

180  
2ej

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**EFFECTO DE TRES DESINFECTANTES  
SOBRE LA INTEGRIDAD DE LA CUTICULA  
DE HUEVOS INCUBABLES DE GALLINAS  
DE RAZA LEGHORN**

TESIS PRESENTADA ANTE LA  
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DE LA

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR:  
**RAMON MAYREN SOLANO**

**ASESORES.**

M.V.Z. Ezequiel Sánchez Ramírez  
M.V.Z. José Antonio Quintana López  
M.P.A. Ricardo Navarro Fierro  
Fts. Jorge Alberto Márquez Flores  
Ph. D. Gabriel Corkidi Blanco

CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO D. F.

1991

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN . . . . .	1
INTRODUCCION . . . . .	2
OBJETIVO . . . . .	5
MATERIAL Y METODOS . . . . .	6
1. GRUPOS EXPERIMENTALES . . . . .	6
2. MEDICION DEL TONO DE GRIS DEL CASCARON MEDIANTE PDI . . . . .	6
3. ESTIMACION DEL GROSOR DE LA CUTICULA . . . . .	8
4. ORDENES EMPLEADAS EN LA MICROESTACION DE PDI . . . . .	8
5. ANALISIS ESTADISTICO . . . . .	10
RESULTADOS . . . . .	11
CUADRO 1. RESULTADOS PROMEDIO POR GRUPO . . . . .	12
DISCUSION . . . . .	13
LITERATURA CITADA . . . . .	14
APENDICE. DATOS ORIGINALES DEL ESTUDIO . . . . .	17
GRUPO I. ASPERJADO CON FORMOL . . . . .	17
GRUPO II. ASPERJADO CON GLUTARALDEHIDO . . . . .	18
GRUPO III. ASPERJADO CON OZONO . . . . .	19
GRUPO IV. TESTIGO POSITIVO. ASPERJADO CON AGUA . . . . .	20
GRUPO V. TESTIGO NEGATIVO. SIN ASPERSION . . . . .	21

## RESUMEN

**MAYREN SOLANO, RAMON.** Efecto de tres desinfectantes sobre la integridad de la cutícula de huevos incubables de gallinas de raza Leghorn (Bajo la dirección de Ezequiel Sánchez, José Antonio Quintana, Ricardo Navarro, Jorge Márquez y Gabriel Corkidl).

El objetivo de esta investigación es determinar si la desinfección mediante aspersión con formol, glutaraldehído y ozono, modifica la integridad de la cutícula de huevos fértiles. Se emplearon cinco grupos experimentales: el primero se asperjó con formol al 5%, el segundo con glutaraldehído al 0.78% a 40°C, el tercero con agua ozonificada a 100 ppm, el cuarto se empleó como testigo positivo y se le asperjó con agua destilada a 40°C y el quinto como testigo negativo y no recibió aspersión. Para determinar la cantidad de cutícula se empleó un procedimiento que la relaciona con la absorción de un colorante; para medir la coloración de los huevos se usó un método fotométrico basado en el sistema de Procesamiento Digital de Imágenes del Centro de Instrumentos de la UNAM. Dicho método emplea un sistema de circuito cerrado de televisión conectado a una computadora. Las muestras se midieron en dos ocasiones, una antes y otra después de teñirlos con una solución de fucsina y permanganato de potasio; la diferencia entre las dos medidas se relaciona con la cantidad de colorante absorbido y es un valor relativo de la cantidad de cutícula. El análisis estadístico indicó que sólo el grupo testigo negativo fué significativamente diferente de los otros ( $p < 0.01$ ): en todos los grupos asperjados hubo una disminución significativa de la cantidad de cutícula. Esto sugiere que la disminución de la cantidad de cutícula es debida a una acción mecánica, causada por la aspersión del líquido y es independiente del tipo de desinfectante empleado.

## INTRODUCCION

Los buenos resultados en la tasa de nacimientos y en la mortalidad de los pollitos durante los primeros días de vida, dependen fundamentalmente del manejo que se le dé a los huevos para incubar <sup>12</sup>.

El cascarón de los huevos se contamina con microorganismos desde su puesta hasta su incubación <sup>23</sup>. Aún cuando se empleen los más sofisticados sistemas sanitarios o se desinfecten muy bien los huevos, a veces no es posible producir pollitos de la calidad deseada, debido a que las reproductoras son hospedadores naturales de diversos microorganismos, que deben mantenerse en ciertos niveles de seguridad <sup>12</sup>.

