



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* spp. EN UN
PLANTEL COMERCIAL DE PAVOS, EN ETAPAS DE CRIANZA Y
ENGORDA**

Valeria Carolina Alcayaga Toro

Memoria para optar al título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Patología Animal

PROFESOR GUÍA: DR. HÉCTOR HIDALGO O.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE
2015



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* spp. EN UN
PLANTEL COMERCIAL DE PAVOS, EN ETAPAS DE CRIANZA
Y ENGORDA**

Valeria Carolina Alcayaga Toro

Memoria para optar al título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Patología Animal

NOTA FINAL:

FIRMA

PROFESORA GUÍA: HÉCTOR HIDALGO

.....

PROFESOR CORRECTOR: PEDRO SMITH

.....

PROFESOR CORRECTOR: LISETTE LAPIERRE

.....

SANTIAGO, CHILE

2015

Agradecimientos

*A mi madre **Nancy**, por su apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida, por su amor infinito, por ser la principal promotora de mis sueños y por confiar y creer en mis expectativas desde que era muy niña. Tu madre, eres mi ejemplo de lucha y dedicación en el mundo.*

*A mis tías, **Alicia, Lucy y Helia**, a mis tíos, **Roberto y Francisco**, a mis abuelos **Enrique y Norberta** y a mi primo **Eduardo**, los cuales siempre han estado presentes en mi vida, creyendo en mí y apoyándome en todos los proyectos que he emprendido y que a pesar de la distancia en estos años, siempre los he sentido junto a mí. .*

*A **Sergio** por apoyarme incondicionalmente desde que nos conocimos, por su amor y aguante en todas las cosas que pasamos juntos, gracias por creer en mí en los momentos difíciles y alegrarme en los tristes. Y a toda su familia que me adoptaron como una hija más dándome todo su cariño y apoyo.*

*A mi profesor guía el **Dr. Héctor Hidalgo**, por las experiencias y aprendizajes adquiridos durante estos dos años de memoria, por su constante orientación en esta última etapa universitaria y por su siempre buena disposición en contestar mis dudas, y a mis profesores correctores el **Dr. Pedro Smith** y la **Dra. Lisette Lapierre** que también formaron parte de esta etapa.*

*Por último a todos mis compañeros memoristas y al personal del laboratorio de patología aviar con los cuales compartí valiosos momentos que no olvidaré jamás. El sentido del compañerismo y la amistad estuvo plasmado en cada uno de ustedes, gracias por hacer esta etapa una de las más lindas de mi vida. En especial agradecer a **Paulina** quien fue mi partner en cada trabajo/experimento y fundamentalmente mi amiga, gracias por tu cariño y esta historia no se termina aquí se seguirá escribiendo por muchos años más.*

“Lo importante es no dejarse de hacer preguntas”

INDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
4.1. <i>Salmonella</i> spp.	5
4.1.1. Caracterización morfológica y bioquímica	6
4.1.2. Clasificación taxonómica y antigénica	7
4.1.3. Patogénesis y virulencia	8
4.1.4. Epidemiología	10
4.2. <i>Salmonella</i> en aves comerciales	11
4.2.1. Situación en pavos comerciales	12
4.2.2. Principales fuentes de contaminación dentro de un plantel	14
4.3. Diagnóstico	18
4.3.1. Métodos diagnósticos	18
4.4. Métodos de Control	20
4.4.1. Programa de bioseguridad	20
4.4.2. Vacunación	22
4.4.3. Intervención en los alimentos	23
4.4.4. Probióticos	25
4.5. Programas de control	26
4.5.1. Programa de control en la Unión Europea	26
4.5.2. Programa de control en Chile	27
5. OBJETIVOS	29
5.1. Objetivo general	29
5.2. Objetivos específicos	29

6. MATERIALES Y MÉTODOS	30
6.1. Descripción del plantel avícola y aves bajo estudio.....	30
6.2. Metodología de la toma de muestras.....	30
6.3. Preparación y procesamiento de las muestras	33
7. RESULTADOS	34
8. DISCUSIÓN	39
9. CONCLUSIONES	45
10. BIBLIOGRAFÍA	46
11. ANEXOS	56

1. RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la condición sanitaria de un plantel comercial de pavos, se realizó un estudio para determinar la presencia de *Salmonella* spp. en las dos etapas de producción de pavos, crianza y engorda. Se recolectaron tres tipos de muestras para el etapa de crianza: (i) meconio recuperado desde fondos de cajas de transporte de pavitos de un día de edad, a su llegada a los galpones (ii) tómulas de arrastre desde cama de galpones que alojan pavos de 6 semanas de edad y (iii) alimento de las fórmulas de inicio y término de la etapa. Para la etapa de engorda se recolectaron: (i) tómulas de arrastre desde cama de galpones que alojan pavos de 15 semanas de edad y (ii) alimento de las fórmulas de inicio y término de la etapa.

Las muestras mencionadas se tomaron en dos ocasiones en cada sector de crianza y de engorda, en dos ciclos productivos diferentes. El total de muestras recolectadas fue de 52, las cuales fueron sometidas a exámenes bacteriológicos según los instructivos técnicos correspondientes. El 38,4% del total de muestras fueron positivas a *Salmonella* spp. de éstas un 16% correspondió a meconio, un 70% a tómulas de arrastre (crianza y engorda) y un 20% a alimento en ambas etapas. Desde el punto de vista de los lotes de aves examinados, en la etapa de crianza el 50% de los lotes fue positivo a *Salmonella*, mientras que en la etapa de engorda un 83% de ellos.

En la identificación serológica de los aislados de *Salmonella* spp. obtenidos se distinguieron los serogrupos B, C2 y E. El 80% del total correspondería al serogrupo B, con muestras positivas de tómulas de arrastre y alimento, el 15% al serogrupo E, identificados en meconio y tómulas de arrastre y el 5% al serogrupo C2 con solo una muestra de alimento.

Palabras claves: *Salmonella*, pavos, serogrupos, meconio, alimento.

2. ABSTRACT

In order to assess the health status of a commercial establishment of turkeys, a study was conducted to determine the presence of *Salmonella* spp. in two stages of turkey's production, raising and fattening. Three types of samples were collected in the raising stage: (i) meconium recovered from one day old turkey poult boxes the day, at their arrival into the sheds (ii) litter drag swabs from sheds filled with six weeks old turkeys and (iii) animal feed being consumed at the beginning and the end of this stage. For fattening stage were collected: (i) drag swabs from litter from sheds filled with 15 weeks old turkeys and (ii) animal feed starter and finisher for each stage.

The mentioned samples were collected twice in each rearing and fattening sector, in two different production cycles. The total was 52 collected samples, which were subjected to bacteriological tests based on corresponding technical instructions. 38,4% of samples were positive for *Salmonella* spp., these samples corresponded to 16% meconium, 70% drag swabs (breeding and fattening stages) and 20% of the animal feed in both stages. From the point of view of turkey's flocks examined, at the raising stage 50% of the flocks was positive to *Salmonella*, while in fattening stage 83%.

In the serological identification of isolated *Salmonella* spp., serogroups B, E and C2 were distinguished. 80% of the total correspond to serogroup B, with positive samples from drag swabs and animal feed; 15% of the total correspond to serogroup E, from meconium and drag swabs and 5% correspond to serogroup C2 with one sample from animal feed.

Keywords: *Salmonella* spp., turkeys, serogroups, meconium, feed.

3. INTRODUCCIÓN

Salmonella es un género de bacterias distribuido ampliamente en la naturaleza. Éstas se encuentran tanto como comensales o patógenos del tracto gastrointestinal de mamíferos domésticos y salvajes, aves, reptiles e insectos, causando un amplio espectro de enfermedades en sus hospederos (OIE, 2014).

Estas bacterias constituyen una de las causas más importantes de enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) a nivel mundial, debido su ubiquidad y habilidad de adaptación sobre cualquier hospedero (Schlundt *et al.*, 2004, Batz *et al.*, 2011).

Actualmente se han descubierto más de 2.500 serotipos de salmonelas, clasificadas según el esquema de Kauffman y White (Grimont y Weill, 2007). La patogenicidad y manifestación clínica de cada uno de estos serotipos varían dependiendo de la especie hospedera implicada (Stevens *et al.*, 2009).

En sistemas de producción avícola las salmonelas son responsables de enfermedades sistémicas o gastrointestinales, dependiendo del serotipo que afecte a las aves. Las salmonelas tíficas, específicas de aves, son responsables de enfermedades agudas, mientras que las salmonelas paratíficas, que no poseen un hospedero específico, presentan la mayoría de las veces casos subclínicos. Estas últimas son las que juegan un papel importante en la salud pública debido a que son responsables de intoxicaciones en seres humanos por consumo de alimentos contaminados (Gast, 2013).

El control de salmonelas en la producción de pollos, gallinas y pavos es primordial debido a su importancia como zoonosis y su relevancia en planes de salud pública. Se ha descrito a los productos de origen avícola como una de las fuentes animales más implicadas en casos de salmonelosis en humanos (Betancor *et al.*, 2010; Foley *et al.*, 2011). Esto se debe a una asociación entre la prevalencia de infecciones por *Salmonella* en aves de corral y a un aumento del consumo de productos de origen avícola en todo el mundo (Gast, 2013).

En el año 2013 la producción avícola chilena llegó a un total de 680 mil toneladas de carne de ave, de este total el 14,4% correspondió a producción de carne de pavo. Este producto ha tenido una gran variación en el país en las últimas décadas, a principios de los 90' la

producción de pavos alcanzaba solo un 4,7% del total de carne de ave producida, sin embargo en el año 2003 alcanzó el actual porcentaje.

En cuanto al consumo per cápita de carnes de aves en el país. En el año 2013 el consumo llegó a 37,5 kilos per cápita, representando un 42,1 % del consumo total de carnes (INE, 2013). En cuanto al consumo de carne de pavo, éste se ha incrementado al igual que su producción pasando de 0,2 a 4,4 kilos per cápita en la última década (APA, 2013).

Otro motivo de la importancia en el control de *Salmonella*, son las repercusiones económicas en los sistemas de producción avícolas. Lo anterior se sustenta en la existencia de barreras comerciales de índole sanitaria en la importación/exportación de carnes. Chile exporta alrededor del 22% de su producción total de carne de aves, que refieren a 250 millones de dólares (INE, 2013), por lo que se hace esencial la existencia de programas de control a lo largo de toda la cadena productiva.

En Chile se aplica el programa de control de *Salmonella* spp. para planteles comerciales de aves, regulado por el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) el cual es obligatorio sólo para las empresas que exporten sus productos y voluntario para las que comercialicen sus productos en el mercado nacional (SAG, 2011). Los resultados del programa han sido entregados, sin embargo aún falta información respecto las implicancias económicas y zoonóticas de la contaminación por salmonelas en lotes comerciales de pavos.

En este contexto, se pretende establecer la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. en un plantel comercial de pavos que produce carne solo para el mercado nacional, en el cual no se han realizado estudios anteriormente.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* fue nombrado por Lignière en 1900, en honor al veterinario y patólogo norteamericano Daniel E. Salmon (1850-1914), quien fue el primero en aislar esta bacteria desde intestinos de cerdos en 1884, denominándola *Salmonella choleraesuis* (Su y Chiu, 2007).

Los tipos de enfermedades causadas por salmonelas dependen tanto de la especie o serotipo infeccioso, como del hospedero infectado. Estas bacterias presentan diferencias en cuanto a la especificidad de su hospedero, es así como se pueden clasificar en 3 grupos: 1) adaptados solo al hombre, 2) adaptados a un hospedero no humano y 3) sin preferencia por un hospedero específico, infectando tanto a hombres como a animales (ISP, 2012; Gast, 2013).

