b>Comentarios:</b>	

<b>Información de identificación</b>	Tarjeta: GN	Nº de lote: 241324640	Fecha caduc.: 03-nov-2015 12:00 CST
	Finalizado: 01-jun-2015 18:43 CST	Estado: Final	Tiempo de análisis: 6,00 horas
<b>Organismo seleccionado</b>	99% Probabilidad	Salmonella ser.Typhimurium	
	Bionúmero: 0015610541566210	Nivel de confianza:	Identificación excelente
<b>Organismo SRF</b>			
<b>Organismos de análisis y pruebas a separar:</b>			
Salmonella group			
Salmonella spp			
Salmonella ser.Paratyphi B			
Salmonella ser.Typhimurium			
Salmonella ser.Paratyphi C			
Salmonella ser.Enteritidis			
Salmonella enterica ssp enterica			
<b>Mensajes análisis:</b>			
Confirmar mediante pruebas serológicas			
<b>Perfil(es) típico(s) contraindicante(s)</b>			

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 04.02  
Guía de interpretación de CMI:  
Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:  
Última modificación de parámetros de AES:

## Anexo 3

### Medios y Soluciones

#### Ácido cítrico al 2%

- Ácido cítrico (Baker Analyzed®, E.U.A, 0110)
  - Agua destilada
1. Se pesan 20 gramos de ácido cítrico.
  2. Se mide un litro de agua destilada.
  3. Se mezcla adecuadamente.
  4. Se esteriliza a 121°C, 15 libras, 15 minutos.

#### Agar *Salmonella* – *Shigella*

- Caldo *Salmonella Shigella* (Bioxon®, México, Cat.)
  - Agar Bacteriológico (Bioxon®, México, Cat. 215000)
  - Agua destilada
1. Se pesan 30 gramos de Caldo *Salmonella Shigella*.
  2. Se pesan 15 gramos de Agar Bacteriológico.
  3. Se mide un litro de agua destilada.
  4. Se mezcla adecuadamente.
  5. Se calienta en el mechero hasta que hierva por 1 minuto.

## **Agar Trypticasa Soya**

- Caldo Trypticasa Soya (MCD Lab. ®, México, Cat. 7381)
- Agar Bacteriológico (Bioxon®, México, Cat. 215000)
- Agua destilada

1. Se pesan 30 gramos de Caldo Trypticasa Soya.
2. Se pesan 15 gramos de Agar Bacteriológico.
3. Se mide un litro de agua destilada.
4. Se mezcla adecuadamente.
5. Se esteriliza a 121 °C, 15 libras, 15 minutos.

## **Agua Peptonada al 0.1%**

- Peptona de carne (Bioxon®, México, Cat. 232400)
- Cloruro de Sodio (Meyer®, USA, Cat. 6845-500)
- Agua destilada

1. Se pesa 1 gramo de Peptona de carne.
2. Se pesan 8.5 gramos de Cloruro de Sodio.
3. Se mide un litro de agua destilada.
4. Se mezcla adecuadamente.
5. Se esteriliza a 121 °C, 15 libras, 15 minutos.

## **Solución Salina Fisiológica**

- Cloruro de Sodio (Meyer®, USA, Cat. 6845-500)
- Agua destilada

1. Se pesan 9 gramos de Cloruro de Sodio.
2. Se mide un litro de agua destilada.
3. Se mezcla adecuadamente.
4. Se esteriliza a 121 °C, 15 libras, 15 minutos.

## Anexo 4

### Títulos de *E. coli in vitro*

	ST	log	AC	log	SES	
	2.00E+06	6.30	6.00E+05	5.8	9.99E+02	2.9996
	2.80E+06	6.45	6.00E+05	5.8	9.99E+02	2.9996
	1.20E+06	6.08	7.00E+05	6	9.99E+02	2.9996
Promedio	2.00E+06	6.28	6.33E+05	5.80	9.99E+02	2.9996
	DE	0.15	DE	0.03	DE	0
		100.0				
%		0	31.67		0.05	
% de reducción			68.33		99.95	

### Títulos de *E. coli* en huevos embrionados (Réplica A)

Réplica A	Sin tratamiento	log	Ácido cítrico		SES	
HUEVO 1	2.50E+09	9.40	1.88E+09	9.27	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 2	2.52E+09	9.40	2.04E+09	9.31	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 3	1.72E+09	9.24	1.64E+09	9.21	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 4	2.44E+09	9.39	2.72E+09	9.43	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 5	2.44E+09	9.39	2.04E+09	9.31	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 6	2.00E+09	9.30	1.40E+09	9.15	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 7	3.20E+09	9.51	1.92E+09	9.28	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 8	1.72E+09	9.24	1.05E+09	9.02	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 9	2.52E+09	9.40	3.60E+09	9.56	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 10	9.00E+08	8.95	1.92E+09	9.28	1.00E+04	3.99995657
Huevo11	2.00E+09	9.30	1.11E+09	9.05	1.00E+04	3.99995657
PROMEDIO	2.18E+09	9.34	1.94E+09	9.29	1.00E+04	3.99995657
%	100		88.98163606		0.00045905	
%Reducción	0		11.01836394		99.9995409	
	DE	0.13875533		0.148685353		0.00

Títulos de *E. coli* en huevos embrionados (Réplica B)

Réplica B	Sin tratamiento	log	Ácido cítrico	log	SES	log
HUEVO 1	2.84E+09	9.45	2.64E+09	9.421603927	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 2	2.72E+09	9.43	3.08E+09	9.488550717	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 3	2.88E+09	9.46	1.52E+09	9.181843588	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 4	3.52E+09	9.55	3.32E+09	9.521138084	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 5	3.32E+09	9.52	2.84E+09	9.45331834	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 6	2.08E+09	9.32	2.24E+09	9.350248018	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 7	3.52E+09	9.55	3.52E+09	9.546542663	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 8	3.72E+09	9.57	2.40E+09	9.380211242	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 9	3.52E+09	9.55	1.32E+09	9.120573931	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 10	3.96E+09	9.60	3.16E+09	9.499687083	1.00E+04	3.99995657
Huevo11	3.60E+08	8.56	1.32E+09	9.120573931	1.00E+04	3.99995657
PROMEDIO	2.95E+09	9.41	2.49E+09	9.371299229	1.00E+04	3.99995657
%	100.00		84.34		0.00	
%Reducción	0.00		15.66		100.00	
DE		0.28144242		0.152194063		0.00

Títulos de *E. coli* en huevos embrionados (Réplica C)

Réplica C	Sin tratamiento	log	Ácido cítrico	log	SES	log
HUEVO 1	2.56E+09	9.40823997	2.88E+09	9.459392488	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 2	2.92E+09	9.46538285	1.84E+09	9.264817823	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 3	1.40E+09	9.14612804	2.04E+09	9.309630167	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 4	3.52E+09	9.54654266	2.76E+09	9.440909082	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 5	3.53E+09	9.54777471	3.40E+09	9.531478917	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 6	2.64E+09	9.42160393	2.88E+09	9.459392488	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 7	3.92E+09	9.59328607	2.11E+09	9.324282455	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 8	3.92E+09	9.59328607	2.72E+09	9.434568904	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 9	2.56E+09	9.40823997	1.64E+09	9.214843848	1.00E+04	3.99995657
HUEVO 10	3.08E+09	9.48855072	1.64E+09	9.214843848	1.00E+04	3.99995657
Huevo11	2.84E+09	9.45331834	3.92E+09	9.593286067	1.00E+04	3.99995657
PROMEDIO	2.99E+09	9.47567119	2.53E+09	9.386131463	1.00E+04	3.99995657
%	100.00		84.62		0.00	
%Reducción	0.00E+00		15.38		100.00	
DE		0.11952229		0.121802255		0.00

Datos del Grupo Control de Delta E de *E. coli* (Réplica A)

ST A	Iniciales			Finales			Patrón				
	Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a		b
		-10.17	0.25	11.55	-41.41	-4.25	-25.72	57.14	-4.35	-25.71	
		-12.31	0.49	13.49	-44.83	-4.74	-26.97	53.72	-4.84	-26.96	
		-9.93	0.27	12.01	-49.78	-4.11	-29.61	48.77	-4.21	-29.6	
		-9.61	0.13	11.83	-46.81	-5.01	-27.12	51.74	-5.11	-27.11	
		-9.45	-0.11	12.48	-47.25	-5.11	-26.7	51.3	-5.21	-26.69	
1		-10.29	0.206	12.27	-46.02	-4.644	-27.22	52.534	-4.744	-27.21	35.97696908
		-9.21	0.35	9.8	-45.53	-3.77	-28.17	53.02	-3.87	-28.16	
		-10.28	0.13	12.96	-42.16	-2.54	-27.98	56.39	-2.64	-27.97	
		-7.84	0.13	8.46	-43.07	-3.72	-26.94	55.48	-3.82	-26.93	
		-9.17	0.25	9.84	-45.71	-2.57	-29.38	52.84	-2.67	-29.37	
		-8.44	0.17	9.18	-47.84	-3.23	-30.42	50.71	-3.33	-30.41	
2		-8.988	0.206	10.05	-44.86	-3.166	-28.58	53.688	-3.266	-28.56	40.30287217
		-11.46	0.68	12	-47.55	-5.03	-28.05	51	-5.13	-28.04	
		-14.01	1.24	16.71	-49.69	-4.99	-28.59	48.86	-5.09	-28.58	
		-10.77	0.65	12	-54.87	-3.48	-32.51	43.68	-3.58	-32.5	
		-11.31	0.62	13.12	-51.26	-4.92	-29.39	47.29	-5.02	-29.38	
		-10.86	0.66	12.7	-53.02	-4.94	-30.06	45.53	-5.04	-30.05	
3		-11.68	0.77	13.31	-51.28	-4.672	-29.72	52.942	-3.708	-28.23	48.07495129
		-10.82	0.26	10.49	-44.14	-3.18	-27.69	54.41	-3.28	-27.68	
		-12.9	0.88	16.35	-45.05	-3.78	-28.05	53.5	-3.88	-28.04	
		-8.76	0.17	8.67	-47.31	-3.93	-29.03	51.24	-4.03	-29.02	
		-9.11	0.14	10.83	-48.38	-3.64	-29.79	50.17	-3.74	-29.78	
		-10.01	0.47	10.42	-43.16	-3.51	-26.67	55.39	-3.61	-26.66	
4		-10.32	0.384	11.35	-45.61	-3.608	-28.25	52.942	-3.708	-28.23	40.53364875
		-9.09	0.1	10.43	-48.1	-4.22	-27.86	50.45	-4.32	-27.85	
		-11.62	0.79	14.93	-43.3	-3.58	-25.68	55.25	-3.68	-25.67	
		-10.11	0.46	11.52	-49.11	-4.44	-28.32	49.44	-4.54	-28.31	
		-11.02	0.45	13.7	-45.61	-3.78	-26.73	52.94	-3.88	-26.72	
		-10.95	0.35	13.28	-47.77	-4.21	-27.57	50.78	-4.31	-27.56	
5		-10.56	0.43	12.77	-46.78	-4.046	-27.23	51.772	-4.146	-27.22	46.33100697
		-14.55	0.63	12.16	-45.25	-5.42	-24.76	53.3	-5.52	-24.75	
		-14.55	1.08	15.36	-65.63	-5	-26.03	32.92	-5.1	-26.02	
		-11.58	0.57	11.3	-61.06	-4.65	-29.11	37.49	-4.75	-29.1	
		-11.95	0.45	12.42	-49.1	-4.59	-28.4	49.45	-4.69	-28.39	
		-11.4	0.48	12.33	-45.03	-4.64	-25.04	53.52	-4.74	-25.03	
6		-12.81	0.642	12.71	-53.21	-4.86	-26.67	45.336	-4.96	-26.65	45.25317136
		-12.68	0.64	10.2	-43.79	-4.65	-26.93	54.76	-4.75	-26.92	
		-10.5	0.14	9.54	-67.2	-4.71	-29.1	31.35	-4.81	-29.09	
		-9.7	0.29	10.89	-62.9	-4.7	-26.75	35.65	-4.8	-26.74	
		-9.96	0.41	9.68	-62.35	-4.29	-26.59	36.2	-4.39	-26.58	
		-8.58	0.34	9.27	-63.26	-4.24	-27.59	35.29	-4.34	-27.58	
7		-10.28	0.364	9.916	-59.9	-4.518	-27.39	38.65	-4.882	-37.31	42.50911088
<b>Promedio</b>		<b>-10.70</b>	<b>0.43</b>	<b>11.77</b>	<b>-49.67</b>	<b>-4.22</b>	<b>-27.87</b>	<b>49.69</b>	<b>-4.20</b>	<b>-29.06</b>	<b>42.68094295</b>
<b>DE</b>		<b>1.21</b>	<b>0.21</b>	<b>1.36</b>	<b>5.49</b>	<b>0.63</b>	<b>1.05</b>	<b>5.63</b>	<b>0.67</b>	<b>3.70</b>	
<b>%CV</b>		<b>-11.33</b>	<b>49.22</b>	<b>11.55</b>	<b>-11.06</b>	<b>-14.99</b>	<b>-3.75</b>	<b>11.34</b>	<b>-15.96</b>	<b>-12.74</b>	