Se ha demostrado que bastan de seis a veinte minutos de exposición a *Salmonella typhymurium* para que las bacterias penetren la cutícula y el cascarón y lleguen a la membrana interna, donde los desinfectantes ya no pueden actuar <sup>19</sup>.

La contaminación de los huevos en los nidos puede ocurrir en forma directa o indirecta <sup>19</sup>. La contaminación directa ocurre inmediatamente después de la puesta o cuando las aves defecan sobre los huevos. La penetración de bacterias a través del cascarón en huevos con contaminación fecal ocurre principalmente debido a la presencia de agua, la cual modifica la permeabilidad del cascarón y también a la presencia de ácido úrico en las heces <sup>19</sup>.

La contaminación indirecta sucede cuando los huevos recién puestos entran en contacto con superficies contaminadas, como el nido. La contaminación del nido puede ocurrir por la presencia de heces, por la introducción al nido del material de la cama al adherirse a las patas de las aves o por la acumulación del polvo del ambiente de las casetas <sup>19</sup>. El mayor número de oportunidades para la penetración de bacterias a través del cascarón se dan precisamente en el nido <sup>19</sup>. La mayoría de huevos no contienen bacterias cuando son puestos y únicamente se contaminan posteriormente <sup>17</sup>.

Se ha determinado que el número de bacterias presentes en el cascarón varía desde 190 hasta 430,000 por huevo <sup>13</sup>. Estos microorganismos, cuyo origen puede ser entérico o ambiental, pueden penetrar a través del cascarón y causar infecciones en los embriones, disminuir su viabilidad y provocar mortalidad embrionaria o durante

las primeras semanas de vida del pollito, pueden provocar retraso en el crecimiento y muchos otros problemas <sup>1,2,18</sup>.

El cascarón está cubierto por una estructura llamada cutícula, que mide de 10 a 30  $\mu\text{m}$  de espesor y se distribuye en forma irregular, se introduce en los poros que existen en la superficie y forma tapones que sellan la entrada al huevo <sup>24</sup>, su función es impedir la entrada de partículas líquidas o sólidas y así evitar la invasión microbiana al interior del huevo <sup>5,23</sup>. La presencia de la cutícula en la superficie del cascarón constituye la primera y la más importante barrera contra la invasión microbiana <sup>19</sup>.

A la observación mediante microscopía electrónica, la cutícula parece estar formada por dos estratos, uno adyacente al cascarón, de apariencia espumosa y otro externo, de apariencia compacta; está compuesta de aproximadamente 90% de proteínas con un contenido alto de glicina, ácido glutámico, lisina, cistina y tirosina. En proporción menor hay polisacáridos como hexosamina, galactosa y manosa <sup>23</sup>.

Algunos de los factores que pueden influir en la penetración de las bacterias son:

1. Maduración tardía de la cutícula, la cual se seca algunos segundos después de haber sido puesto el huevo y la penetración bacteriana puede ocurrir antes <sup>19</sup>.
2. Ausencia de cutícula, se ha demostrado que una cantidad pequeña de huevos carecen de cutícula en forma total o, más frecuentemente, en uno de sus polos, la superficie del cascarón de estos huevos es rugosa, tienen fisuras profundas y sus poros no tienen tapón, por lo que son más susceptibles a la invasión microbiana <sup>6</sup>.
3. La cutícula se deteriora con el tiempo y la temperatura, se deteriora más rápido cuando los huevos son almacenados a 24°C que a 5°C <sup>3</sup>.
4. El lavado <sup>3</sup> y la fumigación <sup>12</sup> reducen la cantidad de cutícula.
5. Las sustancias como el ácido úrico, presente en las heces tienen la capacidad de destruir la cutícula <sup>3</sup>.

La edad de las gallinas no influye en la cantidad de cutícula de sus huevos <sup>3</sup>.

El grosor de la cutícula puede ser cuantificado mediante dos medidas con un reflectómetro, (instrumento empleado para medir el porcentaje de reflectancia

del cascarón), una antes y otra después de teñirlo con una solución de fucsina y permanganato de potasio <sup>8</sup>, la diferencia entre la primera medición y la segunda es un valor relativo de la cantidad de cutícula. Mientras mayor sea la diferencia, mayor será la cantidad de cutícula presente en el huevo <sup>9</sup>. Para la cuantificación de la cutícula existe un método alternativo a la reflectometría desarrollado en el Centro de Instrumentos de la Universidad Nacional Autónoma de México, basado en Procesamiento Digital de Imágenes (PDI) <sup>9</sup>. Dicho método consiste en extraer y procesar información de la imagen de un objeto. Mediante un modelo matemático de dicha imagen y programas de cómputo que realizan un tratamiento numérico de la imagen captada, se asignan valores de intensidad luminosa a cada unidad de imagen (pixel) que se almacenan en la memoria de una computadora. Las medidas obtenidas mediante PDI son también medidas relativas para estimar la cantidad de cutícula.