En el ámbito avícola, las infecciones por *Salmonella* que afectan a las aves domésticas pueden dividirse en dos grupos principales. Las salmonelas inmóviles o tíficas, muy patogénicas para las aves pero sin mayores implicaciones zoonóticas. Solo integran este grupo dos especies, *S. Gallinarum* causante de la tifosis aviar y *S. Pullorum* causante de la pullorosis o diarrea blanca de los pollitos (Gast, 2013).

El otro grupo importante son las salmonelas móviles o paratíficas, éstas cuando infectan a lotes de aves comerciales pueden generar enfermedad durante las primeras semanas de vida, pero por lo general permanecen asintomáticas. De esta forma las aves infectadas pueden convertirse en fuentes permanentes de infección, dispersando la bacteria dentro de los galpones (Gast, 2013). Dentro de este grupo se encuentran *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* las cuales representan serias implicaciones en salud pública (Ruano, 2013).

Las salmonelas se reportan internacionalmente como una de las principales causales de ETAs en humanos. El centro de control de enfermedades (CDC) de Atlanta, estima que cada año 1,2 millones de personas contraen infecciones por salmonelas no tíficas en Estados Unidos (Scallan *et al.*, 2011) y este patógeno asociado a productos avícolas generan pérdidas de más de 712 millones de dólares al año (Batz *et al.*, 2011), mientras que en la Unión Europea (UE) es el segundo patógeno relacionado en zoonosis alimentarias con más de 100 mil casos humanos reportados cada año. La “European Food Safety Authority” (EFSA) ha estimado

que la carga económica general de la salmonelosis humana podría ser tan alta como 3000 millones de euros al año (EFSA, 2015).

Según el estudio de referencia sobre la incidencia de *Salmonella* en alimentos de origen animal realizado por la UE el año 2012, estimó que alrededor del 2,6%, 10,6% y 17,0% de los casos de salmonelosis humana son atribuibles a pavos, pollos de engorde y gallinas ponedoras (huevos) respectivamente (Hald *et al.*, 2012).

Si bien el papel de la carne de pavo en infecciones por *Salmonella* es baja, los serotipos que pueden hallarse en este animal, como *S. Typhimurium* y *S. Heidelberg*, tienen mayores probabilidades de causar la enfermedad invasiva en humanos y, por tanto, poseen mayores tasas de hospitalización que otros serotipos (Jones *et al.*, 2008).

4.1.1. Caracterización morfológica y bioquímica

Los miembros del género *Salmonella* son bacilos, Gram-negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, pertenecientes a la familia de las Enterobacterias, con un tamaño que oscila entre 0,7-1,5 x 2,0-5 μm (Gast, 2013).

La mayoría de las salmonelas son móviles debido a que poseen flagelos peritricos distribuidos uniformemente sobre su superficie, sin embargo existen dos serotipos de salmonelas inmóviles, *S. Pullorum* y *S. Gallinarum* ambas específicas de aves (Holt *et al.*, 1994; Rusell, 2012).

En cuanto a sus características bioquímicas, poseen un metabolismo oxidativo y fermentativo; fermentan glucosa con producción de ácido y gas (excepto *S. Thyphi*), son catalasa positivo, oxidasas negativos y ureasas negativos, además utilizan citrato como única fuente de carbono y producen H_2S como subproducto (Gast, 2013).

Los requerimientos nutricionales de *Salmonella* son relativamente simples, multiplicándose en medios de cultivos ordinarios. Necesita una actividad de agua (aw) por encima de 0,94 y se desarrollan en un amplio rango de temperatura variando desde los 5°C hasta los 45°C, siendo su temperatura óptima de crecimiento 37°C. En cuanto al pH esta bacteria puede crecer en un intervalo de 4,0 – 9,0, con un pH óptimo alrededor de 7,0, aunque algunos componentes celulares, tales como flagelos y fimbrias no pueden ser expresado bajo condiciones extremas de pH (Gast, 2013).

4.1.2. Clasificación taxonómica y antigénica

Los estudios más recientes de clasificación del género *Salmonella*, se basan en estudios realizados sobre la base de técnicas de hibridación del DNA de la bacteria, concluyendo que el género se constituye solo por dos especies:

- *Salmonella* especie *enterica*: la cual se encuentra dividida en seis subespecies determinadas por patrones de reacciones bioquímicas: *S. enterica* (I), *S. salamae* (II), *S. arizonae* (IIIa), *S. diarixonae* (IIIb), *S. houtenae* (IV) y *S. indica* (VI), dentro de éstas la más importante es la subespecie *enterica* debido a que afecta a animales de sangre fría y caliente, mientras que las demás afectan mayoritariamente a animales de sangre fría y se encuentran como microorganismos ambientales.
- *Salmonella* especie *bongori*: esta especie no constituye un patógeno para humanos, estando implicado principalmente con reptiles (Popoff y Le Minor, 1997; Grimont y Weill, 2007)

Tanto las especies como subespecies mencionadas se encuentran constituidas por más de 2.500 serovariedades o serotipos, los cuales se determinan según las distintas asociaciones antigénicas que posean. Este sistema de clasificación fue creado por Kauffman y White, y es actualizado periódicamente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el centro colaborador para referencia e investigación sobre la *Salmonella*, el Instituto Pasteur en París, Francia (Brenner, 2000). La última actualización del documento describe más de 2.579 serovares, los que se encuentran en su mayoría en la subespecie *enterica* (Grimont y Weill, 2007).

La estructura antigénica de *Salmonella*, es similar a la de otras enterobacterias, poseen dos clases de antígenos de superficie principales; antígeno O (somático) y antígeno H (flagelar). Además en algunas cepas existe un tercer tipo de antígeno, que pertenece a la cápsula denominado como K o Vi.

- Antígenos O: Polisacárido termoestable, tipo específico que se haya en la pared bacteriana de todas las especies. Se han encontrado y numerado más de 80 Ag O y se distinguen dos clases: mayores y menores (Rycroft, 2013). En una cepa determinada frecuentemente se encuentran varios de ellos, los antígenos mayores determinan el serogrupo al cual

pertenece la cepa, mientras que los menores son compartidos por diferentes serotipos dentro de un serogrupo.

- Antígenos H: Constituido por la proteína flagelina, el antígeno flagelar es de naturaleza dual, es decir las cepas de *Salmonella* pueden sintetizar dos conjuntos de flagelos: flagelares de la fase 1 y flagelares de la fase 2 (Gast, 2013).

Los de fase 1 son relativamente específicos del género. Dan pocas reacciones cruzadas, con otras enterobacterias. Este flagelo es peculiar y contribuye a la identidad inmunológica de una especie determinada de *Salmonella*. Los de la fase 2, son inespecíficos, están compartidos con diversas especies de *Salmonella*, por lo cual contribuye a las relaciones inmunológicas entre las especies de esta bacteria. Las cepas que contienen un solo tipo de Ag H (fase 1 o fase 2), se denominan monofásicas, mientras que las que contienen ambas clases de Ag H se denominan difásicas (Rycroft, 2013).

- Antígeno K: es un antígeno termolábil que se encuentra en algunas especies de salmonelas. Es un tipo especial de antígeno capsular, es decir, es un antígeno de superficie de la clase K que le confiere virulencia a la cepa que lo contiene. Está presente en la superficie celular, probablemente en una posición más superficial al Ag O, ya que bloquea la aglutinación producida por los antisueros contra el Ag O, es decir envuelve y enmascara a los antígenos somáticos (Rycroft, 2013).

4.1.3. Patogénesis y virulencia

Los tipos de enfermedad causadas por los serotipos de *Salmonella* se pueden dividir en dos grandes categorías; los que permanecen localizados en el tracto intestinal y los que están asociados con la diseminación sistémica de la bacteria (Gast, 2013).

La patogénesis de la infección por *Salmonella* spp. comienza con la introducción de las bacterias al organismo por vía oral, generalmente por ingestión de alimento o agua contaminadas con heces de animales infectados. En su ingreso al tracto gastrointestinal la bacteria resiste al pH del estómago, llegan al intestino donde resiste sales biliares y peristaltismo, para adherirse e ingresar a las células que recubren el epitelio intestinal (Velge *et al.*, 2012).

La adherencia de la bacteria es mediada por diversas estructuras denominadas adhesinas, dentro de ellas están fimbrias, flagelos, lipopolisacárido (LPS) y cápsulas. Estas estructuras reconocen receptores presentes en las células de los hospederos con una especificidad de unión, además contribuyen a la resistencia de la pared celular bacteriana a los ataques y digestión de los fagocitos del hospedero (Velge *et al.*, 2012).

Luego de la adherencia, el paso de la bacteria a través de la pared intestinal se inicia por el mecanismo de transcistosis, esto es, la invasión de enterocitos o células M por su porción apical, con el fin de llegar al espacio intersticial de la lámina propia (Muller *et al.*, 2012). *Salmonella* envía señales a las células epiteliales que inducen reordenamientos de su citoesqueleto dando lugar a la formación de ondulaciones (“ruffling”) en su superficie como respuesta al contacto con la bacteria, éste arreglo celular contribuye en la penetración de la bacteria a los enterocitos (Velge *et al.*, 2012).

Una característica esencial de la patogenicidad de *Salmonella* es su interacción con las células fagocíticas y no fagocíticas. La entrada de la bacteria a las células del hospedero es crítica para su supervivencia y el establecimiento de enfermedad. La capacidad de invasión de *Salmonella* a células intestinales no fagocíticas y macrófagos, es mediada por los productos de la expresión de varios genes, denominadas islas de patogenicidad, éstas codifican factores específicos de virulencia que median el proceso (Quinn *et al.*, 2002).

Dentro de la lámina propia, la bacteria es fagocitada por diferentes células (macrófagos, células dendríticas y células polimorfonucleares) diseminándose rápidamente a través de la linfa llegando a ganglios linfáticos mesentérico y a través del torrente sanguíneo alcanzando bazo e hígado (Salcedo *et al.*, 2001) sin embargo, se han observado diferentes comportamientos dependiendo del serotipo y el anfitrión. Las razones por las que algunos serotipos de *Salmonella* se limitan al intestino, mientras que otros translocan a órganos distales siguen sin estar claros (Velge *et al.*, 2012).

En cuanto a la virulencia tres toxinas juegan un papel importante en salmonelas. 1) Las enterotoxinas, son las responsables de inducir una respuesta secretora por las células epiteliales que se traduce en la acumulación de líquido en el lumen intestinal, provocando diarrea en el hospedero. 2) Las endotoxinas, son parte de la membrana externa bacteriana y se encuentran asociadas al lipopolisacárido (LPS). Si esta toxina es liberada en el torrente

sanguíneo de algún animal infectado puede producir fiebre, y 3) citotoxinas, asociadas a la superficie celular, éstas inhiben la síntesis proteica de la célula hospedadora y se implican en la adherencia a las células epiteliales (Salyers y Whitt, 2002; Gast, 2013).

4.1.4. Epidemiología

En los años 60', tras la intensificación de la producción avícola, la tifosis aviar (*S. Gallinarum*) y la pullorosis (*S. Pullorum*), ambas enfermedades específicas de aves, constituían un grave problema clínico que cursaba con una elevada mortalidad en planteles comerciales. Estas patologías al ser producidas por serotipos restringidos a las aves, fueron mantenidas bajo control gracias al establecimiento de programas específicos de monitoreo y control. Sin embargo, a mediados de los años 80' comienzan a cobrar importancia en la avicultura las infecciones causadas por serotipos no adaptados a un hospedador específico (no tifoideos), que a diferencia de los serotipos restringidos a aves éstos pueden afectar a un amplio rango de hospedadores lo que complica la aplicación de programas de control. A esto se le suma el hecho de que las serovariedades no tifoideas de *Salmonella* en las explotaciones avícolas, suelen cursar de manera subclínica, lo que dificulta su detección (Fica *et al.*, 2001; Suárez, 2003).