Datos del Grupo Control de Delta E de *E. coli* (Réplica B)

ST B	Iniciales			Finales			Patrón			
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	
Huevo	-4.39	-0.28	5.77	-45.29	-2.62	-27.3	53.26	-2.72	-27.29	
	-4.51	-0.1	4.92	-44.3	-1.46	-30.25	54.25	-1.56	-30.24	
	-4.61	-0.3	4.96	-41.76	-2.75	-28.93	56.79	-2.85	-28.92	
	-4.38	-0.37	4.95	-42.73	-2.61	-29.75	55.82	-2.71	-29.74	
	-4.94	-0.28	4.9	-44.54	-2.41	-30.45	54.01	-2.51	-30.44	
1	-4.566	-0.266	5.1	-43.72	-2.37	-29.34	54.826	-2.47	-29.32	35.97696908
	-3.79	-0.51	2.8	-38.76	-2.9	-28.33	59.79	-3	-28.32	
	-5.38	-0.7	3.34	-42.5	-3.1	-30.24	56.05	-3.2	-30.23	
	-3.69	-0.62	2.92	-42.07	-2.46	-28.4	56.48	-2.56	-28.39	
	-3.42	-0.59	2.93	-43.77	-2.93	-30.91	54.78	-3.03	-30.9	
	-3.93	-0.57	2.97	-43.88	-2.49	-31.21	54.67	-2.59	-31.2	
2	-4.042	-0.598	2.992	-42.2	-2.776	-29.82	56.354	-2.876	-29.8	40.30287217
	-3.63	-0.48	3.09	-47.53	-1.95	-35.43	51.02	-2.05	-35.42	
	-6.02	-0.57	2.68	-48.62	-1.24	-35.14	49.93	-1.34	-35.13	
	-3.82	-0.38	2.43	-44.18	-2.47	-31.74	54.37	-2.57	-31.73	
	-3.77	-0.35	2.19	-44.85	-1.94	-31.9	53.7	-2.04	-31.89	
	-4.13	-0.29	2.26	-44.96	-2.13	-30.6	53.59	-2.23	-30.59	
3	-4.274	-0.414	2.53	-46.03	-1.946	-32.96	52.522	-2.046	-32.95	48.07495129
	-3.59	-0.64	4.61	-45.62	-2.18	-31.22	52.93	-2.28	-31.21	
	-3.61	-0.37	4.28	-52.66	-2.02	-29.47	3.16	-4.73	-59.21	
	-3.57	-0.5	3.93	-47.42	-2.45	-31.07	6.59	-4.96	-61.51	
	-3.62	-0.26	3.83	-46.72	-2.49	-32.35	8.106	-4.96	-61.67	
	-3.91	-0.49	3.99	-46.18	-2.41	-32.2	13.61	-5.41	-60.52	
4	-3.66	-0.452	4.128	-47.72	-2.31	-31.26	16.8792	-4.468	-54.82	40.53364875
	-4.25	-0.53	2.89	-42.68	-2.28	-30.14	55.87	-2.38	-30.13	
	-4.21	-0.39	2.81	-42.67	-2.15	-29.54	55.88	-2.25	-29.53	
	-4.49	-0.42	3.16	-43.36	-1.68	-28.87	55.19	-1.78	-28.86	
	-4.51	-0.53	3.08	-51.5	-1.68	-27.11	47.05	-1.78	-27.1	
	-4.47	-0.57	3.01	-44.18	-1.98	-30.93	54.37	-2.08	-30.92	
5	-4.386	-0.488	2.99	-44.88	-1.954	-29.32	53.672	-2.054	-29.3	46.33100697
	-4.52	-0.44	1.68	-38.86	-1.11	-29.02	59.69	-1.21	-29.01	
	-4.5	-0.55	1.71	-38.22	-1.73	-28.59	60.33	-1.83	-28.58	
	-3.45	-0.45	1.76	-36.57	-2.25	-28	61.98	-2.35	-27.99	
	-3.41	-0.5	1.82	-38.07	-1.57	-28.21	60.48	-1.67	-28.2	
	3.78	-0.41	1.99	-39.45	-1.3	-30.04	59.1	-1.4	-30.03	
6	-2.42	-0.47	1.792	-38.23	-1.592	-28.77	60.316	-1.692	-28.76	45.25317136
	-2.75	-0.3	2.16	-36.78	-2.31	-26.73	61.77	-2.41	-26.72	
	-4.14	-0.11	2.17	-36.44	-2.83	-27.74	62.11	-2.93	-27.73	
	-3.49	-0.45	1.94	-36.93	-1.92	-28.4	61.62	-2.02	-28.39	
	-3.43	-0.51	2.26	-36.61	-1.64	-25.76	61.94	-1.74	-25.75	
	-3.74	-0.41	2.3	-36.56	-1.07	-27.41	61.99	-1.17	-27.4	
7	-3.51	-0.356	2.166	-36.66	-1.954	-27.21	61.886	-2.054	-27.19	42.50911088
<b>Promedio</b>	<b>-3.84</b>	<b>-0.43</b>	<b>3.10</b>	<b>-42.78</b>	<b>-2.13</b>	<b>-29.81</b>	<b>50.92</b>	<b>-2.52</b>	<b>-33.16</b>	<b>42.68094295</b>
<b>DE</b>	<b>0.73</b>	<b>0.10</b>	<b>1.15</b>	<b>4.06</b>	<b>0.39</b>	<b>1.84</b>	<b>15.40</b>	<b>0.94</b>	<b>9.70</b>	
<b>%CV</b>	<b>-19.07</b>	<b>-24.14</b>	<b>37.23</b>	<b>-9.48</b>	<b>-18.12</b>	<b>-6.18</b>	<b>30.23</b>	<b>-37.14</b>	<b>-29.26</b>	

Datos del Grupo Ácido Cítrico al 2% de Delta E de *E. coli* (Réplica A)

AC A	Iniciales			Finales			Patrón				
	Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a		b
		-11.13	0.19	16.2	-90.38	0.38	-33.84	8.17	0.28	-33.83	
		-12.53	0.4	15.7	-98.18	-1.54	-32.86	0.37	-1.64	-32.85	
		-11.2	0.18	16	-99.24	-0.81	-33.12	-0.69	-0.91	-33.11	
		-7.01	-0.54	8.61	-97.86	-5.84	-26.26	0.69	-5.94	-26.25	
		-11.2	0.22	15.95	-88.61	-0.59	-33.35	9.94	-0.69	-33.34	
1		-10.61	0.09	14.492	-94.854	-1.68	-31.89	3.696	-1.78	-31.87	46.148338
		-7.12	-0.08	9.86	-93.53	-0.97	-35.48	5.02	-1.07	-35.47	
		-9.03	-0.03	11.18	-94.18	-1.35	-35.15	4.37	-1.45	-35.14	
		-7.1	-0.11	8.5	-92.54	-1.4	-34.77	6.01	-1.5	-34.76	
		-7.23	-0.12	8.63	-97.06	-1.6	-31.89	1.49	-1.7	-31.88	
		-6.6	-0.17	8.3	-90.62	-0.67	-33.99	7.93	-0.77	-33.98	
2		-7.416	-0.102	9.294	-93.586	-1.198	-34.26	4.964	-1.298	-34.24	45.123579
		-12.58	0.99	15.35	-97.19	-2.57	-31.31	1.36	-2.67	-31.3	
		-13.27	0.65	15.71	-95.43	-2.22	-32.05	3.12	-2.32	-32.04	
		-11.58	1.05	14.85	-49.64	-4.17	-26.65	48.91	-4.27	-26.64	
		-12.71	0.92	14.81	-95.2	-2.24	-31.38	3.35	-2.34	-31.37	
		-10.74	0.77	14.49	-94.96	-1.52	-32.8	3.59	-1.62	-32.79	
3		-12.18	0.876	15.042	-86.484	-2.544	-30.84	12.066	-2.644	-30.82	37.702393
		-12.72	0.34	12.8	-97.62	-0.98	-33.97	0.93	-1.08	-33.96	
		-13.24	0.58	15.67	-94.00	-0.8	-34.16	4.55	-0.9	-34.15	
		-9.89	0.21	13.33	-96.9	-0.62	-33.87	1.65	-0.72	-33.86	
		-6.24	-0.22	7	-96.66	-1.01	-32.3	1.89	-1.11	-32.29	
		-9.85	0.25	13.52	-58.81	-0.41	-32.97	39.74	-0.51	-32.96	
4		-10.39	0.232	12.464	-88.798	-0.764	-33.45	9.752	-0.864	-33.44	29.43141
		-10.67	0.56	14.01	-97.84	-0.34	-33.2	0.71	-0.44	-33.19	
		-9.83	0.68	13.7	-96.27	-1.31	-33.71	2.28	-1.41	-33.7	
		-9.97	0.41	13.51	-95.36	-0.81	-33.63	3.19	-0.91	-33.62	
		-9.65	0.43	12.56	-90.09	-3.53	-29.93	8.46	-3.63	-29.92	
		-7.8	0.16	8.28	-54.43	-0.91	-34.26	44.12	-1.01	-34.25	
5		-9.584	0.448	12.412	-86.798	-1.38	-32.95	11.752	-1.48	-32.93	38.236935
		-9.76	-0.08	12.31	-98.33	-0.22	-34.66	0.22	-0.32	-34.65	
		-10.76	0.89	16.4	-96.89	-1.39	-33.88	1.66	-1.49	-33.87	
		-7.26	0.09	9.21	-96.37	-2.03	-33.02	2.18	-2.13	-33.01	
		-9.97	0.08	14.13	-97.16	-2	-32.81	1.39	-2.1	-32.8	
		-7.91	-0.26	10.18	-98.92	-6.22	-26.2	-0.37	-6.32	-26.19	
6		-9.132	0.144	12.446	-97.534	-2.372	-32.11	1.016	-2.472	-32.1	48.80437
		-9.07	0.19	12.15	-97.82	-0.61	-33.94	0.73	-0.71	-33.93	
		-8.93	0.09	15.32	-117.64	-1.4	-33.5	-19.09	-1.5	-33.49	
		-11.74	0.3	13.28	-99.91	-3.73	-29.04	-1.36	-3.83	-29.03	
		-8.9	0.19	12.08	-116.99	-3.98	-28.35	-18.44	-4.08	-28.34	
		-5.19	0.47	6.47	-58.49	-0.5	-33.25	40.06	-0.6	-33.24	
7		-8.766	0.248	11.86	-98.17	-2.044	-31.62	0.38	-2.144	-31.6	38.789939
<b>Promedio</b>		<b>-9.73</b>	<b>0.28</b>	<b>12.57</b>	<b>-92.32</b>	<b>-1.71</b>	<b>-32.44</b>	<b>6.23</b>	<b>-1.81</b>	<b>-32.43</b>	43.658543
<b>DE</b>		<b>1.52</b>	<b>0.31</b>	<b>1.87</b>	<b>4.94</b>	<b>0.65</b>	<b>1.17</b>	<b>4.94</b>	<b>0.65</b>	<b>1.17</b>	
<b>%CV</b>		<b>-15.63</b>	<b>113.11</b>	<b>14.91</b>	<b>-5.35</b>	<b>-37.80</b>	<b>-3.61</b>	<b>79.26</b>	<b>-35.72</b>	<b>-3.61</b>	

