

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE HUEVO FÉRTIL CON DOS PROCESOS
DE DESINFECCIÓN Y EL USO DE CUATRO PRODUCTOS COMERCIALES EN
LA GRANJA GUACATA EN EL MUNICIPIO DE FUSAGASUGÁ,
CUNDINAMARCA**

Trabajo de grado opción investigación
presentado como requisito parcial para
la obtención del título de
Zootecnista

CARLOS EDUARDO JIMENEZ ROJAS

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA ZOOTECNIA
FUSAGASUGÁ**

2017

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE HUEVO FÉRTIL CON DOS PROCESOS
DE DESINFECCIÓN Y EL USO DE CUATRO PRODUCTOS COMERCIALES EN
LA GRANJA GUACATA EN EL MUNICIPIO DE FUSAGASUGÁ,
CUNDINAMARCA**

Director

Ángel Javier Rojas Godoy
Médico Veterinario

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA ZOOTECNIA
FUSAGASUGÁ
2017

NOTA DE ACEPTACIÓN

Jurado

Jurado

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a las empresas Avícola los Cambulos y Vetiplus, a la doctora Andrea Torres y los doctores Juan Carlos Castañeda y Carlos Serrano por su ayuda, acompañamiento y disponibilidad para el desarrollo del proyecto realizado. Al doctor Ángel Javier Rojas director de mi tesis que con su profesionalidad y dedicación fue posible obtener este logro.

También agradecer a mis padres que con esfuerzo y amor permitieron lograr este paso tan importante en mi vida, por brindarme su confianza, por cada consejo y colaboración en los momentos buenos y malos. A mis hermanos, amigos y en especial para Angie Cárdenas quien siempre estuvo a mi lado brindándome su apoyo, sus conocimientos y dedicación en cada segundo difícil y crucial para que todo esto fuera posible.

Agradecer a Dios quien me brindo la vida, la salud y las capacidades de poder llegar y cumplir las metas hasta el día de hoy y con la seguridad de que me permitirá abrir muchas puertas más.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
1. Introducción	12
2. Objetivos	14
2.1. General	14
2.2. Específicos	14
3. Marco referencial	15
3.1. Huevo incubable	15
3.1.1. Membrana testácea	15
3.2. Cuidado del huevo incubable	16
3.2.1. Estrategias para minimizar la contaminación del huevo	17
3.3. Manejo de huevo fértil	18
3.3.1. Nidales	19
3.3.2. Higiene de los nidos	19
3.3.3. Recolección del huevo	20
3.3.4. Almacenamiento	21
3.4. Microbiología del huevo	22
3.4.1. Barreras físicas	23
3.4.2. Transmisión vertical	25
3.4.3. Transmisión horizontal	25
3.5. Microorganismos de alteración	25
3.6. Desinfección del huevo	27
3.7. Tipo de desinfectantes	28
3.7.1. BioSentry ^R 904	29
3.7.2. Hyperox ^R	31
3.7.3. Virkon ^R S	31
3.7.4. Formol	32
3.8. Momento de la desinfección	33
3.8.1. Elección del desinfectante	33
3.8.2. Aplicación del desinfectante	34
3.9. Manejo de huevos incubables en plantas de incubación	34

3.10. Bioluminiscencia	35
3.11. Importancia económica	35
4. Materiales y métodos	36
4.1. Ubicación geográfica	36
4.2. Manejo de huevos y muestras	36
4.3. Muestras microbiológicas	36
4.3.1 Manejo de muestras con agar MacConkey y Sabouraud	37
4.4. Muestras de luminometria	37
4.5. Membrana testácea	38
4.6. Tratamientos	39
4.7. Diseño estadístico	39
5. Resultados	41
5.1. Resultado microbiológico	41
5.2. Resultado Técnica de AccuPoint	44
6. Discusión	48
6.1. Análisis microbiológico	48
6.1.1. Análisis estadístico de coliformes	48
6.1.2. Análisis estadístico de hongos	49
6.2. Métodos	51
6.3. Análisis Técnica de AccuPoint	52
6.4. Análisis biológico de membrana testácea	53
7. Conclusiones	54
8. Recomendaciones	55
9. Bibliografía	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química Biosentry 904	30
Tabla 2. Composición química Hyperox	31
Tabla 3. Composición química Virkon´S	32
Tabla 4. Tratamientos manejados y su respectiva dosificación en muestras microbiológicas	37
Tabla 5. Tratamientos manejados y su respectiva dosificación en Técnica AccuPoint	38
Tabla 6. Tratamientos manejados y su respectiva dosificación en muestras para membrana testácea	38
Tabla 7. Tratamientos y su respectiva identificación de coliformes y hongos antes y después de la desinfección	41
Tabla 8. Repetición de los tratamientos y su respectiva identificación de coliformes y hongos antes y después de la desinfección	43
Tabla 9. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante BioSentry 904 y el método de aspersion (AS)	45
Tabla 10. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante BioSentry 904 y el método de gasificación (GAS)	45
Tabla 11. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Hyperox y el método de aspersion (AS)	45
Tabla 12. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Hyperox y el método de gasificación (GAS)	46
Tabla 13. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Virkon´S y el método de aspersion (AS)	46
Tabla 14. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Virkon´S y el método de gasificación (GAS)	46
Tabla 15. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con formol y el método de gasificación (GAS)	47
Tabla 16. Carga microbiológica en membrana testácea	53

LISTA DE GRAFICAS

Grafica 1. Carga microbiológica de coliformes antes de la desinfección	49
Grafica 2. Carga microbiológica de coliformes después de la desinfección	49
Grafica 3. Carga microbiológica de hongos antes de la desinfección	50
Grafica 4. Carga microbiológica de hongos después de la desinfección	51
Grafica 5. Comparación de métodos gasificación y aspersión	51
Grafica 6. Comparación del porcentaje de reducción de materia orgánica entre tratamientos	52
Grafica 7, comparación entre tratamientos antes y después de su desinfección	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura interna de un huevo fértil al momento de la postura 16

Figura 2. Diagrama del ovario y el oviducto 18

Figura 3. Caracterización de huevo optimo para incubación 20

RESUMEN

El presente estudio se desarrolló en la granja Guacata, vereda Novilleros, ubicada en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca, situado a 1726 msnm, con una temperatura promedio de 20° C y una humedad relativa del 85%. El principal objetivo del proyecto fue evaluar microbiológicamente huevos fértiles a través de dos métodos de desinfección (gasificación y aspersión) usando cuatro productos comerciales (Biosentry 904, Hyperox, Virkons, Formol), determinando cual genera mayor efecto para la reducción de coliformes y hongos en los huevos. En el proyecto se tomaron 156 huevos al azar, con un peso promedio de 61.5 gramos (gr), de los cuales 112 fueron para el análisis microbiológico repartidos en 7 tratamientos de a 16 huevos fértiles cada uno y fueron trabajados de la siguiente manera: Tratamiento (Tto) 1 se utilizo el producto comercial Biosentry 904 (5 ml x 1 litro de agua) manejando el método de aspersión, Tto 2, se utilizo el producto Biosentry 904 (4 ml x 1 litro de agua) manejando el método de gasificación Tto 3, se utilizo Hyperox (14 ml+1 litro de agua) manejando el método de aspersión Tto 4, se utilizo el producto Hyperox (14 ml+21 ml de agua x m³) manejando el método de gasificación, Tto 5 se utilizo el producto Virkons (5 gr x litro de agua) manejando el método de aspersión , Tto 6 se utilizo el producto Virkons (5 gr x litro de agua) manejando el método de gasificación, Tto 7 se utilizo el formol (11 ml x m³) con el método de gasificación. Para determinar la limpieza del huevo se realizo una prueba de luminometria donde se evaluaron 28 huevos antes y después de la desinfección con los mismos productos y métodos de desinfección y 16 huevos fértiles para el análisis de membrana testácea.

El análisis estadístico para el microbiológico fue un diseño de bloques completamente al azar, se manejo la prueba no paramétrica de Kruskall Wallis y el programa estadístico Minitab. En los resultados estadísticos no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos pero si una diferencia biológica mostrando una mejor desinfección de coliformes y hongos en el huevo del tratamiento 1 y 5. Para la prueba de AccuPoint se realizó un ANOVA, no se obtuvieron diferencias significativas en la reducción de la materia orgánica (%).

Los huevos recuperables tratados en este proyecto no presentan niveles de contaminación altos lo cual es positivo para darnos entender que las condiciones de la granja y el manejo de los operarios es el adecuado generando así una reducción en la parte económica en la desinfección de huevo fértil acto de incubación. La Técnica de AccuPoint dentro de la granja nos sirve para proporcionar a los productores una inmediata y objetiva determinación de la eficacia de la limpieza tanto de los huevos, equipo, instalaciones y rendimiento del personal.

Palabras clave: Luminometria, coliformes, hongos, limpieza.

1. INTRODUCCIÓN

El objetivo del estudio fue, evaluar microbiológicamente el huevo fértil con cuatro productos comerciales, determinando qué bacterias y hongos afectan a los huevos en el momento en que las aves realizan la postura y posteriormente a su incubación, y si los desinfectantes influyen para que reduzca la contaminación en ellos, la problemática reside en que no hay investigaciones en el país, los avicultores no cuentan con estudios realizados en el territorio nacional, la búsqueda y promoción de uso, a la utilización de un producto comercial fijo para la desinfección del huevo fértil, un producto confiable tanto para el huevo, como para el ser humano y el medio ambiente. En los lotes se trata de implementar un manejo adecuado de los nidos en cuanto a volteo de camas, realizando un cambio continuo a la cascarilla, fumigándola antes de utilizarla, limpiando las instalaciones o lugares donde se encuentran las aves, entre otros manejos para reducir la contaminación del huevo, pero aun así no es suficiente para obtener huevos en óptimas condiciones para ser enviados a una planta de incubación y generar mayor porcentaje de nacimientos.

La clasificación de los huevos de alta calidad y fertilidad con bajo índice de contaminación, han sido los factores determinantes para la obtención de pollos en buen estado con bajo porcentaje de mortalidad. La calidad depende de las condiciones externas del cascaron ya que los huevos con problemas en la cascará producirá pollos débiles y bajo porcentaje de nacimiento (Barrientos, 2003). Otro gran porcentaje de los huevos descartados lo forman los huevos con manchas de heces o sangre en la cascara; un huevo tarda solamente 20 minutos en contaminarse, aun con una cascara fuerte. Por ello, el uso de los desinfectantes para eliminar la contaminación del huevo previamente a su incubación es una práctica necesaria para el rendimiento (Salazar, 2000).

En el mercado hay una amplia gama de desinfectantes apropiada para el huevo fértil, hay una variedad de desinfectantes que han dado buenos resultados usados adecuadamente, como lo son los fenoles, los amonios cuaternarios, los glutaraldehidos y combinaciones de peróxido de hidrogeno. Se añade que los desinfectantes que son para el uso en la avicultura para los huevos incubables no deben producir daños en la cutícula y que no colapsen los poros impidiendo la

pérdida de peso y el intercambio de gases. El formaldehído es uno de los más usados para la desinfección de huevos, sin embargo hay investigaciones que han señalado a esta molécula como cancerígena para los seres humanos y se han buscado posibles alternativas a la utilización para la desinfección (García, 2013).

Se utilizan diferentes métodos de desinfección, pero el propósito del proyecto es determinar cuál de los dos métodos: aspersión (húmedo) y gasificación (seco) es más eficiente para la obtención de huevo fértil para incubar y no generar una contaminación a gran escala por la presencia de bacterias y hongos en la cascara del huevo. Adicionalmente se realizó una prueba de luminometría para evaluar la limpieza del huevo antes y después de su desinfección, además de un estudio de membrana testácea.

2. OBJETIVOS

2.1.General

Realizar una evaluación microbiológica de huevo fértil mediante el uso de cuatro productos comerciales a través de dos procesos de desinfección en la granja Guacata en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca

2.2.Específicos

- Identificar a través de un análisis en laboratorio, que tipo de hongos y bacterias se presentan en los huevos
- Comparar la eficacia de los productos comerciales usados en los tratamientos para la disminución de crecimiento de colonias
- Determinar si existe influencia de los dos métodos de desinfección sobre la eficiencia de los productos comerciales usados
- Analizar por medio de luminometria los niveles de contaminación del huevo fértil a través de la técnica de accunpoint

3. MARCO REFERENCIAL

3.1.HUEVO INCUBABLE

Es aquel huevo que cumple con las características que la compañía ha definido como necesarias para poder ser incubado en máquinas, estas características comprenden: Peso mayor a 49 gramos, buena calidad de cascara, coloración normal según la raza, forma de ovoide perfecta, libre de contaminación entre otras (Mejía, 2016). El huevo es parte del proceso de reproducción de los animales ovíparos, contiene los nutrientes necesarios para alimentar un posible embrión y al animal hasta que está en condiciones de adaptarse al medio externo (Domínguez, 2012). El establecimiento de postura de huevos debería ser adecuado para la producción primaria del huevo, de manera que se reduzca al mínimo las fuentes de sustancias potencialmente nocivas y no alcancen los niveles inaceptables tanto en el interior como en la superficie de los huevos (CAC/RCP, 2007).