Existe una correlación directa entre la contaminación del cascarón y la incubabilidad de los huevos <sup>21</sup>, por esto la desinfección es muy importante para eliminar los agentes patógenos <sup>10</sup>.

La aspersión es uno de los métodos de desinfección de huevos para incubación más empleados en la actualidad <sup>12</sup>. Con este método se emplean sustancias en dilución, como el formol (generalmente mezclado con otros compuestos) <sup>29</sup>, el glutaraldehído <sup>25</sup>, el ozono <sup>26,27,28</sup> y otros desinfectantes.

El método de aspersión que emplea formol tiene las ventajas siguientes: posee un espectro de acción amplio, tiene poder residual, no hay que mantener una temperatura ni una humedad ambiental relativa determinada al momento de la aspersión y no necesita tiempo mínimo ni máximo de acción, condiciones que sí son necesarias para el método de fumigación y que frecuentemente le provocan muchas fallas a este otro método <sup>12</sup>.

El glutaraldehído es un dialdehído saturado que en soluciones alcalinas posee un poder esporicida alto, es de espectro amplio y la presencia de materia orgánica no afecta su actividad, no es corrosivo y no lo afectan las aguas duras, además es biodegradable y de acción rápida <sup>25</sup>.

---

<sup>α</sup>

Quintana L., J. A. Comunicación Personal. 1991.

El ozono es el alótropo triatómico del oxígeno formado a partir del bióxido de carbono mediante una descarga eléctrica, se emplea para oxidaciones químicas debido a su particularidad de formar ozónidos cuando actúa en compuestos que poseen uniones dobles carbono-carbono <sup>4</sup>. Comercialmente se obtiene mediante el paso del oxígeno del aire por los electrodos de un generador <sup>30</sup>. Tiene propiedades bactericidas <sup>7</sup>, fungicidas <sup>11</sup>, esporicidas <sup>15</sup> y viricidas <sup>16</sup>.

Se sabe que la fumigación incorrecta puede destruir la cutícula por: fumigaciones excesivas, concentraciones muy altas de fumigantes o temperaturas inadecuadas, humedad ambiental relativa muy alta o muy baja al fumigar o tiempo excesivo de fumigación <sup>3,12</sup>, no obstante, en la literatura consultada no se encontró información acerca del efecto sobre la cutícula de la desinfección por aspersión.

## OBJETIVO

Determinar si el formol, el glutaraldehído y el ozono, empleados como desinfectantes asperjados en huevos fértiles modifican la integridad de la cutícula del cascarón de los huevos.

## MATERIAL Y METODOS

### 1. GRUPOS EXPERIMENTALES

Los desinfectantes que se utilizaron en este estudio son el formol, el glutaraldehído y el ozono. En esta investigación se aplicó el formol sin mezclarlo para evitar efectos confundidos por la presencia de otro compuesto.

Se emplearon 150 huevos fértiles de gallinas ligeras de raza Leghorn de 52 semanas, de menos de una hora de puestas <sup>22</sup> y se dividieron en cinco grupos de 30 huevos cada uno.

El grupo I se asperjó con formol al 5% <sup>12</sup>.

El grupo II se asperjó con una solución a 40°C compuesta por una parte de un producto comercial <sup>β</sup> cuyo ingrediente activo es el glutaraldehído y 128 partes de agua destilada, (solución al 0.78%) <sup>20</sup>.

El grupo III se asperjó utilizando agua ozonificada en una concentración de 100 ppm de ozono <sup>10</sup>, producido con una miniplanta ozonificadora para agua <sup>7</sup>.

Al grupo IV se le empleó como grupo testigo positivo y se le asperjó con agua destilada a 40°C.

El grupo V se empleó como grupo testigo negativo y no se le asperjó.

### 2. MEDICION DEL TONO DE GRIS DEL CASCARON MEDIANTE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGENES

Para realizar las cuantificaciones se empleó un método de fotometría mediante PDI.