Datos del Grupo Ácido Cítrico al 2% de Delta E de *E. coli* (Réplica B)

AC B	Iniciales			Finales			Patrón			
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	
Huevo										
	-3.08	-0.48	1.95	-88.84	-1.28	-33.12	9.71	-1.38	-33.11	
	-3.74	-0.45	1.41	-85.45	-1.55	-32.13	13.1	-1.65	-32.12	
	-3.35	-0.51	1.94	-83.94	0.32	-37.98	14.61	0.22	-37.97	
	-3.36	-0.59	1.82	-85.92	-2.05	-32.94	12.63	-2.15	-32.93	
	-3.5	-0.56	2.47	-87.85	-0.8	-32.82	10.7	-0.9	-32.81	
1	-3.406	-0.518	1.918	-86.4	-1.072	-33.8	12.15	-1.172	-33.78	38.800643
	-3.01	-0.45	2.18	-97	-1.29	-32.15	1.55	-1.39	-32.14	
	-3.54	-0.43	1.76	-95.81	-1.7	-32.23	2.74	-1.8	-32.22	
	-3.09	-0.45	1.91	-99.99	-1.95	-34.56	-1.44	-2.05	-34.55	
	-3.25	-0.38	2.08	-111.87	-0.61	-35.14	-13.32	-0.71	-35.13	
	-3.12	-0.38	1.88	-47.87	-1.15	-34.22	50.68	-1.25	-34.21	
2	-3.202	-0.418	1.962	-90.508	-1.34	-33.66	8.042	-1.44	-33.65	42.896545
	-3.75	-0.41	2.37	-112.12	-1.05	-32.35	-13.57	-1.15	-32.34	
	-3.56	-0.54	2.63	-88.19	-1.06	-34.26	10.36	-1.16	-34.25	
	-3.58	-0.51	2.77	-98.5	-1.4	-34.02	0.05	-1.5	-34.01	
	-3.52	-0.5	2.71	-116.32	1.21	-36.28	-17.77	1.11	-36.27	
	-3.49	-0.43	2.46	-98.86	-0.12	-32.91	-0.31	-0.22	-32.9	
3	-3.58	-0.478	2.588	-102.8	-0.484	-33.96	-4.248	-0.584	-33.95	55.209819
	-4.41	-0.44	2.4	-97.54	-1.09	-34.11	1.01	-1.19	-34.1	
	-3.64	-0.38	2.68	-89.67	-2.36	-29.75	8.88	-2.46	-29.74	
	-3.83	-0.4	2.52	-115.58	0.42	-34.46	-17.03	0.32	-34.45	
	-3.71	-0.4	2.49	-112.83	-1.74	-32.11	-14.28	-1.84	-32.1	
	-3.98	-0.43	2.34	-111.25	-0.47	-33.54	-12.7	-0.57	-33.53	
4	-3.914	-0.41	2.486	-105.37	-1.048	-32.79	-6.824	-1.148	-32.78	57.763815
	-3.37	-0.69	2.12	-96.75	-2.68	-33.85	1.8	-2.78	-33.84	
	-3.72	-0.58	1.64	-110.66	-1.33	-35.86	-12.11	-1.43	-35.85	
	-3.7	-0.58	1.65	-111.56	-0.44	-34.47	-13.01	-0.54	-34.46	
	-3.62	-0.56	2.03	-95.51	-2.25	-31.95	3.04	-2.35	-31.94	
	-3.42	-0.64	2.31	-118.1	-0.28	-35.24	-19.55	-0.38	-35.23	
5	-3.566	-0.61	1.95	-106.52	-1.396	-34.27	-7.966	-1.496	-34.26	58.907312
	-3.96	-0.44	2.18	-112.6	-1.46	-34.17	-14.05	-1.56	-34.16	
	-3.75	-0.35	2.4	-115.52	0.74	-35.56	-16.97	0.64	-35.55	
	-4.14	-0.41	2.13	-115.25	0.36	-35.73	-16.7	0.26	-35.72	
	-3.76	-0.39	2.38	-116.86	-0.15	-34.86	-18.31	-0.25	-34.85	
	-4.25	-0.41	2.07	-119.4	-1.7	-33.04	-20.85	-1.8	-33.03	
6	-3.972	-0.4	2.232	-115.93	-0.442	-34.67	-17.38	-0.542	-34.66	68.343212
	-2.07	-0.58	3.42	-119.93	-2.68	-30.7	-21.38	-2.78	-30.69	
	-5.73	-0.55	2.09	-118.3	-2.01	-30.78	-19.75	-2.11	-30.77	
	-3.59	-0.5	3.24	-117.62	-1.05	-34.68	-19.07	-1.15	-34.67	
	-3.69	-0.5	3.05	-116.9	-2.51	-30.84	-18.35	-2.61	-30.83	
	-4.14	-0.54	3.31	-95.22	-2.14	-31.91	3.33	-2.24	-31.9	
7	-3.844	-0.534	3.022	-113.59	-2.078	-31.78	-15.04	-2.178	-31.77	65.981852
<b>Promedio</b>	<b>-3.64</b>	<b>-0.48</b>	<b>2.31</b>	<b>-103.02</b>	<b>-1.12</b>	<b>-33.56</b>	<b>-4.47</b>	<b>-1.22</b>	<b>-33.55</b>	55.405334
<b>DE</b>	<b>0.28</b>	<b>0.08</b>	<b>0.41</b>	<b>11.02</b>	<b>0.56</b>	<b>0.98</b>	<b>11.02</b>	<b>0.56</b>	<b>0.98</b>	
<b>%CV</b>	<b>-7.79</b>	<b>-16.19</b>	<b>17.91</b>	<b>-10.70</b>	<b>-50.30</b>	<b>-2.91</b>	<b>#####</b>	<b>-46.19</b>	<b>-2.91</b>	

Datos del Grupo SES de Delta E de *E. coli* (Réplica A)

SES A	Iniciales			Finales			Patrón				
	Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a		b
		-9.06	0	8.9	-89.33	-4.01	-24.37	9.22	-4.11	-23.91	
		-10.01	-0.17	9.36	-80.78	-4.6	-22.8	17.77	-4.7	-22.34	
		-8.81	-0.17	9.32	-80.63	-4.03	-24.84	17.92	-4.13	-24.38	
		-8.85	-0.21	10.03	-80.99	-3.96	-24.54	17.56	-4.06	-24.08	
		-9.38	0.12	8.94	-90.53	-4.06	-24.99	8.02	-4.16	-24.53	
1		-9.222	-0.086	9.31	-84.45	-4.132	-24.308	14.098	-4.232	-23.84	35.977
		-15.65	0.39	12.56	-89.07	-4.57	-28.3	9.48	-4.67	-27.84	
		-11.2	0.23	13.61	-85.52	-5.29	-26.61	13.03	-5.39	-26.15	
		-11.28	0.27	13.4	-87.04	-4.92	-27.05	11.51	-5.02	-26.59	
		-10.3	0.35	11.69	-89.33	-4.62	-28.65	9.22	-4.72	-28.19	
		-10.45	0.02	11.95	-94.5	-4.81	-26.09	4.05	-4.91	-25.63	
2		-11.78	0.252	12.642	-89.09	-4.842	-27.34	9.458	-4.942	-26.88	40.303
		-7.28	-0.17	6.5	-97.09	-2.87	-25.51	1.46	-2.97	-25.05	
		-6.68	-0.22	8.69	-96.81	-2.7	-25.26	1.74	-2.8	-24.8	
		-6.33	-0.1	6.49	-96.93	-3.03	-22.97	1.62	-3.13	-22.51	
		-7.84	-0.41	8.48	-95.39	-1.94	-24.41	3.16	-2.04	-23.95	
		-6.07	-0.2	6.59	-97.1	-2.32	-25.4	1.45	-2.42	-24.94	
3		-6.84	-0.22	7.35	-96.66	-2.572	-24.71	1.886	-2.672	-24.25	48.075
		-11.16	0.6	11.61	-88.86	-4.21	-26.71	9.69	-4.31	-26.25	
		-13.38	0.64	16.7	-87.62	-3.8	-29.02	10.93	-3.9	-28.56	
		-9.46	0.2	13.78	-83.97	-4.5	-25.86	14.58	-4.6	-25.4	
		-9.29	0.04	11.56	-88.98	-4.09	-28.74	9.57	-4.19	-28.28	
		-8.78	0.36	9.88	-97.3	-3.46	-27.99	1.25	-3.56	-27.53	
4		-10.41	0.368	12.706	-89.35	-4.012	-27.664	9.204	-4.112	-27.2	40.534
		-8.39	0.35	10.52	-93.15	-5.76	-25.68	5.4	-5.86	-25.22	
		-11.99	0.36	12.54	-99.61	-5	-24.41	-1.06	-5.1	-23.95	
		-8.19	0.13	10.82	-91.6	-5.21	-25.55	6.95	-5.31	-25.09	
		-8.44	0.11	11.19	-91.13	-4.95	-25.47	7.42	-5.05	-25.01	
		-8.96	0.32	10.43	-99.36	-4.74	-24.76	-0.81	-4.84	-24.3	
5		-9.194	0.254	11.1	-94.97	-5.132	-25.174	3.58	-5.232	-24.71	46.331
		-9.95	0.31	9.63	-92.01	-3.49	-26	6.54	-3.59	-25.54	
		-8.33	-0.27	8.08	-95.41	-1.17	-28.44	3.14	-1.27	-27.98	
		-8.93	-0.07	10.92	-93.92	-2.68	-25.93	4.63	-2.78	-25.47	
		-8.77	-0.16	10.14	-96.8	-2.89	-29.49	1.75	-2.99	-29.03	
		-8.75	-0.01	10.02	-92.05	-3.89	-26.89	6.5	-3.99	-26.43	
6		-8.946	-0.04	9.758	-94.04	-2.824	-27.35	4.512	-2.924	-26.89	45.253
		-8.5	0.13	8.98	-85.69	-3.87	-26.79	12.86	-3.97	-26.33	
		-12.95	0.46	13.26	-93.61	-5.16	-25.34	4.94	-5.26	-24.88	
		-10.58	0.2	12.52	-97.3	-4.74	-26.49	1.25	-4.84	-26.03	
		-10.92	0.44	10.39	-83.39	-4.49	-25.34	15.16	-4.59	-24.88	
		-10.92	0.25	12.8	-96.01	-4.59	-25.14	2.54	-4.69	-24.68	
7		-10.77	0.296	11.59	-91.2	-4.57	-25.82	7.35	-4.67	-25.36	42.509
<b>Promedio</b>		<b>-9.60</b>	<b>0.12</b>	<b>10.64</b>	<b>-91.39</b>	<b>-4.01</b>	<b>-26.05</b>	<b>7.16</b>	<b>-4.11</b>	<b>-25.59</b>	42.681
<b>DE</b>		<b>1.59</b>	<b>0.23</b>	<b>1.95</b>	<b>4.19</b>	<b>0.98</b>	<b>1.39</b>	<b>4.19</b>	<b>0.98</b>	<b>1.39</b>	
<b>%CV</b>		<b>-16.55</b>	<b>193.55</b>	<b>18.31</b>	<b>-4.58</b>	<b>-24.41</b>	<b>-5.34</b>	<b>58.54</b>	<b>-23.82</b>	<b>-5.44</b>	