La cascara es la cubierta exterior del huevo tiene gran importancia y lo mantiene protegido de la contaminación exterior por la barrera física que le proporcionan los componentes antibacterianos presentes en su contenido. Toda la superficie de la cascara, incluidos los poros se encuentra recubierto por una cutícula orgánica que contiene la mayoría de los pigmentos de la cascara y esta principalmente formado por proteínas (90%) y pequeñas cantidades de lípidos y carbohidratos. La principal función de esta película consiste en cerrar los poros formando una barrera física contra la penetración de microorganismos. También evita la pérdida de agua (Anton et al., 2015; instituto de estudios del huevo, 2009) Otros sistemas de protección contra la contaminación microbiana son la cutícula, las membranas del cascarón (García, 2015).

3.1.1. Membrana testácea

La cascara está recubierta en su parte interna por dos membranas, la membrana testácea interna y la externa, ambas rodean el albumen y proporcionan protección contra la penetración bacteriana. Las membranas testáceas se encuentran fuertemente pegadas entre sí cuando el huevo es puesto por la gallina, y se separan por unos poros para la formación de la cámara de

aire. La cámara de aire es una de las medidas de frescura del huevo, y permite la evaporación y absorción de material por parte del embrión. La membrana interna tiene una fina estructura de fibras de queratinas entrelazadas que impiden la entrada de microorganismos y retarda la entrada de otros. La membrana externa es mucho mas porosa y sirve como asentamiento para la formación de la cascara (Gómez et al., 2006; instituto de estudios del huevo, 2009).

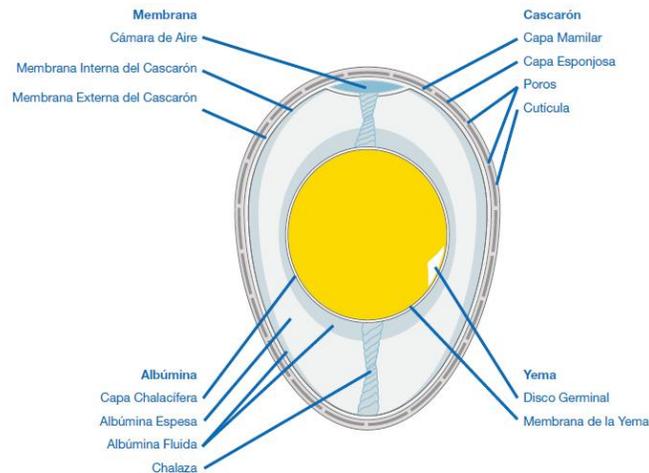


Figura 1. Estructura interna de un huevo fértil al momento de la postura.

Fuente Ross (2013).

3.2.CUIDADO DEL HUEVO INCUBABLE

El objetivo es mantener el embrión y el contenido del huevo en las mejores condiciones posibles para una buena incubabilidad y calidad del pollito. Los huevos deben mantenerse en condiciones limpias, y se deben alcanzar la temperatura y humedad correctas para lograr la mejor incubabilidad. Para lograr esto, se deben establecer procedimientos satisfactorios para la recolección, desinfección, enfriamiento, almacenamiento he incubación de los huevos, y cada proceso debe llevarse a cabo sin que se comprometa el desarrollo embrionario (Ross, 2013).

La fertilización se lleva a cabo en la parte superior del oviducto, un poco después de que el ovario libera la yema. Luego la yema baja a través del oviducto. Durante este proceso se forman las capas externas del huevo, y el disco germinal fertilizado crece y se desarrolla. Para

el momento en el que la gallina pone el huevo, éste contiene un disco germinal que ha estado creciendo durante 24 horas a medida que el huevo se ha formado a su alrededor (Ross, 2013).

Una vez puesto el huevo, éste debe enfriarse, con el fin de detener cualquier desarrollo adicional hasta que sea incubado. El cuidado que se le dé a los huevos incubables tiene que cumplir con las necesidades de estos embriones inactivos (pero vivos). Los componentes del huevo que rodean al embrión tienen que mantenerse en buenas condiciones. Las temperaturas fluctuantes durante el almacenamiento del huevo pueden causar que se vuelva a activar el crecimiento del disco germinal, lo que reducirá la incubabilidad (sin embargo, estudios recientes han demostrado que, si los huevos se van a almacenar durante más de una semana, puede ser beneficioso calentarlos hasta la temperatura de incubación en una incubadora por períodos cortos durante el almacenamiento) (Ross, 2013).

3.2.1. Estrategias para minimizar la contaminación del huevo

- Recolección frecuente de los huevos para minimizar el tiempo de exposición a un ambiente contaminado.
- Mantener la limpieza de la nave, incluyendo la cama de los niales ya sean estas de almohadillas de plástico, de viruta o de paja.
- Introducir los huevos recolectados al cuarto frío de almacenamiento de huevos tan pronto como sea posible; las temperaturas frías y adecuadas del cuarto frío demorarán el crecimiento de las bacterias sobre la superficie de la cáscara.
- Impedir que la humedad se acumule sobre la cáscara. La humedad provee el nutriente necesario para el crecimiento microbiano y puede ser también una ayuda para el movimiento de microbios sobre la superficie de la cáscara.
- Uso adecuado de los programas autorizados para la fumigación o desinfección de huevos.
- Minimizar el número de huevos rotos o con grietas. Los contenidos de los huevos pueden proveer los nutrientes necesarios para que las bacterias se multipliquen y se diseminen.
- Evitar la limpieza de los huevos con lijas abrasivas ya que pueden afectar la estructura de la cáscara.

- Hacer un gran esfuerzo para minimizar la contaminación según avanza la edad de los reproductores. La cáscara se vuelve más delgada con la edad y está más expuesta a la infección bacteriológica (Philipp et al., 2007).



Figura 2. Diagrama del ovario y el oviducto.

Fuente Ross (2013)

3.3.MANEJO DE HUEVO FÉRTIL

En Latinoamérica se tiene que el porcentaje de huevos incubables esta alrededor del 95 al 96%, lo que quiere decir que de cada 100 huevos puestos por las gallinas entre 95 y 96 huevos son aptos para incubar y los otros 4 o 5 son huevos no aptos o comerciales, valores inferiores al 95% indican problemas con el manejo de huevo y aumento en los costos de producción, y valores mayores indican un excelente manejo de huevo y de las aves y se traducirán en mejores resultados económicos para las empresas (Mejía, 2016). En la medida de lo posible, los productores podrían identificar y evaluar los alrededores y el establecimiento de postura del huevo, a fin de identificar los peligros, así mismo, deberían identificarse las posibles fuentes de contaminación provenientes del establecimiento de postura de huevos, Esto podría incluir la contaminación relacionada con los usos precedentes de la tierra, la presencia de contaminantes, agua superficial contaminada, posibles peligros microbianos y productos químicos a causa de la contaminación fecal, y otros desechos orgánicos que pudieran introducirse en el establecimiento de postura de huevos (CAC/RCP, 2007).

En la medida de lo posible, las zonas y establecimientos de postura de huevos, deberían estar diseñados, construidos, mantenidos y utilizados de manera que se reduzcan al mínimo la

exposición de las aves domesticas o de sus huevos a peligros y plagas. Hay diferentes causas por las que no todos los huevos pueden ser incubables. La producción de huevos fértiles uniformes, con un buen tamaño y peso y con cascaras fuertes y limpias están directamente relacionadas con el manejo de las pollitas de recría. Cuando estas están sometidas a un buen programa de manejo se obtiene una mejor producción, los huevos son de tamaño uniforme, la incubabilidad es elevada y los pollitos son de mejor calidad (CAC/RCP, 2007).

3.3.1. Nidales

Con cualquier tipo de nidales, es esencial proveer la suficiente cantidad de nidos para evitar la ruptura y la postura en el piso ya que aumenta mucho el porcentaje de huevos sucios y rotos, utilizando en la mayoría de las ocasiones el metal galvanizado ya que se pueden desinfectar periódicamente, se descartan los nidos de madera por su falta de higiene. El manejo de los nidos es un tema importante y tiene que tenerse en cuenta, la línea genética, al inicio de producción y hasta que lleguen al 50% de producción día, los nidales deben estar al nivel del piso, luego de ahí se deben subir a una altura de 40 a 45 cm desde el piso hasta la base del nido, poner trampas debajo de las bases para que las gallinas no se metan por debajo de estas y pongan los huevos debajo del nido (Ross, 2013).

3.3.2. Higiene de los nidos

El primer contacto de los huevos al ser puestos es la cama sobre el fondo del nido, por lo que se debe utilizar un material de nido de buena calidad (cascarilla de arroz), es necesario desinfectarlo antes de ingresar a la granja, el material del nido debe guardarse en un deposito bajo cubierta, bien ventilado protegido con mallas anti-pájaros para evitar su contaminación y monitorear su nivel de contaminación. Deben ser desinfectados con un producto de larga duración de preferencia paraformaldehido a razón de 20 gr por nido, a los 15 días se rellena la cantidad de cama del nido y se pone nuevamente el desinfectante en la misma dosificación al inicio, al mes se debe cambiar totalmente la cama del nido y reemplazar por una nueva (Ross, 2013).

3.3.3. Recolección del huevo

La mejor incubabilidad y calidad de pollitos puede ser obtenida únicamente cuando los huevos son mantenidos bajo condiciones óptimas después de que el huevo ha sido puesto. Un huevo fértil contiene muchas células vivas. Una vez el huevo ha sido puesto, su potencial de nacimiento no puede ser mejorado pero si puede ser mantenido. Si este huevo no es manejado correctamente, su potencial de nacimiento se deteriorará muy rápidamente (Cobb 2008).

La clasificación de huevos debe ser hecha con cuidado para prevenir rupturas en los huevos incubables, los huevos sucios (definidos por los estándares de cada compañía, rotos, pequeños, huevos muy grandes o doble yema, huevos con mala calidad de la cascara y huevos defectuosos).

Se debe mantener un buen control de roedores en la sala de almacenamiento de huevos. La sala de manejo de huevos es la primera etapa del enfriamiento de los huevos y es aconsejable mantenerla fría, más fría que la caseta de las gallinas, pero más tibia que la sala de almacenamiento (Cobb 2008).

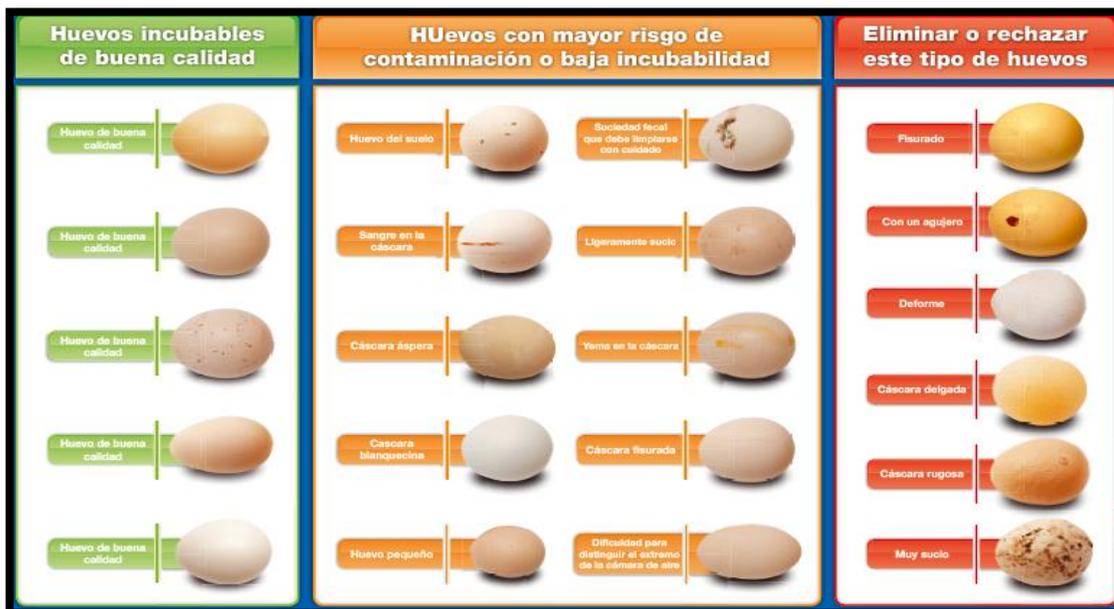


Figura 3. Caracterización de huevo optimo para incubación

Fuente Aviagen (2011)

Se debe de recoger los huevos, por lo menos, cinco veces al día, tres a la mañana y dos a la tarde, ya que el 70% de las aves pone por la mañana. Se debe de utilizar bandejas distintas para los huevos sucios, de descarte o puestos en el piso, jamás se deberán mezclar con los huevos limpios. Los huevos sucios se recogerán, debiéndose lavar las manos el operador después de la manipulación. Los huevos sucios y de piso no deben de incubarse. Los huevos naturalmente limpios mantienen un mayor potencial de nacimiento que los huevos sucios o contaminados, sin importar los procedimientos de desinfección que se utilicen posteriormente (Appleby et al., 2004)

Se deben elegir huevos que sean apropiados para la incubación. Esto evitará perder tiempo, espacio con huevos que no van a llegar a nacer. Se recomienda no incubar huevos que tengan los siguientes defectos:

- Quebrados o con cascarón demasiado delgado.
- Pequeños y redondos, o demasiado grandes.
- Deformes, con cordoncillos pronunciados o ranuras en espiral, lados achatados o superficies ásperas.
- De apariencia transparente o moteada, indicando cascarones de muy mala calidad.
- Demasiado blancos, cuando los cascarones normales son cremas o marrones.
- Sucios o mal lavados (Cristancho, 2014)

3.3.4. Almacenamiento

Apenas un huevo ha sido puesto, se empieza a deteriorar y está propenso a la contaminación. El porcentaje de deterioro depende de la forma en que se maneje y almacene los huevos. El embrión habrá desarrollado unas 20 horas antes de que el huevo haya sido puesto en el nido. Las células se han estado dividiendo y agrupando para realizar diversas funciones especiales, en un proceso llamado gastrulación. Este desarrollo debe ser protegido y preservado cuidadosamente para asegurarse que terminada la incubación, el pollito obtenido sea sano y fuerte (Sosa, 2013).