El programa que se utilizó <sup>δ</sup>, permite hacer mediciones de tipo fotométrico (niveles de intensidad en tonos de gris) para cuantificar hasta 256 niveles, llamados Niveles de Gris, desde el negro (valor mínimo, igual a 0) hasta el blanco (valor máximo, igual a 255). Cuando se controlan adecuadamente las condiciones de

---

<sup>β</sup> Ucarean Sanitiser <sup>220</sup>, Union Carbide.  
<sup>7</sup> Warnich de México, mod. 802.  
<sup>δ</sup> Imagenia 2000, BIOCUM-CIUNAM.

iluminación, el margen de error es mínimo (aproximadamente de dos unidades de gris, en la escala de 0 a 255).

A partir del Nivel de Gris medido en cada uno de los pixeles de la imagen completa, se calculó el Nivel de Gris Medio (NGM) y el promedio y la dispersión de tonalidad en la imagen expresada mediante la Desviación Estándar del Nivel de Gris (DENG). En este trabajo, la imagen fué el cascarón de cada uno de los huevos sometidos al estudio.

Puesto que interesa exclusivamente la medida de la tonalidad relativa, antes y después de la tinción, el proceso de fotometría mediante PDI es una alternativa equivalente a la reflectancia, obtenida con el reflectómetro.

La microestación de PDI fué descrita por Corkidi y Márquez <sup>9</sup> y se adaptó para esta aplicación. Se colocó un huevo por turno identificado previamente bajo una cámara de video <sup>6</sup> conectada a una tarjeta digitalizadora electrónica de alta integración <sup>5</sup> instalada en una computadora <sup>7</sup>. La cámara capta las señales luminosas de las muestras y por medio de la microestación de PDI que realiza el análisis fotométrico de las imágenes, la señal de video se convierte a datos numéricos y al mismo tiempo, se visualiza la imagen captada en un monitor a colores de alta resolución <sup>8</sup>. El resto de la metodología seguida en el PDI fué la siguiente:

- Determinación de un arreglo adecuado para colocar las muestras: un fondo negro uniforme, una base para los huevos y una pantalla translúcida para difundir la luz y eliminar las sombras.
- Ajuste de la sensibilidad del sistema de captura (ajuste y optimización del intervalo dinámico), escala de distancias y niveles de segmentación (identificación y extracción de contornos) a partir del borde del huevo con respecto al fondo.
- Segmentación de la imagen captada y obtención del NGM y DENG.

<sup>6</sup> OCD Cobu, mod. 6415/21000/AL16, USA.

<sup>5</sup> Matrox Electronix System LTD, Canada.

<sup>7</sup> Compatible a las IBM AT.

<sup>8</sup> Multyslac II, NEO Corp. Japan.

### 3. ESTIMACION DEL GROSOR DE LA CUTICULA

Se evaluó la tonalidad del color natural del cascarón de cada huevo por medio de PDI, después se le sumergió a cada uno durante un minuto en una solución de fucsina y permanganato de potasio en partes iguales al 5% en agua destilada <sup>8</sup>, se enjuagó en un recipiente con agua y se midió nuevamente con el PDI para obtener un segundo NGM, la diferencia entre ambas medidas indica un valor relativo del grosor de la cutícula.

### 4. ORDENES EMPLEADAS EN LA MICROESTACION DE PDI

Para la aplicación del sistema de Procesamiento Digital de Imágenes al problema de fotometría para estimar la cantidad de cutícula, fué necesario diseñar y probar un proceso automático para medir, bajo condiciones reproducibles, los 150 huevos, antes y después de la tinción. El proceso automático que se diseñó utiliza las órdenes del programa IMAL, del paquete BIO-200, de BIOCUM-CIUNAM, en forma de listas de instrucciones conocidas como macroinstrucciones. Las instrucciones son operaciones específicas de captura, ajuste, iniciación de parámetros, selección de opciones y órdenes de procesamiento y medición, que permiten extraer las características de interés para el caso particular del tipo de muestras.

Se escribieron dos macroinstrucciones: una de puesta en marcha e iniciación general (archivo HINICIA.CMD) y otra de mediciones y procesamiento (archivo H.CMD). La primera se ejecuta para cada sesión de medidas, al entrar por primera vez al entorno del sistema (menú principal) y la segunda para medir cada huevo. Para centrar la base de los huevos se dibujó una retícula superpuesta a la imagen de la base y se ajustó su posición y la de la cámara. Para la calibración de escalas se empleó una regla graduada en milímetros. Los datos de calibración, así como otros parámetros de configuración (nivel de umbral=10, sincronía tipo EUA, canal de captura=0, cuadro de tonos de gris inicial normal), fueron almacenados en el archivo de configuración del programa.

Los archivos de instrucciones descritos anteriormente se detallan a continuación.