Datos del Grupo SES de Delta E de *E. coli* (Réplica B)

SES B	Iniciales			Finales			Patron			Huevo
	L	A	B	L	A	B	L	A	B	
1	-3.518	-0.456	1.594	-88.662	-1.664	-29.104	9.888	-1.764	-29.088	41.243
	-3.64	-0.43	1.22	-94.62	-1.8	-28.26	3.93	-1.9	-28.245	
	-3.06	-0.44	1.35	-88.29	-1.36	-30.27	10.26	-1.46	-30.255	
	-3.27	-0.5	1.47	-86.16	-1.94	-28.79	12.38	-2.04	-28.775	
	-3.51	-0.53	2.24	-86.49	-1.94	-28.7	12.06	-2.04	-28.685	
	-4.21	-0.38	1.69	-87.75	-1.28	-29.5	10.8	-1.38	-29.485	
2	-5.852	-0.566	3.504	-86.774	-3.168	-29.222	11.778	-3.268	-29.207	39.353
	-5.06	-0.65	3.46	-94.8	-3.12	-25.62	3.75	-3.22	-25.605	
	-4.21	-0.57	3.7	-86.14	-2.53	-31.84	12.41	-2.63	-31.825	
	-5.92	-0.44	3.7	-81.13	-3.31	-29.64	17.42	-3.41	-29.625	
	-9.05	-0.52	3.18	-89.59	-3.61	-26.86	8.96	-3.71	-28.865	
	-5.02	-0.65	3.46	-82.21	-3.27	-30.13	16.34	-3.37	-30.115	
3	-9.56	-0.9	2.358	-86.344	-2.438	-26.512	12.2058	-2.538	-26.497	39.286
	-8.02	-0.92	2.17	-80.39	-2.42	-27.11	8.16	-2.52	-27.095	
	-8.88	-0.84	2.45	-89.44	-2.47	-26.91	9.11	-2.57	-26.895	
	-11.82	-0.89	2.27	-89.311	-2.53	-25.19	9.239	-2.63	-25.175	
	-8.65	-0.83	1.76	-80.21	-2.47	-25.73	18.34	-2.57	-25.715	
	-9.43	-1.02	3.14	-82.37	-2.3	-27.62	16.18	-2.4	-27.605	
4	-4.732	-0.62	4.208	-86.596	-2.984	-28.362	11.954	-3.084	-28.347	39.269
	-4.04	-0.66	4.08	-86.27	-2.96	-26.42	0.26	-3.06	-26.405	
	-3.84	-0.65	4.14	-80.93	-3.02	-29.92	17.62	-3.12	-29.905	
	-4.83	-0.61	4.34	-81.07	-2.76	-29.65	17.48	-2.86	-29.635	
	-4.13	-0.66	4.37	-86.49	-3.33	-26.19	10.06	-3.43	-26.175	
	-6.82	-0.62	4.11	-84.22	-2.83	-25.63	14.33	-2.83	-25.615	
	-3.67	-0.71	2.54	-83.21	-1.91	-33.02	15.34	-2.01	-33.005	
5	-3.652	-0.572	1.892	-84.694	-2.43	-31.494	13.856	-2.53	-31.479	37.104
	-3.27	-0.52	1.82	-82.67	-2.11	-31.45	5.88	-2.21	-31.435	
	-3.62	-0.68	1.99	-83.66	-3.61	-31.42	14.89	-3.71	-31.405	
	-3.42	-0.57	1.99	-80.92	-2.3	-31.99	17.63	-2.4	-31.975	
	-4.38	-0.48	1.12	-83.01	-2.22	-29.69	15.54	-2.32	-29.575	
	-2.85	-0.45	2.98	-82.78	-2.31	-30.97	5.77	-2.41	-30.955	
	-2.85	-0.43	2.55	-89.24	-2.8	-29.56	8.31	-2.9	-29.545	
	-3.04	-0.48	2.41	-93.41	-2.57	-31.48	5.14	-2.67	-31.465	
	-3.13	-0.44	2.47	-88.98	-2.6	-28.75	9.57	-2.7	-28.735	
6	-3.11	-0.43	2.42	-87.42	-1.81	-43.07	1.13	-1.91	-43.055	44.74
	-3.24	-0.38	1.16	-90	-2.08	-30.6	8.55	-2.18	-30.585	
	-3.31	-0.4	1.54	-80.26	-1.89	-31.23	18.29	-1.99	-31.215	
	-3.44	-0.41	0.8	-88.55	-2.05	-30.09	10	-2.15	-30.075	
	-3.31	-0.4	1.04	-89.14	-2.3	-30.8	9.41	-2.4	-30.785	
7	-3.29	-0.392	1.12	-87.942	-2.038	-30.886	10.608	-2.138	-30.871	40.381
	-3.15	-0.37	1.06	-91.76	-1.87	-31.71	8.79	-1.97	-31.695	
	-3.24	-0.38	1.16	-90	-2.08	-30.6	8.55	-2.18	-30.585	
	-3.31	-0.4	1.54	-80.26	-1.89	-31.23	18.29	-1.99	-31.215	
	-3.44	-0.41	0.8	-88.55	-2.05	-30.09	10	-2.15	-30.075	
	-3.31	-0.4	1.04	-89.14	-2.3	-30.8	9.41	-2.4	-30.785	
Promedio	-4.80	-0.56	2.46	-87.63	-2.45	-29.76	10.92	-2.55	-29.75	40.143
DE	2.32	0.17	1.08	2.44	0.51	2.10	2.44	0.51	2.10	
%CV	-48.35	-29.93	43.96	-2.78	-21.02	-7.07	22.32	-20.20	-7.07	

Datos del Grupo Control de Unidades Haugh de *E. coli* (Réplica A)

Huevo	Peso (g)	Albumen denso (mm)	Unidades Haugh		
1	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huev				
2	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huev				
3	55	6.5	81.83		
		1.7	25.08		
		2.2	35.83		
PROMEDIO			47.58		
4	55	1.8	27.46		
		1.8	27.46		
		1.2	10.78		
PROMEDIO			21.90		
5	55	3	48.88		
		2.5	41.19		
		2	31.84		
PROMEDIO			40.64		
6	55	3	48.88		
		3.2	51.61		
		3.2	51.61		
PROMEDIO			50.70		
7	55	1.1	7.25		
		0.9	-0.80		
		0.9	-0.80		
PROMEDIO			1.88		
<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>			<b>27.12</b>		
<b>DE</b>			<b>20.46</b>		

Datos del Grupo Control de Unidades Haugh de *E. coli* (Réplica B)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>E.coli</i>			RÉPLICA "B"	SIN TRATAMIENTO (ST)	
Huevo	Peso (g)	bumen denso (mm)	Unidades Haugh		
1	55	2.9	47.45		
		1.5	19.91		
		1	3.41		
PROMEDIO			23.59		
2	55	1.5	19.91		
		1.2	10.78		
		1.5	19.91		
PROMEDIO			16.87		
3	55	1.4	17.08		
		2.1	33.88		
		1.3	14.04		
PROMEDIO			21.67		
4	55	2.9	47.45		
		2.8	45.96		
		2.4	39.47		
PROMEDIO			44.30		
5	55	1.8	27.46		
		1.5	19.91		
		1.3	14.04		
PROMEDIO			20.47		
6	Huevo con yema rota				
7	55	2.2	35.83		
		1.1	7.25		
		2	31.84		
PROMEDIO			24.97		
<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>			<b>25.31</b>		
<b>DE</b>			<b>9.71</b>		

Datos del Grupo Ácido Cítrico de Unidades Haugh de *E. coli* (Réplica A)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>E.coli</i>			RÉPLICA "A"	ÁCIDO CÍTRICO 2 % (AC)
Huevo	Peso (g)	Albumen denso (mm)	Unidades Haugh	
1				estandarizar el método para los próximos huevos
2				estandarizar el método para los próximos huevos
3	55	3.3	52.91	
		3.5	55.41	
		2.3	37.69	
		PROMEDIO	48.67	
4	55	3.5	55.41	
		3.8	58.90	
		3.5	55.41	
		PROMEDIO	56.57	
5		Huevo con yema rota		
6	55	2.5	41.19	
		2.1	33.88	
		2.2	35.83	
		PROMEDIO	36.97	
7	55	1.5	19.91	
		1.7	25.08	
		1.5	19.91	
		PROMEDIO	21.64	
PROMEDIO DE PROMEDIOS			40.96	
DE			15.19	