Para detener el desarrollo del disco germinal, los huevos se deben mantener en estado fisiológico de cero antes de cargarlos en la incubadora. Este proceso se realiza en un cuarto preparado para tal fin. El proceso de enfriamiento debe tener lugar entre las primeras 6 a 10 horas que el huevo ha sido puesto, a 21.1 a 26.7°C (Mohamed, 2007). El cuarto frío es aquel donde se almacenan, los huevos, antes de pasarlos a la incubadora, previo clasificado (descarte de chicos, rotos, etc.). El enfriamiento demasiado rápido daña al embrión, mientras que un enfriamiento gradual y lento (período de pre incubación), permite que se desarrolle mejor el embrión. Después de este enfriamiento intermedio, hay que llevar a los huevos a la temperatura de almacenaje correcta basado en el tiempo que permanecerán allí (Cristancho, 2014).

Los primeros huevos en entrar al cuarto son los primeros en salir para su posterior incubación. El cuarto se debe limpiar todos los días, desinfectarlo por lo menos una vez a la semana cuando está vacío. La temperatura de almacenaje debe mantenerse constante y sin fluctuaciones. También debe controlarse la humedad relativa. La temperatura y humedad de almacenaje es fundamental en el resultado de la incubación y varía según la cantidad de (USDA, 2014).

3.4.MICROBIOLOGIA DEL HUEVO

La carga microbiana de los huevos debería ser tan reducida como sea factible, empleando buenas prácticas de producción de huevos. Las medidas deberían aplicarse en el ámbito de la producción primaria a fin de reducir, en la medida de lo posible, la carga inicial de microorganismos patógenos que afectan la inocuidad e idoneidad (CAC/RCP, 2007). Los huevos producidos en sistemas alternativos son de gran interés en la industria, porque se elevan los precios y genera mayor ganancia a los productores; sin embargo no se maneja mucha información acerca de los problemas microbiológicos asociados con este tipo (De Reu et al., 2006).

Para que un microorganismo produzca alteraciones en el huevo debe penetrar a través de los poros de la cascara hasta la membrana interna, crecer sobre la membrana y alcanzar la clara o

la yema. Dentro de los microorganismos asociados con más frecuencia al deterioro, se encuentran las bacterias Gram negativas y hongos. Además de la *Salmonella* otros patógenos suelen estar asociados con los huevos y ovoproductos (Domínguez, 2012).

Hay diferentes tipos de contaminación que pueden ocurrir en el huevo, la contaminación química que no es detectable a simple vista al localizarse al interior del huevo, unida químicamente a sus componentes (restos de insecticidas, metales pesados, medicamentos de uso veterinario etc.), la contaminación física: fundamentalmente suciedad por restos de heces y/o de orina, plumas, manchas de sangre etc., y la contaminación microbiológica que se da tanto por bacterias como por hongos procedentes de la gallina, de las superficies de contacto o del medio ambiente (Ruíz et al., 2010).

En el momento de la ovoposición, la parte interna del huevo es estéril, pero puede llegar a contaminarse al momento de entrar en contacto con el ambiente, siempre y cuando existan las condiciones apropiadas para el ingreso de estos microorganismos al interior del huevo, donde pueden crecer y alterar su contenido. Entre las bacterias encontradas en los huevos existen representantes de géneros tales como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* y *Staphylococcus* (Musgrove et al., 2008).

El huevo es una estructura destinada a permitir el desarrollo del embrión en un ambiente estéril bajo unas determinadas condiciones de incubación. Los poros de la cáscara, que juegan un papel vital en el intercambio gaseoso entre el embrión en desarrollo y medio ambiente, pueden actuar de modo negativo sobre la capacidad de conservación del huevo facilitando la pérdida de agua, CO₂ y permitiendo el acceso de microorganismos desde el exterior de la cascara (Domínguez, 2012).

3.4.1. Barreras físicas

Los distintos componentes del huevo a parte de ofrecer protección al embrión le proporcionan sustento durante el tiempo que dure la incubación. Para evitar el expolio de nutrimentos por

parte de los microorganismos, el huevo cuenta con un sistema de barreras físicas (cascara, membranas testáceas y saco albuminoso) y químicas (albumen y yema) (Domínguez, 2012).

La superficie externa de la cascara está recubierta con la cutícula, que es considerada la primera barrera física del huevo contra bacterias, levaduras y hongos que puedan penetrar el huevo. La humedad, la temperatura del huevo y del ambiente que lo rodea después de la ovoposición y el lavado de los huevos, son factores que afectan la integridad de la cutícula (Howard, 2003). En los huevos sucios pueden producirse manchas de sangre o heces por un defecto durante la ovoposición. También puede ser causa de una contaminación posterior, por ejemplo heces, marcas de la jaula, contaminación fúngica, restos de insectos etc. Cuando los huevos sucios se limpian con sustancias abrasivas la cutícula resulta dañada (Mayes et al., 1983).

La cantidad de infiltración debida al daño está relacionada directamente con el grado hasta el cual los poros ya no están obturados con la cutícula. Incluso el daño localizado puede permitir la entrada bacteriana a través de unos cuantos poros (Mayes et al., 1983). La incidencia de huevos contaminados con *Pseudomonas* y enterobacterias tienden a aumentar con la edad de las aves, lo que puede reflejar una incidencia aumentada en huevos con cutículas de mala calidad (Domínguez, 2012).

De las dos membranas testáceas, la externa es la más porosa y no proporciona una barrera a la entrada de microorganismos. La membrana interna suele retardar la entrada de bacterias debido a su estructura fina (Gantois et al., 2009). Aunque aparentemente algunas bacterias móviles son capaces de penetrar en la fibra de la membrana, los estudios de microscopía electrónica indican que la mayoría de bacterias atraviesan la cascara a través de la matriz albuminosa. Las zonas de hidrólisis que rodean las bacterias observadas en las membranas, confirman la hipótesis que la penetración de la membrana es mediada por enzimas, debido a que ciertos microorganismos son capaces de hidrolizar estas proteínas. Además se ha observado que las membranas testáceas también poseen capacidad hidrofóbica, esto reduce la disponibilidad de agua para los microorganismos y así se crea un ambiente poco favorable para su multiplicación (Martin, 2002).

Existen múltiples factores que inciden en la contaminación, la carga microbiana de la cascara (número y tipo de microorganismo presente), las condiciones de almacenamiento y manipulación como la temperatura ambiente, humedad relativa, composición de la atmosfera y factores intrínsecos del huevo, como pH, nutrimentos y barreras físicas como las que se mencionaron anteriormente (Domínguez, 2012).

3.4.2. Transmisión vertical

También llamada transovarica u oviductal, es la contaminación del albumen y/o membrana vitelina y yema por microorganismos que se encuentran en el ovario de la gallina o durante su paso por el oviducto. Esta ruta de contaminación es consecuencia de bacterias que invaden e infectan el aparato reproductor del ave, y es la principal vía de contaminación por *S. enteriditis* (Messens, 2011)

3.4.3. Transmisión horizontal

También llamada transmisión transcárida, es la contaminación posterior a la puesta, cuya causa suele ser ambiental. Esta vía supone la contaminación inicial de la superficie del huevo, seguida de la penetración subsiguiente del microorganismo en el albumen, o en algunos casos, directamente la yema, debido a la contaminación fecal de la superficie de la cascara. Es la forma más habitual por contaminación microbiana de los componentes del huevo (Humphrey, 1994; Gast et al., 2002).

3.5.MICROORGANISMOS DE ALTERACIÓN

La alteración de los huevos está relacionada con la capacidad de los microorganismos para penetrar en el huevo y superar las barreras antimicrobianas. Los microorganismos presentes muy frecuentemente en la superficie de los huevos no son necesariamente los relacionados más frecuentemente con la alteración. Mientras que la microflora de la cascara de huevo varia cualitativa y cuantitativamente en las distintas regiones y en los distintos tipos de aves. Los microorganismos relacionados con la alteración tienden a ser los mismos. Por lo general, esto

se interpreta como indicador de que son los mecanismos de defensa intrínsecos del huevo los que seleccionan los microorganismos que son capaces de crecer en este medio (Domínguez, 2012).

A veces se ha observado crecimiento de mohos en los huevos de las parvadas de aves cuando la recogida se retrasa indebidamente. La parte inicial de la alteración por mohos, es la putrefacción fúngica, que se produce una vez que el micelio del moho ha crecido en el interior del huevo después de que las hifas han atravesado los poros de la cascara diseminándose por el interior del huevo. Los mohos generalmente se multiplican primeramente en la zona de la cámara de aire, lugar en que el oxígeno facilita el crecimiento de estas formas microbianas. En condiciones de elevada humedad, se pueden observar los mohos creciendo sobre la superficie externa de los huevos. En condiciones de humedad baja o escasa y temperaturas bajas, el crecimiento superficial no resulta favorecido. Estudios hechos por Hrnčár et al. 2012 han demostrado una diferencia significativa en el porcentaje de penetración bacteriana en huevos puestos en un nido cuando se compara con huevos puestos en el piso. Como una gallina envejece, aumenta el tamaño de su huevo, y el espesor de la cáscara disminuye. La longitud del poro está determinada por el grosor de la cáscara; así que las cáscaras más delgadas son más propensas a la contaminación bacteriana causada por bacterias de mayor penetración de la superficie del huevo (Hrnčár et al., 2012).

El control de microorganismos sobre la superficie de la cáscara de huevos para incubar requiere un desinfectante eficaz para eliminar los patógenos sin lesión en el embrión de pollo vivo. La fumigación con formaldehído ha sido el método utilizado por la mayoría de los productores para lograr ese objetivo, pero la implicación del control de sustancias peligrosas para la salud, está causando muchos procedimientos para las técnicas de desinfección. Así, se necesitan desinfectantes alternativos eficaces para sustituir la fumigación de formaldehído en caso de que la Agencia de protección del medio ambiente prohíba su uso. Varios factores influyen en la calidad microbiológica de huevos lavados. Los factores de riesgo más importantes incluyen la temperatura del agua del lavado y el enjuague, el tiempo de contacto del huevo con el agua, las condiciones de almacenamiento del huevo antes del proceso de lavado, la calidad del agua y sus limpiadores (Zeweil et al., 2015).

3.6. DESINFECCIÓN DEL HUEVO

La contaminación microbiana de los huevos para incubar es una preocupación principal de los productores de aves de corral como causa de baja incubabilidad y bajo rendimiento del pollo. Es evidente que los altos estándares de higiene deben ser practicadas en los criaderos con el fin de minimizar el manchado o suciedad de huevos pero, la desinfección de huevos también es necesaria para controlar los números bacterianos. Los huevos para incubar se desinfectan para matar los microorganismos presentes sobre la superficie de la cáscara. Esto permite la producción de pollos sanos. La principal fuente de contaminación de huevos para incubar es el contacto de cascaras con superficies sucias. Se ha demostrado que si los huevos fértiles no son desinfectados antes de su incubación, hay una excesiva contaminación bacteriana y posteriormente el crecimiento puede llevar a disminución de la incubabilidad, pollos mala calidad, crecimiento, rendimiento y aumento de la mortalidad (Hrnčár et al., 2012; Zeweil et al., 2015).