Archivo HINICIA.CMD	
Instrucción	Función
EFFACE GRA	Borrar plano gráfico.
REINIT	Reiniciar memoria de contornos.
! ETAL 100 mm	Calibrar escalas (sólo la primera vez, quitando "!").
ACQ CONT	Adquisición continua de imagen.
ENTR CON 255	Ajustar contraste óptimo.
ENTR LUM 100	Ajustar luminosidad óptima.
SANS RIEN	Seleccionar parámetros a medir.
AVEC SURFACE	Obtener superficie.
AVEC GRISMOY MEM	Obtener Nivel de gris medio.
AVEC ECAR MEM	Desviación estándar del nivel de gris.
SEL FORM SUP 0.8	Discriminar objetos muy irregulares según un criterio de factor de forma (para un círculo=1.0).
Archivo H.CMD	
Instrucción	Función
REINIT	Reiniciar memoria de contornos.
REAFF	Borrar contornos anteriores.
ACQ	Adquirir una imagen a memoria.
SEG POL 12 10 2	Segmentar (extracción de contornos).
DET SURF INF 1600	Eliminar contornos menores a 1600 mm de superficie.
DET FORM INF 0.8	Eliminar contornos con factor de forma inferior a 0.8 ("artefactos").
IMPRES medidas/c	Abrir el archivo "medidas".
RES TA	Obtener el cuadro de resultados y agregarlos al archivo "medidas".
IMPRES	Cerrar archivo "medidas".

## 5. ANALISIS ESTADISTICO

Se realizó un análisis de varianza con un modelo completamente al azar, donde el efecto de tratamiento tuvo cinco niveles: tres grupos tratados y dos testigos. Las variables analizadas fueron el NGM y la DENG. Para las comparaciones múltiples de medias se empleó la prueba de Tukey <sup>14</sup> y se realizaron contrastes entre grupos de tratamientos. Antes de realizar el análisis de varianza se comprobó que los datos cumplieran con los supuestos de dicho análisis.

## RESULTADOS

En el cuadro 1 se presentan la media y la desviación estándar de los NGM y de las DENG tomados antes y después de teñir las muestras de cada grupo, así como la media y la desviación estándar de la diferencia entre esas dos medidas.

El análisis estadístico indicó que tanto para el NGM como para la DENG sólo el grupo testigo negativo fué significativamente diferente de los otros cuatro grupos ( $p < 0.01$ ).

La DENG de las medidas tomadas a cada huevo antes de la tinción son similares entre cada uno de los cinco grupos, a diferencia de lo que ocurrió después de la tinción, donde el grupo V tuvo menor promedio de las DENG que los otros grupos.

El conjunto de resultados originales del estudio se presenta como apéndice al final del trabajo.

CUADRO 1

MEDIA Y DESVIACION ESTANDAR DE LOS RESULTADOS FOTOMETRICOS OBTENIDOS MEDIANTE PDI, ANTES Y DESPUES DE LA TINCION DE LAS MUESTRAS Y DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS DOS MEDICIONES

			GRUPO				
			I	II	III	IV	V
A N T E S	NGM	$\bar{X}$	159.0	157.4	161.1	162.2	161.9
		DE	3.7	3.0	3.4	2.2	3.4
	DENG	$\bar{X}$	46.5	46.4	46.2	47.6	47.3
		DE	1.3	1.0	1.3	1.0	1.4
D E S P U E S	NGM	$\bar{X}$	85.0 A	81.5 A	83.1 A	84.7 A	65.1 B
		DE	9.9	5.2	11.3	4.9	5.5
	DENG	$\bar{X}$	27.5 A	26.4 A	28.1 A	26.9 A	20.9 B
		DE	3.4	2.2	3.7	2.9	2.6
D I F	NGM	$\bar{X}$	74.1 A	75.9 A	78.0 A	77.5 A	96.7 B
		DE	11.0	5.2	10.7	4.6	5.8
	DENG	$\bar{X}$	19.0 A	20.0 A	19.1 A	20.7 A	26.7 B
		DE	3.8	2.0	3.7	3.1	2.8

NGM: Nivel de Gris Medio.

DENG: Desviación estándar del NGM al tomar la medida.

$\bar{X}$  Media.

DE: Desviación estándar.

DIF: Diferencia entre el NGM obtenido antes de la tinción y el NGM obtenido ya teñidas las muestras.

Los grupos con letra distinta son significativamente diferentes, ( $P < 0.01$ ): El grupo V difiere de los otros.