Datos del Grupo Ácido Cítrico de Unidades Haugh de *E. coli* (Réplica B)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>E.coli</i>			RÉPLICA "B"	ÁCIDO CÍTRICO 2 % (AC)
Huevo	Peso (g)	Albúmen denso (mm)	Unidades Haugh	
1	55	3.5	55.41	
		3.6	56.60	
		2.9	47.45	
PROMEDIO			53.15	
2	Huevo con yema rota			
3	55	1.9	29.70	
		3.5	55.41	
		3.9	60.01	
PROMEDIO			48.37	
4	55	0.7	-10.70	
		1.8	27.46	
		1.9	29.70	
PROMEDIO			15.49	
5	55	2.9	47.45	
		2.9	47.45	
		1.9	29.70	
PROMEDIO			41.53	
6	55	3.9	60.01	
		3.9	60.01	
		2.2	35.83	
PROMEDIO			51.95	
7	55	1.5	19.91	
		1.6	22.57	
		1.9	29.70	
PROMEDIO			24.06	
<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>			<b>39.09</b>	
<b>DE</b>			<b>15.74</b>	

Datos del Grupo SES de Unidades Haugh de *E. coli* (Réplica A)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>E.coli</i>		RÉPLICA "A"		SOLUCIÓN ELECTROLIZADA DE SUPEROXIDACIÓN (SES)	
Huevo	Peso (g)	Albumen denso (mm)	Unidades Haugh		
1	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huevos				
2	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huevos				
3	Huevo podrido				
4	Huevo con yema rota				
5	55	4	61.08		
		6	78.40		
		6	78.40		
		PROMEDIO	72.63		
6	55	4	61.08		
		5	70.60		
		5	70.60		
		PROMEDIO	67.43		
7	55	1.7	25.08		
		2	31.84		
		2	31.84		
		PROMEDIO	29.59		
PROMEDIO DE PROMEDIOS			56.55		
DE			23.49		

Datos del Grupo SES de Unidades Haugh de *E. coli* (Réplica B)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>E.coli</i> RÉPLICA "B" SOLUCIÓN ELECTROLIZADA DE SUPEROXIDACIÓN (SES)			
Huevo	Peso (g)	Albúmen denso (mm)	Unidades Haugh
1	55	8	90.75
		4	61.08
		4	61.08
		PROMEDIO	70.97
2	55	5	70.60
		7	85.01
		7	85.01
		PROMEDIO	80.21
3		Huevo podrido	
4	55	5.2	72.28
		5.2	72.28
		5.9	77.68
		PROMEDIO	74.08
5	55	1.2	10.78
		0.9	-0.80
		1.4	17.08
		PROMEDIO	9.02
6	55	4.2	63.16
		2.1	33.88
		2.1	33.88
		PROMEDIO	43.64
7	55	2	31.84
		1.9	29.70
		1.9	29.70
		PROMEDIO	30.42
		<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>	<b>51.39</b>
		<b>DE</b>	<b>28.37</b>

Títulos de *Salmonella in vitro*

	ST	log	AC	log	SES	log
	2.90E+08	8.46	1.50E+08	8.18	9.99E+02	2.9996
	5.40E+08	8.73	8.00E+07	7.90	9.99E+02	2.9996
	3.00E+08	8.48	1.40E+08	8.15	9.99E+02	2.9996
promedio	3.77E+08	8.58	1.23E+08	8.09	9.99E+02	2.9996
	DE	0.12	DE	0.12	DE	0.0
%	1.00E+02		32.74		0.00	
% de reducción			67.26		99.90	

Títulos de *Sallmonella* en huevos embrionados (Réplica A)

Replica A	Sin tratamiento	log	Ácido cítrico	log	SES	log
HUEVO 1	2.00E+08	8.30E+00	1.40E+08	8.15E+00	5.00E+07	7.69897
HUEVO 2	3.80E+08	8.58E+00	2.00E+07	7.30E+00	5.00E+07	7.69897
HUEVO 3	1.60E+08	8.20E+00	1.80E+08	8.26E+00	7.00E+07	7.845098
HUEVO 4	3.00E+08	8.48E+00	1.10E+08	8.04E+00	3.00E+07	7.477121
HUEVO 5	1.50E+08	8.18E+00	1.50E+08	8.18E+00	4.00E+07	7.60206
HUEVO 6	1.90E+08	8.28E+00	1.70E+08	8.23E+00	1.30E+08	8.113943
HUEVO 7	7.00E+07	7.85E+00	1.30E+08	8.11E+00	1.40E+08	8.146128
HUEVO 8	1.00E+08	8.00E+00	8.00E+07	7.90E+00	4.00E+07	7.60206
HUEVO 9	5.50E+08	8.74E+00	1.40E+08	8.15E+00	9.00E+07	7.954243
HUEVO 10	2.70E+08	8.43E+00	3.30E+08	8.52E+00	1.00E+08	8
Promedio	2.37E+08	8.37E+00	1.45E+08	8.16E+00	7.40E+07	7.869232
%	100		61.181		31.224	
%Reducción	0		38.819		68.776	

Títulos de *Sallmonella* en huevos embrionados (Réplica B)

Réplica B	Sin tratamiento	log	Ácido cítrico	log	SES	log
HUEVO 1	3.20E+04	4.51E+00	5.00E+03	3.70E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 2	6.00E+03	3.78E+00	1.10E+04	4.04E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 3	5.20E+04	4.72E+00	3.00E+03	3.48E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 4	3.20E+04	4.51E+00	2.00E+03	3.30E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 5	5.80E+04	4.76E+00	2.00E+04	4.30E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 6	2.00E+03	3.30E+00	9.00E+04	4.95E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 7	2.50E+04	4.40E+00	1.40E+04	4.15E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 8	1.30E+04	4.11E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 9	1.70E+04	4.23E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 10	5.10E+04	4.71E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.90E+01	1.995635
HUEVO11	3.30E+04	4.52E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
Promedio	2.92E+04	4.47E+00	1.35E+04	4.13E+00	9.17E+02	2.962455
%	100.00	2.00E+00	46.42	1.67E+00	3.14	
%Reducción	0.00E+00		53.58		96.86	

Títulos de *Sallmonella* en huevos embrionados (Réplica C)

Réplica C	Sin tratamiento		Ácido cítrico		SES	
HUEVO 1	7.70E+04	4.89E+00	1.90E+04	4.28E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 2	4.60E+04	4.66E+00	1.70E+04	4.23E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 3	4.00E+04	4.60E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 4	5.10E+04	4.71E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 5	4.50E+04	4.65E+00	8.00E+03	3.90E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 6	3.10E+04	4.49E+00	1.10E+04	4.04E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 7	1.16E+05	5.06E+00	8.00E+03	3.90E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 8	7.10E+04	4.85E+00	8.00E+03	3.90E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 9	4.80E+04	4.68E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
HUEVO 10	8.50E+04	4.93E+00	9.99E+02	3.00E+00	9.99E+02	2.999565
Promedio	6.10E+04	4.79E+00	7.50E+03	3.88E+00	9.99E+02	2.999565
%	100.00		12.29		1.64	
% Reducción			87.71		98.36	

Datos del Grupo Control de Delta E de *Salmonella* (Réplica A)

ST A	Iniciales			Finales			Patrón			
Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a	b	
1										
	5.92	0.69	2.59	44.1	2.69	28.83	44.1	2.69	28.83	
	-5.03	-0.6	1.42	42.93	2.94	29.76	42.93	2.94	29.76	
	-5.73	-0.4	2.68	43.21	2.42	29.54	43.21	2.42	29.54	
	-5.29	-0.64	2.91	42.95	1.97	29.78	42.95	1.97	29.78	
	-5.09	-0.46	2.17	42.02	2.68	29.16	42.02	2.68	29.16	
2	-3.044	-0.282	2.354	43.042	2.54	29.414	43.042	2.54	29.414	34.98
	-4.72	-0.66	1.89	45.75	2.71	33.64	45.75	2.71	33.64	
	-4.12	-0.65	2.03	47.08	2.95	34.49	47.08	2.95	34.49	
	-4.29	-0.63	2.14	50.57	2.15	34.46	50.57	2.15	34.46	
	-4.02	-0.63	2.33	51.06	1.78	33.67	51.06	1.78	33.67	
	-4.69	-0.62	2.01	50.51	2.14	33.55	50.51	2.14	33.55	
3	-4.368	-0.638	2.08	48.994	2.346	33.962	48.994	2.346	33.962	37.95
	-2.73	-0.4	2.29	45.56	1.92	30.83	45.56	1.92	30.83	
	-3.3	-0.58	3.72	42.83	2.37	31.98	42.83	2.37	31.98	
	-2.87	-0.33	2.19	43.46	2.24	32.48	43.46	2.24	32.48	
	-2.9	-0.41	2.22	45.43	2.41	33.23	45.43	2.41	33.23	
	-2.98	-0.36	2.33	46.46	1.87	33.98	46.46	1.87	33.98	
4	-2.956	-0.416	2.2575	44.748	2.162	32.5	44.748	2.162	32.5	31.35
	-6.95	-0.45	0.76	42.46	2.611	31.81	42.46	2.611	31.81	
				45.9	2.09	34.23	45.9	2.09	34.23	
				46.33	1.98	34.58	46.33	1.98	34.58	
				44.2	2.48	32.5	44.2	2.48	32.5	
				45.87	2.93	33.38	45.87	2.93	33.38	
5	-6.95	-0.45	0.76	44.952	2.4182	33.3	44.952	2.4182	33.3	37.77
	-3.96	-0.65	3.14	42.06	3.05	-30.24	42.06	3.05	-30.24	
	-3.85	-0.64	3.38	40.71	2.86	-29.8	40.71	2.86	-29.8	
	-3.55	-0.67	3.15	41.98	3.07	-31.16	41.98	3.07	-31.16	
	-3.62	-0.72	3.37	43.1	2.9	-31.36	43.1	2.9	-31.36	
	-3.56	-0.67	3.02	44.51	2.51	-31.55	44.51	2.51	-31.55	
6	-3.708	-0.67	3.212	42.472	2.878	-30.822	46.18	3.548	-34.034	36.15
	-3.04	-0.47	2.13	38.31	1.36	-28.08	38.31	1.36	-28.08	
	-4.37	-0.5	2.58	37.85	1.41	-27.88	37.85	1.41	-27.88	
	-2.98	-0.55	2.15	39.53	1.13	-29.86	39.53	1.13	-29.86	
	-3.12	-0.49	2.11	39.76	1.34	-29.19	39.76	1.34	-29.19	
	-3.23	-0.53	2.17	41.69	1.63	-30.5	41.69	1.63	-30.5	
7	-3.348	-0.508	2.228	39.428	1.374	-29.102	42.776	1.882	-31.33	41.409
<b>Promedio</b>	<b>-4.06</b>	<b>-0.49</b>	<b>2.15</b>	<b>43.74</b>	<b>2.26</b>	<b>7.19</b>	<b>45.53</b>	<b>2.47</b>	<b>6.88</b>	<b>36.47</b>
<b>DE</b>	<b>1.51</b>	<b>0.14</b>	<b>0.79</b>	<b>3.51</b>	<b>0.56</b>	<b>33.96</b>	<b>2.55</b>	<b>0.64</b>	<b>35.46</b>	
<b>%CV</b>	<b>-37.05</b>	<b>-29.32</b>	<b>36.79</b>	<b>8.03</b>	<b>24.86</b>	<b>472.30</b>	<b>5.61</b>	<b>25.75</b>	<b>515.38</b>	