Los desinfectantes químicos, de acuerdo a su actividad se dividen en cuatro niveles, desinfectantes de nivel más alto con un amplio espectro de actividad esterilizante, en este grupo están incluidos el oxido de etileno y el glutaraldehido. Desinfectantes de nivel alto, con un amplio espectro incluso con cierta actividad esporicida, en este grupo se pueden considerar el glutaraldehido, el hipoclorito sódico, peróxido de hidrogeno. Desinfectante de nivel intermedio, con un amplio espectro, sin actividad esporicida, en este grupo se incluye el etanol y el isopropanol y por último el desinfectante de nivel bajo, con un reducido espectro de actividad, los agentes químicos como los compuestos de amonio cuaternario, que son considerados de baja actividad (Galan, 2003).

La desinfección deberá utilizar la concentración óptima, ya que mayores concentraciones no necesariamente serán más efectivas, debido a que la relación entre la muerte microbiana y la concentración de los desinfectantes no sigue una relación lineal sino sigmoidea. La importancia de controlar este parámetro requiere no solo un sistema continuo para la determinación de la concentración, sino también para implementar programas de control de la

eficacia del producto después de su uso. Entre estos programas de control, un sistema puede proporcionar resultados inmediatos es la determinación de AdenosinTriFosfato (ATP), esta técnica se basa en registrar los niveles de ATP presentes y que solamente se encuentran en las células animales, vegetales y de microorganismos (Holán, 1995).

La resistencia de mohos y levaduras dependen en gran medida de la cepa y especie aislada de los compuestos activos y de los desinfectantes y de la situación concreta de los microorganismos, ya que diferentes aislamientos de la especie pueden mostrar diferentes respuestas a los mismos desinfectantes resultando en una efectiva muerte en un caso y casi ningún efecto en otros (Galán, 2003).

Los desinfectantes deben tener el más amplio espectro posible de actividad en contra de virus, bacterias y hongos, además deberán tener una acción biocida en contra de los microorganismos en una variedad de condiciones y estadios de crecimiento. Cada vez se están desarrollando formulaciones químicas con actividad desinfectante para ser utilizadas. La mayoría de los productos desarrollados tienen como objetivo actuar como bactericidas. Sin embargo poco se estudia respecto a su actividad fúngica (tanto de destrucción de mohos como levaduras). Hay que destacar que en este grupo encontramos a microorganismos patógenos, como *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y otros alterantes que pueden crecer en paredes, suelos y superficies de difícil acceso (Galán, 2003).

3.7.TIPO DE DESINFECTANTES

El lavado de la cascara de huevo, adoptado actualmente por la ley en varios países, todavía está bajo discusión debido a los riesgos relacionados con la mala práctica y a la penetración de posibles patógenos debido a la pérdida de la cutícula. Con diferentes niveles de descontaminación, los métodos alternativos revisados, que pueden clasificarse en térmicos y no térmicos, parecía capaces de reducir la presencia microbiana en la cáscara del huevo. La mayoría de los estudios se realizaron sobre *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. Una comparación de métodos es difícil debido a diferentes inoculaciones de

prácticas microbiológicas, dinámica de inactivación microbiana, tipología del sustrato y el almacenamiento de huevo (EFSA, 2005).

Muchos organismos de descomposición o patógenos alimentarios pueden contaminar los huevos. Mientras que la flora microbiana en la cascara del huevo está dominada por bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas que son los contaminantes principales del contenido del huevo y huevos podridos. *Staphylococcus warneri*, *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes* spp., *Serratia marcescens*, *Carnobacterium* spp. y *Pseudomonas* spp. entre otros, han sido aislados de los contenidos del huevo (De Reu et al. 2006). *Campylobacter jejuni* puede estar presente en el contenido del huevo, *Listeria monocytogenes* y *Yersinia enterocolitica* fueron aislado a partir de cáscaras de huevo. Sin embargo la *Salmonella Enteritidis* es la principal causa de huevo asociado a infecciones humanas (EFSA, 2005; Berardinelli et al., 2011).

Para realizar el lavado del huevo se deben tener en cuenta el desinfectante que se pretende utilizar para el saneamiento, como su modo de acción, debe conocerse sus efectos y saber si son los deseados al utilizarlos, y verificar si la sustancia activa es el resultado de una combinación de diferentes productos, es decir, si es necesario realizar una combinación para lograr resultados (Berardinelli, et al, 2011).

3.7.1. BioSentry[®] 904

Es un desinfectante y desodorante completo, biodegradable y químicamente balanceado que ofrece soluciones claras de uso. Elimina bacterias, hongos y virus causantes de enfermedades y reduce pérdidas económicas. Tiene acción desinfectante en aguas con dureza de 400 ppm equivalente de CaCO₃ y carga orgánica de 5%. Se puede usar como desinfectante de superficies, elimina un amplio espectro de bacterias, hongos y virus, tiene acción funguicida, deja una acción residual de larga duración, no es volátil y contiene inhibidores de corrosión y oxido (DUPONT, 2007). En la tabla 1 se muestra los componentes químicos del desinfectante.

Tabla 1. Composición química Biosentry 904

COMPOSICIÓN:
INGREDIENTES ACTIVOS:

Cloruro de dodecil dimetil amonio	9,2 %
Cloruro de alquil (C ₁₂ , 61%; C ₁₄ , 23%; C ₁₆ , 11%; C ₁₈ , 2.5%; C ₈ y C ₁₀ , 2.5%) dimetil bencil amonio	9,2 %
Cloruro de alquil (C ₁₂ , 40%; C ₁₄ , 50%; C ₁₆ , 10%) dimetil bencil amonio	4,6 %
Óxido de tributil estaño Bis	1,0 %

Fuente DUPONT (2007)

Su componente principal es el amonio cuaternario los cuales biodegradan mas eficientemente que los fenolicos. Los compuestos de amonio cuaternario (QACs), en la actualidad, estos compuestos son la mayor clase de tensioactivos catiónicos utilizados como ingredientes en suavizantes, 47 antiestáticos, desinfectantes, biocidas, detergentes, y numerosos productos de cuidado personal, tales como productos de cuidado del cabello (Chang, 2015). Son eficaces contra una variedad de bacterias, hongos y virus en muy bajas concentraciones. Cuando los QACs son usados como desinfectantes, su uso doméstico, industrial y clínico termina en aguas residuales, Alrededor del 75% del amonio cuaternario utilizado anualmente, se liberan en sistemas de tratamiento de aguas residuales, mientras que el resto se descarga directamente en el medio ambiente (Pavlostathis, 2012). Los compuestos de amonio cuaternario denominados de segunda generación (cloruro de etilbencilo) y los de tercera generación (mezcla de primera y segunda generación, Cloruro de Benzalconio y el Cloruro de Alquil Dimetil Etil Bencil Amonio) son compuestos que permanecen más activos en presencia de agua dura. Su acción bactericida es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y la rotura de la membrana celular. Los cuaternarios de tercera generación, tienen un incremento en la actividad biocida, mayor detergencia y un incremento en la resistencia bacteriana al uso constante de una sola molécula (Quiminet, 2006).

3.7.2. Hyperox^R

Es una formulación incolora, acuosa, de ácido peracético, peróxido de hidrógeno, ácido acético, y surfactantes, y tiene un olor típico avinagrado. Es un potente desinfectante multifuncional, ha sido probado como altamente efectivo a bajas temperaturas, está basado en productos peroxigenicos. Se descompone fácilmente en el medio ambiente después de su uso y se convierte en simples moléculas como oxígeno, agua y ácidos orgánicos naturales biodegradables. Este desinfectante oxida enlaces químicos sulfúricos en proteínas, enzimas y otros metabolitos, interrumpe la función de la membrana celular y así causa la ruptura de la pared celular. No existe evidencia que los microorganismos causales de enfermedades desarrollen resistencia contra el producto (DUPONT, 2006). En la tabla 2 se encuentra los principales componentes del desinfectante Hyperox.

Tabla 2. Composición química Hyperox

Componente	No. CAS	Concentración
peróxido de hidrógeno	7722-84-1	20 - 30 %
ácido peracético	79-21-0	3 - 5 %
ácido acético	64-19-7	3 - 8 %

Fuente DUPONT (2007)

El componente principal del Hyperox es el peróxido de hidrogeno, es un biácida ampliamente empleado para la desinfección, esterilización y antisepsia, posee un amplio espectro y eficacia en contra de virus, bacterias, microbacterias y hongos. Ha sido durante muchos años usado como desinfectante particularmente de superficies en programas de higienización industrial y comercial ya que no posee olor desagradable ni problemas de seguridad cuando la manipulación es adecuada (Galán, 2003).

3.7.3. Virkon^R S

Es un desinfectante de máxima acción viricida para uso veterinario y es reconocido globalmente por expertos, agro-industrias y gobiernos como el desinfectante de elección para

la prevención y control de enfermedades pecuarias (aves, cerdos y ganado). Es altamente efectivo contra 65 cepas de virus representando 19 familias virales, 400 cepas de bacterias y 100 cepas de hongos. Entre estas especies se encuentran la Influenza aviar altamente patogénica (H5N1), la enfermedad de Newcastle, la fiebre porcina clásica y la fiebre aftosa. Es un desinfectante peroxigénico que contiene sales simples inorgánicas y ácidos orgánicos. El ingrediente activo de Virkon® S se descompone de diferentes maneras dentro del medio ambiente (por tierra y en el agua) hasta que se forman sustancias inofensivas: como oxígeno y sales de potasio (DUPONT, 2006). En la tabla 3 encontramos los componentes químicos del desinfectante.

Tabla 3. Composición química Virkon S

Composición	
Cada 100 g de Virkon S contienen:	
Monopersulfato potásico, sulfato monopotásico, sulfato potásico (sal triple).....	50 g
Sulfonato de dodecilbenceno sulfonato.....	15 g
Ácido sulfámico.....	5 g

Fuente DUPONT (2006)

3.7.4. Formol

Debido a su evidente eficacia, ocupan un lugar destacado entre los desinfectantes utilizados en la industria alimentaria. el formaldehído corresponde a la máxima importancia (HCHO) (Galán, 2003). Es un desinfectante no corrosivo y mata la mayoría de bacterias y hongos (incluyendo sus esporas) (Zeweil, 2015).

La fumigación de formaldehído es un desinfectante irritable para los ojos y nariz y tiene un olor nocivo persistente, la ventilación de sus vapores es difícil. Las acciones recientes de la Agencia de protección del medio ambiente que regulan el uso de la fumigación de formaldehído bajo el control de sustancias tóxicas actúan debido a su sospecha de carcinogenicidad. Así, se necesitan desinfectantes alternativos eficaces para sustituir la fumigación de formaldehído en caso de que la Agencia de protección del medio ambiente prohíba su uso (Whistler et al., 1989).

3.8.MOMENTO DE LA DESINFECCIÓN

La temperatura del huevo recién puesto es de aproximadamente 40°C y dependiendo de la temperatura externa, alcanza la temperatura ambiente en aproximadamente 4-6 horas. Es durante este periodo cuando se crea la cámara de aire, lo que genera una presión favorable a la entrada de bacterias a través de los poros de la cáscara. Entonces para conseguir que la desinfección tenga una mayor eficacia, es necesario realizarla lo más pronto tras la puesta, si es posible en las primeras dos horas (García, 2013).

3.8.1. Elección del desinfectante

En el mercado hay una amplia gama de desinfectantes que pueden utilizarse en la desinfección de los huevos incubables. Los principales puntos que debería cumplir un desinfectante son:

- Que tenga un amplio espectro antimicrobiano: tiene que tener la capacidad para destruir bacterias, levaduras y hongos.
- Que sea activo a baja concentración y en presencia de cantidades moderadas de materia orgánica.
- Soluble en agua, químicamente estable, sin acción corrosiva sobre los metales y que no tiña las superficies.
- Buena capacidad de penetración de materiales y superficies.
- No tóxico para el hombre y animales, incluyendo el embrión.

A estos puntos, habría que añadir que no produzcan daños en la cutícula y que no colapsen los poros impidiendo la pérdida de peso y el intercambio de gases. El formaldehído es el desinfectante más utilizado. Sin embargo, diferentes investigaciones han señalado a esta molécula como carcinogénica para los seres humanos, por lo que se ha prohibido de su uso en varios países. Este hecho hace necesario buscar posibles alternativas a la utilización de formaldehído para la desinfección. Entre los productos que se han barajado como posibles opciones el peróxido de hidrógeno, los compuestos de amonio cuaternario, el dióxido de cloro y el agua electrolizada han sido las alternativas más estudiadas (García, 2013).

3.8.2. Aplicación del desinfectante

La fumigación es el método que ofrece mayores ventajas porque permite desinfectar muchos huevos simultáneamente y además nos asegura que toda la superficie del huevo es tratada adecuadamente. Sin embargo, los gases generalmente no difunden por los poros de la cáscara. Por ello, es muy importante que la fumigación tenga lugar en las primeras 6 horas tras la puesta, durante la formación de la cámara de aire. La aplicación por espray es un método eficaz para reducir el riesgo de contaminación bacteriana. Sin embargo, una de sus principales limitaciones es que tiene que aplicarse de forma que toda la superficie del huevo quede humedecida y esto es complicado. Otro punto importante es que dependiendo del tamaño de las gotas y propiedades del producto, los poros de la cáscara pueden quedar bloqueados, reduciendo el intercambio gaseoso y la pérdida de peso durante la incubación, causando una reducción del porcentaje de nacimientos (García, 2013).