Por otro lado, *Salmonella* tiene la capacidad de sobrevivir y multiplicarse en los macrófagos, por lo que evade la respuesta humoral. Este hecho le permite persistir en el hospedador, dando lugar a portadores asintomáticos que pueden excretar la bacteria en las heces durante largos periodos de tiempo. En las aves, aparte de la contaminación horizontal de sus productos (huevo y carne), algunos serotipos como *S. Enteritidis* tienen la capacidad de contaminar de forma endógena al huevo durante su formación por vía transovárica (Keller *et al.*, 1995).

Las especies de *Salmonella* no son parte de la flora intestinal normal de las aves. Pollos y pavos pueden adquirir la infección en la granja, por numerosos factores como la presencia de aves silvestres, roedores, insectos, personal u otras aves portadoras asintomáticas que excreten la bacteria intermitentemente dentro de un lote, además del consumo de alimentos o agua contaminada (Suárez, 2003; David y Wales, 2010; Russel, 2013).

Aunque su hábitat principal es el tracto gastrointestinal de animales, *Salmonella* se caracteriza por su habilidad de sobrevivir y multiplicarse dentro de un amplio rango de

sustratos y condiciones ambientales, siendo resistente al calor bajo condiciones de sequía o baja disponibilidad de agua (Gast, 2013). La bacteria puede permanecer viable en el material fecal durante años y puede transmitirse a través de todo aquello que haya sido contaminado por las heces (ISP, 2012).

Algunos factores que influyen en el curso de la infección son la edad de las aves, la dosis infectiva, la vía de infección y el serotipo de la bacteria, además de circunstancias que producen estrés en los animales, como la mala ventilación, alta densidad de población o enfermedades concomitantes. Estos factores pueden contribuir al desarrollo de una infección sistémica con posibles graves pérdidas en aves jóvenes. Generalmente, después de la recuperación las aves siguen excretando *Salmonella* en las heces, considerándolas como un vector potencial de los microorganismos (Gast, 2013).

4.2. *Salmonella* en aves comerciales

Las aves de corral infectadas se encuentran entre los reservorios más frecuentes de salmonelas que se relacionan con ETAs en seres humanos, siendo aislados desde lotes de aves comerciales el 10% del total de los serotipos de la especie *enterica*. La mayoría de los aislados de *Salmonella* que se encuentra en aves de corral pertenecen a los serogrupos B, C o D (Gast, 2013).

Si bien las aves jóvenes son más susceptibles a la colonización por *Salmonella* spp, ésta se puede introducir potencialmente en todas las etapas de producción. La salmonelosis producto de salmonelas paratíficas (PT) en aves comerciales pueden resultar en infecciones agudas o crónicas, pero muy probablemente darán lugar a infecciones subclínicas, con el riesgo de la contaminación cruzada de sus canales durante la faena (Dunkley *et al.*, 2009; Gast, 2013).

Las infecciones por *Salmonella* pueden presentarse en las aves comerciales en diferentes edades, sin embargo parecen tener el máximo impacto en las aves más jóvenes. El hecho de que las aves jóvenes sean más susceptibles a la infección por *Salmonella* que las adultas puede atribuirse en parte, a que su tracto gastrointestinal no está bien colonizado al nacimiento y por lo tanto, es más susceptible a la colonización por patógenos tales como *Salmonella*. Una infección por esta bacteria al día de eclosión causa un daño significativo a la mucosa gastrointestinal, que hace más susceptible a las aves a diferentes enfermedades gastrointestinales (Porter, 1998). La integridad inmunológica de las aves

jóvenes también puede dar lugar a respuestas inmunes menos robustas, por tanto, una menor eliminación de *Salmonella* en comparación con las aves adultas (Beal *et al.*, 2004).

4.2.1. Situación en pavos comerciales

El primer caso de infección con salmonelas PT en pavos, fue informado por Pfaff (1921) en los Estados Unidos. Luego Pomeroy y Fenstermacher (1939) observaron también infecciones en pavitos en una granja comercial de Minnesota en 1932. Hinshaw y McNeil (1940) encontraron que *S. Typhimurium* representaba aproximadamente el 50% de los brotes de salmonelas PT en pavos comerciales que habían sido muestreados en San Diego, Estados Unidos, siendo éste uno de los serotipos hasta la fecha más asociado a esta especie.

Han sido aislados desde pavos numerosos serotipos de *Salmonella*, sin embargo su número exacto es difícil de estimar. Algunos serotipos pueden ser predominante en un tiempo, en una región o en algún país y luego desaparecen para ser reemplazado por otro serotipo (Hafez, 2013).

La epidemiología de los serotipos de *Salmonella* en pavos aún no está del todo claro, ya que los aislados encontrados en piensos de alimentos para aves, carcasas de pavos faenados y brotes de salmonelosis en humanos, no han mostrado mayor asociación (EFSA, 2008). Si bien los estudios para salmonelas en granjas comerciales de aves han sido enfocados principalmente en broilers, hace algunos años se ha comenzado una vigilancia mayor en lotes de pavos comerciales.

Un estudio reciente de Hafez (2011), monitoreó *Salmonella* en 10.243 lotes de pavos de engorda en Alemania entre 2001 y 2009. Estos mostraron una reducción continua en la prevalencia de *Salmonella* durante ese periodo de tiempo, de acuerdo al mejoramiento del manejo de medidas sanitarias. De 2002 a 2004 se observó una fuerte reducción del 18,1% en lotes positivos a un 5%. Entre 2007 y 2009 el número de lotes positivos vario de un 3,2% a un 5%.

Papadopoulou *et al.*, (2009) resumieron los datos de vigilancia en lotes de pavos en Gran Bretaña para *Salmonella* desde 1995-2006 y las compararon con las tendencias de otros tipos de producciones y en alimento para animales. *S. Typhimurium* fue el serovar predominante encontrado en las muestras. El mayor brote de este serotipo en pavos, en Gran Bretaña, fue

a final de 1990 y se produjo en paralelo con la epidemia de *S. Typhimurium* DT104 en otras especies de ganado, especialmente ganado vacuno y porcino.

La UE (incluyendo a Noruega) llevó a cabo un estudio inicial para determinar la prevalencia global de *Salmonella* en pavos en los distintos países miembros. Este estudio proporcionó la base científica para establecer un objetivo de reducción comunitario para salmonelas en lotes de pavos. El muestreo tuvo lugar entre octubre de 2006 y septiembre de 2007, e incluyó poblaciones de reproductoras y pavos de engorda de los 23 estados pertenecientes.

Los datos fueron analizados por la EFSA, la cual determinó la prevalencia de *Salmonella* spp. en los estados correspondientes. Los resultados fueron publicados el año 2008 y determinaron que la prevalencia de *Salmonella* spp. para toda la UE fue de un 13,6% en poblaciones de reproductoras de pavos y de un 30,7% para las poblaciones de engorda de pavos (EFSA, 2008).

Otro resultado de este estudio mostró una correlación aparentemente baja entre los serotipos de *Salmonella* más aislados en pavos (*S. Saintpaul*, *S. Kottbus*, *S. Heidelberg* y *S. Derby*) y los serotipos aislados a partir de los casos de salmonelosis en humanos. Esto sugiere que el papel de estas aves como fuente de infecciones por *Salmonella* en humanos es menor que el papel que desempeñan otras especies animales, como pollos de engorde y las gallinas ponedoras (*Gallus gallus*). No obstante, los serotipos *S. Typhimurium*, *S. Hadar* y *S. Derby* encontrados en pavos, a menudo se encuentran implicados en casos de salmonelosis en humanos con altas tasas de hospitalización, por lo cual, no se debe pasar por alto la posible implicación de la carne de pavo como fuente de *Salmonella* para las personas (EFSA, 2008).

En el caso de las fuentes de contaminación en plantales de pavos comerciales, estas son numerosas y por lo general similares a las identificadas en pollos broilers. En concreto, los estudios en los que se han identificado los serovares de *Salmonella* presentes en las diferentes fases de la cadena de producción muestran que en algunos casos hay coincidencia entre los serovares aislados en lotes de pavos reproductores y de engorde. Por el contrario, hay otros serovares que únicamente se aíslan en pavos de engorde indicando la importancia de otras fuentes de infección, como pienso contaminado o bioseguridad pobre (Davies y Wales, 2010).

4.2.2. Principales fuentes de contaminación dentro de un plantel

Una vez detectado el patógeno dentro del plantel se hace complejo su control debido a las numerosas fuentes potenciales de contaminación que existen. Dentro de éstas las más importantes son la inclusión de lotes de aves nuevos contaminados a las granjas, el alimento consumido por las aves y la contaminación ambiental debido a diversos vectores que actúan como reservorios y diseminan la bacteria dentro de los galpones (Russell, 2012).

4.2.2.1. Contaminación de lotes de pavitos recién nacidos

La transmisión de *Salmonella* en pollitos recién nacidos puede ocurrir por vía vertical y/o horizontal, mientras que su propagación sucede por vía horizontal.

La transmisión vertical ocurre cuando el huevo es contaminado desde ovarios y oviductos infectados durante su formación. La bacteria se aloja en los tejidos reproductivos y puede infectar el huevo, contaminando los folículos en su fase pre-ovulatoria, durante su pasaje por el oviducto o en su paso a través de la cloaca. *S. Enteritidis* es el serotipo más capaz de alcanzar la invasión de tejidos reproductivos y como consecuencia a los huevos de aves comerciales (Keller *et al.*, 1995; Miyamoto *et al.*, 1997).

Los pavos son la única especie comercial completamente dependiente de la inseminación artificial (IA) para la producción de huevos fértiles. Debido a las diferencias de tamaños entre machos y hembras, causada por la avanzada selección genética de la especie, resulta imposible apareamiento de manera natural (Iaffaldano *et al.*, 2010). En base a esta premisa, numerosos estudios han demostrado la posibilidad de transmisión de *Salmonella* spp. a hembras, huevos y polluelos por el uso de semen contaminado (Donoghue *et al.*, 2004; Iaffaldano *et al.*, 2010).

La transmisión horizontal, ocurre cuando *Salmonella* penetra la cáscara del huevo luego de la oviposición. Al contaminarse la superficie del huevo con material fecal, proveniente desde la cloaca y/o el nido, *Salmonella* puede penetrar los poros del cascarón a medida que este se va enfriando y antes de que se seque la cutícula (Keller *et al.*, 1995).

Las necedoras son una de las principales fuentes para la transmisión horizontal temprana en pollitos/pavitos. La diseminación horizontal de *Salmonella* ocurre durante la eclosión, cuando se incuban huevos contaminadas con huevos libres de *Salmonella* (Cason *et al.*,

1994). Las aves recién nacidas pueden contagiarse con aerosoles que contengan la bacteria (Baskerville *et al.*, 1992; Agabou, 2009) o bien ésta también puede propagarse a través de la planta de incubación mediante los ductos de ventilación o nacedoras sin mantenimiento y desinfección adecuada (Gast, 2013).

4.2.2.2. Vectores y medio ambiente

Durante la crianza la infección se transmite horizontalmente por contacto directo entre los pavos infectados y no infectados, y por contacto con ambientes contaminados, a través de la ingestión o inhalación de la bacteria. Posteriormente, hay muchas posibilidades de propagación lateral de los organismos a través de vectores y fómites (Hafez, 2013).

