

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Tratamiento térmico para la reducción de la carga microbiológica en las camas reutilizadas de cascarilla de arroz y evaluación del comportamiento productivo de las camas de arena como alternativa para su uso en pollo de engorde

Jairo Andrés Cascante Barboza

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2019

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

Ph.D. Andrea Molina Alvarado

Directora de tesis

M.Sc. Rebeca Zamora Sanabria

Miembro del tribunal

Ph.D. Sergio Salazar Villanea

Miembro del tribunal

M.Sc. Sebastián Dorado Montenegro

Miembro del tribunal

Ph.D. Catalina Salas Durán

Subdirectora de la Escuela

Bach. Jairo Cascante Barboza

Sustentante

DEDICATORIA

*A mi familia, por brindarme siempre su apoyo
incondicional en todos mis proyectos de vida.*

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecerles a mis padres y a mi hermana, por el apoyo que me han dado durante toda la vida. Gracias por ayudarme siempre.

A mis familiares y amigos que me acompañaron durante todo este proceso, alentándome y animándome durante cada paso de este proyecto.

A mi tutora y lectores, gracias por la guía y paciencia brindada durante todo este proceso.

A la empresa Cargill Meats Centroamerica, por la oportunidad y la confianza depositada en mí.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
PORTADA	i
HOJA DE APROBACIÓN.	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Pollinaza	3
Características del material de cama	3
Tipos de material de cama	4
Composición de la cama.....	5
Tratamientos aplicados en la pollinaza	5
Reutilización de la cama	7
Microbiología de la cama.....	9
Factores que afectan la microbiología de la cama	12
Reglamentación nacional.....	14
Termografía.....	16
Escarabajo de la cama.....	17
OBJETIVOS.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES	55
BIBLIOGRAFÍA	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Promedio de temperaturas obtenidas durante la prueba según el tiempo de tratamiento.....	30
2. Promedio de concentraciones de amoníaco (ppm) obtenidas durante la prueba según el tiempo de tratamiento.....	31
3. Promedio de pH obtenido durante la prueba según el tiempo de tratamiento utilizado.....	32
4. Promedio de las UFC/g de mesófilos aerobios por día según el tipo de tratamiento.....	34
5. Promedio de UFC/g de hongos y levaduras de acuerdo al tiempo de tratamiento.....	35
6. Promedio de UFC/g de enterobacterias por día según el tiempo de tratamiento.....	36
7. Promedio de UFC/g de coliformes totales por día según el tiempo de tratamiento.....	37
8. Presencia de <i>Salmonella sp.</i> por día según el tratamiento utilizado.....	40
9. Coeficiente de correlación entre las diferentes variables microbiológicas analizadas.....	46
10. Promedio de mortalidad, consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia de pollos de engorde mantenidos en cama de arena de acuerdo a la cantidad de veces que se reutilizó la cama....	50
11. Promedio de rendimientos productivos de los pollos de engorde alojados en cama de arena y en cama de cascarilla de arroz según la granja.....	51
12. Correlaciones del número de usos con los parámetros analizados.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Tratamiento de calentamiento espontaneo sin cubrir (izquierda) y tratamiento de calentamiento espontáneo con utilización de plástico (derecha).....	21
2. Puntos de toma de muestras en la galera con la cama extendida antes de la aplicación de los tratamientos.....	22
3. Promedio de temperaturas obtenidas durante los días de la prueba según tratamiento aplicado.....	29
4. Promedio de UFC/g de <i>E. coli</i> por día según el tratamiento.....	39
5. Promedio de larvas de <i>Alphitobius diaperinus</i> encontrados en 200g de muestra por día según el tratamiento aplicado.....	41
6. Promedio de abejones adultos <i>Alphitobius diaperinus</i> encontrados en 200g de muestra por día según el tratamiento aplicado.....	43
7. Imágenes termográficas del tratamiento con plástico (izquierda) y del tratamiento sin plástico (derecha) durante el segundo día de la prueba.....	44
8. Promedio de temperaturas captadas con cámara termográfica durante los días de la prueba para el tratamiento con plástico y el tratamiento control.....	45

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivos evaluar el tratamiento térmico o calentamiento espontáneo como opción para la reducción de la carga microbiológica y contaminación ambiental de las camas reutilizadas y describir el comportamiento productivo y ambiental de las camas reutilizadas de arena como alternativa para su uso en pollo de engorde. La poca disponibilidad del material de cama y el precio han dado lugar a la reutilización de la pollinaza en las explotaciones de pollo de engorde; práctica que si no se realiza adecuadamente puede provocar problemas sanitarios y bajas en los rendimientos productivos de las aves.

Se evaluaron dos tratamientos para el calentamiento espontáneo de la pollinaza: calentamiento sin cubrir y calentamiento de la pollinaza cubierta por un plástico. Se midió diariamente el pH de la cama, la temperatura del material, el nivel de amoníaco, conteo de abejones de la cama y el recuento de enterobacterias, mesófilos, hongos y levaduras, *Salmonella sp.*, coliformes totales y *E. coli*. Los tratamientos se aplicaron por 5 días seguidos y las variables se evaluaron diariamente.

Se realizaron muestreos de la cama y de distintas variables ambientales el día antes y durante los cinco días de aplicación del tratamiento: Se utilizaron 10 galeras divididas en dos tratamientos.

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a los recuentos de bacterias, hongos y levaduras, pH de la cama, conteo de abejones y concentración de amoníaco evaluados. La temperatura de la cama si mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) y se observaron mayores temperaturas en el tratamiento donde se utilizó plástico.

El tiempo de tratamiento si tuvo efecto sobre los niveles de mesófilos aerobios, enterobacterias, coliformes totales, *E. coli*, hongos y levaduras, ya que se observó una disminución significativa ($p < 0,05$), en el conteo de UFC/g a partir del

primer día de tratamiento. También se observaron diferencias en el pH de la cama, cantidad de abejones y larvas y en el nivel de amoníaco entre los tratamientos.

Se analizaron los datos históricos de los rendimientos productivos de los pollos de 3 granjas distintas. Se evaluaron galeras con camas de arena en 8 ciclos productivos consecutivos y se compararon con los rendimientos productivos de los pollos criados en camas de cascarilla de arroz en la misma granja, simultáneamente. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$), en los rendimientos productivos de los pollos criados en las camas de arena durante los 8 ciclos productivos. Tampoco se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$), entre los rendimientos de las camas de arena con respecto a las camas de cascarilla que fueron analizados.

INTRODUCCIÓN

Las limitaciones en la disponibilidad y el alto precio del material de cama han dado lugar a la necesidad creciente de reutilizarla en las explotaciones de pollo de engorde. Esta práctica también se realiza para bajar los costos de producción de la carne de pollo debido al incremento en el precio del material que se utiliza como cama en los galpones (Vejarano et al. 2008) y debido a la dificultad para conseguir la cascarilla de arroz, que es el material más utilizado como cama en granjas avícolas en Costa Rica.

Los productores buscan reducir el tiempo de limpieza y alistado de las instalaciones entre ciclos productivos y reutilizar el material de la cama cuando el precio de venta de la pollinaza baja en algunas épocas del año, por la poca demanda de la pollinaza como alimento para rumiantes. La reutilización de la cama también se considera como una opción para disminuir la generación de residuos y la contaminación ambiental (Tobía y Vargas 2000). Autores como Paganini et al. (2004) mencionan que el alto costo del material de cama y de la mano de obra, así como el tiempo requerido para su recambio, hace que el reciclaje de cama se convierta en una opción viable para muchos sistemas productivos.

Para que se pueda reciclar la cama se debe aplicar un tratamiento y monitoreo antes de su reutilización, de lo contrario la práctica puede resultar perjudicial en la explotación; ya que esta se considera como un factor de riesgo sanitario por los microorganismos que alberga y por la producción de amoníaco que puede producir lesiones en las aves y retraso en su crecimiento (Miles et al. 2011).

El método más utilizado para el tratamiento de la cama reciclada es el térmico. Según estudios realizados por Santiago et al. (2007) se recomienda la estabilización a través del calentamiento y fermentación de la cama y se utilizan períodos de calentamiento de 10 días. Sin embargo, en la práctica los períodos de alistado de las instalaciones cada vez son más cortos por lo que muchos días de calentamiento de la cama son poco prácticos.

Por otra parte, existen otras alternativas para reducir el uso de cascarilla de arroz como material de cama y así evitar el problema de la disponibilidad y del alto costo. Algunos autores como Bilgili et al. (1999) indican que la arena puede ser una buena alternativa como material de cama incluso, mejor que la cascarilla de arroz.

Entre las ventajas se señalan, buena disponibilidad del material, bajo costo, buenos rendimientos productivos, niveles de amoníaco similares a otros materiales de cama, baja humedad, mortalidad similar al uso de otros materiales y menores niveles de *E.coli* y otras bacterias. Este material permite el uso por varios años en condiciones de clima templado (Shields et al. 2005).

Entre las desventajas del uso de la arena se menciona un costo energético mayor, pues la arena al ser un material inerte requiere más energía para calentarse, especialmente durante el invierno. La cama al ser más seca puede resultar polvosa y la disposición final del producto puede tener consideraciones ambientales negativas pues no se puede utilizar en la alimentación de rumiantes (Tobía y Vargas 2000). Otros autores como Miles et al. (2011) y Garcés et al. (2013) mencionan que la cama de arena en condiciones tropicales genera más amoníaco que las camas de madera o de cascarilla de arroz.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el tratamiento térmico práctico para las camas reutilizadas en la producción de pollo de engorde, con el fin de reducir la carga microbiológica y contaminación ambiental. Adicionalmente se procura conocer el comportamiento ambiental y productivo, de las camas reutilizadas de arena como alternativa para su uso en pollo de engorde.

REVISIÓN DE LITERATURA

Pollinaza

La pollinaza es un material conformado por las excretas de pollo, mezcladas con el sustrato de la cama, los restos de alimento que cayeron de los comederos, plumas y descamaciones de la piel (Vejarano 2005). Esta cama es un compuesto biológicamente activo que contiene muchos tipos de microorganismos, como, por ejemplo, bacterias, virus, protozoarios e insectos; además, es un material que no retiene mucha agua, ya que este debe ser seco y altamente absorbente (Castillo 2001).

El sustrato de la cama debe cumplir con ciertas condiciones, como ser de un material no tóxico para los animales, tener bajo peso, así como estar conformado por partículas de tamaño mediano. Se recomienda, que estas sean de un tamaño aproximado de entre 0,6 a 1,2 cm, aunque también se han obtenido buenos resultados con partículas más pequeñas (Heredia 2013).

Según lo mencionado por Heredia (2013), el sustrato de la cama tiene varias funciones, como por ejemplo, ayudar a la evaporación de la humedad y en la liberación de los gases provenientes de la descomposición de las excretas; mantener niveles de humedad aceptables en el piso, facilitar la dilución de las excretas para evitar el contacto con los desechos, así como aislar a las aves del contacto directo con el frío del suelo.

Características del material de cama

El material utilizado para el sustrato de la cama, debe cumplir con varias características. Según lo mencionado por Paganini et al. (2004), la principal es la facilidad para obtenerlo, debido a que es un material que se requiere conseguir en varias ocasiones a lo largo del año, por lo que se prefiere que se pueda adquirir en una zona geográfica cercana a las granjas y con un precio tanto accesible como estable, ante el aumento de la producción y la demanda.

Otros aspectos para tomar en consideración, es que este no se debe apelmazar o compactar, con el objetivo de facilitar el manejo y la comodidad de las aves. Además, la capacidad absorbente es otra característica importante para control de la humedad, temperatura y problemas sanitarios (Vejarano et al. 2008).

Tipos de material de cama

En la producción avícola, las virutas de madera y la cascarilla de arroz se han utilizado comúnmente como materiales de cama. La viruta de pino o de otras maderas suaves también ha sido utilizada como material en la producción de pollo de engorde ya que los animales muestran buenos rendimientos, el material presenta una buena disponibilidad y el costo es bajo.

Conforme ha crecido la industria avícola, la obtención de viruta de madera se ha dificultado debido a la alta demanda que posee. Esta es un material muy variable en su tamaño, precio y composición, además, puede tener la capacidad de absorber mucha humedad e incluso llegar a ser irritante en la piel de las aves. Estas condiciones también se presentan con la cascarilla de arroz, ya que es de fácil obtención en ciertos países y tiene una alta demanda debido a que posee características muy uniformes (Atencio y Fernández 2007).

Un material considerado como una alternativa para remplazar a la viruta y la cascarilla de arroz utilizados como material de cama para pollos de engorde, es la arena (Grimes et al. 2002), con la cual, la calidad de la cama y los parámetros de rendimiento de las aves son similares a las camas de viruta (Shields et al. 2005). Por una parte, la arena es ventajosa debido a que alberga menor cantidad de microorganismos dañinos como por ejemplo la *Escherichia coli*, sin embargo, no se conoce mucho acerca de si el comportamiento de los pollos de engorde, se vería afectado por el uso de camas de arena en condiciones comerciales (Shields et al. 2005).

La cama de arena, mantiene bajas temperaturas y niveles de amoníaco más regulares, debido a que es un material inorgánico. Sin embargo, tiene la desventaja de poseer un mayor costo energético, pues al ser un material inerte, requiere de

más energía para aumentar su temperatura, especialmente durante las primeras semanas de vida del pollo en la granja (Bilgili et al. 1999).

Se han hecho intentos para utilizar otros tipos de sustrato para cama, tales como el yeso refinado, la cascarilla de algodón, trozos de papel periódico y la broza de café. Cualquier material que se utilice, debe cumplir con los requisitos higiénicos y garantizar que la concentración de amoníaco no supere ciertos niveles durante todo el ciclo productivo. El tipo de cama puede afectar significativamente la calidad del canal y el rendimiento en función al crecimiento de los pollos de engorde, por lo que los materiales deben ser probados adecuadamente (Villagra et al. 2011).

Composición de la cama

La pollinaza, posee una alta concentración de nutrientes, por lo que se utiliza como fertilizante orgánico y como suplemento en dietas para rumiantes. Sus propiedades nutricionales pueden variar dependiendo del material de cama que se utilice, de la densidad de pollos que se maneje por metro cuadrado y de si esta fue utilizada más de una vez (Tobía y Vargas 2000).

La composición nutricional del material de pollinaza es de 14% de proteína cruda, 16% de fibra bruta, 13% de materia mineral y 0,41% de extracto etéreo (Luyo 2014). Además, el pH de una cama reutilizada oscila entre 8 y 9, y la actividad del agua (aw) se encuentra entre 0,90 y 0,92 (Dai Pra *et al.* 2010). Por otra parte, la temperatura de los galpones en condiciones normales, oscila entre 20 y 32°C, condiciones que convierten la pollinaza, en un medio óptimo para la proliferación de bacterias, principalmente aerobias y mesófilas (Luyo 2014).