3.9.MANEJO DE HUEVOS INCUBABLES EN PLANTAS DE INCUBACIÓN

Toda sala de incubación debe contar con un programa sanitario para los huevos incubables. Dicho programa tiene como objetivo fundamental evitar que huevos con alta carga microbiana o portadores de enfermedades infecciosas entren en la incubadora y sean un riesgo sanitario para otros lotes procedentes de otras granjas que se incuben en la misma incubadora. Los huevos pueden contaminarse por transmisión vertical, en cuyo caso pueden ser portadores de diferentes enfermedades infecciosas que se transmitan desde los parientes a la descendencia, pudiendo ser fuente de infección a huevos o pollitos de otros lotes de reproductoras libres de una determinada infección. Los huevos también pueden contaminarse por transmisión horizontal en la granja o durante el período de almacenaje, lo que provoca una mayor carga bacteriana en la cáscara, acarreando el nacimiento de pollitos con problemas de onfalitis y mala calidad, pudiendo ocasionar muerte embrionaria. Desde que los huevos se recogen en la granja suelen pasar por tres diferentes áreas de almacenamiento: almacén de huevos en granja, camión de transporte de huevos y almacén de huevos en incubadora (Guía BPAv, 2014).

3.10. BIOLUMINISCENCIA

La bioluminiscencia por adenosin trifosfato (ATP) es una alternativa a los procedimientos de control de calidad microbiológicos en las industrias proporcionando resultados rápidos, exactos y sensibles a través de una operación sencilla. Es una reacción química en la cual es necesaria la presencia de una proteína denominada luciferina, la enzima catalizadora luciferasa, oxígeno molecular y ATP, sustancia capaz de generar la energía necesaria para que se dé la reacción y que se encuentra presente en todos los organismos vivos. La cantidad de luz emitida es proporcional al ATP presente ya sea en el lote o en el producto final. El proceso es llevado a cabo cuando el fenol heterocíclico termoestable como la luciferina y la enzima termolábil luciferasa, reaccionan formando adenilato de luciferina, esta se une fuertemente al centro catalítico de la luciferasa y esta forma de la enzima, al exponerse al oxígeno molecular, se oxida y da oxiluciferina la cual emite la luz al volver a su estado básico. La reacción completa se produce en menos de un milisegundo y se mantiene mientras el organismo permanezca excitado. Muchos organismos emiten luz, entre estos se encuentran las bacterias, hongos, etc. (Castiblanco, 2008). Mediante un luminómetro portátil se mide la cantidad de fotones emitidos en URL o Unidades Relativas de Luz que es proporcional a la cantidad de microorganismos presentes (Burgos et al., 2002).

3.11. IMPORTANCIA ECONÓMICA

Al momento de un huevo ser puesto en el nido por la gallina, este ya tiene un costo de producción definido, este costo será igual si el huevo es incubable o si el huevo es clasificado como huevo comercial, por lo tanto, el éxito está en tener la mayor cantidad de huevos incubables posible, para optimizar los costos de producción. En otras palabras nuestro trabajo debe estar direccionado a la obtención de un buen porcentaje de huevos incubables y de buena calidad, lo que nos estaría asegurando la obtención de aves de buena calidad a un costo razonable (Mejía, 2016)

4. MATERIALES Y METODOS

4.1.Ubicación geográfica

El estudio se llevo a cabo en el departamento de Cundinamarca, municipio de Fusagasugá, vereda Novilleros, en la granja Guacata, situada a 1726 msnm, con una temperatura promedio de 20 ° C y una humedad relativa del 85%. Las muestras que ser tomaron por el método de impronta en los huevos para determinar el análisis de coliformes y hongos se realizo en el laboratorio de SERVET, ubicado en la ciudad de Bogotá.

4.2.Manejo del huevo y muestras

Se realizo la recolección de huevos en el galpón, se seleccionaron y se pesaron los huevos obteniendo un peso promedio de huevo de 61.5g, que son los parámetros adecuados de Cambulos para él envió a la incubadora. Para el estudio se tomaron un total de 156 huevos (sucio) y se distribuyeron para las pruebas microbiológicas, luminometria y membrana testácea.

4.3.Muestras microbiológicas

Para las muestras microbiológicas se tomaron 112 huevos al azar, teniendo 16 huevos por tratamiento y su respectiva repetición (Tabla 4). Se tomaron las muestras antes de la desinfección y después de la desinfección y obtuvimos un total de 448 muestras que se dividieron para la obtención de los coliformes y de los hongos. Los medios de cultivo utilizados fueron MacConkey y Sabouraud. Las muestras se enviaron al laboratorio y se obtuvieron los respectivos resultados.

Tabla 4. Tratamientos manejados y su respectiva dosificación en muestras microbiológicas.

MARCA EN HUEVO	TRATAMIENTO	UNIDADES EXPERIMENTALES	PROCESO	REPETICION
G1	Biosentry 904 (5 ml x 1 litro de agua)	16	Aspersión	1
G2	Biosentry 904 (14 ml + 21 ml agua x m3)	16	Gasificación	1
G3	Hyperox (4 ml x 1 litro de agua)	16	Aspersión	1
G4	Hiperox (14 ml+21 ml agua x m3)	16	Gasificación	1
G5	Virkons (5 gr x litro de agua)	16	Aspersión	1
G6	Virkons (5 gr x litro de agua)	16	Gasificación	1
G7	Formol (11 ml x m3)	16	Gasificación	1
TOTAL HUEVOS: 112				
TOTAL MUESTRAS: 448				

4.3.1. Manejo de muestras con agar MacConkey y Sabouraud

Para realizar el correspondiente muestreo, se preparo el agar McConkey para la detección de microorganismos coliformes y el Sabouraud para la detección de hongos, posteriormente se tomaron los huevos y se realizo una impronta sobre el medio de cultivo donde fue sellado y marcado, las muestras del agar McConkey fueron llevadas a laboratorio a una temperatura de 37° C, en un tiempo de 48 horas. El Sabouraud se llevo al laboratorio a una temperatura ambiente, en un tiempo de 5 días. En este tiempo se determino el crecimiento de colonias y para la identificación de cada coliformes y hongo se realizo una prueba bioquímica, para la identificación de los coliformes presentes en el proyecto por el sistema BBL, ENTEROTUBE II y el sistema API 20 E, los cuales se usan para el reconocimiento de bacterias Gram negativas, se incubo a 36° C durante 24 horas. Para los hongos se uso el sistema API 20 C, en donde se incubo a 35°C durante 2 horas (SCRIBD, 2004).

4.4.Muestras de luminometria

Las muestras de luminometria se realizaron por medio de la Técnica de AccuPoint, para esta prueba utilizamos 28 huevos, siendo 4 huevos para cada tratamiento con el fin de determinar la limpieza del huevo, antes de la desinfección y después de la desinfección (Tabla 5).

Posteriormente todos los huevos se enviaron a la planta de incubación bajo las mismas condiciones y manejo que se que tiene internamente en la granja con el fin de no alterar los resultados a la hora de los nacimientos.

Tabla 5. Tratamientos manejados y su respectiva dosificación en Técnica de AccuPoint.

TRATAMIENTO	UNIDADES EXPERIMENTALES	PROCESO
Biosentry 904 (5 ml x 1 litro de agua)	4	Aspersión
Biosentry 904 (14 ml + 21 ml agua x m3)	4	Gasificación
Hyperox (4 ml x 1 litro de agua)	4	Aspersión
Hiperox (14 ml+21 ml agua x m3)	4	Gasificación
Virkons (5 gr x litro de agua)	4	Aspersión
Virkons (5 gr x litro de agua)	4	Gasificación
Formol (11 ml x m3)	4	Gasificación
TOTAL HUEVOS: 28		
TOTAL MUESTRAS: 56		

4.5.Membrana testácea

Se realizo adicionalmente un análisis de membrana testácea para identificar qué tipo de bacterias podían afectar y penetrar la cascara del huevo. Se usaron 2 unidades experimentales para cada tratamiento como lo muestra la tabla 6.

Tabla 6. Tratamientos manejados y su respectiva dosificación en muestras para membrana testácea.

TRATAMIENTO	UNIDADES EXPERIMENTALES	PROCESO
Biosentry 904 (5 ml x 1 litro de agua)	2	Aspersión
Biosentry 904 (14 ml + 21 ml agua x m3)	2	Gasificación
Hyperox (4 ml x 1 litro de agua)	2	Aspersión
Hiperox (14 ml+21 ml agua x m3)	2	Gasificación
Virkons (5 gr x litro de agua)	2	Aspersión
Virkons (5 gr x litro de agua)	2	Gasificación
Formol (11 ml x m3)	2	Gasificación
sin tratamiento	2	//
TOTAL HUEVOS: 16		
TOTAL MUESTRAS: 16		

4.6. Tratamientos

Se manejaron siete tratamientos con una repetición, cada uno con 22 huevos (16 microbiológico, 4 Técnica de AccuPoint y 2 de membrana testácea) y dos procesos (Gasificación y Aspersión) para el momento desinfección en los cajones. En el análisis microbiológico cada Tto tienen 16 huevos y se tomaron muestras antes y después del proceso de desinfección, en donde se obtuvo un total de 448 muestras para laboratorio.

En cuanto al manejo de los dos procesos de desinfección se realizaron de la siguiente manera:

Gasificación:

Se tomaron para cada tratamiento los respectivos huevos para la desinfección con el producto BIOSENTRY 904 (4 ml x litro de agua), VIRKONS (4 gr x litro de agua), HYPEROX (14 ml + 21 ml de agua x m³) y FORMOL (11 ml x m³), en el cajón de desinfección, con un tiempo de 8 minutos en el calentamiento del producto, 10 minutos dejando que el vapor del producto hiciera el efecto dentro del cajón y 5 minutos en la extracción del olor, luego se sacaron los huevos y se realizó el frotis de 16 huevos en sus respectivos medios de cultivo para su posterior análisis.

Aspersión:

Se tomaron para cada tratamiento los respectivos huevos para la desinfección con el producto BIOSENTRY 904 (5 ml x litro de agua), VIRKONS (5 gr x litro de agua), HYPEROX (4 ml x litro de agua), con el método de aspersión con una lluvia muy fina a una temperatura de 35°C, luego secar los huevos y tomar el frotis de 16 huevos en sus respectivos medios de cultivo para su posterior análisis.

4.7. Diseño Estadístico

Para el análisis de datos del AccuPoint, se hace una valoración cuantitativa de la desinfección del huevo, por lo tanto se realizó un ANOVA. Debido a que es una variable de conteo microbiológico y no tiene un comportamiento normal, se utilizó la prueba no paramétrica

llamada Kruskal-Wallis. Para el análisis se utilizó el programa estadístico MINITAB, donde se prueban las hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$$

H_A : alguna de las μ_j es diferente

5. RESULTADOS

5.1. Resultado microbiológico

En las siguientes tablas se puede observar cada uno de los tratamientos (tabla 7) con su respectiva repetición (tabla 8), mostrando los coliformes y hongos que se identificaron en el análisis bioquímico antes y después de la desinfección.

Los coliformes que se identificaron fueron, *Klebsiella spp* (Kb), *Pseudomona* (Ps) y *Escherichia coli* (E), y los hongos identificados fueron, *Aspergillus niger* (AN), *Aspergillus fumigatus* (AF), *Aspergillus versicolor* (AV), *Mucor* (M), Levaduras (L), *Penicillium* (P).

Tabla 7. Tratamientos y su respectiva identificación de coliformes y hongos antes y después de la desinfección.