La transmisión se produce con frecuencia a través de la contaminación fecal de alimentos, agua, equipo, medio ambiente y el polvo en el que la bacteria puede sobrevivir por un periodo prolongado de tiempo (Hafez, 2013). La amplia gama de huéspedes que posee *Salmonella*, crea numerosos reservorios para la infección de las aves.

Vectores biológicos son capaces de introducir, difundir y amplificar el número de bacterias en lotes de aves. Los insectos, como moscas y escarabajos, pueden llevar a los organismos de salmonela en su interior sin que ocurra una multiplicación de ellos o también en ocasiones externamente (Gast, 2013).

Los roedores, especialmente ratas y ratones, son fuentes particularmente importantes de contaminación por *Salmonella*, especialmente de *S. Enteritidis*, en planteles avícolas. Es por esto que un control intensivo y sostenido de plagas, es esencial para la eficacia de los programas de bioseguridad del plantel (Gazdzinski, 2004).

La contaminación de la cama durante el almacenamiento puede ser una fuente importante de *Salmonella* en la industria del pavo. Se deben tomar precauciones especialmente con los materiales que constituirán la cama ya que estos, pueden estar contaminados desde su origen. La humedad de la cama está directamente relacionada con la contaminación por *Salmonella* en los pavos, ya que propicia las condiciones para la multiplicación de la bacteria. Se ha encontrado que la humedad superficial bajo la cama puede conducir a contaminación por *Salmonella* en su superficie (Gazdzinski, 2004).

Después de haber sido introducida la bacteria a un plantel esta puede multiplicarse y persistir, en el ambiente (Davis y Wales, 2010). Si bien el medio ambiente no es normalmente un sitio primario de multiplicación para *Salmonella*, la capacidad de sobrevivencia de la bacteria hace que ésta pueda mantenerse por largos periodos de tiempo en ambientes que sean propicios para su crecimiento y multiplicación. En efecto, se ha descrito que salmonela puede sobrevivir en la cama de pavos hasta 9 meses después que se haya retirado una parvada infectada (Hoover *et al.*, 1997).

Es por esto que la limpieza y desinfección adecuada de los galpones, el control de plagas y las medidas de bioseguridad son factor fundamental en la sanidad de los siguientes lotes que se aloje en un plantel.

4.2.2.3. Contaminación del alimento

Probablemente una de las fuentes más comunes de propagación de los organismos es el alimento. *Salmonella* puede persistir por mucho tiempo en una amplia gama de materias primas (Jones, 2011) y es posible aislarlo en una amplia variedad de alimentos destinados a los animales, tanto de origen vegetal y sobretodo animal (Creus, 2005).

Los productos de naturaleza proteica tales como las harinas de carne hueso y de pescado, han sido asociados tradicionalmente con mayores tasas de contaminación por *Salmonella*, sin embargo en la actualidad los eficientes procesos de producción han logrado reducir la contaminación en la planta de origen (Creus, 2005).

En general, los ingredientes vegetales suelen presentar menores rangos de contaminación por salmonelas en comparación a los de origen animal, sin embargo la contaminación de ingredientes vegetales se centra principalmente en los concentrados proteicos como las harinas oleaginosas (soya y girasol), en cambio los granos de cereal presentan un menor riesgo de contaminación (Jones, 2011).

Willinger *et al.*, (1986) y Hafez *et al.*, (1997) determinaron tasas de contaminación por salmonelas en piensos de alimentos para aves en Alemania. El resultado de este estudio fue que entre un 3% a 9% de los piensos muestreados resultaron positivos a salmonelas. Prim (1998) encontró que los alimentos terminados para aves representan una de las principales fuente de contaminación por salmonelas en lotes de pavos comerciales. Morrow (2001)

examinó las prácticas actuales para el control de salmonelas en la producción de carne de aves de corral comerciales y observó que es imposible producir productos libres de *Salmonella* sin abordar la descontaminación de alimentación.

Sin bien la prevención de la contaminación de los alimentos por salmonelas es una preocupación constante dentro de la industria, algunas condiciones en galpones comerciales pueden permitir que las pocas bacterias presentes en los alimentos se puedan reparar y multiplicar rápidamente en condiciones ambientales propicias (Jones y Richardson, 2004).

Los grandes volúmenes de alimentos producidos, la falta de uniformidad en la que se distribuye la bacteria y las pocas células presentes a menudo dañados (deshidratadas) especialmente luego de procesos térmicos, hacen que evaluar la contaminación por salmonelas de manera precisa sea difícil (Morrow, 2001; Jones y Richardson, 2004).

La eliminación de *Salmonella* en los piensos implica generalmente la aplicación de procedimientos térmicos como la peletización y extrusión del alimento y/o la adición de inhibidores químicos.

En 1995 Veldman *et al.*, estudiaron la contaminación por *Salmonella* en piensos holandeses. Encontraron que el 21% de las muestras de alimento sin tratamientos térmicos fue positivo a *Salmonella* en comparación con un 1,4% de las muestras de alimento peletizado. Estos resultados mostraban una diferencia del 93,3% en las tasas de contaminación de ambos productos. También sugirieron que las temperaturas de peletizado deben ser mayores a 80°C para reducir a la bacteria por debajo de los niveles detectables.

La peletización reduce, pero no elimina por completo a las salmonelas, por lo cual no asegura la descontaminación total de alimento. La temperatura y el tiempo requeridos para eliminar a la bacteria están inversamente relacionados. Por ejemplo, se puede destruir el mismo número de células de salmonelas en piensos calentados a 82°C durante 40 segundos que en piensos calentados a 76°C durante 160 segundos. Es importante recordar también que estas bacterias no están distribuida uniformemente en los piensos, por lo cual la penetración del calor, humedad, temperatura, tiempo utilizado debe ser efectiva. (Jones, 2011).

La protección del alimento mediante inhibidores químicos para evitar la recontaminación del alimento en la fábrica, durante el transporte o bien en las mismas granjas, es un punto importante a considerar.

Los productos químicos constituyen un medio primordial para el control de salmonelas en los alimentos para animales. Se ha demostrado que el calor procedente de la peletización o extrusión incrementan la eficacia de los inhibidores químicos (Jones, 2011).

En cuanto a los productos químicos que se utilizan en la intervención del alimento son principalmente ácidos orgánicos, formaldehidos o una combinación de estos dos compuestos, que limitan la contaminación bacteriana por la acidificación del medio o inhibición del crecimiento bacteriano (Jones, 2011).

4.3.Diagnóstico

4.3.1. Métodos diagnósticos

Aunque las observaciones clínicas pueden sugerir una infección por salmonelas en las aves, por lo general éstas se presentan asintomáticas. El diagnóstico final depende del aislamiento e identificación de la bacteria y/o detección de anticuerpos mediante exámenes serológicos. Sin embargo, muchos factores, tales como la regulación gubernamental, el objetivo de los exámenes, el análisis de costo-beneficio, instalaciones, equipos, disponibilidad de reactivos y experiencias del personal, son influenciados y en cierta medida limitan la elección de los métodos de laboratorio (Hafez, 2013).

El uso de métodos de cultivo convencionales, requieren de 48 a 96 horas (y aún más tiempo para algunos protocolos) pero es uno de los métodos a elección en planes de control de patógenos. La detección serológica de anticuerpos específicos también se emplea a veces como una prueba rápida de detección preliminar para identificar lotes de aves que hayan estado expuestos a las salmonelas (Hafez, 2013).

4.3.1.1.Aislamiento e identificación bacteriana

Por lo general, *Salmonella* puede ser detectado en huevos incubados, embriones, hígado, bazo, riñones, contenido intestinal, yema no absorbida, heces y muestras ambientales como tómulas de arrastres, cama y polvo.

El tipo, la cantidad de muestra y las técnicas de cultivo (medios, cantidad de inóculo, temperatura y tiempo de incubación) pueden influir en la eficacia del aislamiento. Es por esto que la Organización Mundial de la Salud (OMS) proporciona directrices sobre la detección y control de *Salmonella* en aves comerciales, estableciendo una serie de manuales de procedimiento para la identificación y aislamiento de la bacteria en diferentes matrices.

Aunque se aplican diversas condiciones de cultivo, aislamiento e identificación de salmonelas, la mayoría de los métodos siguen un esquema general que implica cuatro etapas principales. En primer lugar, una etapa no selectiva de pre-enriquecimiento que estimula el crecimiento de un número pequeño de salmonelas o reanima éstas células si se encuentran dañadas. En esta etapa se recomienda el uso de agua peptonada tamponada para la mayor parte de protocolos existentes (SAG, 2009)

En segundo lugar, una etapa de enriquecimiento selectivo el cual permite la expansión de la población de salmonelas existentes, mientras suprime el crecimiento de otras bacterias que se encuentran concomitantes. En esta etapa se utilizan diferentes medios dependiendo del tipo de muestra a analizar, sin embargo el más común es Rappaport-Vassiliadis (SAG, 2009)

En tercer lugar, se utilizan placas de medios selectivos que permitan el crecimiento de colonias aisladas, aquí se utilizan generalmente dos agares uno principal y otro complementario. En el caso de encontrar colonias características sospechosas de *Salmonella* se realiza el cuarto paso, que consiste en someter a la colonia a una serie de pruebas bioquímicas con el fin de determinar si la colonia pertenece realmente al género. Luego de esto en caso, de querer conocer el serogrupo se realizan pruebas serológicas con antisueros somáticos y flagelares (SAG, 2009).

Prácticamente todos los métodos propuestos requieren las últimas 2 etapas. Sin embargo las etapas de enriquecimiento varían según la naturaleza de la muestra.

4.3.1.2. Técnicas serológicas

La infección por *Salmonella* generalmente estimula la producción de anticuerpos circulantes en sus hospederos, es por esto que diferentes técnicas serológicas se pueden usar para detectar la infección. La ventaja de las pruebas serológicas sobre los exámenes bacteriológicos, es que los anticuerpos en el suero de las aves infectadas persisten durante un tiempo más largo,

al contrario de las bacterias que son eliminadas de forma intermitente en las heces de las aves. Sin embargo algunas aves con respuesta positiva serológicamente puede que no se encuentren infectadas por salmonelas, mientras que las aves contaminadas en una primera etapa de infección puede ser serológicamente negativas (Hafez, 2013)

El ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) proporciona una herramienta satisfactoria para el examen serológico de suero de aves y para yema de huevo, en anticuerpos para *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Gallinarum* y *S. Pullorum* (Barrow *et al.*, 1996).

4.4. Métodos de Control

Ninguna medida individual o aislada en el control y erradicación de salmonela es efectiva al 100%, es por esto que la suma de intervenciones a diferentes niveles tiene más éxito.

Tradicionalmente, se han realizado diferentes tipos de tratamientos para el control de la salmonelosis, entre los cuales se incluyen los antibióticos (actualmente utilizados en muy baja proporción), la administración de vacunas vivas e inactivadas, la intervención del alimento con tratamientos térmicos (peletización) y tratamientos químicos (ácidos orgánicos y formaldehído) y la exclusión competitiva con el uso de probióticos. La utilización de estos métodos de control debe acompañarse con una mejora en el nivel de bioseguridad del plantel para obtener resultados exitosos.

4.4.1. Programa de bioseguridad

La bioseguridad definido como el conjunto de normas, protocolos y prácticas de manejo que se orientan a prevenir la exposición de microorganismos causantes de enfermedades que puedan infectar a un grupo de animales confinados, son un punto fundamental en la producción animal.

El cumplimiento de las normas básicas de bioseguridad, son una manera efectiva de mantener bajo control a patógenos tales como *Salmonella* y en general la situación sanitaria de una explotación comercial de aves. La mala aplicación de estas normas básicas pueden repercutir en la permanencia del agente patógeno en la explotación (Gazdzinski, 2004).