Datos del Grupo Control de Delta E de *Salmonella* (Réplica B)

ST B	Iniciales			Finales			Patrón				
	Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a		b
		-3.69	-0.65	2.37	-45.63	-2.44	-34.12	52.92	-2.54	-34.105	
		-3.42	-0.6	1.91	-47.48	-1.85	-35.04	51.07	-1.95	-35.025	
		-3.27	-0.6	1.88	-49.74	-1.6	-35.84	48.81	-1.7	-35.825	
		-3.23	-0.53	1.77	-47.46	-1.72	-34.3	51.09	-1.82	-34.285	
		-3.35	-0.6	1.9	-48.84	-1.35	-35.22	49.71	-1.45	-35.205	
1		-3.392	-0.596	1.966	-47.83	-1.792	-34.904	50.72	-1.892	-34.889	28.38359426
		-5.15	-0.9	4.68	-38.39	-3.58	-27.39	60.16	-3.68	-27.375	
		-3.66	-0.94	3.99	-41.33	-3.19	-29.77	57.22	-3.29	-29.755	
		-3.4	-0.96	3.92	-38.39	-3.65	-27.75	60.16	-3.75	-27.735	
		-3.82	-0.68	4.5	-38.2	-2.63	-27.44	60.35	-2.73	-27.425	
		-3.4	-0.92	4.17	-38.58	-3.05	-28.22	59.97	-3.15	-28.205	
2		-3.886	-0.88	4.252	-38.978	-3.22	-28.114	59.572	-3.32	-28.099	29.33070241
		-4.42	-0.86	3.22	-42.92	-2.54	-32.85	55.63	-2.64	-32.835	
		-3.59	-0.56	2.82	-43.29	-2.48	-32.95	55.26	-2.58	-32.935	
		-3.27	-0.45	2.13	-43.23	-2.14	-32.61	55.32	-2.24	-32.595	
		-2.73	-0.42	1.97	-43.52	-2.16	-32.41	55.03	-2.26	-32.395	
		-2.93	-0.44	1.99	-43.84	-1.98	-33.43	54.71	-2.08	-33.415	
3		-3.388	-0.546	2.54	-43.36	-2.26	-32.85	55.19	-2.36	-32.835	35.94218447
		-7.67	-0.59	4	-48.74	-3.61	-32.13	49.81	-3.71	-32.115	
		-6.8	-0.61	6.21	-47.62	-3.67	-29.72	50.93	-3.77	-29.705	
		-5.64	-0.54	5.15	-43.87	-2.82	-28.6	54.68	-2.92	-28.585	
		-5.63	-0.59	5.28	-45.54	-3.3	-30.18	53.01	-3.4	-30.165	
		-5.63	-0.49	5.53	-41.73	-3.59	-27.26	56.82	-3.69	-27.245	
4		-6.274	-0.564	5.234	-45.5	-3.398	-29.578	53.05	-3.498	-29.563	38.01890795
		-3.95	-0.54	2.75	-40.42	-3.19	-29.55	58.13	-3.29	-29.535	
		-3.88	-0.89	3.66	-41.52	-3.42	-29.92	57.03	-3.52	-29.905	
		-3.91	-0.72	3.81	-40.43	-3.12	-29.59	58.12	-3.22	-29.575	
		-3.79	-0.62	3.53	-40.03	-2.67	-28.98	58.52	-2.77	-28.965	
		-3.82	-0.71	3.51	-40.21	-2.97	-29.37	58.34	-3.07	-29.355	
5		-3.87	-0.696	3.452	-40.522	-3.074	-29.482	58.028	-3.174	-29.467	33.59953033
		-4.37	-0.19	4.83	-39.44	-2.14	-27.23	59.11	-2.24	-27.215	
		-4.37	-0.31	4.45	-35.54	-2.16	-24.59	63.01	-2.26	-24.575	
		-4.02	-0.33	4.51	-37.59	-1.61	-26.57	60.96	-1.71	-26.555	
		-4	-0.3	4.65	-36.98	-2.13	-26.67	61.57	-2.23	-26.655	
		-4.04	-0.31	4.72	-40.33	-1.47	-28.87	58.22	-1.57	-28.855	
6		-4.16	-0.288	4.632	-37.976	-1.902	-26.786	60.574	-2.002	-26.771	24.59962569
		-7.15	-0.32	6.4	-41.86	-3.73	-27.43	56.69	-3.83	-27.415	
		-6.14	-0.38	7.05	-43.55	-4.2	-28.52	55	-4.3	-28.505	
		-5.72	-0.36	6.72	-43.35	-3.68	-29.05	55.2	-3.78	-29.035	
		-6.1	-0.2	7.86	-45.66	-3.31	-30.46	52.89	-3.41	-30.445	
		-5.77	-0.33	6.8	-43.48	-3.6	-28.93	55.07	-3.7	-28.915	
7		-6.176	-0.318	6.966	-43.58	-3.704	-28.878	54.97	-3.804	-28.863	18.73921528
<b>Promedio</b>		<b>-4.45</b>	<b>-0.56</b>	<b>4.15</b>	<b>-42.54</b>	<b>-2.76</b>	<b>-30.08</b>	<b>56.01</b>	<b>-2.86</b>	<b>-30.07</b>	<b>32.23256587</b>
<b>DE</b>		<b>1.24</b>	<b>0.21</b>	<b>1.69</b>	<b>3.56</b>	<b>0.77</b>	<b>2.82</b>	<b>3.56</b>	<b>0.77</b>	<b>2.82</b>	
<b>%CV</b>		<b>-27.97</b>	<b>-37.10</b>	<b>40.81</b>	<b>-8.37</b>	<b>-27.75</b>	<b>-9.37</b>	<b>6.36</b>	<b>-26.78</b>	<b>-9.38</b>	

Datos del Grupo Ácido Cítrico al 2% de Delta E de *Salmonella* (Réplica A)

AC A	Iniciales			Finales			Patrón			
	Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a	
1										
	-63	-0.42	0.96	-65.03	-0.56	-36.11	33.52	-0.66	-36.1	
	-3.48	-0.47	1.38	-66.03	0.1	36.73	32.52	0	36.745	
	-3.8	-0.45	1.49	-52.19	1.06	-37.9	46.36	0.96	-37.89	
	-3.69	-0.42	1.47	-54.07	-2.53	-31.15	44.48	-2.63	-31.14	
	-3.79	-0.44	1.21	-61.13	-0.19	-36.83	37.42	-0.29	-36.82	
2	-15.55	-0.44	1.302	-59.69	-0.424	-21.05	38.86	-0.524	-21.04	28.85822
	-3.12	-0.32	2.72	-70.61	-0.56	-36.62	27.94	-0.66	-36.61	
	-2.9	-0.53	2.33	-79.56	-0.24	-36.1	18.99	-0.34	-36.09	
	-3.5	-0.44	2.32	-70.84	-1.6	-36.04	27.71	-1.7	-36.03	
	-3.39	-0.41	2.74	-61.31	0.8	-36.07	37.24	0.7	-36.06	
	-3.17	-0.49	2.48	-68.61	-1.61	-34.76	29.94	-1.71	-34.75	
3	-3.216	-0.438	2.518	-70.186	-0.642	-35.92	28.364	-0.742	-35.9	46.20982
	-3.57	-0.57	2.84	-60.66	-0.84	-37.86	37.89	-0.94	-37.85	
	-3.4	-0.7	2.79	-50.71	-1.22	-35.07	47.84	-1.32	-35.06	
	-3.3	-0.57	2.82	-62.92	-0.58	-35.67	35.63	-0.68	-35.66	
	-3.3	-0.52	1.87	-72.34	-0.6	-38.01	26.21	-0.7	-38	
				-72.08	-1.12	-34.94	26.47	-1.22	-34.93	
4	-3.393	-0.59	2.58	-63.742	-0.872	-36.31	34.808	-0.972	-36.3	44.61909
	-5.99	-0.64	0.67	-47.58	-2.46	-35.1	50.97	-2.56	-35.09	
	-4.84	-0.63	1.35	-45.59	-2.22	-33.47	52.96	-2.32	-33.46	
	-5.28	-0.56	1.37	-48.54	-1.25	-35.03	50.01	-1.35	-35.02	
	-5.25	-0.55	1.42	-45.13	-1.7	-34.09	53.42	-1.8	-34.08	
	-5.13	-0.8	1.74	-48.12	-2	-34.7	50.43	-2.1	-34.69	
5	-5.298	-0.636	1.31	-46.992	-1.926	-34.48	51.558	-2.026	-34.46	42.0211
	-5.06	-0.76	1.94	-69.91	-2.48	-29.09	28.64	-2.58	-29.08	
	-4.35	-0.85	2.73	-67.02	-1.55	-34.29	31.53	-1.65	-34.28	
	-4.2	-0.9	2.91	-64.91	-2.06	-33.23	33.64	-2.16	-33.22	
	-4.21	-0.85	2.82	-69.11	-1.28	-29.49	29.44	-1.38	-29.48	
	-4.21	-0.84	3.13	-49.22	-1.42	-29.42	49.33	-1.52	-29.41	
6	-4.406	-0.84	2.706	-64.034	-1.758	-31.1	34.516	-1.858	-31.09	39.77015
	-4.67	-0.55	2.1	-67.96	-2.98	-35.51	30.59	-3.08	-35.5	
	-4.4	-0.5	2.56	-57.87	-2.87	-35.37	40.68	-2.97	-35.36	
	-4.31	-0.57	2.32	-66.19	-2.72	-34.5	32.36	-2.82	-34.49	
	-4.44	-0.49	2.51	-63.57	-2.52	-32.23	34.98	-2.62	-32.22	
	-4.19	-0.49	2.32	-67.41	-2.12	-34.64	31.14	-2.22	-34.63	
7	-4.402	-0.52	2.362	-64.6	-2.642	-34.45	33.95	-2.742	-34.44	10.43651
<b>Promedio</b>	<b>-6.04</b>	<b>-0.58</b>	<b>2.13</b>	<b>-61.54</b>	<b>-1.38</b>	<b>-32.22</b>	<b>37.01</b>	<b>-1.48</b>	<b>-32.20</b>	<b>40.19571</b>
<b>DE</b>	<b>4.72</b>	<b>0.15</b>	<b>0.65</b>	<b>7.88</b>	<b>0.87</b>	<b>5.77</b>	<b>7.88</b>	<b>-2.13</b>	<b>5.77</b>	
<b>%CV</b>	<b>-78.08</b>	<b>-26.17</b>	<b>30.41</b>	<b>-12.80</b>	<b>-62.88</b>	<b>-17.91</b>	<b>21.28</b>	<b>144.01</b>	<b>-17.92</b>	

Datos del Grupo Ácido Cítrico al 2% de Delta E de *Salmonella* (Réplica B)