## DISCUSION

El resultado de la prueba de Tukey para comparaciones múltiples de medias indica que no hay diferencias significativas entre el daño causado a la cutícula por la aspersión con soluciones desinfectantes y la aspersión con agua sola. En algunas investigaciones<sup>3,12</sup> se afirma que la cutícula puede ser alterada durante el proceso de desinfección de los huevos. De la presente investigación se deduce que el daño causado por los desinfectantes aplicados por aspersión, no es mayor que el daño causado por la aspersión con agua sin ningún compuesto desinfectante. Esto sugiere que lo que provoca la disminución de la cantidad de cutícula es una acción mecánica, puesto que todos los grupos asperjados mostraron una cantidad menor de cutícula que el grupo testigo negativo, que no fué asperjado.

El hecho de que el promedio de DENG de las medidas tomadas después de la tinción sea menor en el grupo V (testigo negativo) que en todos los otros, indica que había diferencias grandes en la uniformidad de la coloración que tomaron las cutículas; lo anterior puede atribuirse a la pérdida de la cutícula en algunas zonas del cascarón más que en otras en los grupos asperjados.

Se sugiere realizar más investigaciones para comparar el daño de la cutícula causado por métodos de desinfección distintos, como la fumigación y la inmersión, para determinar el método más conveniente y de ser posible, su repercusión en la viabilidad embrionaria y en otros parámetros similares.

Se observó que la forma de tinción de las cutículas fué diferente de la que se logra empleando otros colorantes, como el utilizado por Ball, Logan y Hill<sup>3</sup>; no se sabe si el colorante influye en los resultados de este tipo de estudios, por esto se sugiere también la comparación de diferentes colorantes para tinción selectiva de cutículas con el fin de determinar cual es el mejor indicador de este aspecto.

## LITERATURA CITADA

1. Arhienbuwa, F. E., Adler, H. E. and Wiggins, A. D.: A method of surveillance for bacteria on the shell of turkey egg. *Poultry Sci.*, 59: 28-33 (1980).
2. Avens, J. S., Quarles, C. L. and Fagerberg, D. J.: Reduction of airborne microorganism by filtering recycled air in a chick hatchery. *Poultry Sci.*, 54: 479-482 (1975).
3. Ball, R. F., Logan, V. and Hill, J. F.: Factors affecting the cuticle of the eggs as measured by intensity of staining. *Poultry Sci.*, 54: 1479-1484 (1975).
4. Becker, E. L., Butterfield, W. J. H., Harvey, A. G., Heptinstall, R. H. and Thomas, L.: International dictionary of medicine and biology. Volume II, *John Wiley and Sons*. New York, U. S. A. 1986.
5. Board, R. G. and Halls, N. A.: The cuticle: a barrier to liquid and particle penetration of the shell of the hen's egg. *Br. Poultry Sci.*, 14: 69-97 (1973).
6. Board, R. G.: The microstructure of the cuticle-less shell of the eggs of the domestic hen. *Br. Poultry Sci.*, 16: 89-91 (1975).
7. Broadwater, W. T., Hochn, R. C. and King, P. H.: Sensitivity of three selected bacterial species to ozone. *Appl. Microbiol.*, 26: 391-393 (1973).
8. Cárdenas G., E. S.: Contribución al estudio de la calidad del huevo que se consume en el Distrito Federal y sugerencias para su control sanitario. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1978.
9. Corkidi B., G. y Márquez F., J.: Microestación para el proceso digital de imágenes biomédicas. Memorias de la Conferencia Sobre Procesamiento Digital de Señales e Imágenes en Biomedicina. México D. F. 1990. Página 8. *IEEE*, México, D. F. (1990).
10. Ensminger, M. E.: Poultry Science (Animal agriculture series). 2<sup>nd</sup> ed. *The Interstate Printers and Publishers Inc.* II., U. S. A., 1980.
11. Farooq, D. J., Chian, E. S. K. and Engelbrecht, R. S.: Basic concepts in disinfection with ozone. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 49: 1818-1831 (1977).