Si bien el nivel de bioseguridad deber ser lo más alto posible, es difícil y costoso mantener estos estándares en todos sus niveles, por lo cual estas medidas son acotadas a puntos críticos dentro de la cadena de producción. Por ejemplo la mantención de altos niveles de bioseguridad en lotes de reproductoras (Gazdzinski, 2004).

Sin embargo, hace algunos años el concepto de mantener los alimentos libres de *Salmonella* desde el origen del producto hasta su final, ha repercutido en los programas de bioseguridad de la producción avícola (Hafez, 2013).

La limpieza es un criterio fundamental a tener en cuenta y forma parte de la columna vertebral donde residen el resto de medidas de bioseguridad, como son la desinfección, la desinsectación y el control de plagas, etc. Estos tres puntos deben integrarse en un programa global para el control de *Salmonella* (Russel, 2012).

El vacío sanitario y el sistema de “*all-in / all-out*” son unos de los principios más efectivos en la bioseguridad que deben adoptarse en granjas comerciales de aves. El vacío sanitario correspondiente al periodo de “descanso” de la explotación, comienza cuando ha finalizado la limpieza, desratización, desinsectación y desinfección y termina con la entrada del nuevo lote, de tal manera de asegurar que los pabellones no posean microorganismos patógenos que puedan afectar a temprana edad a las aves.

El método “*all-in / all-out*”, es utilizado en muchos países y engloba la idea de tener un ciclo completo de crecimiento de aves, desde el momento de su ingreso hasta su edad de mercado. Una vez enviados los animales a la faena, los galpones son limpiados y preparados para el ingreso de un nuevo lote de aves, luego del vacío sanitario, de tal forma que las aves posean siempre la misma edad al volver a llenar los pabellones de un sector o una granja. Esto debido a que la existencia de aves de múltiples edades en una granja, constituyen un grave riesgo en el contagio de enfermedades entre las aves (Hafez, 2013).

Los procesamientos operativos que corresponden al control de personas, alimento, equipo y otros animales, deben ser controlados con el fin de evitar la introducción y diseminación de enfermedades en la granja, además de la utilización de filtros sanitarios para vehículos y personas (Gazdzinski, 2004).

4.4.2. Vacunación

La vacunación contra *Salmonella*, se utiliza más eficazmente como un componente dentro de los programas integrales de reducción de riesgos y bioseguridad dentro de un plantel comercial avícola.

Si bien los esfuerzos de vacunación en un principio se centraron en vacunas contra *S. Gallinarum* y *S. Pullorum*, en los últimos años ha habido un creciente interés en la vacunación de las aves de corral contra los serotipos de mayor relevancia para la salud pública, como *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* (Barrow y Methner, 2013).

La vacunación de aves comerciales resulta en un aumento adicional de la resistencia contra la infección por salmonelas en relación a las aves con una flora intestinal madura. El objetivo de la vacunación es: (i) la reducción o prevención de la colonización intestinal, lo que resulta en una menor excreción vía fecal y menor contaminación de la cáscara del huevo en la ovoposición; y (ii) para prevenir la infección sistémica, con el cual se disminuye posibilidad de que la bacteria se localice en los tejidos reproductivos (Barrow y Methner, 2013).

Aunque el conocimiento relacionado con el curso de la respuesta innata y adaptativa a diversos tipos de infección por *Salmonella* está empezando a aumentar (Smith y Beal, 2008), el desarrollo de vacunas para uso en aves comerciales ha sido casi exclusivamente empírica.

Dentro de las vacunas comerciales se encuentran dos grupos, vacunas vivas atenuadas y vacunas inactivadas. En general, está aceptado que las vacunas vivas atenuadas de *Salmonella* son más eficaces contra la infección intestinal y sistémica que las vacunas inactivadas (Hafez, 2013).

La vacunación de aves con vacunas vivas atenuadas por vía oral, lideran la inducción de una fuerte inmunidad en aves a nivel sistémico y de mucosas. La protección conferida por la vacunación oral con cepas mutantes de salmonelas ha demostrado que induce protección contra la infección causada por la misma serovariedad o serovariedades que están estrechamente relacionadas con la cepa vacunal, con una reducción de la colonización del tracto gastrointestinal. Esto se debe a un mecanismo de inhibición de la colonización o la exclusión competitiva ejercida por la cepa vacunal contra una cepa de tipo salvaje que pertenece a la misma serovariedad de la cepa vacunal o bien a otra serovariedad distinta

aunque estrechamente relacionada por compartir un antígeno somático “O” que es similar o igual al de la cepa vacunal (Barrow y Methner, 2013).

Las vacunas inactivadas (bacterinas con adyuvantes) administradas vía subcutánea o intramuscular inducen respuestas inmunes duraderas, además proporcionan inmunidad maternal a la progenie de las aves vacunadas, reduciendo así la probabilidad de infecciones en las primeras semanas de vida. Por lo cual son utilizadas en lotes de reproductoras principalmente (Barrow y Methner, 2013).

4.4.3. Intervención en los alimentos

4.4.3.1. Tratamientos térmicos

Se ha demostrado que los efectos de tratamientos térmicos sobre alimentos, disminuyen las cargas bacterianas. Jones y Richardson (2004), reportaron que el calentamiento del alimento entre 80°C y 85°C durante un minuto en la mayoría de los casos elimina a *Salmonella*, sin embargo el nivel de eliminación es dependiente del nivel de contaminación inicial. Además se ha descrito que ciertos serotipos de salmonelas pueden ser más resistentes a altas temperaturas, lo cual explicaría la presencia de estas bacterias luego de la aplicación de tratamientos térmicos (Habimana *et al*, 2010).

El propósito de la peletización y la extrusión en un principio fue mejorar las cualidades de manejo y consumo de alimento, no así mejorar la higiene de éste, sin embargo su potencial respecto a la disminución de cargas bacterianas fue reconocido y aplicado actualmente. Pese a esto los límites de temperatura y tiempo del proceso son guiados principalmente por las necesidades nutricionales, debido a que la exposición de los alimentos a altas temperaturas, puede tener efectos negativos en la calidad de ciertos ingredientes afectando aminoácidos y vitaminas (Wierup, 2013).

Aunque la peletización y la extrusión son medios efectivos para controlar las salmonelas, los procesos son más eficaces cuando se aplican correctamente. El control efectivo de bacterias en piensos animales, empleando peletización o extrusión incluyen: penetración del calor, humedad, temperatura, tiempo y protección para evitar la recontaminación. La aplicación de

calor es más efectiva cuando todas las partículas dentro del lote de alimento se calientan hasta alcanzar la temperatura fijada durante un período de tiempo adecuado (Jones, 2011).

No es posible especificar un rango de temperatura y tiempo mínimo en que todas las condiciones sean suficientes para eliminar a *Salmonella* en la producción de piensos industriales. Es por esto que la vigilancia de salmonelas y enterobacterias, más la aplicación de productos químicos, es la forma utilizada para asegurar la eficiencia del proceso en la industria alimentaria (van Asselt y Zwietering, 2006).

4.4.3.2. Tratamientos químicos

En años recientes los acidificantes se han convertido en aditivos alimenticios sumamente comunes para el tratamiento y la prevención de patógenos intestinales, como resultado de los controles existentes en la aplicación de antibióticos

Estos métodos químicos se han establecido para evitar la recontaminación del alimento terminado. Ácidos orgánicos de cadena corta como, ácido fórmico y ácido propiónico, se han utilizado recientemente como aditivos para piensos. En términos generales los acidificantes tienen dos mecanismos de acción. Uno representado por la disminución del pH del tracto digestivo y el otro consistente en un efecto directo cuando se ponen en contacto con el patógeno a nivel del tubo gastrointestinal (Abdullah *et al*, 2012).

Hay dos aplicaciones fundamentalmente diferentes, descontaminación del alimento y prevención de la contaminación del alimento terminado. Para la descontaminación del alimento se necesita dosis muy altas de acidificación (6% de ácido propiónico); en cambio para la prevención de la contaminación se utilizan dosis más bajas de este ácido (0,5 a 0,7%) (Cherrington *et al.*, 1991). El uso de altos niveles de ácidos orgánicos puede ser costoso o corrosivo para el equipo de molturación o de alimentación, puede afectar a la palatabilidad del pienso y puede interferir con la utilización de vitaminas (Jones, 2011).

Se ha demostrado que estos acidificantes son altamente útiles en el efecto de reducción de la colonización de *Salmonella* en las aves que consumen el alimento tratado. Sin embargo también han reportado la presencia de cepas patógenas de salmonelas que pueden desarrollar resistencia a los ácidos, cuando se exponen a pHs bajos por períodos de tiempo prolongados,

lo que representa una limitación importante en el caso de varios acidificantes (Cherrington *et al.*, 1991).

El formaldehído es el único producto químico aprobado por la “*Food and Drugs Administration*” (FDA), para el control de salmonelas en piensos. Éste producto es efectivo contra una amplia franja de organismos y se ha usado durante mucho tiempo en la preservación de los ingredientes de piensos. El 90-95 % del formaldehído aplicado se une casi inmediatamente a las partículas de alimento, sin embargo la eficacia a largo plazo de este producto puede verse limitada en el uso de sistemas abiertos o en depósitos que propicien su disipación. Consecuentemente, muchos productos comerciales basados en formaldehídos contienen también ácidos tales como el propiónico u otros compuestos antimicrobianos para reducir la evaporación (Jones, 2011).

4.4.4. Probióticos

Estos productos son usados mayormente de manera preventiva. Las aves comerciales recién nacidas presenta una alta susceptibilidad a las infecciones, según adquieren más edad se hacen más resistentes. Esta resistencia asociada con la edad se atribuye en gran medida a la adquisición de una microflora intestinal protectora obtenida del medio ambiente (Vicente *et al.*, 2007).

Los probióticos son productos capaces de proliferar en el tracto gastrointestinal produciendo un efecto beneficioso al huésped, mejorando su equilibrio microbiano intestinal y en consecuencia mejorar el crecimiento, la producción y su salud. Estos productos se componen principalmente de lactobacilos, estreptococos, bacterias bífidas, bacilos y levaduras. Los microorganismos son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias potencialmente patógenas mediante la reducción del pH intestinal a través de la producción de lactato, ácido láctico y ácidos grasos volátiles (Mulder, 1996).

Un estudio realizado por Vicente *et al.*, (2007), probó la eficacia de probióticos en la reducción de salmonelas ambiental en lotes de pavos comerciales, dos semanas antes de la faena. Los resultados obtenidos revelaron que la administración de probióticos en combinación con ácidos orgánicos, pueden reducir la contaminación ambiental de *Salmonella* en galpones con lotes de pavos. Sin embargo los probióticos no representan un

tratamiento terapéutico y por lo tanto, no eliminan la infección en las aves ya infectadas como lo hace un antibiótico, razón por la cual idealmente deben usarse en aves libres de salmonelas.

4.5. Programas de control

Los programas tienen como objetivo proteger la salud pública, mediante la consecución de objetivos fijados para este propósito. Abarcan un período de años consecutivos con el fin de reducir la prevalencia de ciertas zoonosis en poblaciones animales en su producción primaria y, cuando sea necesario, en otras fases de la cadena alimentaria. Actualmente la UE posee planes de control que involucran toda la cadena productiva, Chile comienza también a implementar dichas medidas.

4.5.1. Programa de control en la Unión Europea

En el global de la Unión Europea en 2012, se notificaron un total 91.034 casos de *Salmonella* confirmados en seres humanos, lo cual sitúa éste agente como la segunda causa de zoonosis alimentarias en la UE tras *Campylobacter*.