UFC= Unidades Formadoras de Colonia NHC= No hubo crecimiento

GRUPO	U.E	COLIFORMES (SIN DESINFECTAR)	COLIFORMES (DESINFECTADO)	HONGOS (SIN DESINFECTAR)	HONGOS (DESINFECTADO)
tratamiento 1	1	1 UFC (Kb)	NHC	14 UFC (L,P)	NHC
tratamiento 1	2	3 UFC (Ps)	NHC	3 UFC (P)	NHC
tratamiento 1	3	15 UFC (Ps)	NHC	5 UFC (L)	NHC
tratamiento 1	4	NHC	NHC	12 UFC (P,L)	NHC
tratamiento 1	5	10 UFC (Ps.Kb)	NHC	3 UFC (L)	1 UFC (L)
tratamiento 1	6	NHC	NHC	8 UFC (M,P)	NHC
tratamiento 1	7	NHC	NHC	NHC	NHC
tratamiento 1	8	4 UFC (E.)	NHC	5 UFC (AF)	NHC
tratamiento 2	1	1 UFC (Kb)	NHC	25 UFC (L,P)	9 UFC (P)
tratamiento 2	2	1 UFC (Ps)	NHC	15 UFC (P)	3 UFC (P)
tratamiento 2	3	NHC	NHC	14 UFC (P)	1 UFC (P)
tratamiento 2	4	NHC	NHC	2 UFC (P)	2 UFC (P)
tratamiento 2	5	NHC	NHC	3 UFC (P)	4 UFC (P)
tratamiento 2	6	1 UFC (Ps)	NHC	10 UFC (P)	1 UFC (P)
tratamiento 2	7	NHC	NHC	1 UFC (M)	NHC
tratamiento 2	8	4 UFC (E.Ps)	NHC	7 UFC (P)	NHC
tratamiento 3	1	NHC	NHC	3 UFC (AC,AN,P)	1 UFC (P)
tratamiento 3	2	NHC	NHC	50 UFC (P,AV,AN,L)	NHC

tratamiento 3	3	NHC	NHC	30 UFC (L,M)	1 UFC (P)
tratamiento 3	4	2 UFC (Ps)	NHC	22 UFC (M,L)	3 UFC (M)
tratamiento 3	5	NHC	NHC	1 UFC (M)	2 UFC (P)
tratamiento 3	6	NHC	NHC	2 UFC (M)	1 UFC (P)
tratamiento 3	7	1 UFC (E.)	NHC	15 UFC (AV,P)	NHC
tratamiento 3	8	NHC	NHC	10 UFC (M,L)	1 UFC (P)
tratamiento 4	1	NHC	NHC	10 UFC (AV,P)	NHC
tratamiento 4	2	NHC	1 UFC (Kb)	17 UFC (M,AN,L)	1 UFC (P)
tratamiento 4	3	12 UFC (Kb)	NHC	16 UFC (L,M)	NHC
tratamiento 4	4	3 UFC (Kb)	NHC	18 UFC (AN,L)	NHC
tratamiento 4	5	2 UFC (Kb)	NHC	1 UFC (P)	NHC
tratamiento 4	6	NHC	NHC	NHC	NHC
tratamiento 4	7	NHC	NHC	NHC	NHC
tratamiento 4	8	NHC	NHC	NHC	NHC
tratamiento 5	1	NHC	NHC	4 UFC (P)	2 UFC (P,L)
tratamiento 5	2	NHC	NHC	4 UFC (AM,V)	2 UFC (P)
tratamiento 5	3	NHC	NHC	3 UFC (AN,M)	3 UFC (P)
tratamiento 5	4	NHC	NHC	2 UFC (M)	3 UFC (P)
tratamiento 5	5	1 UFC (Kb)	NHC	3 UFC AV)	1 UFC (P)
tratamiento 5	6	15 UFC (E,Kb,Ps)	NHC	1 UFC (AM)	2 UFC (P,M)
tratamiento 5	7	5 UFC (Kb,Ps)	NHC	23 UFC (P,L)	1 UFC (P)
tratamiento 5	8	NHC	NHC	6 UFC (AV,P,L)	NHC
tratamiento 6	1	1 UFC (Ps)	NHC	1 UFC (M)	1 UFC (M)
tratamiento 6	2	1 UFC (Ps)	1 UFC (Kb)	2 UFC (AV,M)	4 UFC (P)
tratamiento 6	3	5 UFC (Kb,Ps)	NHC	12 UFC (P)	3 UFC (P)
tratamiento 6	4	50 UFC (Ps,Kb)	NHC	2 UFC (M,AV)	4 UFC (P,AN)
tratamiento 6	5	4 UFC (E.)	1 UFC (E.)	12 UFC (L,P)	NHC
tratamiento 6	6	10 UFC (E.)	NHC	3 UFC (AN,M)	1 UFC (M)
tratamiento 6	7	1 UFC (Kb)	NHC	5 UFC (AN,L)	4 UFC (M,L)
tratamiento 6	8	NHC	NHC	5 UFC (L)	19 UFC (P)
tratamiento 7	1	NHC	1 UFC (E.)	2 UFC (AF)	3 UFC (M,L)
tratamiento 7	2	1 UFC (Ps)	NHC	1 UFC (P)	NHC
tratamiento 7	3	10 UFC (Ps,E,Kb)	NHC	3 UFC (AF,P)	1 UFC (M)
tratamiento 7	4	5 UFC (E.)	NHC	2 UFC (AV)	2 UFC (P)
tratamiento 7	5	NHC	NHC	4 UFC (L,M)	1 UFC (P)
tratamiento 7	6	NHC	NHC	7 UFC (P)	1 UFC (M)
tratamiento 7	7	1 UFC (Kb)	1 UFC (Kb)	5 UFC (AV,P,L)	NHC
tratamiento 7	8	3 UFC (E,Kb)	NHC	3 UFC (E,Kb)	1 UFC (AN)

Tabla 8. Repetición de los tratamientos y su respectiva identificación de coliformes y hongos antes y después de la desinfección. UFC= Unidades Formadoras de Colonia NHC= No hubo crecimiento

GRUPO	U.E	COLIFORMES (SIN DESINFECTAR)	COLIFORMES (DESINFECTADO)	HONGOS (SIN DESINFECTAR)	HONGOS (DESINFECTADO)
tratamiento 1 (R)	1	3 UFC (Kb)	NHC	1 UFC (AN)	NHC
tratamiento 1 (R)	2	2 UFC (Kb)	NHC	2 UFC (AN)	NHC
tratamiento 1 (R)	3	NHC	NHC	3 UFC (AV,L)	NHC
tratamiento 1 (R)	4	2 UFC (Ps)	NHC	40 UFC (P,L)	NHC
tratamiento 1 (R)	5	30 UFC (Ps)	NHC	4 UFC (L,P)	NHC
tratamiento 1 (R)	6	3 UFC (Kb,E)	NHC	10 UFC (L)	1 UFC (L)
tratamiento 1 (R)	7	NHC	NHC	7 UFC (L,P)	NHC
tratamiento 1 (R)	8	NHC	NHC	1 UFC (L)	2 UFC (M)
tratamiento 2 (R)	1	1 UFC (E.)	NHC	9 UFC (P,L)	NHC
tratamiento 2 (R)	2	NHC	NHC	30 UFC (L,P)	7 UFC (AN,P)
tratamiento 2 (R)	3	3 UFC (Ps)	NHC	9 UFC (M,L)	NHC
tratamiento 2 (R)	4	4 UFC (Kb)	NHC	10 UFC (L)	NHC
tratamiento 2 (R)	5	40 UFC (E.)	NHC	4 UFC (L)	1 UFC (P)
tratamiento 2 (R)	6	NHC	NHC	12 UFC (M)	4 UFC (M)
tratamiento 2 (R)	7	NHC	NHC	6 UFC (AF,L)	1 UFC (P)
tratamiento 2 (R)	8	2 UFC (Kb)	NHC	4 UFC (M)	NHC
tratamiento 3 (R)	1	4 UFC (Kb)	NHC	45 UFC (AV,AN,L)	1 UFC (AF)
tratamiento 3 (R)	2	5 UFC (Kb)	NHC	25 UFC (L)	1 UFC (P)
tratamiento 3 (R)	3	12 UFC (Ps,Kb)	NHC	6 UFC (P)	NHC
tratamiento 3 (R)	4	NHC	NHC	2 UFC (P)	1 UFC (P)
tratamiento 3 (R)	5	NHC	NHC	7 UFC (L,P)	NHC
tratamiento 3 (R)	6	6 UFC (Kb)	NHC	12 UFC (M,L)	NHC
tratamiento 3 (R)	7	NHC	1 UFC (Kb)	10 UFC (AF,L)	NHC
tratamiento 3 (R)	8	1 UFC (Kb)	NHC	6 UFC (L)	NHC
tratamiento 4 (R)	1	1 UFC (Kb)	NHC	3 UFC (M,L)	1 UFC (L)
tratamiento 4 (R)	2	NHC	NHC	6 UFC (M,L)	NHC
tratamiento 4 (R)	3	NHC	NHC	2 UFC (M)	1 UFC (M)
tratamiento 4 (R)	4	4 UFC (Kb,Ps)	NHC	15 UFC (P,AN)	NHC
tratamiento 4 (R)	5	1 UFC (Kb)	NHC	2 UFC (M, AV)	NHC
tratamiento 4 (R)	6	NHC	NHC	2 UFC (AV,M)	NHC
tratamiento 4 (R)	7	NHC	NHC	5 UFC (M,P,L)	NHC
tratamiento 4 (R)	8	NHC	NHC	7 UFC (L,AN)	1 UFC (P)
tratamiento 5 (R)	1	NHC	NHC	42 UFC (P)	NHC
tratamiento 5 (R)	2	NHC	NHC	9 UFC (AV,P,L)	NHC

tratamiento 5 (R)	3	14 UFC (Kb,Ps)	NHC	1 UFC (M)	NHC
tratamiento 5 (R)	4	NHC	NHC	2 UFC (AF,AN)	NHC
tratamiento 5 (R)	5	1 UFC (Kb)	NHC	4 UFC (AV)	NHC
tratamiento 5 (R)	6	NHC	NHC	6 UFC (P,M,AN)	NHC
tratamiento 5 (R)	7	8 UFC (Kb)	NHC	10 UFC (P,AV)	NHC
tratamiento 5 (R)	8	2 UFC (Kb)	NHC	1 UFC (AN)	1 UFC (AF)
tratamiento 6 (R)	1	9 UFC (Kb,Ps)	NHC	1 UFC (AV)	8 UFC (P)
tratamiento 6 (R)	2	2 UFC (E,Kb)	NHC	3 UFC (M,AV)	5 UFC (P)
tratamiento 6 (R)	3	1 UFC (Kb)	NHC	1 UFC (M)	5 UFC (P,L)
tratamiento 6 (R)	4	7 UFC (Kb,Ps,E.)	NHC	1 UFC (M)	8 UFC (P)
tratamiento 6 (R)	5	2 UFC (Ps)	1 UFC (Kb)	1 UFC (M)	1 UFC (P)
tratamiento 6 (R)	6	15 UFC (Kb,E.)	NHC	2 UFC (AV,AN)	1 UFC (P)
tratamiento 6 (R)	7	7 UFC (Kb,Ps)	NHC	16 UFC (L,P)	2 UFC (P)
tratamiento 6 (R)	8	5 UFC (Kb)	NHC	1 UFC (AF)	1 UFC (P)
tratamiento 7 (R)	1	3 UFC (Kb,Ps)	NHC	21 UFC (P)	1 UFC (AV)
tratamiento 7 (R)	2	NHC	NHC	1 UFC (M)	NHC
tratamiento 7 (R)	3	NHC	NHC	2 UFC (M,P)	1 UFC (M)
tratamiento 7 (R)	4	1 UFC (Ps)	NHC	33 UFC (AN,P,L)	NHC
tratamiento 7 (R)	5	NHC	NHC	4 UFC (P)	NHC
tratamiento 7 (R)	6	18 UFC (Ps)	NHC	5 UFC (AV,M)	1 UFC (AN)
tratamiento 7 (R)	7	NHC	NHC	7 UFC (P,L)	2 UFC (L)
tratamiento 7 (R)	8	15 UFC (Ps,Kb)	NHC	3 UFC (AN,P)	NHC

5.2. Resultado Técnica de AccuPoint

Para la técnica de AccuPoint se obtuvieron los resultados que se muestran en las siguientes tablas, se observa por grupos (métodos de gasificación y aspersión) el porcentaje promedio de materia orgánica que redujo el uso de cada desinfectante.

Tabla 9. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Biosentry 904 y el método de aspersión (AS).

GRUPO 1 BIOSENTRY 904 (AS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
19,034	4,119	79	76
11,711	5,317	55	
4,483	839	92	
4,621	1,030	78	

Tabla 10. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Biosentry 904 y el método de gasificación (GAS).

GRUPO 2 BIOSENTRY 904 (GAS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
4,648	728	85	89.25
12,453	1,540	88	
9,793	1,125	89	
9,817	488	95	

Tabla 11. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Hyperox y el método de aspersión (AS).

GRUPO 3 HYPEROX (AS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
4,296	435	90	78.75
17,320	8,072	54	
1,894	222	89	
9,192	1,660	82	

Tabla 12. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Hyperox y el método de gasificación (GAS).

GRUPO 4 HYPEROX (GAS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
4,496	862	81	88.5
4,746	689	86	
17,155	1,926	89	
8,989	134	98	

Tabla 13. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Virkon S y el método de aspersión (AS).

GRUPO 5 VIRKON'S (AS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
31,180	2,207	93	95.25
17,556	494	97	
16,291	557	97	
7,837	447	94	

Tabla 14. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con el desinfectante Virkon S y el método de gasificación (GAS).