AC B	Iniciales			Finales			Patrón			
Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a	b	
	-5.76	-0.59	2.97	-83.03	-0.65	-35.75	15.52	-0.75	-35.735	
	-5.68	-0.68	3.47	-83.19	-1.04	-35.79	15.36	-1.14	-35.775	
	-5.05	-0.54	3.38	-84.3	0.52	-37.08	14.25	0.42	-37.065	
	-4.87	-0.58	3.33	-88.47	-1.33	-32.98	10.08	-1.43	-32.965	
	-5.48	-0.42	4.17	-87.34	-2.38	-31.91	11.21	-2.48	-31.895	
1	-5.368	-0.562	3.464	-85.266	-0.976	-34.702	13.284	-1.076	-34.687	43.0167963
	-4.2	-0.78	2.31	-72.37	-0.44	-36.1	26.18	-0.54	-36.085	
	-3.56	-0.73	2.3	-72.64	-0.76	-34.91	25.91	-0.86	-34.895	
	-3.53	-0.61	2.73	-71.88	0.11	-35.43	26.67	0.01	-35.415	
	-3.5	-0.57	2.08	-83.69	-1.89	-31.8	14.86	-1.99	-31.785	
	-3.59	-0.6	1.93	-81.84	-0.05	-35.68	16.71	-0.15	-35.665	
2	-3.676	-0.658	2.27	-76.484	-0.606	-34.784	22.066	-0.706	-34.769	34.3404678
	-3.67	-0.72	2.76	-83.76	-1.07	-35.55	14.79	-1.17	-35.535	
	-3.65	-0.89	3.34	-84.07	-0.98	-35.22	14.48	-1.08	-35.205	
	-3.86	-0.69	3.05	-84.02	-0.56	-36	14.53	-0.66	-35.985	
	-3.69	-0.73	3.2	-72.01	-1.15	-34.8	26.54	-1.25	-34.785	
	-3.62	-0.7	3.09	-71.89	-3.19	-31.55	26.66	-3.29	-31.535	
3	-3.698	-0.746	3.088	-79.15	-1.39	-34.624	19.4	-1.49	-34.609	36.9207643
	-4.39	-0.43	2.73	-85.05	-0.06	-35.97	13.5	-0.16	-35.955	
	-4.03	-0.46	3.47	-84.66	-0.33	-35.73	13.89	-0.43	-35.715	
	-4.12	-0.45	3.41	-83.03	-0.1	-36	15.52	-0.2	-35.985	
	-3.91	-0.4	3.31	-86.68	-1.75	-33.13	11.87	-1.85	-33.115	
	-4.3	-0.46	3.54	-83.5	-0.68	-35.62	15.05	-0.78	-35.605	
4	-4.15	-0.44	3.292	-84.584	-0.584	-35.29	13.966	-0.684	-35.275	42.4258944
	-4.3	-0.54	2.78	-73.89	-0.37	-35.16	24.66	-0.47	-35.145	
	-4.7	-0.76	3.59	-83.15	-2.63	-30.14	15.4	-2.73	-30.125	
	-4.4	-0.56	3.48	-78.31	-2.13	-33.36	20.24	-2.23	-33.345	
	-4.24	-0.57	3.75	-73.99	-0.86	-38.81	24.56	-0.96	-38.795	
	-4.25	-0.55	3.42	-82.96	-0.73	-36.5	15.59	-0.83	-36.485	
5	-4.378	-0.596	3.404	-78.46	-1.344	-34.794	20.09	-1.444	-34.779	36.2600509
	-4.64	-0.57	2.81	-80.15	-1.32	-34.48	18.4	-1.42	-34.465	
	-4.07	-0.59	3.53	-72.32	-2.39	-31.27	26.23	-2.49	-31.255	
	-4.32	-0.66	3.06	-79.19	-2.21	-34.12	19.36	-2.31	-34.105	
	-5.43	-0.62	2.29	-84.73	-2.25	-34.83	13.82	-2.35	-34.815	
	-4.44	-0.62	2.96	-81.13	-1.93	-35.3	17.42	-2.03	-35.285	
6	-4.58	-0.612	2.93	-79.504	-2.02	-34	19.046	-2.12	-33.985	37.1830733
	-2.76	-0.32	1.59	-82.16	-0.18	-32.57	16.39	-0.28	-32.555	
	-2.83	-0.31	1.37	-85.81	-1.96	-26.52	12.74	-2.06	-26.505	
	-2.67	-0.33	1.35	-82.43	-1.14	-32.34	16.12	-1.24	-32.325	
	-2.89	-0.29	1.37	-75.02	-0.87	-34.32	23.53	-0.97	-34.305	
	-2.78	-0.32	1.15	-72.38	-2.11	-31.5	26.17	-2.21	-31.485	
7	-2.786	-0.314	1.366	-79.56	-1.252	-31.45	18.99	-1.352	-31.435	37.0808771
<b>Promedio</b>	<b>-4.09</b>	<b>-0.56</b>	<b>2.83</b>	<b>-80.43</b>	<b>-1.17</b>	<b>-34.23</b>	<b>18.12</b>	<b>-1.27</b>	<b>-34.22</b>	<b>38.1545983</b>
<b>DE</b>	<b>0.82</b>	<b>0.14</b>	<b>0.76</b>	<b>3.25</b>	<b>0.50</b>	<b>1.29</b>	<b>3.25</b>	<b>0.50</b>	<b>1.29</b>	
<b>%CV</b>	<b>-19.92</b>	<b>-25.53</b>	<b>26.90</b>	<b>-4.04</b>	<b>-42.93</b>	<b>-3.75</b>	<b>17.93</b>	<b>-39.54</b>	<b>-3.76</b>	

Datos del Grupo SES de Delta E de *Salmonella* (Réplica A)

SES A	Iniciales			Finales			Patrón			
	Huevo	L	a	b	L	a	b	L	a	
1										
	-6.45	-0.15	5.46	-28.56	-3.16	-16.76	69.99	-3.26	-16.75	
	-5.31	-0.08	6.29	-30.74	-3.27	-18.84	67.81	-3.37	-18.83	
	-5.46	-0.22	6.46	-34.84	-3.38	-22.99	63.71	-3.48	-22.98	
	-5.28	-0.12	6.39	-34.21	-3.37	-23.05	64.34	-3.47	-23.04	
	-5.8	-0.27	7.19	-36.82	-3.65	-24.52	61.73	-3.75	-24.51	
2	-5.66	-0.168	6.358	-33.03	-3.366	-21.232	65.516	-3.466	-21.22	34.987
	-5.16	-0.66	3.54	-24.13	-2.37	-18.27	74.42	-2.47	-18.26	
	-4.69	-0.85	3.98	-32.45	-3.13	-24.82	66.1	-3.23	-24.81	
	-5.01	-0.77	3.65	-35.83	-3.66	-27.5	62.72	-3.76	-27.49	
	-5.08	-0.76	3.79	-33.49	-2.55	-26.19	65.06	-2.65	-26.18	
	-4.68	-0.78	3.51	-29.05	-2.36	-21.02	69.5	-2.46	-21.01	
3	-4.924	-0.764	3.694	-30.99	-2.814	-23.56	67.56	-2.914	-23.55	37.947
	-3.39	-0.52	2.75	-25.81	2.24	-17.43	72.74	2.14	-17.42	
	-4.42	-0.59	3.4	-30.99	-3.17	-21.91	67.56	-3.27	-21.9	
	-4.18	-0.56	4.08	-30.92	-3.05	-22.35	67.63	-3.15	-22.34	
	-3.25	-0.53	2.46	-30.96	-3.2	-22.09	67.59	-3.3	-22.08	
	6.33	-0.58	3.42	-31.09	-3.33	22.24	67.46	-3.43	22.255	
4	-3.81	-0.556	3.222	-29.95	-2.102	-12.308	68.596	-2.202	-12.29	30.356
	-4.65	-0.43	2.28	-24.61	-3.43	-17.8	73.94	-3.53	-17.79	
	-4.23	-0.5	2.5	-23.54	-1.66	-17.04	75.01	-1.76	-17.03	
	-4.445	-0.45	2.37	-28.89	-2.34	-21.49	69.66	-2.44	-21.48	
	-4.11	-0.52	2.47	-29.51	-2.05	-21.9	69.04	-2.15	-21.89	
	-4.68	-0.36	2.48	-32.19	-3.63	-24.11	66.36	-3.73	-24.1	
5	-4.423	-0.452	2.42	-27.75	-2.622	-20.468	70.802	-2.722	-20.45	37.586
	-2.8	-0.21	2.27	-26.83	-1.69	-20.22	71.72	-1.79	-20.21	
	-3.4	-0.53	3.1	-25.44	-1.64	-20.05	73.11	-1.74	-20.04	
	-2.74	-0.37	2.4	-27.34	-1.27	-22.01	71.21	-1.37	-22	
	-2.61	-0.39	2.54	-30.38	-2.26	-24.77	68.17	-2.36	-24.76	
	-2.68	-0.42	2.62	-27.55	-1.51	-21.69	71	-1.61	-21.68	
6	-2.846	-0.384	2.586	-27.51	-1.674	-21.748	71.042	-1.774	-21.73	33.782
	-3.61	-0.37	1.35	-32.37	-1.07	-25.82	66.18	-1.17	-25.81	
	-2.95	-0.5	1.8	-31.16	-1.33	-25.95	67.39	-1.43	-25.94	
	-2.92	-0.5	1.71	-37.42	-1.57	-30.62	61.13	-1.67	-30.61	
	-2.98	-0.47	2.13	-36.9	-2.01	-29.94	61.65	-2.11	-29.93	
	2.91	-0.49	1.7	-35.38	-2.02	-28.69	63.17	-2.12	-28.68	
7	-1.91	-0.466	1.738	-34.65	-1.6	-28.204	63.904	-1.134	-29.94	41.309
<b>Promedio</b>	<b>-3.93</b>	<b>-0.47</b>	<b>3.34</b>	<b>-30.65</b>	<b>-2.36</b>	<b>-21.25</b>	<b>67.90</b>	<b>-2.37</b>	<b>-21.53</b>	<b>36.485</b>
<b>DE</b>	<b>1.38</b>	<b>0.20</b>	<b>1.63</b>	<b>2.85</b>	<b>0.69</b>	<b>5.19</b>	<b>2.85</b>	<b>0.84</b>	<b>5.68</b>	
<b>%CV</b>	<b>-35.07</b>	<b>-42.21</b>	<b>48.75</b>	<b>-9.29</b>	<b>-29.33</b>	<b>-24.40</b>	<b>4.19</b>	<b>-35.48</b>	<b>-26.39</b>	

Datos del Grupo SES de Delta E de *Salmonella* (Réplica B)