Se ha observado una tendencia significativamente descendente en la última década, como el resultado de una estricta política de vigilancia y control de la bacteria, aplicados a lo largo de toda la cadena alimentaria, que van desde el proceso de cría, transporte y sacrificio, hasta la comercialización de las carne de las aves. Las legislaciones de la UE tienen la intención de aplicar las normas internacionales para el control de *Salmonella* en vista de la protección de la salud pública y facilitar el comercio internacional de alimentos y animales (De Smet y Mäkelä, 2013).

La vigilancia y control de *Salmonella* en Europa se ha llevado a cabo desde 1993 de acuerdo con la Directiva Comunitaria 92/117/CEE, relativa a medidas de protección contra determinadas zoonosis y determinados agentes productores de zoonosis en animales y productos de origen animal, a fin de evitar el brote de infecciones e intoxicaciones procedentes de los alimentos (UE, 1992).

La ambigüedad de esta directiva así como la disparidad de criterios y actuaciones asumidas por los distintos países miembros, ha llevado a la Comisión Europea a establecer una legislación más estricta en el ámbito del control de las zoonosis de transmisión alimentaria.

Así en 2003 se publica el Reglamento (CE) 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo en relación con el control de *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos. Este reglamento establece un control de manera progresiva para diferentes especies animales centrándose en aves *Gallus gallus*, pavos y cerdos. El reglamento obliga a adoptar medidas apropiadas y eficaces para detectar y controlar la presencia de *Salmonella* en todas las etapas de producción, con el fin de disminuir su prevalencia y el riesgo que supone para la salud pública (UE, 2003).

En base a lo anterior se llevó a cabo un estudio inicial en toda la Unión Europea el cual tuvo lugar entre octubre de 2006 y septiembre de 2007. Este estudio determinó la prevalencia de *Salmonella* en las poblaciones de pavos de cría y en poblaciones de pavos de engorde, con el fin de proporcionar una base científica para establecer un objetivo de reducción comunitario para la salmonelas en pavos (EFSA, 2008).

En el análisis se incluyó un total de 532 poblaciones reproductoras de pavos y 3.702 poblaciones de engorda de pavos en la UE. El porcentaje de poblaciones reproductoras que dieron positivo para a *Salmonella* fue del 13,6%, mientras que las poblaciones de engorda presentaron una prevalencia del 30,7% (EFSA, 2008).

Cada estado miembro de la UE debió establecer entonces, un plan nacional con medidas de control que permitan la consecución de estos objetivos de reducción en un plazo de tiempo determinado (EFSA, 2008).

4.5.2. Programa de control en Chile

En Chile existe el Programa Nacional de Control de *Salmonella* spp. en establecimientos comerciales de aves, regulado por el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) este programa se encuentra dentro de los programas voluntarios de control y certificación nacionales. Comenzó en abril del año 2009 y es obligatorio para los planteles adscritos al programa de planteles de aves de corral bajo certificación oficial (PABCO) que exportan y voluntario para las demás empresas que comercializan sus productos a nivel nacional (SAG, 2011).

Este programa establece el muestreo de *Salmonella* spp. en plantas de incubación, granja de reproductoras pesadas y planteles de engorda para pollos y pavos de carne. Para el monitoreo de reproductoras pesadas y plantas de incubación se utilizan tómulas de arrastre en los

galpones que albergan a las reproductoras dos semanas previo a la postura, y muestras de meconio para los pavitos/pollitos recién nacidos.

En el caso de los sectores de pollos/pavos de engorda, se utiliza tórnulas de arrastres en un sector elegido al azar para las aves que estén tres semanas previas al beneficio. En ambos casos la toma de muestras oficial se efectúa por parte del médico veterinario oficial.

Como prueba diagnóstica para todas las muestras recolectadas se utiliza el cultivo bacteriológico según los instructivos autorizados por la OIE (SAG, 2011).

Respecto a los serotipos de salmonelas que monitorea el programa, en el caso de reproductoras de pavos y pavos de engorde son *S. Typhimurium* (serogrupo B) y *S. Enteritidis* (serogrupo D). Ante la detección de cualquiera de estos serotipos las aves serán excluidas definitivamente de la condición de elegibilidad de certificación sanitaria para la UE (SAG, 2011).

El programa procuró tomar muestras en la totalidad de unidades epidemiológicas (UEp) contempladas nacionalmente. En el caso de reproductoras de pavos se consideraron 31 UEp y para engorda de pavos 50 UEp. Los resultados de este programa fueron presentados por el SAG el año 2011 (Loyola, 2011)

La prevalencia de *Salmonella* spp. obtenidas en reproductoras de pavos fue de un 12,5% para el año 2009, con 24 UEp muestreadas, de un 9,6% para el año 2010 y un 6,4% para 2011, ambos años con la totalidad de UEp consideradas (31 UEp). En el caso de engorda de pavos los resultados fueron de un 16,6% para el año 2010, con 12 UEp muestreadas y un 74% para el año 2011, con 39 UEp (Loyola, 2011).

En cuanto a la prevalencia de salmonelas específicas *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, tanto para las UEp muestreadas de reproductoras y engorda de pavos, el resultado fue de 0% para ambos serotipos en los 3 años señalados (Loyola, 2011).

Como se estableció anteriormente, sólo los planteles avícolas adscritos al programa PABCO están sometidos a controles periódicos de detección de salmonelas, en la etapa de producción primaria. Éste estudio de carácter descriptivo realizó una evaluación de la presencia o ausencia de *Salmonella* spp., en un plantel comercial de pavos, no adscrito al programa PABCO.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Evaluar la condición sanitaria de un plantel comercial de pavos, respecto a la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. en su producción primaria.

5.2. Objetivos Específicos

1. Determinar la presencia de *Salmonella* spp. en el meconio de lotes de pavitos de 1 día.
2. Determinar la presencia de *Salmonella* spp, en la cama de galpones que alojan lotes pavos en las etapas de crianza y engorda.
3. Determinar la presencia de *Salmonella* spp. en el alimento de lotes de pavos en etapas de crianza y engorda.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Descripción del plantel avícola y aves bajo estudio.

El plantel avícola evaluado en este estudio, es un criadero comercial de pavos de engorda, ubicado en la VI región del Libertador General Bernardo O'Higgins.

El sistema productivo del plantel cuenta con dos etapas: a) crianza y b) engorda.

- a) La crianza va desde la llegada de los pavitos a los galpones al día de edad, hasta cumplir las seis semanas (42 días). Esta etapa se desarrolla en dos sectores, Rosedal y Quilapilún, con una capacidad para 8 lotes de pavos cada uno.
- b) La etapa de engorda va desde las siete hasta las quince semanas de edad, tanto para hembras como para machos. La engorda se desarrolla en tres sectores San José, San Juan y Cerrillos, donde cada sector posee una capacidad para 5 lotes de pavos.

Cada lote está compuesto por 5.000 pavos entre hembras y machos, los cuales llegan semanalmente desde una planta de incubación externa ubicada en la V región Valparaíso.

6.2. Metodología de la toma de muestras

Las muestras de este estudio se obtuvieron en tiempos diferentes (Muestreo Nro.1 y Muestreo Nro.2) en cada sector del plantel (dos sectores de crianza y tres sectores de engorda) correspondientes a dos ciclos productivos diferentes.

Las muestras recolectadas corresponden a lotes de aves de 1 día y 6 semanas de edad en la etapa de crianza y 15 semanas de edad en la etapa de engorda.

En cada muestreo se recolectó un "set" de diferentes muestras correspondiente para los sectores de la etapa de crianza a: 1) tómulas de arrastre, 2) alimento, 3) meconio de pavitos de un día de edad (en caja de transporte); Y para los sectores de la etapa de engorda: 1) tómulas de arrastre y 2) alimento. Como ya se mencionó, este muestreo se efectuó dos veces, en dos ciclos productivos diferentes de esta empresa (Tabla 1).

Los criterios de la toma de muestra para cada muestra se presentan a continuación:

- i. Tómulas de arrastre: En cada ocasión se tomaron dos muestras de tómulas de arrastre desde la cama del pabellón que poseía el lote con mayor edad en el sector de crianza

(seis semanas de edad) y en el sector de engorda (15 semanas de edad). Las tómulas fueron diseñadas de acuerdo “*Microbiological Methods & Bacteriological Analytical Manual*” (BAM) (FDA, 2008) siendo su material de confección gasa común, con dimensiones de 10 cm x 10 cm y 12 capas de grosor, las cuales fueron esterilizadas mediante autoclave.

Al momento de ser utilizadas las tómulas se impregnaron en caldo tripticasa de soya (Merk®) para luego ser arrastradas sobre la cama del galpón a muestrear. Cada tómula de arrastre realizó un recorrido longitudinal al eje del galpón 4 veces, en diferentes sectores de la cama.

- ii. Alimento: En cada uno de los dos muestreos se recolectaron muestras de alimento, de inicio (fórmula 1) y término (fórmula 2) para la etapa de crianza y de inicio (fórmula 3) y término (fórmula 4) para la etapa de engorda.

Las muestras de alimento fueron recolectadas de acuerdo a la metodología de Jones y Richardson (2004). Se recogieron 10 a 12 submuestras de aproximadamente 50g. desde diferentes sacos de alimento sellados, con el uso de guantes y frasco estéril. Este alimento fue depositado posteriormente en una bolsa estéril conformando una muestra final de 400-500 g. de alimento.

- iii. Meconio: Se tomaron muestras de los fondos de cajas de transporte de pavitos de 1 día en su llegada a los galpones de crianza, según establece el capítulo 6.5 del código sanitario de los animales terrestres (OIE, 2014). El revestimiento inferior o fondo de estas cajas, contiene el meconio de los pavitos desde su nacimiento hasta la llegada al criadero, por lo cual su análisis establece si los recién nacidos se encuentran infectados con *Salmonella* previo a su llegada a los galpones.

Para esta evaluación en cada muestreo se obtuvieron 15 cajas (cada caja de transporte contiene 80 pavos), de las cuales se utilizaron sus respectivos fondos para componer 3 submuestras de 5 fondos cada uno. Los fondos fueron depositados en bolsas estériles.

Las muestras de meconio (fondos de cajas de transporte), tómulas de arrastre y de alimento fueron almacenadas en un contenedor a temperatura de refrigeración (4-6°C) para su traslado al Laboratorio de Patología Aviaria de la Universidad de Chile.

Todas las muestras en los distintos sectores de crianza y engorda se obtuvieron de acuerdo al manejo sanitario, ambiental y alimentario habituales de la empresa avícola comercial, respetando sus normas de bioseguridad.

Tabla Nro. 1: Metodología de muestreo para la detección de *Salmonella* spp. en un plantel de pavos comerciales en dos muestreos diferentes.

				Muestreos	
		Lote	Tipo de muestra	N°1	N°2
CRIANZA	Rosedal	1 día	Meconio (pool fondos de cajas)	3	3
			Alimento de inicio (Fórmula 1)	1	1
		6 sem	Tórulas de Arrastre (cama pavos 6 sem)	2	2
			Alimento de término (Fórmula 2)	1	1
	Quilapilún	1 día	Meconio (pool fondos de cajas)	3	3
			Alimento de inicio (Fórmula 1)	1	1
		6 sem	Tórulas de Arrastre (cama pavos 6 sem)	2	2
			Alimento de término (Fórmula 2)	1	1
Total crianza				14	14
ENGORDA	San José	15 sem	Alimento de inicio (Fórmula 3)	1	1
			Tórulas de Arrastre (cama pavos 15 sem)	2	2
			Alimento de término (Fórmula 4)	1	1
	San Juan	15 sem	Alimento de inicio (Fórmula 3)	1	1
			Tórulas de Arrastre (cama pavos 15 sem)	2	2
			Alimento de término (Fórmula 4)	1	1
	Cerrillos	15 sem	Alimento de inicio (Fórmula 3)	1	1
			Tórulas de Arrastre (cama pavos 15 sem)	2	2
			Alimento de término (Fórmula 4)	1	1
Total Engorda				12	12
TOTAL				52	

6.3.Preparación y procesamiento de las muestras

Las muestras de meconio fueron retiradas por arrastre mediante algodones estériles humedecidos en caldo tripticasa de soya (Merk®) desde los fondos de cajas de transporte. Se utilizaron 2 algodones (de 0,25 g. cada uno) por cada fondo, constituyendo una muestra de 10 g. por cada pool de fondos de caja (5 fondos de caja) para realizar el cultivo bacteriológico.