GRUPO 6 VIRKON'S (GAS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
49,523	2,881	94	84.5
5,233	531	90	
7,181	1,376	81	
27,765	7,484	73	

Tabla 15. Porcentaje (%) de reducción de materia orgánica con Formol y el método de gasificación (GAS).

GRUPO 7 FORMOL (GAS)			
SIN DESINFECTAR	DESINFECTADO	% reducción materia orgánica	% total
9,952	1,054	90	89.25
41,314	4,267	90	
7,956	1,630	80	
31,370	986	97	

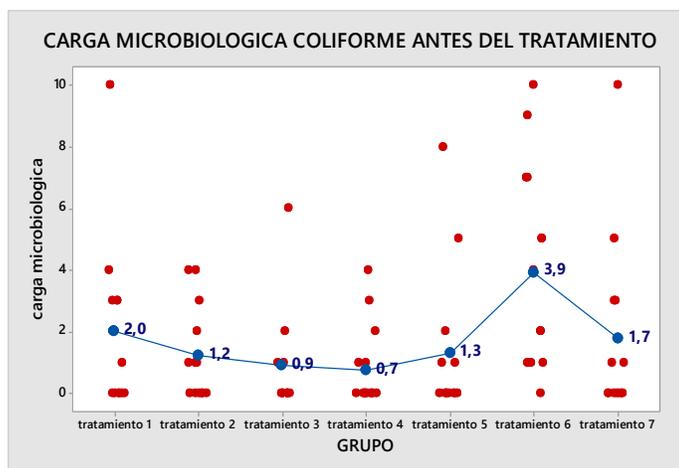
6. DISCUSIÓN

6.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

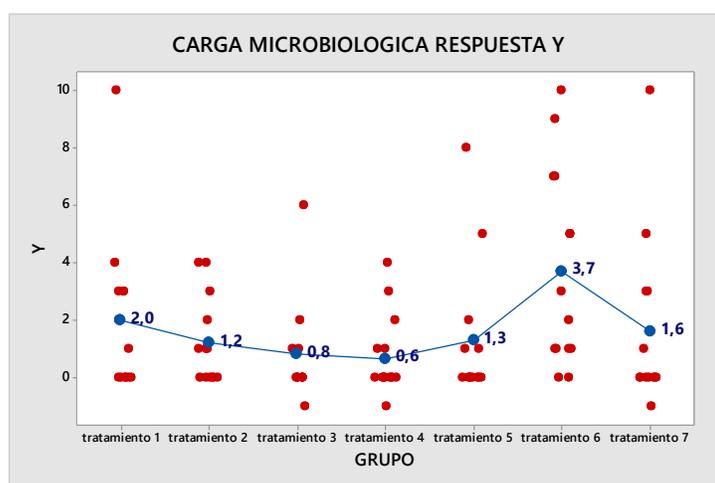
6.1.1. Análisis estadístico de coliformes

El primer análisis que se realizó fue de la carga microbiológica antes de la desinfección en cada uno de los tratamientos. La grafica 1 nos muestra la carga microbiológica expresado en unidades formadoras de colonia (UFC) en cada uno de los tratamientos, dándonos como resultado bajos índices de UFC en la mayoría, excepto el tratamiento 6 con un promedio de 3.9 UFC y mostrando una mayor dispersión. En la grafica 2 encontramos los resultados después de la desinfección obteniendo que en todos los tratamientos hubo una disminución de UFC, sin embargo en los tratamientos 3, 4 y 7 se encontró un aumento de UFC, esto se puede presentar por diferentes variables, como lo es el manejo del huevo, el manejo de las muestras a la hora del análisis o por condiciones ambientales. En un estudio realizado se determino que al usar amonios cuaternarios de quinta generación, formol y anfóteros microbicidas para la desinfección de huevo fértil se obtuvo una diferencia significativa en el tratamiento manejado con amonio cuaternario obteniendo un 97% de desinfección (Cristancho, 2014). Se puede resaltar que en él en presente proyecto y el mencionado, los demás productos también ejercieron una elevada desinfección de UFC. Las alternativas que nos brindan distintos autores sobre la utilización de diferentes productos que principalmente tienen otras funciones de limpieza, pueden impactar de manera positiva la bioseguridad e higiene del huevo para lograr una excelente presentación y una comercialización adecuada. El amonio cuaternario, termina siendo una de las mejores alternativas de desinfección de huevo, debido a su amplio espectro y modo de aplicación, además de los resultados que se obtienen al desecharlo, ya que es un producto biodegradable, y podría llegar a ser el sustituto del paraformalehído (Cantor, 2015).

Estadísticamente no hubo diferencias significativas entre tratamientos y todos los desinfectantes cumplieron con la eliminación de coliformes presentes en el estudio (*E. coli*, *Klebsiella* spp. Y *Pseudomona*).



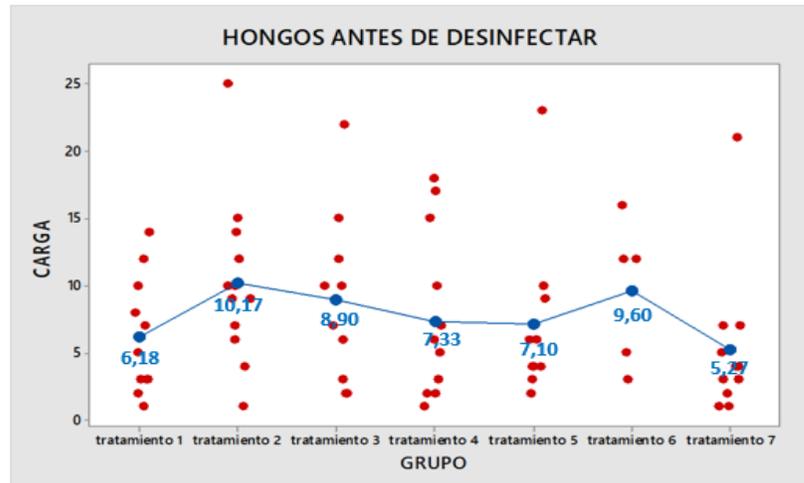
Gráfica 1. Carga microbiológica de coliformes antes de la desinfección.



Gráfica 2. Carga microbiológica de coliformes después de la desinfección.

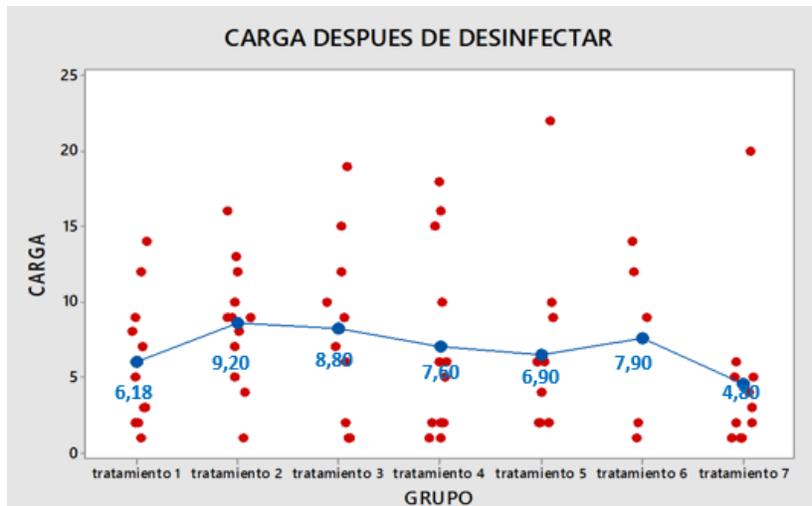
6.1.2. Análisis estadístico de hongos

En la grafica 3 se muestran la carga de hongos, expresados en UFC, antes de la desinfección, presentado una mayor dispersión y un crecimiento de hongos más alto o al menos con alguna carga microbiológica a comparación de los coliformes presentes en las figuras mencionas anteriormente, encontrando hongos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Mucor*, *Penicillium* y levaduras. Encontrando un mayor promedio de UFC el tratamiento 2 con 10,17 y el tratamiento 6 con 9,60.



Gráfica 3. Carga microbiológica de hongos antes de la desinfección.

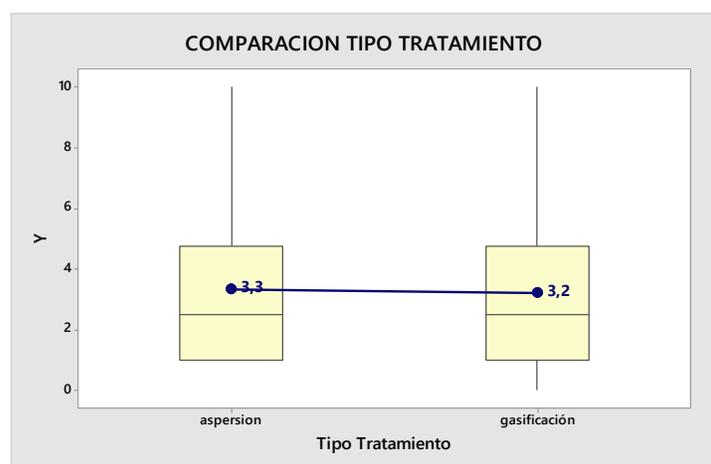
En la gráfica 4 podemos observar que todos los desinfectantes actuaron para la reducción de las UFC presentes en el estudio, no se tuvieron diferencias significativas entre tratamientos, pero al evaluar biológicamente los desinfectantes, los mejores en cuanto a acción fueron los grupos 1 y 5 a diferencia de los otros tratamientos. El desinfectante del tratamiento 6 presenta un mayor rango de desinfección, ya que aparte de ser desinfectante también es un detergente el cual beneficia el proceso de desinfección en los huevos. La relación entre la muerte microbiana y la concentración del desinfectante no es lineal, inicialmente, la población microbiana es difícil de matar a concentraciones bajas, pero a medida que se elevan se alcanza una máxima mortalidad. Más allá de esta concentración los microorganismos se vuelven más resistentes con lo que sobrevive un número variable. Es importante por lo tanto utilizar las concentraciones recomendadas, ya que los cambios pueden no resultar en mejores efectos. En estudios evaluados demuestra que las esporas del *Aspergillus niger* son significativamente más resistentes al peróxido de hidrógeno que las bacterias, la aparente resistencia de las esporas fúngicas a este desinfectante está asociada a la cubierta que envuelve al protoplasma. El peróxido de hidrógeno disponible a un 30% en agua es un eficaz desinfectante de superficie en contra de virus, bacterias, micobacterias y hongos, aunque ineficaz contra esporas bacterianas, siendo inestable y corrosivo a altas temperaturas (Galán, 2003).



Gráfica 4. Carga microbiológica de hongos después de la desinfección.

6.2. Métodos

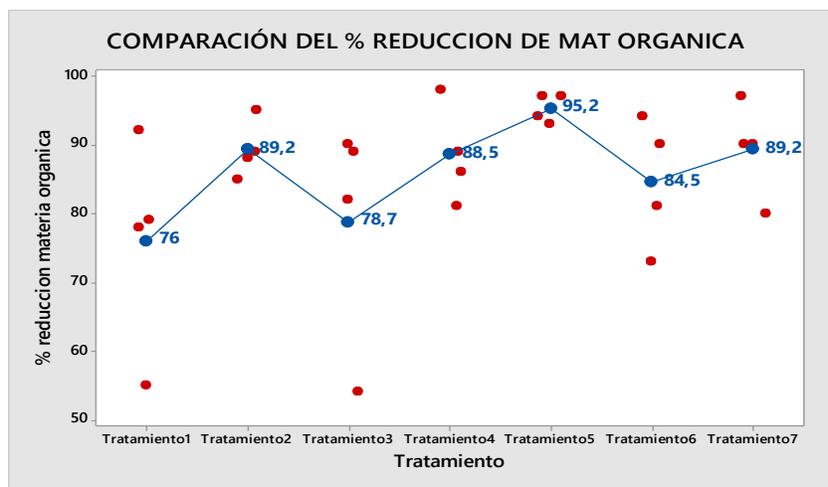
En cuanto a la comparación de los métodos, la grafica 5 muestra que no hubo diferencias significativas entre la gasificación y la aspersion, y nos arrojan promedios de 3,3 y 3,2 respectivamente, se debe tener en cuenta que en el método de gasificación se realizo para cuatro tratamientos, mientras que, en aspersion, se manejo en tres tratamientos. En el método de aspersion se maneja una acción mecánica dada por el operario en la cual podría llegar a generar un mayor arrastre de materia orgánica a comparación del método de gasificación ya que en este la única acción es la que genera el vapor dentro cajón.