Tratamientos aplicados en la pollinaza

La pollinaza puede provocar enfermedades en los rumiantes que la consumen, debido a que esta, puede contener microorganismos patógenos si no se le realiza un tratamiento adecuado antes de ser ofrecido a los animales; estos tratamientos, tienen como objetivo bajar la carga bacteriana y propiciar un alimento más inocuo para el consumo por parte de los rumiantes. Además, los microorganismos patógenos también pueden afectar la salud de los pollos en camas

recicladadas, debido a que la pollinaza se puede convertir en un medio de diceminacion de patógenos y ser un problema de bioseguridad (Tobía y Vargas 2000).

Con el fin de minimizar la problemática de la excesiva carga bacteriana en la pollinaza, se han buscado alternativas para reducir los microorganismos patógenos y así mejorar la calidad del material, utilizándose varios procesos para su tratamiento (López 2012; Ríos et al. 2005).

Uno de estos procesos es el secado, es cual es un método que va dirigido a disminuir la humedad y la concentración de microorganismos, así como mejorar el manejo y ayudar a la conservación de la pollinaza. Existen diferentes procedimientos para eliminar la humedad por completo y a la vez esterilizar, los cuales consisten en aplicar temperaturas de 100°C o superiores durante lapsos de tiempo de 3 horas (López 2012).

El apilado o calentamiento espontáneo es otro procedimiento que consiste en una fermentación anaeróbica de la pollinaza, se basa en amontonar la pollinaza para generar un aumento de temperatura para eliminar los patógenos. Es importante mencionar que se recomienda apilar a una altura de 1,5 metros y si es posible, cubrirlo con algún material que no deje escapar los gases y el calor generado. Si se realiza de la manera correcta, puede alcanzar temperaturas de 55°C, lo que es suficiente para inhibir el crecimiento de muchos microorganismos (Santiago et al. 2007; Ríos et al. 2005).

En lo mencionado por Gómez (2006), el proceso de fermentación por amontonamiento se lleva a cabo en varias etapas; en las primeras, se produce una multiplicación de los microorganismos, por lo que se genera un aumento de la temperatura y se liberan ácidos orgánicos que son el producto de los procesos metabólicos de las bacterias, posteriormente los microorganismos degradan el nitrógeno en amoníaco y produce un aumento en el pH del medio. Si se mantuviera este proceso durante mucho tiempo se llegaría a descomponer la celulosa y el pH se ajustaría a un valor cercano a 7. El compostaje interno se realiza amontonando

la pollinaza en hileras a lo largo del asador, donde se lleva a cabo el compostaje durante un mínimo de 7 días. El uso de un plástico para cubrir las hileras es un método alternativo adoptado por la industria brasileña de pollos de engorde y tiene como objetivo concentrar el amoníaco en la pollinaza por su efecto esterilizador contra los microorganismos e insectos indeseables como el abejón de la cama (Martins et al. 2013).

Según Macklin et al. (2008), el calentamiento por apilado contribuye a la eliminación de muchos microorganismos como la *Salmonella*, *C. jejuni* y *L. monocytogenes*; y la eliminación bacteriana es más efectiva cuando la temperatura del tratamiento excede los 55 °C ya que estos patógenos son completamente eliminados de la cama después del tratamiento de calentamiento. Cuando se alcanzan temperaturas suficientemente altas, se pueden reducir de manera parcial o total, los organismos sensibles al calor.

El ensilado, es otro método, el cual es menos común y más complejo en el que se combina el aumento en la temperatura y la acidificación, para la eliminación de patógenos. En algunas ocasiones, se le adiciona materiales ricos en carbohidratos para potenciar la actividad de las bacterias anaeróbicas, así como la producción de ácido láctico y otros ácidos orgánicos que tienen efectos adversos sobre la multiplicación bacteriana (López 2012).

Por otra parte, el tratamiento mediante flameado, consiste en el retiro del material húmedo, para luego triturar el material compactado y posteriormente flamear la cama. Este proceso se realiza con el objetivo no sólo de aumentar la temperatura y disminuir la humedad del material, sino también para evitar el crecimiento microbiológico (Luyo 2014).

Reutilización de la cama

Algunos materiales como por ejemplo la cascarilla de arroz, son cada vez más escasos, lo que influye en una menor disponibilidad y elevados costos, lo que dificultando su fácil adquisición. La práctica de reutilizar las camas, ha venido en aumento debido principalmente a motivos económicos y de abastecimiento, como

lo es la baja disponibilidad del material en el mercado, razón que suele tener más peso al tomar la decisión de volver a utilizar la cama (Paganini 2004).

Por otra parte, también se suele reutilizar con el fin de disminuir el daño ambiental, debido a la falta de demanda de pollinaza para otras actividades agropecuarias. El precio del material de cama y el costo de la mano de obra hacen que el reúso de cama sea una opción muy utilizada por los avicultores. La pollinaza se utiliza principalmente como fertilizante de cultivos y como suplemento alimenticio para bovinos. Sin embargo, su demanda varía según la época del año, aumentando en la estación seca debido a la escasez de pastos y por su uso como abono en la preparación de terrenos para cultivos (Ríos et al. 2005).

Existe una limitación en esta práctica, que es el número de veces que se puede reutilizar la misma cama. Esto no se recomienda hacerlo en el caso de que la parvada haya enfrentado un riesgo sanitario, debido a que, en este caso, la limpieza y desinfección es de índole obligatoria. Lo recomendable sería utilizar la cama una solo vez para minimizar la posibilidad de transmisión de patógenos (Paganini 2004).

El aumento en la carga microbiológica y dificultades por la alta concentración de amoníaco, son algunas de las desventajas de la reutilización de la cama, además, podemos encontrar otros problemas en menor medida, como lo son el apelmazamiento de la pollinaza y una mayor incidencia de patologías en los pollos de engorde. Otro inconveniente es que las camas reutilizadas, tienen altos niveles de amoníaco, en las cuales se pueden encontrar concentraciones mayores a 50 ppm en camas húmedas reutilizadas (Vejarano, 2005).

Según lo mencionado por Luyo (2014), la reutilización de la cama puede provocar una alta proliferación y transmisión de patógenos como lo son los virus de las enfermedades de Gumboro y anemia infecciosa. También, algunos agentes etiológicos de la influenza aviar, laringotraqueitis, bronquitis infecciosa, salmonelosis, además de hongos y parásitos como la *Eimeria sp.* Por esta razón se recomienda una limpieza profunda entre cada parvada y la recolección total de la cama (Vicente et al. 2007).

A pesar de lo mencionado anteriormente, Vieira y Moran (1999) encontraron que el alojamiento en cama reusada, causó una reducción en la ganancia inicial de peso en pollos de engorde, sin embargo, el peso corporal a la edad de sacrificio fue similar al de pollos criados en cama nueva, debido a la ganancia de peso compensatoria. Por otra parte, según Fiorentin (2006), la cama reutilizada no representa perjuicio alguno para las aves, las aves criadas en camas a partir del segundo lote, tienen una tendencia a ser más productivas, probablemente debido a un aumento de la inmunidad adquirida y estimulada de forma temprana desde el alojamiento.

Microbiología de la cama

La microflora de la cama, es extremadamente diversa debido al suministro continuo de nutrientes provenientes de la materia fecal durante el ciclo de cría y a la incorporación de hongos y bacterias derivadas del medio ambiente (Jorge et al. 1995). La simple acumulación de materia fecal en la cama, resulta en el aumento de microorganismos patógenos, además de intensificar la generación de gases nocivos para la salud de las aves (Watson et al. 2003).

Las acciones de estas poblaciones de microorganismos, tienen una marcada variabilidad, por lo tanto, bajo algunas circunstancias, puede haber un problema de salud en las aves y en otras ocasiones hay un beneficio obtenido por el efecto de exclusión por competitividad, con la resultante reducción de los títulos de las bacterias patógenas (Fiorentin 2005).

Según Torok et al. (2009), los estudios sobre las comunidades microbianas en las excretas de pollo, se han centrado en las variedades cultivables y en la detección de patógenos específicos tales como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* y *Clostridium perfringens*, así como en la presencia de marcadores de resistencia a antibióticos. La diversidad microbiana varía en función al tipo de sustrato de la cama y a la composición de las excretas debido a los parámetros físicos como la humedad de la cama, el pH y la temperatura ambiental (Paganini 2004).

Poco se sabe acerca de la influencia directa del material de la cama, sobre la microbiota intestinal de los pollos de engorde, a pesar de que se ha reportado que estos pueden llegar a consumir hasta un 4% del total de su ingesta, en material de la cama. Por otra parte, la composición de la cama y la microbiota intestinal se han relacionado con el rendimiento de la parvada (Torok et al. 2009).

Por otra parte, las excretas también pueden actuar como una fuente de transmisión de hongos patógenos y virus. Se ha reconocido en las excretas de ave una gran variedad de bacterias potencialmente patógenas, dentro de la pollinaza podemos mencionar: *Clostridium spp.*, *Salmonella entérica*, *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *Aeromona shydrophilia*, *Escherichia coli*, *Facklamia spp.*, *Bordetella spp.*, y *Enterococcus spp.* (López 2012).

Además, Corrier et al. (1992), observaron que los pollos criados en camas reutilizadas, tenían niveles más altos de ácidos grasos volátiles en el ciego intestinal, y una mayor resistencia a la colonización intestinal por *Salmonella*, en comparación con los pollitos criados en cama nueva.

Cabe mencionar, que la cama es un reservorio de *Salmonella*, cuyo origen pueden ser las mismas aves o incluso los vectores que permanecen en la instalación durante el período de vacío sanitario. Santos et al. (2005), demostraron que la población de *Salmonella* en la cama, está correlacionada positivamente con la población de estas bacterias en heces de aves, lo que demuestra que el muestreo de la cama es un buen indicador del estado microbiológico de las heces.

A continuación, se realizará una breve descripción de los principales agentes microbiológicos presentes en las camas utilizadas para la producción de pollos de engorde.

Enterobacterias

Las enterobacterias son un grupo grande y heterogéneo de bacterias gram negativas, cuyo nombre proviene de su ubicación dentro de tracto gastrointestinal, a pesar de que se trata de microorganismos que se pueden encontrar en casi cualquier parte. Forman parte del suelo, el agua y la vegetación, así como también los podemos encontrar como parte de la flora intestinal normal de los animales (Puerta y Mateos 2010).

En este grupo está conformado por bacterias, las cuales son anaerobios facultativos no formadores de esporas, las cuales poseen la capacidad de reducir los nitratos a nitritos y de fermentar la glucosa en ácido con producción de gas. Además, la temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre los 22 y 37 °C (Puerta y Mateos 2010).

Las enterobacterias incluyen bacterias patógenas que pueden causar daños en la salud de los pollos de engorde, como lo son la *Salmonella* sp. Cabe mencionar, que la *Escherichia coli*, es el microorganismo más común de esta familia (Famiglietti et al. 2005).

Coliformes

Los coliformes son microorganismos gram negativos, cuya especie con mayor presencia es la *Escherichia coli*, la cual, es una bacteria que puede llegar a representar hasta un 80% de las UFC/g en una muestra de coliformes. Esta posee la capacidad de fermentar carbohidratos y su temperatura óptima es de 37 °C (Giraldo 2015).

Dentro de este grupo, podemos encontrar los géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*. Según lo mencionado por Giraldo (2015), el grupo de bacterias conocidas como coliformes son un indicador de contaminación con heces fecales.

Hongos y levaduras

El grupo de las levaduras y los hongos microscópicos encontrados en las excretas de las aves, incluyen varios cientos de especies. La capacidad de estos organismos para atacar muchos sustratos, se debe en gran parte a que sus requisitos ambientales son muy versátiles (Castellanos et al. 2000).

Aunque la mayoría de las levaduras y mohos son aerobios obligados, es decir, requieren de oxígeno libre para su crecimiento; el rango de pH en el cual crecen es bastante amplio, abarcando desde pH 2, a pH por encima de 9. Además, el rango de temperatura en el que proliferan se encuentra entre los 10 a los 35 °C, existiendo algunas especies capaces de crecer por debajo o por encima de este rango. Los requisitos de humedad de los hongos son relativamente bajos. La mayoría de las especies pueden crecer a una actividad de agua (a_w) de 0,85 o menos, aunque, las levaduras, generalmente requiere una mayor actividad de agua (Castellanos et al. 2000).

Mesófilos aerobios

El término mesófilos, se utiliza para referirse a los microorganismos con capacidad de desarrollarse a temperaturas medias, en un rango de entre 30 a 37°C; y el término aerobios quiere decir que requieren de oxígeno para sobrevivir. Los mesófilos aerobios son capaces de reproducirse rápidamente siempre y cuando se den las condiciones de temperatura y oxigenación idóneas para estos microorganismos. Es importante mencionar que la pollinaza ofrece las condiciones para que esto suceda (Salgado 2002).

Factores que afectan la microbiología de la cama

Amoniaco

La emisión de olores, es otro problema de las camas reutilizadas. Estas, son en su mayoría nitrógeno amoniacal, el cual es un subproducto natural de la degradación microbiana del ácido úrico de las excretas. La conversión del nitrógeno

de las heces a amonio varía dependiendo de la temperatura, humedad, pH y la ventilación de la galera (López 2012).

La generación de amoníaco a partir de la pollinaza, es afectada por las propiedades físicas y la estructura de la cama. Estas variables, intervienen en la absorción de amoníaco y en las tasas de liberación de este, debido a que, dichos factores afectan a la actividad microbiológica que se lleva a cabo en la cama.

Una buena ventilación de la galera, ayuda a mantener estable la temperatura, la humedad y la concentración de amoníaco (Miles et al. 2011). Según Heredia (2013), los principales gases liberados por las excretas de los pollos de engorde son el amoníaco, el dióxido de carbono, el sulfuro de hidrógeno y el metano. Debido a esto, surge la importancia de una buena ventilación que permita extraer los gases emanados e introducir aire fresco a la galera. La calidad del material de la cama, afecta directamente al rendimiento, la salud, la calidad de la canal y el bienestar de las aves. Este debe ser seco y capaz de liberar la humedad absorbida (Atencio y Fernández 2007).

Un material de cama con una alta humedad, podría aumentar el riesgo de crecimiento microbiano patógeno. Por otra parte, se ha observado que, la acumulación de amoníaco producido por el metabolismo bacteriano de los desechos, afecta negativamente la conversión alimenticia. En las galeras, el aumento de la formación de polvo, es el resultado de los materiales de la cama que son demasiado secos, y hace a las aves de corral, más susceptible a las enfermedades respiratorias (Torok et al. 2009).

pH de la cama

El pH de la cama, es un indicador de las condiciones químicas y biológicas presentes en la pollinaza, el cual, puede ser cambiado y manipulado mediante el manejo que se le realice. Los valores del nivel de acidez en las camas oscilan entre un poco ácido (6,0) y alcalino (9,0), lo cual propicia la proliferación de microorganismos patógenos de importancia en la producción avícola (Fiorentin 2005).