Para las tómulas de arrastre se recortaron 10 g. cada una de ellas para realizar el cultivo bacteriológico. Tanto meconio como tómulas de arrastre fueron procesadas según el instructivo técnico para la detección de *Salmonella* spp. móviles en fecas según método tradicional ISO 6579:2002/ AMD 1 (E) (Anexo 1).

En el caso de las muestras de alimento, se homogeneizó la muestra total recolectada (400-500 g.), para luego tomar una muestra final de 25 g. que se utilizó en el cultivo bacteriológico según el protocolo que utiliza el Laboratorio de Patología Aviar de la Universidad de Chile, basado en la Norma Chilena 2675.Of 2008 (Anexo 2).

Ambas metodologías cuentan con pasos de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento en agar selectivo y pruebas bioquímicas de confirmación, difiriendo en los medios utilizados. El último paso ante la sospecha de *Salmonella* a través de las pruebas bioquímicas, fue la confirmación serológica por medio de la técnica de aglutinación en placa con los antiseros somático (O) polivalente (Difco™) y antisuero flagelar (H) polivalente (Difco™), determinando el serogrupo de *Salmonella* en caso de ser positiva la reacción.

Se realizaron un total de 52 análisis bacteriológicos para detección de *Salmonella* spp.; 28 de ellos para los sectores de crianza, constituidos por 8 cultivos de tómulas de arrastre, 8 de alimento y 12 “pools” de meconio desde fondos de caja; y 24 análisis para los sectores de engorda, compuesto por 12 cultivos de tómulas de arrastre y 12 de alimentos (Tabla Nro. 1).

7. RESULTADOS

Tal como se describe en los objetivos, se presentan a continuación los resultados obtenidos, respecto a la detección de *Salmonella* spp. en muestras de meconio, cama de galpones y alimento, de un plantel de comercial de pavos de engorda.

Estos resultados pueden ser interpretados en base a dos criterios: (i) de acuerdo a la frecuencia de detección de *Salmonella* por cada tipo de muestra o (ii) a la cantidad de lotes de pavos positivos correspondientes con las muestras positivas.

7.1. Frecuencia de muestras positivas del total de muestras analizadas.

Tabla Nro. 2: Frecuencias de detección de *Salmonella* spp. desde muestras obtenidas de un plantel comercial de pavos de engorda.

Etapa	Sector	Lote	Tipo de muestra	M1	M2	P/T	%
Crianza	Rosedal	1 día	Meconio	0/3	0/3	0/6	0%
			Alimento inicio crianza	0/1	0/1	0/2	0%
		6 sem	Tórulas de Arrastre	1/2	2/2	3/4	75%
			Alimento término crianza	0/1	0/1	0/2	0%
	Quilapilún	1 día	Meconio	0/3	2/3	2/6	33%
			Alimento inicio crianza	0/1	0/1	0/1	0%
		6 sem	Tórulas de Arrastre	0/2	2/2	2/4	50%
			Alimento término crianza	1/1	0/1	1/2	50%
Total crianza				2/14	6/14	8/28	28,5%
Engorda	San Juan	15 sem	Alimento inicio engorda	1/1	0/1	1/2	50%
			Tórulas de Arrastre	0/2	2/2	2/4	50%
			Alimento término engorda	0/1	0/1	0/2	0%
	San José	15 sem	Alimento inicio engorda	0/1	0/1	0/2	0%
			Tórulas de Arrastre	2/2	2/2	4/4	100%
			Alimento término engorda	1/1	0/1	1/2	50%
	Cerrillos	15 sem	Alimento inicio engorda	0/1	0/1	0/2	0%
			Tórulas de Arrastre	1/2	2/2	3/4	75%
Alimento término engorda			1/1	0/1	1/2	50%	
Total Engorda				6/12	6/12	12/24	50%
TOTAL :						20/52	38,4%

Como resultado general, de 52 muestras recolectadas 20 resultaron positivas a *Salmonella* spp. que corresponden a un 38,4%.

La distribución de la frecuencia de los resultados generales por cada tipo de muestra, en cada etapa, están representados en la figura Nro. 1

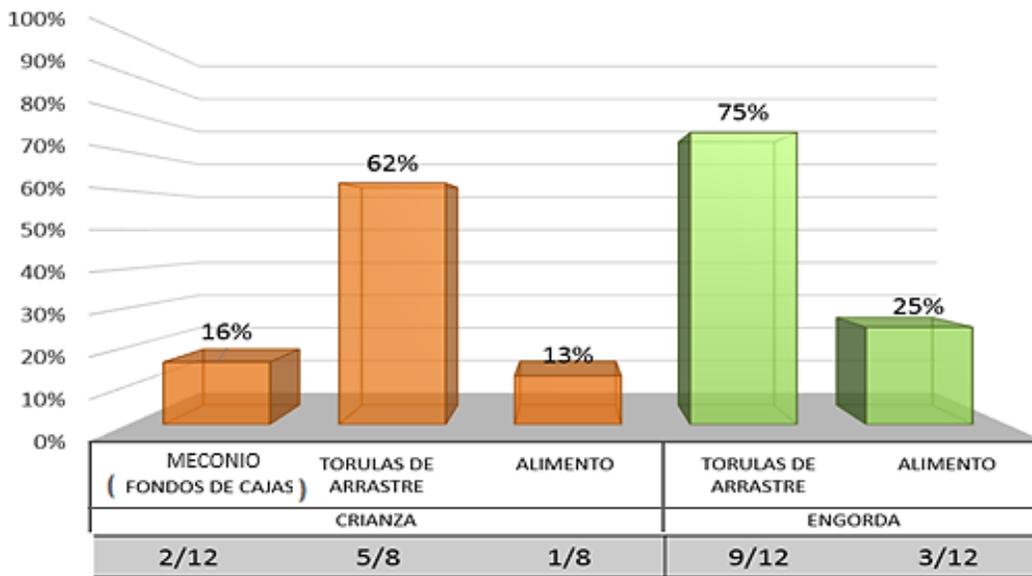


Figura Nro. 1: porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* spp. en muestras de meconio, tómulas y alimento recolectados en etapas de crianza y engorda de un plantel comercial de engorda de pavos.

En términos generales la mayor cantidad de resultados positivos se obtuvieron desde las muestras de tómulas de arrastre con un 70% de positivos a *Salmonella* spp. (14 positivos /20 totales). Tanto en la etapa de crianza (62%) como la etapa de engorda (75%) las tómulas representaron las frecuencias más altas.

Los resultados de las tómulas de arrastre en cada sector (Figura Nro.2) presentaron frecuencias del 50%, 75% y 100% este último en solo un sector de engorda (San José).

Las muestras de alimento representaron la segunda categoría con más casos positivos a *Salmonella*, con un 20% en todas las muestras recolectadas desde el plantel (4 positivos /20 totales). Las frecuencias de distribución de positivos en cada etapa muestran un 13% para crianza y un 25% para engorda (Figura Nro. 1).

Respecto a los resultados de alimentos positivos en cada sector (Figura Nro.2), se mostró una tendencia en todos los sectores, presentando el 25% los alimentos muestreados positivos, excepto en el sector de Rosedal donde no se aisló la bacteria en alimento.

Los resultados para el meconio recolectado desde fondos de cajas mostraron la menor proporción de positivos (16%). Este porcentaje está representado por dos muestras positivas en el sector de Quilapilún (Tabla Nro.2).

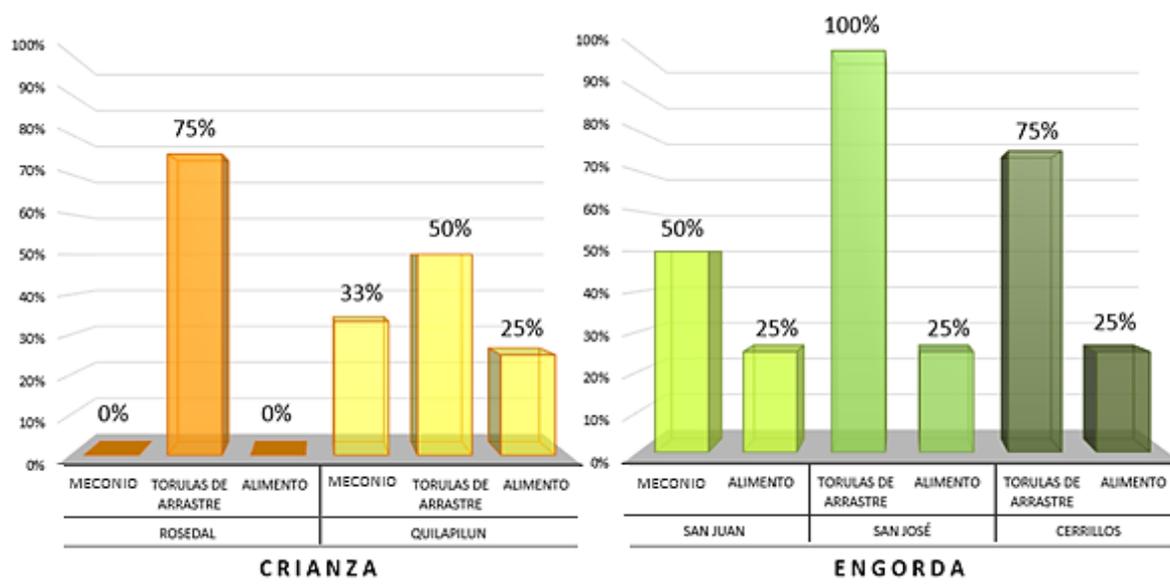


Figura Nro.2: Distribución de casos positivos por cada tipo de muestra, en cada sector del plantel.

7.2. Frecuencia de lotes de pavos positivos.

La cantidad de lotes muestreados en total (muestreo Nro.1 y Nro.2) correspondió a 14; ocho en la etapa de crianza y seis en la etapa de engorda (Tabla Nro.3).

El criterio para determinar a los lotes de pavos positivos a *Salmonella*, es el aislamiento de la bacteria en alguna de las muestras de meconio o tómulas de arrastre recolectadas desde el lote (SAG, 2011). El alimento no fue considerado como criterio para considerar positivo a un lote, debido a que este no había sido consumido aún por las aves.

La cantidad de lotes positivos en este estudio, se presentan a continuación en la Tabla Nro. 3

Tabla Nro. 3: Lotes de pavos de diferentes edades, positivos a *Salmonella* spp.

	Sector	Lote	Muestreo		Lotes (+)
			Nro. 1	Nro.2	
CRIANZA	Rosedal	1 día de edad	-	-	0/2
		6 semanas de edad	+	+	2/2
	Quilapilún	1 día de edad	-	+	1/2
		6 semanas de edad	-	+	1/2
Lotes positivos					4/8
ENGORDA	San Juan	15 semanas de edad	-	+	1/2
	San José	15 semanas de edad	+	+	2/2
	Cerrillos	15 semanas de edad	+	+	2/2
Lotes positivos					5/6
Total lotes positivos					9/14

El 64,2% de los lotes muestreados resultaron positivos a la bacteria (9/14). Presentándose la mayor cantidad de lotes positivos en la engorda.