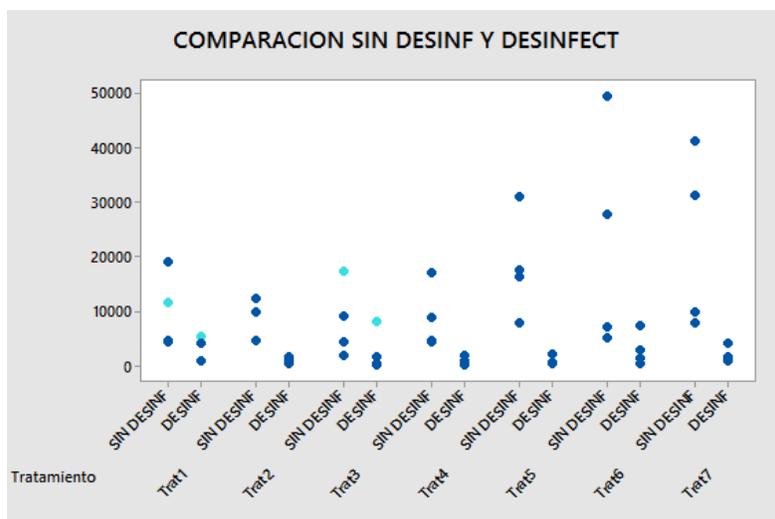
Gráfica 5. Comparación de métodos gasificación y aspersion.

6.3. Análisis Técnica de AccuPoint

Para la Técnica de AccuPoint en los resultados podemos determinar el nivel de limpieza del huevo una vez realizada su desinfección a diferencia de la carga que presentaban los huevos antes de ser desinfectados. Al comparar el porcentaje de desinfección, en la grafica 6 se observa que el tratamiento 5 nos muestra una mayor reducción de materia orgánica con un porcentaje del 95,2%, seguido por los tratamientos 2 y 7 con promedios de 89,2%, encontrando una menor reducción de materia orgánica (%), los tratamientos 1 con un promedio de 76% y el tratamiento 3 con un 78,7%, los tratamientos que tienen más alto desempeño en promedio, tienen una menor dispersión, quiere decir que son mucho más homogéneos y los que tienen menor desempeño con un promedio menor, tienen una mayor dispersión, como se observa en los tratamientos 1 y 3. No hubo diferencias significativas entre tratamientos, pero numéricamente el tratamiento 5 es el más efectivo en cuanto la limpieza de huevo fértil. En la grafica 7 podemos observar una comparación de los tratamientos antes y después de desinfectar el huevo, expresados en Unidades Relativas de Luz (URL), mostrándonos con mayores niveles de ATP el tratamiento 6 y 7.



Gráfica 6. Comparación del porcentaje de reducción de materia orgánica entre tratamientos



Grafica 7. Comparación entre tratamientos antes y después de su desinfección.

6.4. Análisis biológico de membrana testácea

Al realizar los resultados en laboratorio, no se presentaron cargas de UFC en los tratamientos, a excepción del tratamiento 7 que se muestra en la tabla 7 con 30 UFC.

Tabla 16. Carga microbiológica en membrana testácea.

GRUPO	UNIDADES EXPERIMENTALES	UFC
Biosentry 904 (AS)	2	NHC
Biosentry 904 (GAS)	2	NHC
Hyperox (AS)	2	NHC
Hyperox (GAS)	2	NHC
Virkons (AS000)	2	NHC
Virkons(AS)	2	NHC
Formol (GAS)	2	30 UFC
Sin desinfección	2	NHC

7. CONCLUSIONES

Dentro del análisis estadístico no se presenta niveles de significancia (0,05) entre los tratamientos pero a nivel biológico se muestra una clara diferencia por parte del tratamiento 1 (BIOSENTRY 904) y el tratamiento 5 (VIRKONS) con niveles de desinfección positivos.

Los huevos recuperables tratados en este proyecto no presentan niveles de contaminación altos lo cual es positivo para darnos entender que las condiciones de la granja y el manejo de los operarios es el adecuado generando así una reducción en la parte económica en la desinfección de huevo fértil acto de incubación.

La Técnica de AccuPoint dentro de la granja nos sirve para proporcionar a los productores una inmediata y objetiva determinación de la eficacia de la limpieza tanto de los huevos, equipo, instalaciones y rendimiento del personal.

Los productos Biosentry 904 – Hyperox – Virkons son biodegradables los cuales son favorables para el medio ambiente a diferencia del formol.

8. RECOMENDACIONES

Los operarios siempre deben de trabajar con la indumentaria adecuada dentro del área de desinfección a la hora de manejar estos productos para evitar problemas de salud (gorro, tapa bocas, guantes, botas, mascara o careta, overol y delantal).

Realizar un nuevo proyecto con huevo sucio para mirar la cantidad de carga microbiológica en el huevo y con los productos trabajados anteriormente en los métodos de desinfección donde mejor resultado presento.

Aumentar la dosificación con los productos para generar una mayor eliminación de hongos en los huevos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Alonso, L., Poveda, J. (2008). Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas de PETRIFILM™ 3M™ para el análisis de alimentos. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Anton, M., Huopalahti, R., López, R., Schede, R. (2015). Bioactive eggs compounds. Ed. Springer Cost. Citado por: García, T. Extracción y aplicaciones alimentarias de membranas de cascara de huevo. Máster universitario en biotecnología alimentaria. Universidad de Oviedo.

Appleby, M., Mench, J., Hughes, B. (2004). Poultry behavior and welfare. Cambriedge, Estados Unidos de América: CABI Publishing.

Aviagen. (2011). Que es un huevo incubable de buena calidad. Disponible en: eu.aviagen.com/assets/Uploads/huevoincubabledebuenacalidad.pdf. Recuperado 10 Noviembre de 2017.

Berardinelli, A., Cevoli, C., Fabbri, A., Guerzoni, M.E., Manfreda, G., Pasquali, F., Ragni, L., Vannini, L. (2011). Alternative egg decontamination techniques to washing. University of Bologna, Italy

Barrientos, R. (2003). Evaluación de huevo fértil no apto para la incubación. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero en Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano. Honduras. 14 p.

Burgos, C., Murillo, L., Gutiérrez, I., Arias, J. (2002). Comparación de los métodos de bioluminiscencia y recuento en placa como control de calidad en producto terminado de bebida de malta y refrescos pasteurización en una empresa de Bogotá D.C. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Cantor, W. (2015). Alternativas de desinfección en huevos comerciales como herramienta para reducir la contaminación causada por *Salmonella* y sus repercusiones en el ser humano. Universidad de Cundinamarca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Fusagasugá, Colombia.

Castiblanco, A. (2008). Verificación comparativa por método de bioluminiscencia y método tradicional de la limpieza y desinfección en una industria cosmética. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Chang, Z., Fang, C., Guang-Ming, Z., Min, J., Zhong-Zhu, Y., Zhi-Gang, Y., Liu-Qing, S. (2015). Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. Science of the total environment.

Cobb, (2008). Guía de manejo de reproductoras Cobb. Disponible en: http://www.cobb-vantress.com/languages/guidefiles/083d90c9-a39f-4f6b-a6b0-396a1f84e203_es.pdf.

Recuperado 10 de noviembre de 2016

Comisión del Codex Alimentarius/Código Recomendado de Practicas (2007). Código de prácticas de higiene para los huevos y los productos de huevo. Producción de alimentos de origen natural.

Cristancho, C. (2014). Comparación de tres protocolos de desinfección en huevo fértil su relación con la disminución en la carga bacteriana y viabilidad del pollo de engorde. Programa Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de la Salle. Bogota, Colombia.

De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. International Journal of Food Microbiology

Domínguez, F. (2012). Aspectos microbiológicos del huevo y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de química. México, D.F.

DUPONT (2007). DuPont™ 904 Desinfectante. The miracles of science

DUPONT (2006). DuPont™ Hyperox^R. The miracles of science

DUPONT (2006). Virkon^RS Desinfectante para uso veterinario. The miracles of science

EFSA (2005). Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the commission related to the microbiological risks on washing of table eggs.

Galán, L. (2003). Desarrollo de métodos rápidos para verificar la eficacia fungicida de sustancias desinfectantes. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Veterinaria.

Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella Enteritidis*. FEMS Microbiology Reviews.

García, J. (2013). Desinfección de huevo incubable. Facultat de veterinaria. Disponible en: <http://www.avicultura.com/2013/05/29/desinfeccion-de-huevo-incubable/> Recuperado 10 noviembre de 2016.

García, T. (2015). Extracción y aplicaciones alimentarias de membranas de cascara de huevo. Mater universitario en biotecnología alimentaria. Universidad de Oviedo. España.

Gast, R., Guard, J., Holt, P. (2002). Characteristics of *Salmonella Enteritidis* contamination in eggs after oral, aerosol and intravenous inoculation of laying hens. Avian Diseases.

Gómez, J., Valero, J. (2006). El huevo. Aviornis International. Disponible en: <http://www.muticus-pina.com/subm/huevo.pdf>. Recuperado 20 Febrero de 2017.

Guía BPAv. (2014). Requisitos generales y recomendaciones para la aplicación de las buenas prácticas avícolas (BPAv). Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/GUIA-BPAv-Incubacion1.pdf>. Recuperado 20 Enero de 2017 .

Holan, J. T. (1995). Progress report on CEN/TC 216/Working Group 3: Disinfectant test methods for food hygiene. Industrial and domestic applications. International Journal of Biodeterioation & biodegradation.

Howard, R. (2003). Invasion of avian reproductive tissues by *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella Enteritidis*. Mater's thesis, Texas A&M University.

Humphrey, T. (1994). Contamination of eggs shell and contents with *Salmonella Enteritidis*. International Journal of Food Microbiology.

Hrnčár, C., Prachárová, S., Bujko, J. (2012). The Effect of Disinfection of Hatching Eggs on Hatchability of Oravka Chickens. University of Agriculture in Nitra. Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Poultry Science and Small Animal Husbandry.

Instituto de estudios del huevo (2009). El gran libro del huevo. Editorial Everest, S.A.

Martin, F. (2002). Contaminación y microbiología del huevo. Consejo asesor del instituto de estudiantes del huevo. Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo.

Mayes, J., Takeballie, M. (1983). Microbial contamination of the hen's egg. Journal of food protection.

Mejía, J. (2016). Manejo de huevo incubable en granjas de producción, Avicol.

Messens, W. (2011). Egg decontamination by washing. Institute for Agricultural and Fisheries Research (ILVO). Belgium and N. Sparks, SAC, UK.

Mohamed, H. (2007). Breeder farms and hatchery as integrated operation. Institute of poultry diseases. Faculty of Veterinary Medicine Free University Berlin. Vol. 42. Berlin, Germany.

Musgrove, M., Smith, D. (2008). Effect of blood spots in table egg albumen on *Salmonella* grow. Poultry Science.

Pavlostathis, S., Tezel, U. (2012). Role of quaternary ammonium compounds on antimicrobial resistance in the environment. En P.L. Keen (Ed.) *Antimicrobial Resistance in the Environment*. (pp.349-387). Georgia: John Wiley & Sons, Inc.

Philipp, W., Marschang, R., Bohm, R. (2007). Bacteriological and Virological Investigations on the use of Quicklime for the Disinfection of Egg Shell and Egg Scraps. ISAH-2007, 3-8.

SCRIBD (2004). Pruebas bioquímicas de identificación bacteriana. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/50402732/PRUEBAS-BIOQUIMICAS-DE-IDENTIFICACION-BACTERIANA-26-pp>. Recuperado 30 de Agosto del 2017.

QUIMINET. (2006). Cuaternarios de amonio, antisépticos y desinfectantes. Recuperado de <http://www.quiminet.com/articulos/cuaternarios-de-amonio-antisepticos-y-desinfectantes-14526.htm>.

Ross, (2013). Manual de manejo de la reproductora Ross, Aviagen, disponible en: http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/RossPSHandbook2013-ES.pdf. Recuperado 10 de noviembre de 2016.

Ruiz, M., Torres, R. (2010). Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Tomo 2. Citado por: Cantor, W. Alternativas de desinfección en huevos comerciales como herramienta para reducir la contaminación causada por *Salmonella* y sus repercusiones en el ser humano (2015). Universidad de Cundinamarca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Fusagasugá, Colombia.

Salazar, A. (2000). El proceso de incubación. Avicultura Profesional. Disponible en: <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/planta-de-incubacion-factores-afectan-a-su-productividad-t27664.htm>. Recuperado 12 Diciembre de 2017.

Sosa, J. (2013). Manejo y calidad de huevo incubable. Los avicultores y su entorno. Disponible en: bmeditores.mx/manejo-y-calidad-del-huevo-incubable/. Recuperado 28 Enero de 2017.

United States Department of Agriculture (USDA). (2014). A guide to the mitigation of *Salmonella* contamination at poultry hatcheries. *Best management practices handbook*.

Whistler, P.E., Sheldon, B.W. (1989). Comparison of ozone and formaldehyde as poultry hatchery disinfectants as an alternative hatching egg disinfectant. Poultry Science Association, Inc.

Zeweil, H.S., Rizk, R.E., Bekhet, G.M., Ahmed R. (2015). Comparing of the effectiveness of egg disinfectants against bacteria and mitotic indices of developing chick embryos. The Egyptian German Society for Zoology. The Journal of Basic & Applied Zoology.