El pH es un parámetro estrechamente relacionado con la actividad microbiana de la pollinaza. Los microorganismos, son los encargados de degradar la materia orgánica, y tienen una mayor afinidad a desarrollarse en condiciones de neutralidad, ante un rango de pH entre 6,0 y 7,5. Por otra parte, los hongos y las levaduras, prefieren las condiciones en un medio ácido, y tienen un rango de tolerancia mucho más amplio de pH (5,0-8,0), por lo que los valores de pH óptimos durante el proceso fermentativo varían de 5,5 a 8,0 (Dai Pra et al., 2010).

Al inicio del proceso de fermentación, la cama es ligeramente ácida, sin embargo, esta se empieza a alcalinizar progresivamente debido a la degradación del ácido úrico presente en gran cantidad en las heces de los pollos; estabilizando la cama y alcanzando un pH que puede variar entre 8 y 9 (Dai Pra et al., 2010).

Paralelo a la disminución del pH, también se reduce la concentración de microorganismos, mejorando las condiciones dentro de las galerías de los pollos de engorde. Esto ocurre debido a que, el amoníaco, solamente se volatiliza bajo niveles de pH alcalino (Tiquia y Tam 2000). Es importante mencionar que los niveles de pH ácidos, son beneficiosos para las aves, debido a que, reduce las concentraciones de amoníaco. A pesar de esto, es muy difícil mantener estos niveles, debido al constante aporte de ácido úrico por parte de las heces de las aves (Dai Prá et al. 2010).

El proceso de fermentación de la pollinaza, sufre una baja en el pH al inicio, como consecuencia de la formación de ácidos orgánicos durante la descomposición de sustancias orgánicas. Luego, el pH aumenta posteriormente por el amoníaco consecuencia de la degradación de compuestos nitrogenados (Petersen et al. 2003).

Reglamentación nacional

En Costa Rica, en el año 2000, el Ministerio de Agricultura y Ganadería, y el Ministerio de Ambiente y Energía, emitieron el Decreto Ejecutivo N° 29145, el cuál regula el manejo y control de gallinaza y pollinaza. En el cual, responsabiliza a los productores dueños de granjas y a las empresas avícolas, a aplicar un tratamiento antimicrobiano a la gallinaza o pollinaza producida en sus establecimientos. El cual,

puede ser aplicado en sus propias granjas o por algún otro procesador debidamente inscrito en el Ministerio de Salud.

El tratamiento aplicado, debe asegurar la eliminación de agentes patógenos y evitar el crecimiento de especies de moscas dañinas. El reglamento establece, que cuando la gallinaza o pollinaza se utilice en dietas de rumiantes u otros animales, en el ámbito de crianza animal o en instalaciones de cría de peces, crustáceos u otros, los tratamientos permitidos serán:

- Secado mediante proceso térmico el cual mantenga la gallinaza o pollinaza a una temperatura igual o superior a 60°C durante un mínimo de 15 minutos continuos, obteniendo una humedad final menor al 15%. Se podrá disminuir el tiempo de aplicación, mediante el aumento de la temperatura.
- Ensilaje con un pH final inferior a 4.7.
- Peletizado con una temperatura de proceso superior a 70°C.
- Extrusado.
- Tratamiento por elevación espontánea de la temperatura. Luego de que la gallinaza o pollinaza ha sido conglomerada, deberá humedecerse y cubrirse con plástico o lona, preferentemente de color negro, debiendo removerse periódicamente. El propósito será, que la temperatura ascienda en las excretas a 55°C mínimo durante 3 a 5 días continuos, dependiendo de las condiciones climáticas.
- Otros tratamientos físicos, químicos o biológicos aprobados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería y por el Ministerio de Salud.

Cuando la gallinaza o pollinaza se utilice como fertilizante, enmienda, mejorador de suelos o como parte del sustrato de cultivos agrícolas, los tratamientos que se permiten son los siguientes:

- Secado mediante proceso térmico, el cual mantenga la gallinaza o pollinaza a una temperatura igual o superior a 60°C, durante un mínimo de 15 minutos continuos. Se podrá disminuir el tiempo de aplicación mediante el aumento de la temperatura.
- Peletizado con una temperatura de proceso superior a 70°C.
- Extrusado.

- Compostaje aeróbico de la gallinaza, pollinaza o su mezcla con otros materiales, durante el cual, se alcancen temperaturas superiores a 55°C en forma continua por cinco días mínimo.
- Tratamiento con vapor de agua de la gallinaza, pollinaza o su mezcla con otros materiales, durante 6 minutos como mínimo, a una temperatura mínima continúa de 105°C.
- Tratamiento de elevación espontánea de la temperatura. Luego de que la gallinaza o pollinaza ha sido conglomerada, deberá humedecerse y cubrirse con plástico o lona, preferentemente de color negro, debiendo removerse periódicamente. El propósito será que la temperatura ascienda en las excretas a 55°C mínimo, durante 3 a 5 días continuos, dependiendo de las condiciones climáticas. Posteriormente se deberá agregar alguna sustancia o realizar procedimientos que eviten la proliferación de moscas.
- Otros tratamientos físicos, químicos o biológicos aprobados por el MAG y el Ministerio de Salud.

El reglamento se encuentra en proceso de revisión y modificación, y se espera que esta nueva versión sea aprobada durante este año 2019.

Termografía

La termografía, es una técnica basada en la conversión de la radiación infrarroja en imágenes visibles. Estas se pueden aplicar en varios campos de estudio, en donde se necesite evaluar la temperatura. Su utilización en el campo de la avicultura es muy amplia, ya que, es utilizada en análisis de estrés calórico en las aves, en el diagnóstico o detección temprana de enfermedades, y en la cuantificación de temperaturas de la superficie de la piel y plumas (Blas et al. 2012).

Este método de medición, también se aplica en la evaluación de la temperatura de las instalaciones avícolas, en las cuales, se analizan las fotografías del techo, paredes y la cama. De esta manera, es posible determinar cómo se distribuye el calor, a lo largo del sustrato o cama de la galera (Blas et al. 2012).

La radiación infrarroja, es aquella radiación electromagnética que oscila entre los 800 y 14000 nanómetros. Esta es captada por una cámara de infrarrojo, la cual,

está calibrada especialmente para visualizar los valores de temperatura en superficies e instalaciones. Estos avances tecnológicos, han conducido al incremento de la utilización de tecnología infrarroja como un instrumento en el diagnóstico de problemas, utilizando imágenes de temperaturas de la superficie de materiales relacionados con la avicultura (Gowen et al. 2010).

Una de las principales características que diferencia la valoración de la temperatura a través de imágenes termográficas, en comparación con otros métodos como, por ejemplo, la medición con el termómetro láser, es que, con la termografía, no se manipula el material de interés y además, se obtienen mediciones de una mayor superficie. En cambio, el termómetro láser, tiene el inconveniente de que este brinda información solo de un punto en específico (Nascimento 2011).

Escarabajo de la cama

El *Alphitobius diaperinus* o escarabajo de la cama como es conocido comúnmente, es una de las plagas más recurrentes en la industria avícola a nivel mundial. En los últimos años, la incidencia de este insecto ha sido más notoria. Su ciclo de vida consta de cuatro etapas: huevo, larva, pupa y adulto o escarabajo. Estos insectos pueden llegar a vivir entre 3-12 meses y las hembras pueden llegar a poner hasta 2.000 huevos (Arias 2012).

El riesgo que representan estos escarabajos a la industria avícola, se debe a su fácil adaptación al medio, por lo que es común encontrarlos en altas densidades en las camas, ya que se nutren por medio del alimento, heces y otros restos de materia orgánica.

El consumo de escarabajos por parte de las aves, puede llegar a producir lesiones en el tracto digestivo, esto debido a su duro exoesqueleto. Además, son vectores potenciales de bacterias, virus, protozoarios y parásitos. Dentro de los virus que se han encontrado en los escarabajos, destacan el Gumboro, enfermedad de Marek, leucosis aviar, enfermedad de Newcastle, rotavirus, viruela, influenza aviar y el reovirus (Arias 2012).

Por otra parte, también pueden causar daños estructurales a los galpones, debido a que, las larvas buscan sitios para pupar y mastican los materiales utilizados para aislamiento como la fibra de vidrio, los paneles de aislamiento de poliestireno en las paredes y cielorrasos de las granjas (Santo 2011).

Para su control se reporta el uso de insecticidas de efecto residual corto, como carbamatos y fosforados, que tengan efecto tanto en las larvas como en los adultos. Otra estrategia necesaria para el control de esta plaga, es el cambio de la cama después de que salen las aves y darle un tratamiento de lavado al galpón, para eliminar la mayor cantidad de larvas y huevos (Arias 2012).

OBJETIVOS

a. Generales:

1. Evaluar un tratamiento térmico como opción para la reducción de la carga microbiológica y contaminación ambiental de las camas reutilizadas de cascarilla de arroz en pollo de engorde.
2. Conocer el comportamiento productivo y ambiental de las camas recicladas de arena como alternativa para su uso en pollo de engorde.

b. Específicos:

1. Evaluar la forma de calentamiento y fermentación de la cama reciclada de cascarilla de arroz en pollo de engorde.
2. Evaluar el comportamiento productivo de las camas de arena en pollo de engorde como una alternativa para reducir las desventajas del uso de la cascarilla de arroz.
3. Recomendar un método de manejo sanitario adecuado de la cama reutilizada para procurar la salud de las aves, mejorar los rendimientos productivos y cumplir con la normativa nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedimiento general

La investigación se realizó en una granja comercial para engorde de pollos, ubicada en Alajuela; la granja cuenta con 12 galeras de tipo túnel, de las cuales 11 son utilizadas para la producción de pollo con una densidad de 19-22 aves por m² y 1 galera que es utilizada para fines de investigación, las galeras tienen una dimensión de 100m de largo por 11m de ancho. Las galeras tienen una capacidad de producción de 60 000 pollos aproximadamente y son de ambiente controlado tipo túnel. El ciclo productivo de cada parvada tuvo una duración de 45 días aproximadamente.

1. Calentamiento y fermentación de la cama de cascarilla de arroz reciclada

Con el fin de evaluar el efecto del tratamiento térmico o calentamiento espontáneo en camas recicladas de pollo de engorde se realizaron dos tratamientos:

Tratamiento 1. Calentamiento espontáneo o tratamiento control. Se realizó el procedimiento regular que se aplica en muchas granjas actualmente. Consistió en lavar el equipo encima de la cama y apilarla, sin tapar la pollinaza y acordonarla en un solo lomillo durante 5 días.

Tratamiento 2. Calentamiento espontáneo con cubierta de plástico. Consistió en lavar el equipo encima de la cama y acordonar la pollinaza en un solo lomillo en el centro de la galera, la pollinaza acordonada se cubrió con un plástico negro durante 5 días (figura 1).

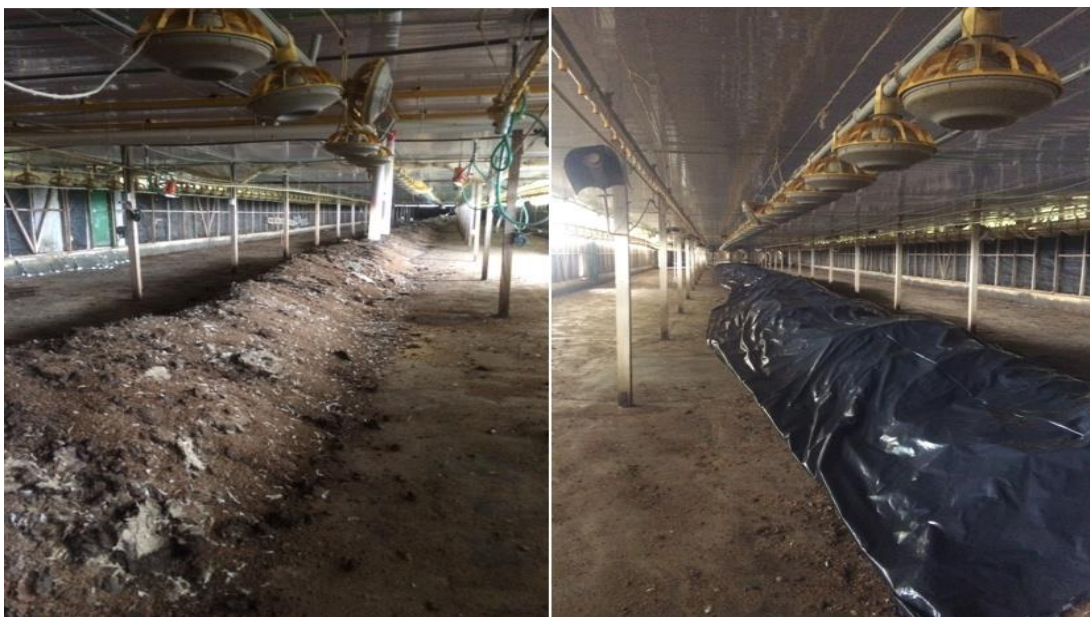


Figura 1. Tratamiento de calentamiento espontaneo sin cubrir (izquierda) y tratamiento de calentamiento espontáneo con utilización de plástico (derecha).

Para la prueba se utilizaron 10 galeras, en las cuales se aplicaron los dos tratamientos por 5 días seguidos, 5 galeras para cada tratamiento. La prueba tuvo una duración de 5 días en camas que ya habían tenido su primer uso del ciclo productivo. El día anterior a la aplicación del tratamiento, que correspondió al momento en que las galeras se encontraban sin aves, se tomaron 15 sub-muestras en diferentes puntos de cada galera con la cama extendida (Figura 2) antes de acordonar para la aplicación de los tratamientos con el objetivo de tener un grupo de muestras anteriores a la aplicación del tratamiento.

Se tomaron 100 gramos de pollinaza por sub-muestra, se colocaron en una bolsa plástica con cierre hermético para formar una muestra conjunta y luego se cuarteó, de acuerdo al método de cuarteo de suelos (Bertsch 1998). Para obtener una muestra final de 0,5 kg para realizar análisis microbiológicos en el laboratorio y otra muestra de 0,2 kg para conteo de abejas y larvas.