12. Garza F., R.: Todo sobre incubación. Memorias del IV curso anual: incubación, patología, nutrición, procesamiento. Progenitoras Arbor Acres, S. A. de C. V. Gómez Palacio, Durango, México, 1987. Páginas 1-44. *Progenitoras Arbor Acres*, Durango, México. (1987).
13. Gentry, R. F. and Quarles, C. L.: The measurement of bacterial contamination on egg shells. *Poultry Sci.*, 51: 930-933 (1972).
14. Gill, J.: Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. *Iowa University Press*. Ames, Iowa, U. S. A. 1976.
15. Ishizaki, K., Shinriki, N. and Matsuyama, H.: Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone. *J. Appl. Bacteriol.*, 60: 67-72 (1986).
16. Kessel, J. F., Allison, D. K., Moore, F. J. and Kaime, M.: Comparison of chlorine dioxide and ozone as virucidal agents of Poliomyelitis virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 51: 71 (1943).
17. Mayes, F. J. and Takeballi, M. A.: Microbial contamination of the hen's egg: a review. *J. Food Prot.*, 46: 1092-1098 (1983).
18. Mowry, D. J., Fagerberg, D. J. and Quarles, C. L.: Effect of hatcher fogging on hatcher airborne bacteria and broiler performance. *Poultry Sci.*, 59: 714-718 (1980).
19. Padrón N., M.: Factores que influyen la penetración de las bacterias a través del cascarón. I curso de manejo para la prevención de problemas aviares. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Producción Animal: Aves. México D. F., 1989. Páginas 79-83. *Fac. de Med. Vet. y Zoot. DPA: Aves*. México D. F. (1989).
20. Proudfoot, F. G., Nash, D. M. and Hulan, H. W.: Effects of glutaraldehyde-surfactant solution on the hatchability of the hen's eggs. *Poultry Sci.*, 64: 2400-2402 (1985).
21. Quarles, C. L., Gentry, R. F. and Bressler, G. O.: Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. *Poultry Sci.*, 49: 60-66 (1970).
22. Quintana L., J. A.: Avitecnia: manejo de las aves domésticas más comunes. *Editorial Trillas*. México, D. F. 1988.

23. Stadelman, W. J. and Cotterill, O. J.: Egg science and technology. 2<sup>nd</sup> ed. *Avi Publishing Company, Inc.* Connecticut, U. S. A., 1977.
24. Tullet, S. G., Lutz, P. L. and Board, R. G.: The fine structure of the pores in the shell of the hen's egg. *Br. Poultry Sci.*, 16: 93-95 (1975).
25. Union Carbide.: Ucarsan sanitizer description and special features. *Union Carbide Corporation.* Old Ridgebury, Danbury, U. S. A. Citado por: Camacho V., E. G.: Evaluación de cuatro diferentes compuestos utilizados en la desinfección del huevo para incubar. Tesis de licenciatura. *Fac.de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1987.
26. Whistler, P. E. and Sheldon, B. W.: Biocidal activity of ozone versus formaldehyde against poultry pathogens inoculated in a prototype setter. *Poultry Sci.*, 68: 1068-1073 (1989).
27. Whistler, P. E. and Sheldon, B. W.: Bactericidal activity, eggshell conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection. *Poultry Sci.*, 68: 1074-1077 (1989).
28. Whistler, P. E. and Sheldon, B. W.: Comparison of ozone and formaldehyde as poultry hatchery disinfectants. *Poultry Sci.*, 68: 1345-1350 (1989).
29. Williams, J. E.: Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial population on the surface of chicken hatching eggs. *Avian Dis.*, 14: 380-392 (1970).
30. Yang, P. P. W. and Chen, T. C.: Stability of ozone and its germicidal properties on poultry meat microorganisms in liquid phase. *J. Food Sci.*, 44: 502-504 (1979).

APENDICE: RESULTADOS DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGENES

GRUPO I, ASPERJADO CON FORMOL

NUM	ANTES		DESPUES	
	NGMA	DENG	NGMD	DENG
1	159	47	79	25
2	163	48	77	25
3	157	48	77	26
4	163	48	73	22
5	161	47	89	29
6	157	45	75	22
7	157	46	81	25
8	153	45	85	26
9	157	46	87	28
10	161	48	85	27
11	157	46	87	28
12	155	45	117	36
13	155	45	89	31
14	157	46	77	23
15	165	49	93	30
16	159	46	99	32
17	149	44	85	26
18	159	45	97	30
19	153	44	77	25
20	163	48	91	28
21	157	46	85	27
22	159	46	101	33
23	163	49	87	29
24	161	47	71	23
25	161	47	93	32
26	161	46	83	28
27	161	48	75	26
28	163	47	83	33
29	163	47	83	27
30	163	47	69	24

NUM: Número de la muestra.

NGMA: Nivel de Gris Medio obtenido antes de la tinción.

DENG: Desviación estándar del NGM.

NGMD: Nivel de Gris Medio obtenido después de la tinción.