SES B	Iniciales			Finales			Patrón			
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	
Huevo										
	-4.95	-0.55	2.24	-72.75	-2.98	-24.43	25.8	-3.08	-24.42	
	-3.57	-0.98	-4.25	-79.75	-2.9	-22.47	18.8	-3	-22.46	
	-3.3	-0.7	3.52	-77.39	-2.91	-20.88	21.16	-3.01	-20.87	
	-3.64	-0.71	3.99	-67.84	-3.04	-29.25	30.71	-3.14	-29.24	
	-3.78	-0.8	3.6	-61.71	-2.63	-23.94	36.84	-2.73	-23.93	
1	-3.848	-0.748	1.82	-71.89	-2.892	-24.194	26.662	-2.992	-24.18	29.938
	-4.5	-0.68	3.26	-78.5	-1.45	-33.15	20.05	-1.55	-33.14	
	-3.6	-0.73	3.82	-76.77	-2.42	-26.37	21.78	-2.52	-26.36	
	-4.1	-0.7	4.44	-73.27	-2.21	-32.17	25.28	-2.31	-32.16	
	-3.73	-0.79	4	-64.22	-2.24	-33.54	34.33	-2.34	-33.53	
	-3.92	-0.79	3.7	-66.52	-2.32	-27.27	32.03	-2.42	-27.26	
2	-3.97	-0.738	3.844	-71.86	-2.128	-30.5	26.694	-2.228	-30.49	29.331
	-6.09	-0.51	2.34	-81.25	-0.84	-21.5	17.3	-0.94	-21.49	
	-5.52	-0.56	2.26	-71.04	-3.3	-22.73	27.51	-3.4	-22.72	
	-6.39	-0.68	1.56	-86.28	-2.36	-26.74	12.27	-2.46	-26.73	
	-5.59	-0.63	1.95	-78.79	-3.34	-28.19	19.76	-3.44	-28.18	
	-5.26	-0.59	2.03	-72.96	-1.86	-24.17	25.59	-1.96	-24.16	
3	-5.77	-0.594	2.028	-78.06	-2.34	-24.666	20.486	-2.44	-24.65	35.942
	-3.21	-0.57	2.29	-77.21	-2.25	-28.95	21.34	-2.35	-28.94	
	-3.56	-0.48	1.74	-78.16	-2.62	-29.76	20.39	-2.72	-29.75	
	-3.03	-0.62	1.98	-74.76	-3.34	-27.19	23.79	-3.44	-27.18	
	-3.05	-0.64	1.98	-86.72	-2.69	-28.79	11.83	-2.79	-28.78	
	-3.32	-0.55	2.71	-85.79	-3.35	-28.71	12.76	-3.45	-28.7	
4	-3.234	-0.572	2.14	-80.53	-2.85	-28.68	18.022	-2.95	-28.67	38.019
	-3.93	-0.48	2.98	-71.52	-3.45	-23.02	27.03	-3.55	-23.01	
	-3.71	-0.71	3.33	-89.77	-2.32	-21.83	8.78	-2.42	-21.82	
	-3.76	-0.66	3.14	-73.16	-0.87	-16.58	25.39	-0.97	-16.57	
	-3.67	-0.61	3.38	-73.48	-1.36	-17.03	25.07	-1.46	-17.02	
	-4.05	-0.62	2.93	-70.63	-2.77	-22.96	27.92	-2.87	-22.95	
5	-3.824	-0.616	3.152	-75.71	-2.154	-20.284	22.838	-2.254	-20.27	34.6
	-5.28	-0.56	-2.42	-73.36	-2.6	-24.29	25.19	-2.7	-24.28	
	-6.26	-0.73	2.27	-72.76	-2.65	-24.1	25.79	-2.75	-24.09	
	-5.35	-0.59	2.41	-66.63	-2.6	-26.19	31.92	-2.7	-26.18	
	-5.35	-0.76	2.29	-69.56	-1.83	-21.34	28.99	-1.93	-21.33	
	-4.99	-0.68	2.4	-48.22	-2.17	-19.36	50.33	-2.27	-19.35	
6	-5.446	-0.664	1.39	-66.11	-2.37	-23.056	32.444	-2.47	-23.04	24.6
	-4.61	-0.23	3.83	-73.69	-2.98	-32.23	24.86	-3.08	-32.22	
	-4.07	-0.41	4.45	-64.92	-3.06	-25.9	33.63	-3.16	-25.89	
	-4.08	-0.38	3.81	-62.09	-2.64	-22.59	36.46	-2.74	-22.58	
	-4.24	-0.35	4.15	-60.54	-2.87	-29.89	38.01	-2.97	-29.88	
	-4.09	-0.4	3.8	-44.03	-2.9	-25.5	54.52	-3	-25.49	
7	-4.218	-0.354	4.008	-61.05	-2.89	-27.222	37.496	-2.99	-27.21	18.739
<b>Promedio</b>	<b>-4.33</b>	<b>-0.61</b>	<b>2.63</b>	<b>-72.17</b>	<b>-2.52</b>	<b>-25.51</b>	<b>25.87</b>	<b>-2.65</b>	<b>-27.75</b>	<b>30.233</b>
<b>DE</b>	<b>0.93</b>	<b>0.13</b>	<b>1.04</b>	<b>6.80</b>	<b>0.35</b>	<b>3.50</b>	<b>6.80</b>	<b>0.35</b>	<b>3.50</b>	
<b>%CV</b>	<b>-21.40</b>	<b>-21.67</b>	<b>39.46</b>	<b>-9.43</b>	<b>-13.82</b>	<b>-13.73</b>	<b>26.29</b>	<b>-13.12</b>	<b>-12.63</b>	

Datos del Grupo Control de Unidades Haugh de *Salmonella* (Réplica A)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>Salmonella</i> RÉPLICA "a"				SIN TRATAMIENTO (ST)	
Huevo	Peso (g)	Albumen denso (m)	Unidades Haugh		
1	55	0.9	-0.80		
		0.5	-23.53		
		1	3.41		
		PROMEDIO	-6.97		
2	55	1.5	19.91		
		1.2	10.78		
		1.5	19.91		
		PROMEDIO	16.87		
3	55	1.4	17.08		
		1	3.41		
		1.3	14.04		
		PROMEDIO	11.51		
4	55	1.9	29.70		
		1.8	27.46		
		1.4	17.08		
		PROMEDIO	24.75		
5	55	3.3	52.91		
		4.5	66.10		
		3.3	52.91		
		PROMEDIO	57.31		
6		Huevo con yema rota			
7	55	3.2	51.61		
		3.1	50.27		
		2	31.84		
		PROMEDIO	44.57		
		<b>PROMEDIO DE PROMEDIO</b>	<b>24.67</b>		
		<b>DE</b>	<b>23.22</b>		

### Datos del Grupo Control de Unidades Haugh de *Salmonella* (Réplica B)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>Salmonella</i>		RÉPLICA "b"	SIN TRATAMIENTO (ST)	
Huevo	Peso (g)	Albumen denso (mm)	Unidades Haugh	
1	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huevos			
2	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huevos			
3	55	6.5	81.83	
		1.7	25.08	
		2.2	35.83	
		PROMEDIO	47.58	
4	55	1.8	27.46	
		1.8	27.46	
		1.2	10.78	
		PROMEDIO	21.90	
5	55	3	48.88	
		2.5	41.19	
		2	31.84	
		PROMEDIO	40.64	
6	55	3	48.88	
		3.2	51.61	
		3.2	51.61	
		PROMEDIO	50.70	
7	55	1.1	7.25	
		0.9	-0.80	
		0.9	-0.80	
		PROMEDIO	1.88	
PROMEDIO DE PROMEDIOS			27.12	
DE			20.46	

Datos del Grupo Ácido Cítrico al 2% de Unidades Haugh de *Salmonella* (Réplica A)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>Salmonella</i>			RÉPLICA "a"	ÁCIDO CÍTRICO 2 % (AC)	
Huevo	Peso (g)	Albúmen denso (mm)	Unidades Haugh		
1	55	3.5	55.41		
		3.6	56.60		
		2.9	47.45		
PROMEDIO			53.15		
2	Huevo con yema rota				
3	55	1.9	29.70		
		3.5	55.41		
		3.9	60.01		
PROMEDIO			48.37		
4	55	2.7	44.43		
		1.8	27.46		
		3.9	60.01		
PROMEDIO			43.96		
5	55	2.9	47.45		
		2.9	47.45		
		1.9	29.70		
PROMEDIO			41.53		
6	55	3.9	60.01		
		3.9	60.01		
		2.2	35.83		
PROMEDIO			51.95		
7	55	1.5	19.91		
		1.6	22.57		
		1.9	29.70		
PROMEDIO			24.06		
<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>			<b>43.84</b>		
<b>DE</b>			<b>10.67</b>		

Datos del Grupo Ácido Cítrico al 2% de Unidades Haugh de *Salmonella* (Réplica B)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON Salmonella			RÉPLICA "b"	ÁCIDO CÍTRICO 2 % (AC)
Huevo	Peso (g)	Albumen denso (mm)	Unidades Haugh	
1	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huevos			
2	Este huevo se utilizó en determinaciones de prueba de minerales para estandarizar el método para los próximos huevos			
3	55	3.3	52.91	
		3.5	55.41	
		2.3	37.69	
		PROMEDIO	48.67	
4	55	3.5	55.41	
		3.8	58.90	
		3.5	55.41	
		PROMEDIO	56.57	
5	Huevo con yema rota			
6	55	3.5	55.41	
		3.9	60.01	
		3.2	51.61	
		PROMEDIO	55.68	
7	55	1.5	19.91	
		1.7	25.08	
		1.5	19.91	
		PROMEDIO	21.64	
<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>			<b>45.64</b>	
<b>DE</b>			<b>16.39</b>	

Datos del Grupo SES de Unidades Haugh de *Salmonella* (Réplica A)

EVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>Salmonella</i>				RÉPLICA "a"	CIÓN ELECTROLIZADA DE SUPEROXIDACIÓN (SES)
Huevo	Peso (g)	lumen denso (mm)	Unidades Haugh		
1	55	4.2	63.16		
		4.2	63.16		
		4.8	68.86		
		PROMEDIO	65.06		
2	55	4.1	62.14		
		4.5	66.10		
		4.2	63.16		
		PROMEDIO	63.80		
3		Huevo podrido			
4	55	4.2	63.16		
		4.2	63.16		
		4.9	69.74		
		PROMEDIO	65.35		
5	55	1.2	10.78		
		0.9	-0.80		
		1.4	17.08		
		PROMEDIO	9.02		
6	55	1.2	10.78		
		4.1	62.14		
		3.1	50.27		
		PROMEDIO	41.06		
7	55	2	31.84		
		1.9	29.70		
		1.9	29.70		
		PROMEDIO	30.42		
		<b>PROMEDIO DE PROMEDIOS</b>	<b>45.78</b>		
		<b>DE</b>	<b>23.19</b>		

Datos del Grupo SES de Unidades Haugh de *Salmonella* (Réplica B)

HUEVO PARA PLATO CONTAMINADO CON <i>Salmonella</i>			RÉPLICA "b"	SOLUCIÓN ELECTROLIZADA DE SUPEROXIDACIÓN (SES)		
Huevo	Peso (g)	Albumen denso (mm)	Unidades Haugh			
1	55	3.4				
2						
3		Huevo Podrido				
4		Huevo Podrido				
5	55	4.5	66.10			
		4.6	67.04			
		4.9	69.74			
		PROMEDIO	67.63			
6	55	4.7	67.96			
		4.2	63.16			
		1.7	25.08			
		PROMEDIO	52.07			
7	55	1.7	25.08			
		2	31.84			
		2	31.84			
		PROMEDIO	29.59			
PROMEDIO DE PROMEDIOS			49.76			
DE			19.12			