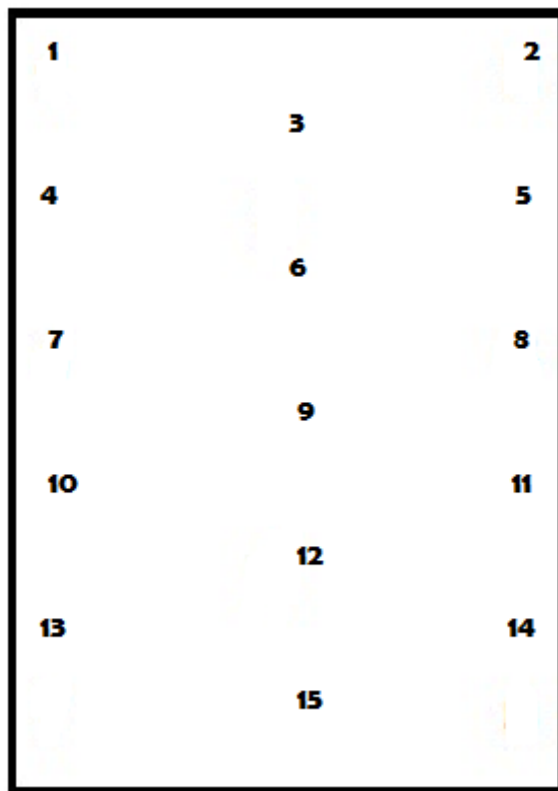


Figura 2. Puntos de toma de muestras en la galera con la cama extendida antes de la aplicación de los tratamientos.

Luego de tomar las muestras, la pollinaza se acordonó en un solo lomillo en la parte central de cada galera, con dimensiones aproximadas de 90 m de largo y un metro de alto, los tratamientos que recibieron las galeras se asignaron al azar.

En los siguientes 5 días del tratamiento se tomaron 15 sub-muestras diarias de cada lomillo por galera a una profundidad de 30 cm (Chen y Jiang 2014). Se colocaron en una bolsa plástica con cierre hermético para crear una muestra compuesta y luego se cuarteó, de acuerdo al método de cuarteo de suelos para obtener una muestra final de 500 g para cada una de las diez galeras.

Para la toma de muestras se utilizaron guantes estériles, y se utilizó una cuchara de jardinería limpia. Luego de utilizarla, la cuchara se lavó con jabón, se desinfectó con amonio cuaternario y se secó antes de volver a utilizarla para tomar la próxima sub-muestra. Se utilizó una cuchara diferente para cada galera o

tratamiento a analizar, además de un par de guantes estériles para no contaminar las muestras con las manos.

Las muestras del sustrato colectadas cada día, fueron ingresadas al laboratorio de la empresa, donde fueron analizadas de acuerdo a los protocolos establecidos para el recuento y aislamiento de mesófilos aerobios, enterobacterias, coliformes totales, *E. coli*, *Salmonella* y hongos y levaduras. Se utilizaron los métodos de la FDA (2001) para la determinación de hongos, levaduras, coliformes, *E. coli* y mesófilos aerobios. Además, se utilizaron los métodos de la AOAC 991.14. y 2003.01. para recuento de coliformes y enterobacterias respectivamente. También se utilizó el método del ISO 6579-1 para la detección de la presencia de *Salmonella*.

2. Comportamiento productivo de las camas de arena

Para el análisis de las camas de arena se evaluaron tres granjas utilizadas en la producción comercial de pollo de engorde. Las tres granjas pertenecen a la misma empresa y se encuentran situadas en distintas zonas en las provincias de Heredia y Alajuela. En total se utilizaron seis galeras abiertas, dos en cada granja y con una densidad de 14 pollos por m².

Los datos obtenidos correspondieron a ocho parvadas consecutivas por cada galera, tomados en un período de tiempo entre los años 2015 y 2017. El ciclo productivo de cada parvada tuvo una duración de 45 días aproximadamente.

Para evaluar las galeras, se tomaron los datos productivos de los pollos durante 8 ciclos consecutivos, y se realizó el análisis estadístico de los datos de las diferentes parvadas por galera y por granja. Además, se compararon los rendimientos productivos de los pollos criados en camas de arena y los rendimientos productivos de pollos criados en galeras con cascarilla de arroz de la misma granja. Las parvadas se criaron simultáneamente en las galeras de arena y cascarilla. Se evaluó el comportamiento de los rendimientos de las parvadas a lo largo del tiempo. Con el propósito de analizar el comportamiento productivo de las camas de arena se evaluaron los siguientes parámetros: peso corporal, conversión alimenticia, ganancia de peso.

Se tomaron datos del control de la mortalidad de las galeras, actividad que se realiza regularmente en la granja, durante el período que se utilizó la arena. Los animales muertos fueron contabilizados diariamente con el objetivo de observar si existió efecto en el porcentaje de animales muertos por la reutilización de la cama de arena.

Variables a evaluar

Las variables dependientes a analizar se dividieron en tres grupos: variables productivas, variables microbiológicas, condiciones ambientales y de la cama.

Variables microbiológicas:

A cada muestra se le realizó conteo de hongos y levaduras (UFC/g), enterobacterias totales (UFC/g), mesófilos totales (UFC/g), Coliformes totales (UFC/g), *Salmonella* sp. (Presencia o ausencia) y *E. Coli*. (UFC/g).

Variables de la cama y del ambiente:

pH de la cama:

Para la medición de pH de la cama se utilizó una solución de pollinaza en agua desionizada de cada una de las muestras de la cama y se midió el pH de cada muestra con el uso de un pHmetro modelo ECOTESTR™ PH2+ de la marca Oakton.

Temperatura:

La temperatura de la cama se midió en 5 puntos diferentes del lomillo o montículo, una vez al día, durante todos días del tratamiento con un termómetro de espiga.

Conteo de abejones:

Se contaron la cantidad de larvas y adultos de *Alphitobius diaperinus* por cada 100 gramos de cama por cada galera para evaluar si el tratamiento tuvo efecto sobre la cantidad de abejones.

Amoníaco:

La concentración de amoníaco en ppm se midió diariamente en cada galera de cada tratamiento de la prueba de calentamiento espontáneo en 3 puntos de cada lomillo de acuerdo a lo recomendado por Miles et al (2011). Para medir el nivel de amoníaco se utilizó un medidor de Hydrion Ammonia de Micro Essential Laboratory, mediante el cual se determinó por colorimetría la presencia en partes por millón (ppm) de amoníaco con un rango de 0-100 ppm. Se utilizó una tira de papel que se humedeció en agua desionizada y se expuso 15 segundos en contacto con el aire a una distancia de 20 cm, luego se comparó el color con el patrón del medidor.

Termografía:

Con la ayuda de una cámara termográfica o cámara infrarroja se tomaron fotografías termográficas para evaluar la uniformidad de la temperatura para cada tratamiento. Se tomaron fotografías en el mismo punto en todos los lomillos de cada galera durante todos los días que tardó la prueba de acuerdo a lo recomendado por (Blas et al (2012).

Durante la aplicación de la prueba se tuvieron problemas con la cámara termográfica y no fue posible la toma de imágenes para el primer día de tratamiento, por esta razón solo se tomaron fotografías a partir del segundo día.

Variables productivas:

En la prueba de la cama de arena se evaluaron los rendimientos productivos acumulados al final de cada ciclo productivo, de 8 ciclos productivos o parvadas por cada galera, en 3 granjas diferentes. Los parámetros analizados fueron peso corporal, ganancia de peso y conversión alimenticia con el propósito conocer el efecto del tipo de cama y de la reutilización de la misma sobre el rendimiento productivo de los pollos de engorde.

Unidad Experimental

La unidad experimental fue cada una de las galeras utilizadas en los dos tratamientos, en cada una de las dos pruebas.

Descripción del análisis estadístico

1. Prueba de calentamiento espontáneo

Los resultados microbiológicos fueron transformados en base 10 logarítmica ya que son multiplicativos. Esta transformación cambia el efecto multiplicativo en aditivo, cumpliendo así con la suposición de aditividad y ayudando a obtener una homogeneidad en el análisis de varianza.

El diseño utilizado fue Irrestricto al Azar. Los datos se analizaron utilizando el programa Infostat, de acuerdo al siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + L_i + T_i + e_{ij}$$

Donde:

y_{ij} = Variable de respuesta (Presencia o ausencia de Salmonella, conteo de enterobacterias, conteo de colonias de hongos, conteo de mesófilos, conteo de E. Coli, pH, larvas de abeja, abejas, amoníaco y temperatura)

μ = Media general.

L_i = Nivel del factor L (tratamiento) $i=1$ (calentamiento sin cubrir), 2 (calentamiento con cubierta de plástico)

T_i = Tiempo de tratamiento.

E_{ij} = Error experimental.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el modelo de análisis de varianza no paramétrica de Kruskal Wallis para la comparación de medias entre tratamientos se realizó la prueba de Tukey, ambas con una significancia $\alpha=0,05$. Para el análisis de

las muestras de *Salmonella sp.* Se usó la prueba de hipótesis de marginales ya que los datos son binarios.

2. Prueba de cama de arena

En la prueba de las camas de arena los rendimientos productivos se analizaron mediante estadística descriptiva y la prueba de Kruskal Wallis. Además, se realizaron correlaciones.

Se realizó un análisis longitudinal de los datos utilizando el programa Infostat, de acuerdo a los siguientes modelos:

$$y_{ij} = \mu + C_i + L_i + G_i + e_{ij}$$

Donde:

y_{ij} = Variable de respuesta (Conversión alimenticia, ganancia de peso, mortalidad, peso corporal)

μ = Media general.

C_i = Número de parvadas (8)

L_i = Nivel del factor L (tratamiento) $i=1$ (Arena), 2 (Cascarilla)

G_i = Granjas (3)

e_{ij} = Error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Prueba de calentamiento espontáneo

Temperatura

Durante el proceso de fermentación se produce una multiplicación de los microorganismos presentes en la cama y se genera un aumento en la temperatura como producto de los procesos metabólicos de los microorganismos presentes en la pollinaza, lo que significa que entre mayor actividad microbiana mayor será el aumento de temperatura en la pollinaza tratada (Gómez 2006; Salgado 2002).

Este fenómeno se pudo observar luego de la aplicación de ambos tratamientos. En la Figura 3 se muestra que las temperaturas superaron los 51,3°C después de 24 horas de inicio del calentamiento y se mantuvieron temperaturas superiores a 51°C durante el resto del tratamiento. Sin embargo; solo en el tratamiento donde se utilizó plástico se alcanzaron temperaturas de 55°C durante los días 3 y 4 de tratamiento.

Para la temperatura, el valor de p para los tratamientos fue de 0,0014, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre ambos tratamientos durante todos los días de tratamiento. Las temperaturas más altas se alcanzaron en el tratamiento con plástico a los días 1,3,4, y 5 de tratamiento, La utilización de plástico ayudó a que la temperatura se mantuviera más alta, ya que el material no permite que el calor se escape, de esta manera el proceso fermentativo se produce de manera más estable y el material logra retener la temperatura de forma más eficiente (Gómez 2006). Si el proceso fermentativo se logró llevar a cabo correctamente las temperaturas deberían alcanzar los 55°C (MAG-S-MINAE 2001), lo que es suficiente para inhibir el crecimiento de muchos microorganismos patógenos (Santiago et al. 2007, Ríos et al. 2005). Sin embargo;

solo el día 3 de tratamiento con el plástico se observaron temperaturas promedio mayores a 55 °C (cuadro 1).

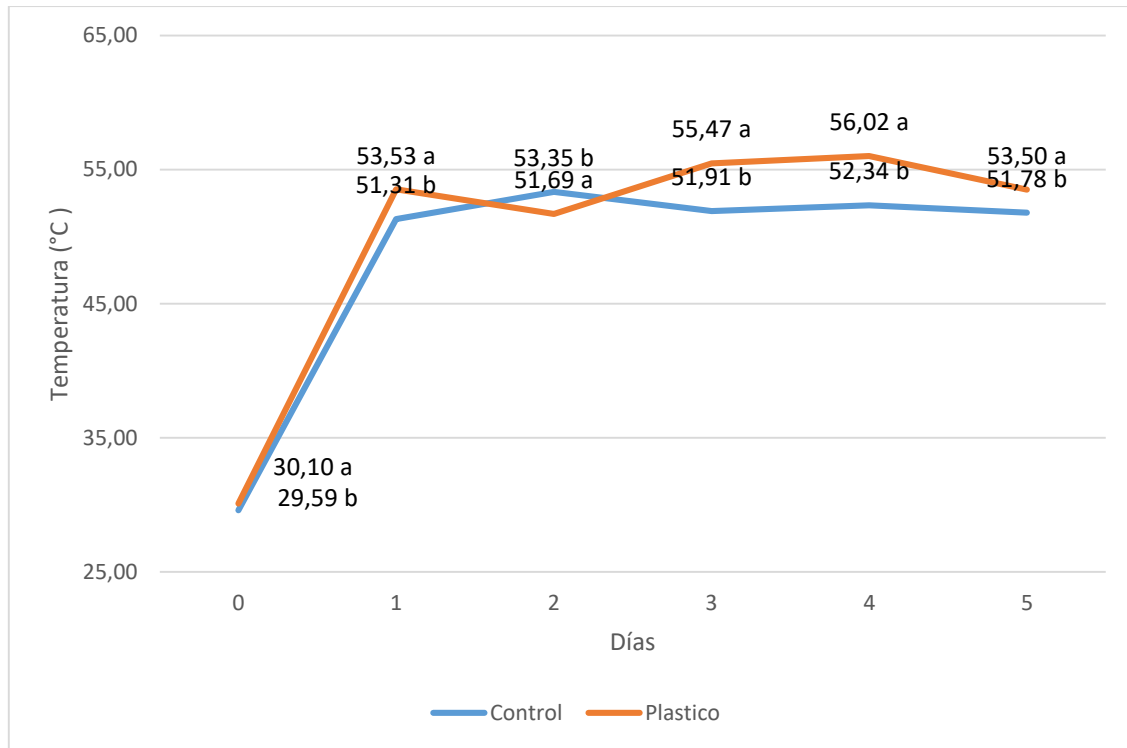


Figura 3. Promedio de temperaturas (°C) obtenidas durante los días de la prueba según tratamiento aplicado.

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

También fue posible observar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la temperatura de la pollinaza antes de aplicar los tratamientos con respecto a las temperaturas del resto de días de tratamiento (Cuadro 1). Se logra apreciar el aumento que tuvo la temperatura durante las primeras 24 horas de haber aplicado el tratamiento. Sin embargo; después de que empezó el proceso de calentamiento las temperaturas no variaron mucho y se mantuvieron más estables debido probablemente a factores ambientales como la humedad de la pollinaza.

Aunque en la prueba no se midió y ni se evaluó el nivel de humedad, es importante mencionar que el aumento en la humedad de la pollinaza contribuye a elevar las temperaturas, y que al agregar más agua en la pollinaza se podría contribuir a alcanzar temperaturas superiores a 55°C, ya que un aumento en la humedad propicia una mayor actividad microbiana y por consiguiente una mayor elevación en la temperatura (Castillo 2001).