## GRUPO II, ASPERJADO CON GLUTARALDEHIDO

NUM	ANTES		DESPUES	
	NGMA	DENG	NGMD	DENG
1	153	45	75	22
2	157	46	79	25
3	159	48	75	23
4	159	47	79	26
5	161	48	79	26
6	163	46	81	26
7	159	46	79	25
8	159	47	85	27
9	157	46	79	28
10	153	46	91	31
11	155	45	81	25
12	151	44	77	24
13	157	46	85	27
14	155	46	77	25
15	157	46	73	26
16	155	45	77	25
17	151	46	79	27
18	157	47	89	28
19	157	47	85	29
20	161	48	81	27
21	155	46	83	30
22	157	47	85	30
23	157	45	79	25
24	159	46	79	25
25	159	46	81	25
26	161	48	91	28
27	159	47	79	27
28	157	47	83	25
29	159	47	81	25
30	163	48	97	31

NUM: Número de la muestra.  
 NGMA: Nivel de Gris Medio obtenido antes de la tinción.  
 DENG: Desviación estándar del NGM.  
 NGMD: Nivel de Gris Medio obtenido después de la tinción.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## GRUPO III, ASPERJADO CON OZONO

NUM	ANTES		DESPUES	
	NGMA	DENG	NGMD	DENG
1	153	44	31	13
2	157	47	87	30
3	161	47	87	29
4	161	48	87	28
5	159	47	93	31
6	157	44	85	30
7	163	48	77	28
8	161	47	89	30
9	161	47	81	27
10	163	48	89	29
11	157	47	83	24
12	159	46	91	31
13	155	47	89	29
14	161	48	91	31
15	165	49	89	30
16	165	48	93	32
17	161	46	89	30
18	159	47	95	34
19	159	47	85	29
20	169	50	87	24
21	165	47	93	33
22	165	47	79	25
23	161	47	75	26
24	159	47	81	27
25	167	50	79	28
26	163	48	79	29
27	163	47	79	29
28	163	48	75	24
29	161	46	79	26
30	159	46	75	27

NUM: Número de la muestra.

NGMA: Nivel de Gris Medio obtenido antes de la tinción.

DENG: Desviación estándar del NGM.

NGMD: Nivel de Gris Medio obtenido después de la tinción.

## GRUPO IV, TESTIGO POSITIVO, ASPERJADO CON AGUA

NUM	ANTES		DESPUES	
	NGMA	DENG	NGMD	DENG
1	163	48	85	26
2	163	49	89	29
3	163	48	83	23
4	161	47	75	19
5	165	48	87	30
6	161	48	87	27
7	167	49	81	24
8	161	46	83	29
9	161	48	81	28
10	163	47	87	28
11	165	48	87	26
12	163	47	89	28
13	161	46	81	24
14	161	46	93	30
15	167	47	99	34
16	165	49	83	24
17	159	49	85	29
18	161	47	81	29
19	163	49	87	27
20	159	47	75	23
21	161	49	83	26
22	157	46	85	29
23	163	47	81	26
24	163	48	81	24
25	161	46	83	27
26	161	47	81	25
27	163	48	87	30
28	161	48	93	30
29	161	48	81	25
30	163	49	87	28

NUM: Número de la muestra.  
 NGMA: Nivel de Gris Medio obtenido antes de la tinción.  
 DENG: Desviación estándar del NGM.  
 NGMD: Nivel de Gris Medio obtenido después de la tinción.

## GRUPO V, TESTIGO NEGATIVO, SIN ASPERSION

NUM	ANTES		DESPUES	
	NGMA	DENG	NGMD	DENG
1	165	48	67	21
2	165	49	65	21
3	165	49	65	21
4	167	49	75	21
5	159	47	57	17
6	167	48	61	19
7	163	47	61	19
8	157	47	61	20
9	153	45	63	22
10	159	46	65	20
11	159	47	65	21
12	163	48	53	16
13	161	48	75	22
14	165	49	63	23
15	167	50	65	24
16	163	49	69	21
17	159	46	59	20
18	157	45	71	22
19	157	46	61	19
20	161	46	63	20
21	163	48	67	22
22	163	47	65	20
23	161	46	69	26
24	161	45	57	18
25	161	47	59	17
26	159	47	71	24
27	161	46	65	18
28	165	48	75	28
29	163	46	73	25
30	167	49	69	20

NUM: Número de la muestra.  
 NGMA: Nivel de Gris Medio obtenido antes de la tinción.  
 DENG: Desviación estándar del NGM.  
 NGMD: Nivel de Gris Medio obtenido después de la tinción.