Silva (2013) menciona que la temperatura es uno de los métodos más efectivos para la eliminación de microorganismos patógenos y para una efectiva inactivación de los organismos patógenos se debe tomar en cuenta tanto la temperatura como el tiempo de exposición. Un tiempo de exposición prolongado vuelve más eficiente el efecto de la temperatura, además Alexandre et al. (2006) mencionan que la temperatura influye en la supervivencia de los microorganismos patógenos durante la fermentación, ya que la temperatura óptima para su supervivencia varía entre 20 y 30°C y durante el experimento siempre superaron los 51,5°C. A pesar de que se obtuvieron temperaturas capaces de eliminar microorganismos las temperaturas no alcanzaron lo descrito en el reglamento del (MAG-S-MINAE 2001) por lo que se recomienda revisar y actualizar el fundamento científico del reglamento.

Cuadro 1. Promedio de temperaturas (°C) obtenidas durante la prueba según el tiempo de tratamiento.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
Control	29,59 ^a	51,31 ^b	53,35 ^b	51,91 ^b	52,34 ^b	51,78 ^b
Plástico	30,10 ^x	53,53 ^y	51,69 ^y	55,47 ^y	56,02 ^y	53,50 ^y

Las letras diferentes indican diferencias significativas en las columnas que representan el tiempo de tratamiento.

Amoníaco y pH de la cama

Al analizar las concentraciones de amoníaco obtenidas en la pollinaza, se encontró que no existen diferencias significativas entre los dos tratamientos utilizados ($p>0,05$), en el tiempo de tratamiento si se observaron diferencias significativas. El tercer día de tratamiento presento diferencias significativas con respecto al 0, 1 y 2, pero no fue diferente a los días 4 y 5 en ambos tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedio de concentraciones de amoníaco (ppm) obtenidas durante la prueba según el tiempo de tratamiento.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
Control	24 ^a	34 ^a	30 ^a	64 ^b	56 ^{ab}	48 ^{ab}
Plástico	30 ^a	24 ^a	36 ^a	70 ^b	44 ^{ab}	58 ^{ab}

Las letras diferentes indican diferencias significativas en las columnas.

El pH no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos ($p>0,05$), mientras que, en el tiempo de duración de los tratamientos, si se presentaron diferencias significativas ($p<0,05$). Sin embargo; no se observó una tendencia clara, ya que tres de los cinco días de tratamiento no presentaron diferencias entre sí, a excepción del tercer y quinto día que no presentaron diferencias con respecto a los valores de pH antes de aplicar el tratamiento (Cuadro 3).

Aunque no se presentaron resultados significativos en las concentraciones de amoníaco entre tratamientos. En el tratamiento que utiliza plástico el amoníaco se volatiliza más, pero se mantiene retenido por el plástico. Por lo tanto, el compostaje de pollinaza en hileras con un plástico, conduciría a concentraciones más altas de amoníaco dentro de la polliza al no poder escapar, en comparación con el método habitual de compostaje sin cobertura (Martins et al. 2013).

Cuadro 3. Promedio de pH obtenido durante la prueba según el tiempo de tratamiento utilizado.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
Control	8,3 ^a	7,7 ^b	7,8 ^b	8,0 ^a	7,9 ^a	7,9 ^a
Plástico	8,0 ^a	7,5 ^b	7,5 ^b	8,0 ^a	7,7 ^b	8,0 ^a

Las letras diferentes indican diferencias significativas en las columnas que representan al tiempo de aplicación del tratamiento.

En el caso del pH, el valor de p para los tratamientos fue de 0,1071, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue de 0,0065, mientras que en el caso del amoníaco el valor de p para los tratamientos fue de 0,5966 y el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue de 0,0110.

El pH inicial se debe a la degradación de ácido úrico en amoníaco, luego de aplicados los tratamientos, los microorganismos empiezan a degradar los compuestos de la pollinaza en ácido orgánicos, lo que propicia una leve disminución el pH; posteriormente se vuelve a degradar los compuestos nitrogenados y aumenta la concentración de amoníaco aumentando el pH (Petersen et al. 2003), como se evidencia en el Cuadro 3.

El pH de la pollinaza está relacionado con los niveles de amoníaco, ya que las condiciones de pH cumplen una función de importancia en la volatilización del amoníaco, debido a que a pH alcalino aumenta la formación de amoníaco por el aumento de actividad de la enzima uricasa, que es la encargada de descomponer el ácido úrico, mientras que a pH neutro o ácido la enzima no tiene actividad y el nivel de amoníaco disminuye (Merchán y Quesada 2013).

En el Cuadro 3 se observan pH alcalinos que promueven la formación de amoníaco en ambos tratamientos. Carlile (1985), menciona que la uricasa requiere de la presencia de oxígeno para realizar su proceso, lo que podría explicar porque

el pH es más alcalino en el tratamiento que no utilizó plástico a pesar de que no se observaron diferencias significativas.

El pH también es un parámetro vinculado con la actividad de los microorganismos presentes en la pollinaza, ellos son los encargados de descomponer la materia orgánica y tienen actividad a diferentes niveles de pH, las bacterias tienen preferencia por condiciones de neutralidad y los hongos y levaduras prefieren las condiciones intermedias que varían de 5,5 a 8,0 en los valores de pH durante el proceso fermentativo (Petersen et al. 2003 y Pizarro (2006), condiciones como las observadas en el Cuadro 3.

Según Thaxton et al. (2013), el pH está muy relacionado el contenido de las excretas de las aves, ya que, si hay exceso de excretas, aumenta la degradación de compuestos nitrogenados y se eleva la formación de gas amoníaco, y al aumentar el amoníaco el pH también aumenta.

El Cuadro 2 muestra como aumentaron las concentraciones de amoníaco como consecuencia del aumento de tiempo de exposición a los tratamientos, y a partir del cuarto día se disminuyó en el tratamiento control la concentración de amoníaco progresivamente. Bujoczek et al. (2000) mencionan que las altas concentraciones de amoníaco durante la aplicación de los tratamientos evidencian una alta actividad de los microorganismos y una eficiente degradación de los compuestos nitrogenados dentro de la cama, pero los niveles de amoníaco también regulan la concentración microbiana y a que muchos microorganismos no pueden sobrevivir en concentraciones de amoníaco superiores a 50 ppm.

Mesófilos aerobios

Los análisis microbiológicos realizados no revelaron ninguna diferencia significativa entre los dos tratamientos ($p > 0,05$), tampoco se encontraron diferencias en la concentración de UFC/g con respecto al tiempo de duración del tratamiento.

De acuerdo al Cuadro 4 los valores de mesófilos aerobios observados se encuentran dentro de lo esperado. Thaxton et al. (2013), reportan una concentración de 10^8 UFC/g, normal en cama utilizada para la producción de pollo de engorde, y

mencionan que estas cantidades no causan daños en la salud de las aves. Los valores observados no superan 10^7 UFC/g por lo que no es un dato que se pueda asociar dentro del rango de una concentración peligrosa para la salud de los animales.

Cuadro 4. Promedio de las UFC/g de mesófilos aerobios por día según el tipo de tratamiento.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
Control	$3,7 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$5,1 \times 10^7$
Plástico	$3,5 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$

Para los mesófilos aerobios, el valor de p para los tratamientos fue de 0,4503, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue de 0,4087.

Los conteos de mesófilos aerobios presentan una disminución paulatina a lo largo del tratamiento. En los dos últimos días, el tratamiento control presenta un aumento, lo que podría significar que en los montículos con plástico las condiciones de aireación propician una menor proliferación de este tipo de microorganismos, disminuyendo el riesgo de patogenicidad. Sin embargo; no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Hongos y levaduras

Varias especies de hongos y levaduras forman parte importante de la microflora en la cama utilizada para la cría de pollos de engorde, estos organismos están relacionados con efectos nocivos en la salud de las aves, ya que contribuyen con de la descomposición del ácido úrico y la volatilización del amoníaco, además de la producción de micotoxinas y productos químicos con consecuencias adversas para la integridad corporal de los pollos (Khosravinia et al. 2009).

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0,05$), tal y como se puede observar en el Cuadro 5. Sin embargo; es evidente que ambos tratamientos contribuyeron en la disminución de hongos y levaduras a lo largo de los días. La concentración UFC/g es significativamente mayor ($p<0,05$) en la pollinaza al día 0 de tratamiento con respecto al resto de los días, ya que se observó una disminución en la concentración de hongos y levaduras desde el primer día de aplicación de los tratamientos. El segundo y tercer día de tratamiento no presentaron diferencias con respecto a la pollinaza del día antes de la aplicación de los tratamientos y al primer día de tratamiento. El cuarto y quinto día de tratamiento presentaron una baja evidente en el conteo de UFC/g con respecto a todos los demás días.

Cuadro 5. Promedio de UFC/g de hongos y levaduras de acuerdo al tiempo de tratamiento.

Tratamiento	Días					
	0	1	2	3	4	5
Control	$1,4 \times 10^4$ ^a	$3,8 \times 10^3$ ^b	$8,0 \times 10^3$ ^{ab}	$3,2 \times 10^3$ ^{ab}	$1,2 \times 10^2$ ^c	$5,2 \times 10^1$ ^c
Plástico	$1,8 \times 10^4$ ^a	$4,8 \times 10^3$ ^b	$5,8 \times 10^3$ ^{ab}	$5,3 \times 10^3$ ^{ab}	$3,1 \times 10^2$ ^c	$1,1 \times 10^1$ ^c

Las letras diferentes indican diferencias significativas en las columnas.

Para los hongos y levaduras, el valor de p para los tratamientos fue de 0,7886, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001.

Según Thaxton et al. (2013) una concentración de 10^3 de UFC/g de hongos y levaduras es esperado para una pollinaza en la que se ha alojado pollo de engorde. Borbolla (2004) menciona que un límite máximo recomendable de UFC/g de hongos y levaduras es de $5,0 \times 10^2$ en la pollinaza. En ambos tratamientos se observó valores menores a $5,0 \times 10^2$.

Se logró apreciar que la concentración de hongos y bacterias se vio reducida paulatinamente conforme aumentaba el tiempo de tratamiento, según lo mencionado por Castellanos et al. (2000) y Salgado (2002). Esto se podría deber a las condiciones ambientales poco favorables para los hongos y levaduras, ya que requieren temperaturas de 15 a 30°C y condiciones de oxigenación. La mayoría de los hongos y levaduras son aerobios y la mayor parte prefieren condiciones de pH neutros o ligeramente ácidos, lo que no propicia las condiciones para la fermentación.

En la Cuadro 5 se puede observar la caída de las UFC/g de los hongos y levaduras durante las primeras 24 horas de tratamiento y su disminución paulatina durante los siguientes días de tratamiento, esto concuerda con lo mencionado por Borbolla (2004) que indica que los hongos y levaduras necesitan de condiciones ambientales específicas que se ven afectadas por el tiempo de exposición a condiciones adversas.

Enterobacterias

No se encontró ninguna diferencia significativa entre los tratamientos con respecto a la concentración de enterobacterias en las muestras de pollinaza ($p > 0,05$), pero si se observó diferencias entre las concentraciones de enterobacterias con respecto a la duración del tratamiento. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la pollinaza que se sometió a los tratamientos con respecto a las muestras tomadas antes de aplicar los tratamientos. Las concentraciones de enterobacterias en los primeros tres días de tratamiento presentaron diferencias significativas con respecto a los días 4 y 5 de tratamiento.

Cuadro 6. Promedio de UFC/g de enterobacterias por día según el tiempo de tratamiento.

Tratamiento	Día					
	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Control	1,0x10 ⁵ a	1,0x10 ³ b	1,0 x10 ³ b	1,0 x10 ³ b	1,0 x10 ¹ c	1,0 x10 ¹ c
Plástico	8,6 x10 ⁴ a	1,0x10 ³ b	1,0 x10 ³ b	1,0 x10 ³ b	1,0 x10 ¹ c	1,0 x10 ¹ c

Las letras diferentes indican diferencias significativas en las columnas.

En el caso de las enterobacterias, el valor de p para los tratamientos fue de 0,9356, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001.

Según lo mencionado por Merchán y Quesada (2013), la temperatura óptima para el crecimiento de las enterobacterias oscila en un rango entre 22 °C y 37 °C. Antes de aplicar los tratamientos, la pollinaza presentó las condiciones óptimas para el desarrollo de enterobacterias (Figura 2); luego de aplicado el tratamiento se evidenció una disminución en la concentración de UFC/g conforme aumento el tiempo de exposición a los tratamientos (Cuadro 6) y al aumento de temperatura de la pollinaza.

En lo mencionado por Silva (2013) en su investigación, un conteo de UFC/g de enterobacterias de 10⁸ representan un gran desafío sanitario para los pollos de engorde, los resultados muestran concentraciones de enterobacterias menores a 10⁸ y una reducción significativa en los UFC/g de enterobacterias en ambos tratamientos por efecto del tiempo de tratamiento. Veinticuatro horas después del inicio de los tratamientos se observó una disminución de menos de 10³ UFC/g. Los tratamientos si fueron efectivos en reducir la concentración microbiana, aunque no alcanzaran la temperatura que solicita el reglamento oficial, lo que significa que no es necesario alcanzar una temperatura de 55°C para reducir la carga de enterobacterias en la pollinaza, por lo que ambos tratamientos se pueden considerar efectivos en la disminución de enterobacterias.

Coliformes totales

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la cantidad de UFC/g de coliformes totales de los dos tratamientos utilizados, pero si se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la duración de los tratamientos; No se encontró diferencia significativa ($p > 0,05$) en la concentración de UFC/g durante el primer día de aplicación de los tratamientos con respecto al día 0. Se encontraron diferencias ($p < 0,05$) entre el conteo de UFC/g de los días dos y tres con respecto a las concentraciones de coliformes, el día 0 también fue significativa la diferencia en la concentración de coliformes totales, con tendencia a disminuir, durante el cuarto y quinto día de tratamiento.

Cuadro 7. Promedio de UFC/g de coliformes totales por día según el tiempo de tratamiento.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
Control	$3,7 \times 10^5$ ^a	$3,4 \times 10^4$ ^{ab}	$1,0 \times 10^3$ ^b	$1,0 \times 10^3$ ^b	$1,0 \times 10^1$ ^c	$1,0 \times 10^1$ ^c
Plástico	$3,1 \times 10^5$ ^a	$5,9 \times 10^4$ ^{ab}	$1,1 \times 10^4$ ^b	$1,3 \times 10^3$ ^b	$1,0 \times 10^1$ ^c	$1,0 \times 10^1$ ^c

Las letras diferentes indican diferencias entre columnas.

En el caso de los coliformes totales, el valor de p para los tratamientos fue de 0,8791, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001.

En el Cuadro 7 se evidencia como los coliformes van disminuyendo conforme aumenta el tiempo de exposición a los tratamientos, al cuarto día se observa el valor mínimo de coliformes que detecta la prueba utilizada, lo que demuestra que estos microorganismos disminuyeron significativamente. Según Vizzier et al. (2003) esta disminución es un comportamiento normal en poblaciones de coliformes que habitan en pollinaza tratada por amontonamiento.

Escherichia coli

Los resultados de los análisis de las muestras de *E. Coli* no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$), sin embargo; si se observaron diferencias significativas con respecto a la duración de la aplicación de los tratamientos. Las concentraciones de *E. Coli* para el día 0 presentaron diferencias significativas ($p<0,05$) con respecto a todos los días de tratamiento. Los días 1, 2 y 3 de tratamiento presentaron diferencias significativas ($p<0,05$) con respecto a los días 4 y 5 de tratamiento, estos últimos dos días de tratamiento presentaron una evidente caída en las concentraciones de UFC/g de *E. Coli*.

Las primeras muestras tomadas antes de aplicar los tratamientos no sobrepasaron las 10^5 UFC/g de *E. Coli*. Las poblaciones de *Escherichia coli* en la cama reutilizada para pollos pueden alcanzar concentraciones promedio de hasta $9,7 \times 10^4$ UFC/g, mientras que la concentración en camas de un solo uso oscila entre los $4,2 \times 10^5$ CFU/g (Chen y Jiang 2014). Los valores obtenidos se encuentran en los rangos esperados, después de aplicados los tratamientos, la concentración desciende por debajo de los niveles que resultan peligrosos para las aves ya que alcanzan los niveles mínimos detectables para la prueba de laboratorio.

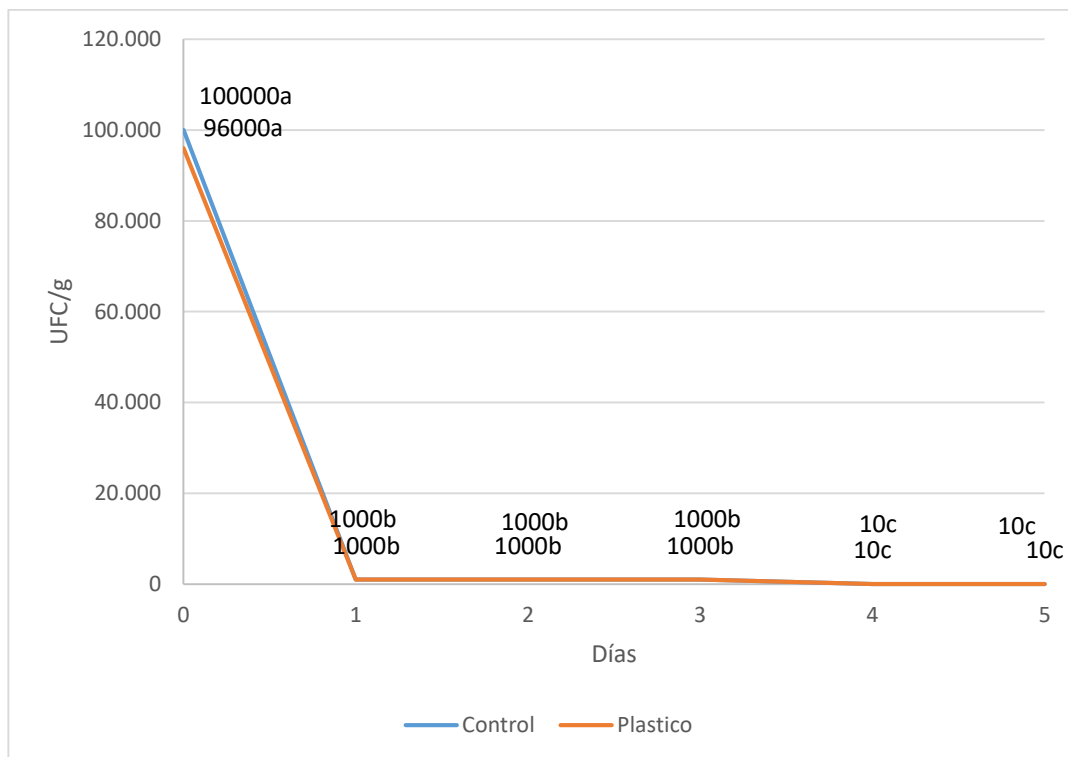


Figura 4. Promedio de UFC/g de *E. Coli* por día según el tratamiento.

Letras diferentes indican diferencias en los días de tratamiento.

Para la *E. Coli*, el valor de p para los tratamientos fue mayor a 0,9999, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001.

En la Figura 4 se puede observar el efecto de los tratamientos sobre la *E. Coli*, veinticuatro horas después de aplicados los tratamientos, las concentraciones de *E. Coli* disminuyeron hasta rangos reportados como aceptables por (Chen y Jiang 2014) y a mínimos detectables para las pruebas de laboratorio, por lo que se puede considerar que ambos tratamientos fueron efectivos en la disminución de *E. Coli* en la pollinaza.

Salmonella

Los resultados antes de aplicar los tratamientos mostraron resultados positivos a la presencia de *Salmonella sp*, mientras que después de aplicados los

tratamientos se evidenció una disminución en la cantidad de muestras positivas, dos muestras positivas en el segundo día del tratamiento en que se utilizó el plástico y una muestra positiva en el tercer día del tratamiento control (Cuadro 8). Se observó la disminución estadísticamente significativa en los resultados positivos a la presencia de *Salmonella sp.* Al aplicar los tratamientos ($p < 0,05$), sin embargo, no se encontró diferencias significativas entre los dos tratamientos aplicados, debido principalmente al tamaño de muestra.

Cuadro 8. Presencia de *Salmonella sp.* Por día según el tratamiento utilizado.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
Plástico	5	0	2	0	0	0
Control	5	0	0	1	0	0

El aumento de temperatura de la pollinaza mostró efecto en la eliminación de microorganismos, ya que según lo mencionado por Macklin et al. (2008), la eliminación bacteriana es más efectiva cuando la temperatura del tratamiento excede los 55 °C, mientras que aún eran detectables en las muestras que no habían sido sometidas a tratamiento. Se ha demostrado que el calentamiento de la cama tiene un efecto inhibitor sobre el desarrollo de *Salmonella* (Roll et al. 2011).

Kim et al. (2011) afirman que la disminución en la concentración de *Salmonella* en muestras sometidas a tratamiento con respecto con aquellas que no lo han sido, es completamente normal debido a que esta bacteria es sensible a los aumentos de temperatura superiores a 65°C en lapsos superiores a 30 minutos, tal como se observó en la prueba. La aparición de muestras positivas postratamiento se puede deber a la supervivencia de las bacterias que se mantuvieron aisladas de las condiciones del resto de la pollinaza, debido a que el aumento de la temperatura no fue homogéneo, sin embargo; al día 5 de tratamiento ninguna muestra resultó positiva.

Escarabajos de la cama

Según lo mencionado por Watson et al. (2003), los abejones presentes en los galpones de pollos de engorde como el *Alphitobius diaperinus*, representan un riesgo sanitario ya que actúan como vector de numerosos organismos patógenos en las aves de engorde. La *Salmonella* y algunos otros microorganismos también se asocian a vectores para poder sobrevivir en la cama, según lo mencionado por Silva (2013) la utilización de la fermentación tanto por amontonamiento como por fermentación plana han reportado muy buenos resultados en la eliminación del abejón de la cama.

Para el abejón de la cama, el valor de p para los tratamientos fue de 0,0448, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001 y para las larvas el valor de p para los tratamientos fue de 0,2386, mientras que el valor de p para la duración de la aplicación de tratamientos fue menor a 0,0001.

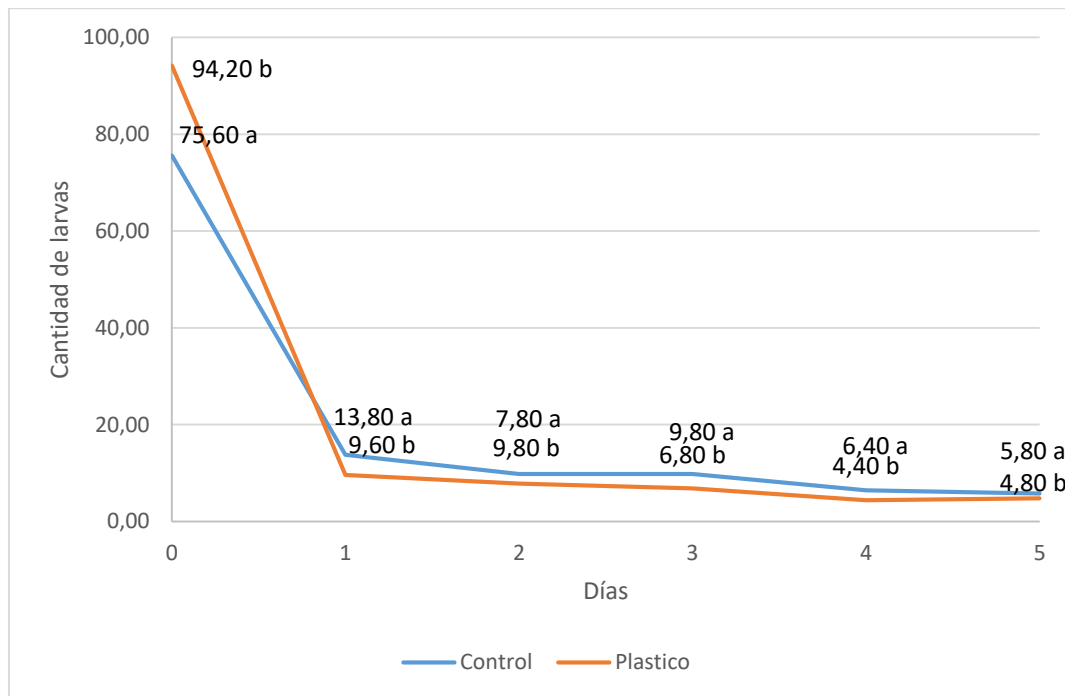


Figura 5. Promedio de larvas de *Alphitobius diaperinus* encontrados en 200g de muestra por día según el tratamiento aplicado.

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), en el tratamiento en el que se utilizó el plástico, se presentó un menor conteo de larvas de abejón de la cama. Las larvas tienden a escapar de la pollinaza con plástico, ya que se ven mucho más afectadas por las condiciones del tratamiento (Santo 2011), debido a que tiende a acumular más amoníaco, por lo que es más probable encontrar menor cantidad de abejones. Además, todas las larvas observadas se encontraban muertas. Además, es evidente que al aplicar los 2 tratamientos disminuyó la presencia de larvas tal y como se puede observar en la Figura 5.

En el tratamiento sin plástico se encontraron más larvas en la pollinaza y en la parte exterior de montículo se pudieron encontrar larvas que aún estaban vivas. Las larvas que se encontraron en la parte más profunda estaban muertas, lo que quiere decir que en el tratamiento con plástico se presenta más mortalidad; según (Arias 2012) las larvas se ven afectadas por las emanaciones de amoníaco y el aumento en la temperatura del sustrato, además, se les dificulta más escapar.

Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los días de tratamiento, a partir del primer día de tratamiento se evidenció una reducción significativa en el número de larvas, los primeros 3 días de tratamiento no presentaron diferencias entre ellos, pero los días 4 y 5 si evidenciaron una menor cantidad de larvas, con respecto a los 3 primeros días, aunque no hay diferencias significativas entre los días tercero y cuarto día de tratamiento.

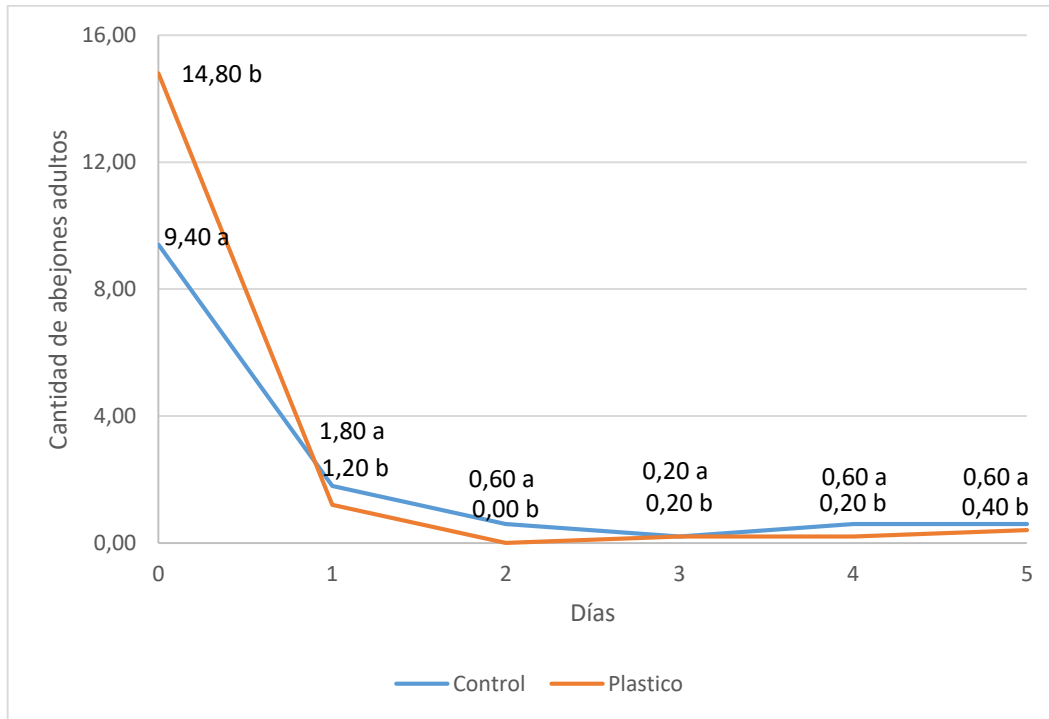


Figura 6. Promedio de abejones adultos *Alphitobius diaperinus* encontrados en 200g de muestra por día según el tratamiento aplicado.

Letras diferentes representan diferencias entre tratamientos.

A diferencia de las larvas, en los abejones adultos no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$). El tiempo de tratamiento si presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) en la cantidad de abejones encontrados, todos los días de tratamiento presentaron diferencias con respecto al día 0 de tratamiento. Los datos del primer día de tratamiento fueron diferentes de los demás días con excepción del quinto día. Según Santo (2011) los escarabajos de la cama tienen afinidad por lugares con disponibilidad de materia orgánica para alimentarse como en el caso del experimento, pero también necesitan de situaciones ambientales favorables como lo son la temperatura baja, disponibilidad oxígeno y el pH cercano a la neutralidad. Tal como se observó, las condiciones de los tratamientos no favorecieron la supervivencia de los abejones adultos. El amoníaco también representa otro inconveniente porque los abejones intentan alejarse de las altas concentraciones y mantenerse en lugares oxigenados como ocurrió en la prueba.

Termografía

A continuación, se presentan algunas de las imágenes termográficas tomadas de dos de los montículos de pollinaza, uno cubierto y el otro sin cubrir con el fin de mostrar las diferencias en las temperaturas de la superficie de cada montículo.

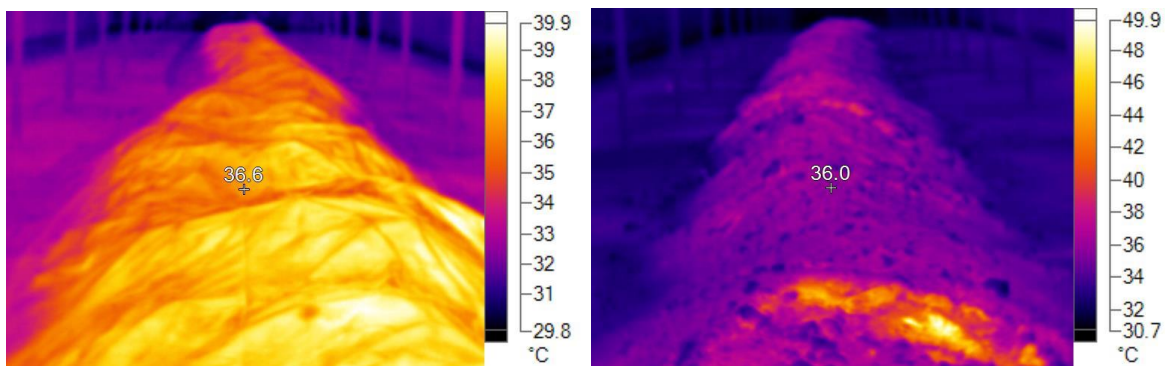


Figura 7. Imágenes termográficas del tratamiento con plástico (izquierda) y del tratamiento sin plástico (derecha) durante el segundo día de la prueba.

Al analizar las imágenes termográficas tomadas a los montículos de pollinaza en donde se utilizó el plástico para cubrirlos (figura 7), se puede observar que estos presentaron temperaturas superficiales más altas y uniformes con respecto a los montículos sometidos al tratamiento control (sin plástico).

Por tanto, la utilización del plástico, no sólo propicia que en la superficie de los montículos de pollinaza, se alcance una mayor temperatura; sino que el calor se distribuya de manera más homogénea a lo largo de estos.

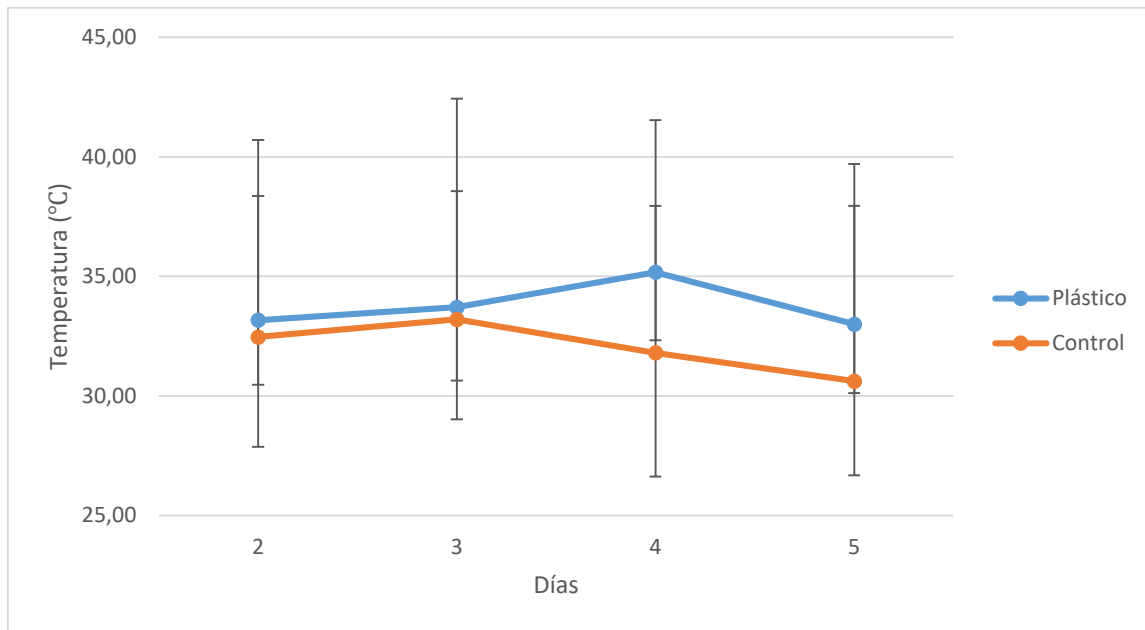


Figura 8. Promedio de temperaturas captadas con cámara termográfica durante los días de la prueba para el tratamiento con plástico y el tratamiento control.

Al observar estos datos, se aprecia, que la temperatura promedio en los montículos que recibieron el tratamiento control, fue significativamente ($p < 0,05$), menor a la obtenida en aquellos en los que se utilizó plástico.

Además, al analizar las temperaturas mínimas, con el plástico, estas no descendieron por debajo de los 30°C , mientras, que con el tratamiento control, llegaron a disminuir hasta los 26°C . Por el contrario, las temperaturas máximas con la utilización del plástico, fueron mayores en comparación con el tratamiento control. Se observó valores de hasta 42°C , mientras que en el tratamiento control, no sobrepasaron los 40°C .

Las imágenes termográficas demuestran como el plástico ayuda a mantener más estable la temperatura superficial de los montículos, las temperaturas más altas en los montículos concuerdan con lo mencionado por Blas et al. (2000), quienes reportaron temperaturas en promedio más altas en los montículos que fueron cubiertos por un plástico, ya que el calor se logra mantener mejor al manejarse de esa forma, tal y como se apreció en las imágenes tomadas.

Correlaciones entre variables

En el análisis de correlaciones, se evidenció que existe una asociación muy alta entre enterobacterias, los coliformes y la bacteria *Escherichia coli* (*E. Coli*). Según Camacho et al. (2009), la familia Enterobacteriaceae es muy amplia, siendo los coliformes, parte de esta. Además, cabe mencionar que la *E. Coli*, a su vez, es una bacteria perteneciente a los coliformes. Lo que explica, el por qué al disminuir la concentración de esta, también disminuyó la concentración de coliformes y enterobacterias.

La bacteria *E. Coli*, cumple una importante labor en el control de otros tipos de bacterias, ya que, constituyen alrededor de un 80% de la flora intestinal de los animales (Famiglietti et al. 2005). A continuación, se presentan los coeficientes de correlación entre las diferentes variables microbiológicas analizadas.

Cuadro 9. Coeficiente de correlación entre las diferentes variables microbiológicas analizadas.

Variables microbiológicas	Hongos y levaduras	Aerobios mesófilos	Enterobacterias	Coliformes totales	<i>E. coli</i>
Hongos y levaduras	1	-0,04	0,86*	0,82*	0,86*
Aerobios mesófilos	-	1	0,13	0,16	0,13
Enterobacterias	-	-	1	0,94**	1**
Coliformes totales	-	-	-	1	0,94**
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	1

* correlaciones altas, ** correlaciones muy altas

Como se observa en el cuadro anterior, los hongos y levaduras, presentaron una correlación alta con las enterobacterias, coliformes y *E. Coli*, además, su comportamiento se relaciona con las otras variables microbiológicas, debido a que, comparten condiciones ambientales necesarias para su supervivencia, con la diferencia de que los hongos y levaduras, son capaces de desarrollarse en condiciones menos favorables, como, por ejemplo, bajos niveles de pH y de humedad. A pesar de esto, son igual de susceptibles a las condiciones de

oxigenación, debido a que, la mayoría son microorganismos aerobios. Dichos requerimientos ambientales, no se cumplen ante una concentración alta de amoníaco (Salgado 2002) como la observada en este experimento.

Con respecto a las demás correlaciones, estas variaron de muy baja a baja lo que quiere decir que no se relacionan entre sí y se desenvuelven de manera independiente, por lo que los mesófilos aerobios no influyen de manera considerable en el desempeño de las otras. Respecto a las demás correlaciones investigadas, estas presentaron entre baja a muy baja variación, por lo que no se relacionan entre sí.

Recomendación de tratamiento

La cama se somete a un tratamiento térmico con el objetivo de disminuir la carga bacteriana para volver a ser utilizada en la producción de pollos de engorde. Según Silva (2013), esta puede ser reutilizada si es sometida a algún tipo de manejo o tratamiento para eliminar o disminuir los microorganismos patógenos presentes y por consiguiente, el método elegido debe tomar en cuenta el efecto microbiológico y su acción sobre los vectores.

En lo recomendado por el reglamento de decreto ejecutivo N° 29145 del Ministerio de Agricultura y Ganadería, la pollinaza se puede someter a un tratamiento, en el que alcance temperaturas superiores a 55°C. Debido a que la pollinaza es un material desuniforme en cuanto a su composición, solamente con el tratamiento con plástico se logró alcanzar temperaturas mayores a 55°C, a partir del tercer día de tratamiento.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al comparar la temperatura entre tratamientos, siendo mayor en el tratamiento con el plástico. No obstante, las cargas microbiológicas disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) en ambos tratamientos, sin que se observaran diferencias entre ellos. Es por esta razón, que se podría recomendar no utilizar plástico, debido a razones económicas y ambientales. Sin embargo, el plástico ayuda a mantener la

temperatura superficial más alta y uniforme, potenciando la eliminación de patógenos en esta área del montículo.

Al analizar la efectividad de los tratamientos en la eliminación de la *Salmonella sp.*, se encontró que, ambos fueron efectivos para eliminar la *Salmonella sp.* Además, es importante mencionar, que la estadística no mostró diferencias con respecto al día antes de aplicar los tratamientos, asociado principalmente al pequeño número de muestras analizadas. Se recomienda realizar más pruebas con una mayor cantidad de muestras, con el objetivo de evaluar mejor el efecto sobre la presencia de *Salmonella sp.* y cuantificar la bacteria presente en la cama en futuros trabajos de investigación.

El tratamiento aplicado debe asegurar la eliminación de agentes patógenos, así como evitar el desarrollo de diferentes vectores, como por ejemplo el abejón de la cama, de manera que, cuando se vuelva a utilizar, no cause problemas sanitarios en las aves.

También se aconseja realizar una cobertura de la pila de pollinaza con una lona plástica, con el objetivo de evitar la entrada de aire, ya que, como menciona Silva (2013), el plástico funciona como material aislante ante las condiciones externas y ayuda a mantener el calor interno, optimizando el proceso de eliminación de organismos patógenos.

Se recomienda apilar toda la pollinaza en un solo lomillo de aproximadamente un metro de altura, para lograr una fermentación por amontonamiento en el centro del galpón, a lo largo de todo el mismo. Montículos más pequeños podrían no propiciar temperaturas que permitan la eliminación de microorganismos. Según Chen, y Jiang (2014), la fermentación por amontonamiento, permite a los microorganismos descomponer la materia orgánica de la cama, emanando calor como producto. Al formar un montículo de gran tamaño, se propicia una mayor retención de este, alcanzando temperaturas nocivas para los agentes patógenos.

El reglamento de decreto ejecutivo N° 29145 del Ministerio de Agricultura y Ganadería recomienda una duración del tratamiento por calentamiento espontáneo durante 3 a 5 días continuos, tal como se observó en esta investigación, al tercer día, se presentó una disminución considerable de las UFC/g de los microorganismos presentes en la cama. Sin embargo, al cuarto día, se lograron valores menores y tomando en cuenta que la diferencia entre el cuarto y quinto día es mínima, se recomienda aplicar el tratamiento con plástico durante un tiempo no menor a 3 días.

2) Prueba de camas de arena

En esta investigación, se analizó el rendimiento de los pollos alojados en camas de arena, se evaluó el porcentaje de mortalidad, el consumo de alimento, la ganancia de peso y la conversión alimenticia. Como resultado, se observó que en las ocho veces que se reutilizó la cama de arena, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en los rendimientos analizados.

Como se puede observar en el Cuadro 10, el número de parvadas no alteró significativamente ($p < 0,05$) los rendimientos de las aves alojadas en la cama, y por consecuencia, no se ven afectados los rendimientos de las aves, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Vizzier et al. (2003), y Thaxton et al. (2013), quienes no encontraron resultados significativos entre el número de reutilizaciones y la mortalidad asociado a las poblaciones de bacterias aerobias y anaerobias presentes en la cama. También se logró observar un leve aumento en la mortalidad conforme aumenta el número de utilizaciones de la cama, mas no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) al analizar los datos.

Cuadro 10. Promedio de mortalidad, consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia de pollos de engorde mantenidos en cama de arena de acuerdo a la cantidad de veces que se reutilizó la cama.

Número de usos	Mortalidad (%)	Consumo (Kg)	GDP (g)	Conversión alimenticia
1	4,78	3,31	59,83	1,64
2	4,35	3,51	62,83	1,57
3	5,02	3,25	60,58	1,55
4	3,77	3,56	62,18	1,56
5	4,58	4,11	62,16	1,68
6	6,39	3,83	57,60	1,69
7	5,07	3,35	55,52	1,68
8	7,38	3,37	58,47	1,66

GDP: Ganancia diaria de peso

Silva (2013) menciona que después de la tercera parvada alojada en la misma cama, los rendimientos productivos tienden a estabilizarse, incluso llegando a obtener rendimientos mejores que en algunas camas nuevas, lo que confirma que la práctica de reutilización de la cama de arena puede llegar a ser bastante segura. Thaxton et al. (2013), concluyeron, que la población microbiana no aumenta con el incremento en las reutilizaciones de este tipo de cama. Además, sostienen que no hay razón desde el punto de vista microbiológico para su cambio después de cada uso.

En lo mencionado por Thaxton et al. (2013), la mortalidad y los parámetros productivos se pueden ver afectados por los microorganismos presentes en la

cama, pero una vez que se ha establecido la población de bacterias en la cama de arena, permanecerá relativamente constante en el tiempo, sin importar el número de aves que sean alojadas en la misma.

Cuadro 11. Promedio de rendimientos productivos de los pollos de engorde alojados en cama de arena y en cama de cascarilla de arroz según la granja.

Granja	Tratamiento	Mortalidad (%)	Consumo (Kg)	GDP (g)	Conversión alimenticia
A	Arena	5,82	3,48	57,57	1,71
	Cascarilla	5,09	3,29	59,23	1,66
B	Arena	3,26	3,53	63,51	1,58
	Cascarilla	4,09	3,66	63,39	1,60
C	Arena	6,70	3,53	57,75	1,61
	Cascarilla	7,50	3,70	58,96	1,68

GDP: Ganancia diaria de peso

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el tipo de cama utilizado, arena y cascarilla de arroz de un solo uso. Tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) por el tipo de granja. En el cuadro 11, se presentan los promedios de los parámetros productivos de los pollos en los dos tipos de cama, según el tipo de material utilizado.

Según lo mencionado por Bilgili et al. (1999) las camas de arena poseen una baja carga microbiana independientemente del número de parvadas que se hayan alojado, lo que hace a este material comparable desde el punto de vista microbiológico con la cascarilla de arroz de un solo uso, debido a su baja concentración de microorganismos.

No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre los rendimientos productivos de los pollos criados en las camas de arena con respecto a las camas de cascarilla de arroz al analizar el número de usos. Según Garcês et al. (2013), la arena tiene un buen potencial como sustrato alternativo para la cama, por los bajos contenidos de microorganismos, debido a que, sus niveles microbiológicos pueden ser comparados con una cama de cascarilla de arroz de primer uso.

La arena por ser un material inorgánico mantiene las condiciones ambientales y microbiológicas muy estables, la cantidad de excretas de las aves tampoco altera las condiciones de la arena. Los resultados obtenidos fueron similares a los obtenidos por Bilgili et al. (1999) en su estudio y dichas condiciones explican porque no se encontraron diferencias entre las diferentes granjas, debido a que el material es muy estable sin importar la zona en donde se encuentre la granja.

A continuación, en el cuadro 12, se presentan las correlaciones entre el número de usos con la mortalidad, consumo, ganancia de peso y conversión alimenticia.

Cuadro 12. Correlaciones del número de usos con los parámetros analizados.

Parámetro	Correlación
Mortalidad	0,22
Consumo	0,48
GDP	0,20
Conversión alimenticia	0,12

GDP: Ganancia diaria de peso

Las correlaciones entre los parámetros evaluados con respecto al número de usos fueron bajas o muy bajas, lo que evidencia, que el número de usos de la cama de arena, no influye en el comportamiento productivo, y por consiguiente, a los rendimientos productivos. Thaxton et al. (2013), menciona que, por las propiedades inorgánicas de la arena, los organismos no tienen oportunidad para desarrollarse, por lo que se mantienen en niveles bajos y no afectan el rendimiento de los animales. Los resultados mostraron que la arena puede ser un buen material de cama, debido a que no afecta los rendimientos productivos de los pollos.

CONCLUSIONES

El proceso de calentamiento espontáneo de la cama es efectivo para reducir la carga microbiana en camas de pollo de engorde reusadas. El uso de mesófilos aerobios como indicador en este tipo de pruebas podría no ser tan valioso ya que las concentraciones de mesófilos se mantuvieron constantes sin importar el tiempo y tipo de tratamiento, además no se encontró correlación alguna con el resto de microorganismos evaluados.

Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a los microorganismos evaluados, sin embargo, se recomienda el uso del plástico pues se observó que mantiene las temperaturas superficiales uniformes y contribuye a la eliminación de abejones de la cama. Se recomienda la aplicación del calentamiento espontáneo como mínimo durante 3 días de acuerdo a los resultados obtenidos.

Para la *Salmonella sp.* se sugiere realizar más pruebas donde se evalúe mayor cantidad de muestras y se cuantifiquen las UFC/g de *Salmonella*. Además, el uso y reutilización de camas de arena constituye una buena opción en pollos de engorde sin embargo se debe evaluar su manejo y disposición final, debido a que se puede convertir en una fuente de contaminación ambiental.

Los resultados indicaron que los rendimientos productivos de los animales analizados en las camas de arena no se vieron afectados por la reutilización de la cama. La reutilización de la cama de arena no afecta la calidad física de la cama y no influye en los parámetros productivos de las aves que son criadas en este material. Tampoco se observaron diferencias en los rendimientos productivos de los pollos criados en la cama de arena con respecto a la de cascarilla de arroz de un solo uso. Se recomienda para futuras pruebas recolectar mayor cantidad de datos, en más cantidad de granjas, lo que podría darles más validez a los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexandre T., Alves L., Neves P., Alves S. 2006. Efeito da temperatura e cama do aviário na virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) para o controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical entomology*, 35(1): 75-82.
- AOAC. 2017. Método oficial 991.14. Recuento de Coliformes y *E. coli* en alimentos mediante la técnica de 3M Petrifilm.
- AOAC. 2017. Método oficial 2003.01. Recuento de enterobacteriaceae mediante la técnica de 3M Petrifilm.
- Arias, F. 2012. Nuevo programa de control del escarabajo de la cama (*Alphitobius diaperinus*) en instalaciones avícolas. XXII Congreso Centroamericano y del Caribe de Avicultura 2012.
- Atencio, J., Fernández, J. 2007. Efecto del uso de viruta, cascarilla de arroz y arena como materiales de cama sobre la productividad de pollos de engorde. Tesis presentada como requisito para optar por el título de licenciado en la carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras.
- Bertsch, F. 1998. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. 156.
- Bilgili, S., Montenegro, G., Hess, J., Keckman, M. 1999. Sand as litter for rearing broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research* 8(1): 345-351.
- Blas, A., Diezma, B., Moya, A., Gómez, C. 2012. Detección precoz de mortalidad en producciones avícolas empleando termografía de alta resolución. Tesis para obtener el grado de master. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España.
- Borbolla, M., Vidal, M., Piña, O., Ramírez, I., Vidal, J. 2004. Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. *Salud en Tabasco*, 10(2), 221-232.
- Bujoczek, G., Oleszkiewicz, J., Sparling, R., Cenkowski, S. 2000. High solid anaerobic digestion of chicken manure. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 76(1), 51-60.

- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B. 2009. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química.
- Carlile, F. S. 1985. El amoníaco en avicultura. *Selecciones avícolas*, 27(1), 3-9.
- Castellanos, A., Murguía, M., Moguel, Y. 2000. Efecto del deshidratado sobre el valor nutritivo de la pollinaza y la presencia de microorganismos. *Técnica Pecuaria en México*, 38(3).
- Castillo, M. 2001. Algunas consideraciones y alternativas al momento de reutilizar la cama en avicultura. Publicaciones Profesionales C.A. Valencia, Venezuela.
- Chen, Z., Jiang, X. 2014. Microbiological safety of chicken litter or chicken litter-based organic fertilizers: a review. *Agriculture*, 4(1), 1-29.
- Corrier, D., Hargis, B., Hinton, J. 1992. Effect of used litter from floor pens of adult broilers on salmonella colonization of broiler chicks. *Avian Diseases*, 36(4).
- Dai Para, M., Correa, E., Roll, V., Xavier, E., Lopes, D., Lourenco, F., Zanusso, J., Roll, P. 2010. Quicklime reduces salmonella and clostridium spp counts in used broiler litter. XIII European Poultry Conference.
- Decreto Ejecutivo N° 29145-MAG-S-MINAE. La Gaceta N° 242 publicado el 28 de agosto de 2000. Reglamento sobre el Manejo y Control de Gallinaza y Pollinaza.
- Famiglietti, A., Quinteros, M., Vázquez, M., Marín, M., Nicola, F., Radice, M., Kovensky, J. 2005. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae. *Revista argentina de microbiología*, 37(1), 57-66.
- FDA. 2001. Bacteriological analytical manual online. Recuperado de: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>. Accesado el 21 de mayo del 2019.
- Fiorentin, L. 2006. Reutilização da cama de aviário no contexto do benchmarking. *Avicultura Industrial*, 97(6): 12-18.

- Fiorentin, L. 2005. Reutilização da cama na criação de frangos de corte e as implicações de ordem bacteriológica na saúde humana e animal. *Embrapa suínos e aves*, 94(1): 23-29.
- Garcês, A., Afonso, S., Chilundo, A., Jairoce, C. 2013. Evaluation of different litter materials for broiler production in a hot and humid environment: 1. Litter characteristics and quality. *Journal of Applied Poultry Research* 22(1):168-176.
- Giraldo, S. 2015. Identificación de riesgos y puntos críticos de control en plantas de potabilización de agua. Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ingeniería - Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.
- Gómez, D. 2006. Evaluación y caracterización del proceso de biodegradación de pollinaza en camas usando microorganismos. Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de: Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Gowen, A., Tiwari, B., Cullen, P., McDonnell, K., O'Donnell, C. 2010. Applications of thermal imaging in food quality and safety assessment. *Food Science & Technology*. 21(4): 190-200.
- Grimes, J., Smith, J., Williams, C. 2002. Some alternative litter materials used for growing broilers and turkeys. *World's Poult. Sci. J.* 58(1):515–526.
- Heredia, C. 2013. Evaluación microbiológica del sustrato de los galpones en granja y la problemática sanitaria existente con la crianza de aves en la zona Santa Rosa-Huaral. Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología. Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.
- ISO. 2017. ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella.
- Jorge, M., Mouchrek, E., Carneiro, M., Resende, J., Martins, N. 1995. Coliformes, umidade e produção de amônia em cinco tipos de cama de frango. *Anais da Semana Avícola* 95(1).
- Khosravinia, H., Gharoni, M., Darvishnia, M. 2009. Litter mycology and the impacts of litter type and preslaughter feed withdrawal on crop bacterial community in broiler chicken. *African Journal of Microbiology Research*, 3(11), 844-850.

- Kim, J., Diao, J., Shepherd, M., Singh, R., Heringa, S., Gong, C., Jiang, X. 2011. Validating thermal inactivation of *Salmonella* spp. in fresh and aged chicken litter. *Applied and environmental microbiology*, 78(4).
- López, A. 2012. Producción de un alimento fermentado en estado sólido a partir de pollinaza y Vitafert. Tesis para obtener el título de Master en ciencias. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.
- Luyo, J. 2014. Evaluación sanitaria en pollos de engorde (Ross 308), criados en cama nueva vs. cama reciclada (7 reusos/flameado) en granjas comerciales. Tesis para optar por el título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Macklin, K., Hess, J., Bilgili, S. 2008. In-house windrow composting and its effects on foodborne pathogens. *J. Appl. Poult. Res.* 17(1): 121–127.
- Martins, R., Hötzel, M., Poletto, R. 2013. Influence of in-house composting of reused litter on litter quality, ammonia volatilisation and incidence of broiler foot pad dermatitis. *British poultry science*, 54(6), 669-676.
- Merchán, I., Quesada, J. 2013. Reducción de amoníaco de la pollinaza de pollos broiler mediante la adicción de zeolita en la ración alimenticia durante el periodo de crianza en la parroquia Paccha del cantón Cuenca, provincia del Azuay. Tesis para la obtención del título de Ingeniero Ambiental. Cuenca, Ecuador.
- Miles, D., Rowe, D., Cathcart, T. 2011. Litter ammonia generation: Moisture content and organic versus inorganic bedding materials. *Poultry Science* 90(1):1162–1169.
- Nascimento, G. 2011. Termografía aplicada à avaliação do ambiente térmico de alojamento e do conforto térmico de frangos de corte. FEAGRI - Tese e Dissertação.
- Paganini, F. 2004. Reutilización de cama en la producción de broilers: porqué, cuándo y cómo hacerlo. *Revista Avicultura Profesional* 22(5):18-21.
- Paganini, F., Mendes, A., Naas, I., Macari, M. 2004. Manejo da cama. *Produção de Frangos de Corte. Brasil*: 1(1): 108-115.
- Petersen, S., Henriksen, K., Mortensen, G., Krogh, P., Brandt, K., Sorensen, J., Gron, C. 2003. Recycling of sewage sludge and household compost to arable

land: fate and effects of organic contaminants, and impact on soil fertility. *Soil and Tillage Research*, 72(2), 139-152.

Pizarro, N. 2006. Efecto del tratamiento de la cama con un aluminosilicato en pollos de carne. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Puerta, A., Mateos, F. 2010. Enterobacterias. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(51), 3426-3431.

Ríos, A., Combellas, J., Álvarez, Z. 2005. Uso de excretas de aves en la alimentación de ovinos. *Zootecnia Tropical* 23(2): 183-210.

Roll, V., Dai Pra, M., Roll, A. 2011. Research on Salmonella in broiler litter reused for up to 14 consecutive flocks. *Poultry Science* 90(1): 2257–2262.

Salgado, V. 2002. Análisis de mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y Salmonella spp. en cuatro ingredientes utilizados en la planta de lácteos de Zamorano, Honduras. Tesis para optar por el título de Licenciado en Ingeniería Agrónomo. Zamorano, Honduras.

Santiago, V., Voss D., Coldebella A., Bosetti N., Silveira V. 2007. Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte. *Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria* ISSN 0100-8862.

Santo, V. 2011. Control de *Alphitobius diaperinus* (Col. Tenebrionidae) en granjas avícolas. *Selecciones Avícolas* 11(8): 19-23.

Santos, F., Li, X., Payne, J., Sheldon, B. 2005. Estimation of Most Probable Number Salmonella Populations on Commercial North Carolina Turkey Farms *J. Appl. Poult. Res.* 14(1): 700– 708.

Shields, S., Garner, J., Mench, J. 2005. Effect of sand and wood-shavings bedding on the behavior of broiler chickens. *Poultry Science* 84(1):1816–1824.

Silva, V. 2013. Técnicas de fermentación de cama. Aspectos sanitarios. In *Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. Seminario de actualización avícola, 10(1).

Thaxton, Y., Balzli, C., Tankson, J 2013. Relationship of Broiler Flock Numbers to Litter Microflora *J. Appl. Poult. Res.* 12(1):81–84.

- Tiquia, S., Tam, N. 2000. Fate of nitrogen during composting of chicken litter. *Environmental Pollution*, Oxford, 4(110).
- Tobía, C., Vargas E. 2000. Evaluación de las excretas de pollo de engorde (Pollinaza) en la alimentación animal. I. Disponibilidad y composición química. *Agronomía Costarricense* 24(1): 47-53.
- Torok, V., Hughes, R. J., Ophel-Keller, K., Ali, M., & MacAlpine, R. 2009. Influence of different litter materials on cecal microbiota colonization in broiler chickens. *Poultry Science*, 88(12), 2474-2481.
- Vejarano, M. 2005. Evaluación de los parámetros productivos de pollos de carne criados sobre cama reusada por cinco campañas vs cama nueva. Tesis de Bachillerato. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos.
- Vejarano, M., Alba, M., Reyna, P., Casas, E. 2008. Comparación productiva de pollos de carne criados en camas nuevas vs. cama reutilizada por cinco campañas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 19 (2):126-133.
- Vicente, J., Higgins, B., Tellez, G. 2007. Effect of poultry guard litter amendment on horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in broiler chicks. *International Journal of Poultry Science* 6(5): 314-317.
- Vieira, S., Moran, E. 1999. Effects of delayed placement and used litter on broiler yields. *J. Appl. Poult. Res*, 8(1):75-81.
- Villagra, A., Olivas, I., Benitez, V., Lainez, M. 2011. Evaluation of sludge from paper recycling as bedding material for broilers. *Poultry science*, 90(5), 953-957.
- Vizzier, Y., Balzli, C., Tankson, J. 2003. Relationship of broiler flock numbers to litter microflora. *Journal of applied poultry research*, 12(1), 81-84.
- Watson, D., Denning, S., Zurek, L., Strnghan, S., Elliott, J. 2003. Effects of lime hydrate on the growth and development of darkling beetle *Alphitobius diaperinus*. *International Journal of Poultry Science*. 2 (2).