La etapa de crianza presentó cuatro lotes positivos a *Salmonella* de los ocho lotes muestreado (50%), tres de estos lotes de seis semanas y un lote de pavitos de un día recién llegados al plantel.

Mientras que en la etapa de engorda cinco de seis lotes muestreados resultaron positivos a *Salmonella* spp. (83%).

7.3. Serogrupos identificados desde los aislados de *Salmonella* spp.

Respecto a los serogrupos identificados desde los aislados de *Salmonella*, fueron reconocidos tres serogrupos: B, E y C2.

La mayoría de los aislados pertenecen al serogrupo B con un total de 16 muestras positivas (80%) que se distribuyen en 13 tómulas de arrastre y 3 muestras de alimento (Tabla Nro.4).

El serogrupo E fue aislado desde 3 muestras (15%), dos correspondiente a meconio y una a tórula de arrastre (Tabla Nro.4).

En cuanto al serogrupo C2 (5%), fue identificado desde un solo aislado de alimento.

Tabla Nro.4: Serogrupos (SG) identificados desde aislados de *Salmonellas* spp. por cada tipo de muestra en cada sector del plantel, en los dos muestreos.

Etapa	Sector	Lote	Tipo de muestra	M1	SG	M2	SG
Crianza	Rosedal	1 día	Meconio	0	-	0	-
			Alimento inicio crianza	0	-	0	-
		6 sem	Tórulas de Arrastre	1	B	2	B
			Alimento término crianza	0	-	0	-
	Quilapilún	1 día	Meconio	0	-	2	E
			Alimento inicio crianza	0	-	0	-
6 sem		Tórulas de Arrastre	0	-	2	B-E	
		Alimento término crianza	1	B	0	-	
Engorda	San Juan		Alimento inicio engorda	1	B	0	-
		15 sem	Tórulas de Arrastre	0	-	2	B
			Alimento término engorda	0	-	0	-
	San José		Alimento inicio engorda	0	-	0	-
		15 sem	Tórulas de Arrastre	2	B	2	B
			Alimento término engorda	1	C2	0	-
	Cerrillos		Alimento inicio engorda	0	-	0	-
		15 sem	Tórulas de Arrastre	1	B	2	B
			Alimento término engorda	1	B	0	-
Serogrupo B: 16 (80%) Serogrupo E: 3 (15%) Serogrupo C2: 1 (5%)							

8. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de *Salmonella* spp. en un plantel comercial de pavos, en el cual no se habían realizado estudios anteriores respecto a la presencia de este patógeno dentro de su producción primaria, vale decir la crianza y engorda de pavos.

El desarrollo de este estudio nace desde la premisa que en el sector avícola, *Salmonella* ha pasado de ser un problema de sanidad animal a un problema de salud pública, por lo cual la detección de este patógeno a lo largo de toda la cadena de producción es vital en el establecimiento de medidas apropiadas y eficaces para controlar la presencia de la bacteria, con el fin de disminuir su prevalencia y el riesgo que supone para la salud pública.

Con el fin de reducir la transmisión horizontal de *Salmonella* en los galpones, los pavitos de un día de edad que llegan al plantel, deben estar libres del patógeno. Por este motivo, se evaluó la presencia de la bacteria en algunos lotes nuevos en su llegada a los galpones de crianza, analizando muestras del meconio que se encontraban en los revestimientos inferiores de sus cajas de transporte.

Este tipo de muestreo es realizado en la UE para el monitoreo de lotes de reproductoras recién nacidas. Una muestra obtenida a partir de 10 revestimientos internos de cajas de transporte de pollitas/pavitas en el momento de ser entregadas a la explotación o bien un fondo de caja cada 500 aves, es suficiente para determinar al lote positivo (MARM, 2011; DAFM, 2014). En el caso de este estudio se recolectó en total 15 cajas que representaban a 1.200 pavitos de un lote de 5.000.

Osman *et al.*, (2010) demostraron que el revestimiento de cajas de transporte es una de las muestras más adecuadas para el examen de salmonelas en pavitos de un día, en comparación al muestreo de órganos internos de las aves recién nacidas. En su estudio, *Salmonella* spp. fue aislada desde un 12,8% de los fondos de cajas de transporte de pavitos. Hoover *et al.*, (1997), también examinaron los revestimientos de cajas de pavitos en el día de la llegada a la granja comercial, aislando *Salmonella* spp. de un 13,6% de las cajas (3 positivos / 22 muestras). Estos resultados guardan similitud con el 16% de fondos de cajas positivos que fueron detectados en este estudio de evaluación.

El aislamiento de *Salmonella* spp. desde el meconio se logró solo en un lote de pavitos de un día recién llegados, en el sector de Quilapilún. El serogrupo identificado en estas muestras positivas fue el serogrupo E, si bien en este grupo se encuentran algunas salmonelas que han sido aisladas en lotes de pavos (*S. Anatum* y *S. Seftenberg*) ninguno de estos serotipos se encuentran dentro de los programas de control y monitoreo en Chile o en la UE (EFSA, 2008; SAG, 2009).

El origen de la contaminación de los lotes de pavitos de un día puede ser atribuida a la contaminación de lotes de reproductoras o bien problemas de higiene en la planta de incubación (Hoover *et al.*, 1997; Osman *et al.*, 2010). En este caso considerando el serogrupo identificado, resulta más probable la contaminación horizontal de las aves, debido a que el serogrupo E no presenta serotipos relacionados a la transmisión vertical.

Según lo anteriormente mencionado, el monitoreo de las aves recién llegadas en una empresa que compra sus lotes a una planta incubadora externa, mediante el método utilizado, constituye una muy buena herramienta para establecer estrategias de control en el ingreso de salmonelas al plantel.

Dentro de los estudios realizados para el monitoreo de *Salmonella* en granja de aves, las muestras desde la cama de los galpones son las más utilizadas, debido a que ésta ha sido catalogada como una de las fuentes ambientales de infección y persistencia de *Salmonella* más importante en la producción avícola (Shivaprasad *et al.*, 2013). Es por este motivo que su evaluación se hace indispensable para determinar la infección un lote.

Si bien existen distintos métodos de muestreo para la cama de ave, las muestras obtenidas desde ésta proporcionan niveles de detección comparables con muestras fecales o tórculas cloacales (Mueller-Doblies *et al.*, 2009)

La utilización de tórculas de arrastre en cama de pabellones avícolas ha presentado altos niveles de sensibilidad en la detección de salmonelas, demostrándose como una herramienta de monitoreo eficaz para determinar contaminación ambiental en unidades de broilers y pavos (Irwin *et al.*, 1994; Mueller-Doblies *et al.*, 2009).

En este estudio los resultados generales más altos de muestras positivas se encontraron en las tórculas de arrastre desde cama de pavos. Éstos mostraron los mayores índices de

contaminación tanto en crianza como en engorda, con un 70% de positivos en todas las muestras recolectadas, y con porcentajes no menores al 50% en cada uno de los sectores muestreados, encontrándose un 100% de casos positivos en uno de los sectores de engorda (Tabla Nro. 2).

De las muestras de tómulas de arrastre positivas a salmonelas se pudieron identificar dos serogrupos. La mayoría de los aislados (13) correspondieron al serogrupo B mientras que solo uno al serogrupo E (Tabla Nro.4). Respecto a esto, en tres sectores (Rosedal, San José y Cerrillos) se presentaron resultados positivos tanto en el muestreo Nro.1 y Nro.2 (Tabla Nro. 2) coincidiendo en todos los aislados el mismo serogrupo (B).

Según Broennum *et al.*, (2008) la detección intermitente de un mismo serotipo de salmonela en las instalaciones avícolas, sugiere que la bacteria está continuamente presente pese a la limpieza y desinfección. Esto se debe a que los protocolos de desinfección con frecuencia no son suficientes en la eliminación total de salmonelas, propiciando la persistencia de la bacteria en el ambiente con la probabilidad de contaminar la cama y por ende las aves. Si bien en este estudio no existió la serotipificación de cepas, el hallazgo del mismo serogrupo nos da un atisbo de que la contaminación por *Salmonella* puede estar persistente en el ambiente del plantel.

Respecto a los lotes positivo, la alta frecuencia de contaminación encontrada en los lotes de engorda fue esperable, debido a la detección de lotes contaminados en la crianza. Si bien los lotes de engorda son transportados a galpones limpios para el comienzo de su etapa, si la infección ya se encuentra instaurada en las aves, ésta es muy difícil de eliminar, por lo cual las aves infectadas eliminarán la bacteria al ambiente intermitentemente contaminándolo.

La presencia de *Salmonella* en los alimentos consumidos por las aves no es inusual, de hecho algunos estudios reportan a los alimentos para aves como una de las principales fuentes de transmisión horizontal de la bacteria en planteles avícolas estudiados (Koyunku y Haggblom, 2009; Jones, 2011). Sin embargo, los datos de prevalencias en ingredientes o alimentos terminados de piensos animales, suelen ser difíciles de comparar entre diferentes estudios. Esto se debe principalmente a las diferencias de muestreo y métodos analíticos aplicados.

En la mayoría de los estudios no existe información respecto a la probabilidad de identificar correctamente una muestra positiva a *Salmonella* (EFSA, 2008), esto debido a que los alimentos en cuestión son productos generalmente secos con baja actividad de agua y que han sido sometidos a procesos térmicos donde las bacterias se encuentran probablemente dañadas, por lo cual los métodos de aislamiento y cultivo utilizados, deben ser capaces de multiplicar células bacterianas deshidratadas y estresadas (Koyunku y Haggblom, 2009).

Se halló una muestra positiva de alimento en la etapa de crianza (Quilapilún), sin embargo el lote muestreado correspondiente a la muestra de alimento se presentó negativo a *Salmonella* (Tabla N°2). El serogrupo identificado en esta muestra fue serogrupo B (Tabla Nro. 4). Esto implica que si bien el lote se encontraba libre de la bacteria al momento del muestreo, existe la posibilidad de que éste pueda infectarse posteriormente por el consumo del alimento contaminado.

Los alimentos de inicio en la etapa de engorda también fueron analizados con el fin de monitorear que éstos se encontraran libres de salmonelas cuando las aves ingresaran a la etapa de engorda. En cuanto a esto solo uno de los alimentos de engorda fue encontrado positivo, identificándose también aquí el serogrupo B (Tabla Nro. 4).

En relación a los alimentos de término en la etapa de engorda, dos obtuvieron resultados positivos al igual que su lote correspondiente (Tabla Nro. 2), estableciéndose como una de las posibles causas de la contaminación de los lote. Respecto a esto en el sector de Cerrillos existió una correspondencia en los serogrupos aislados desde las muestras de alimento (B) y tórculas de arrastre (B) del mismo lote (Tabla Nro. 4). Sin embargo sin la serotipificación de los aislados de *Salmonella* no es posible establecer la epidemiología exacta de la infección o una asociación entre ellas.

El otro caso de alimento positivo fue en el sector de San José, sin embargo aquí no se mostró correspondencia de los serogrupos aislados, encontrándose desde tórcula de arrastre el serogrupo B y en alimento el serogrupo C2. Cabe destacar que esta muestra de alimento fue la única muestra en donde se identificó éste serogrupo.

En el serogrupo C2 encuentran serotipos que han sido aislados desde lotes de pavos (S. Kottbus, S. Kentucky, S. Hadar), sin embargo sólo S. Hadar se encuentra dentro de planes

de control de salmonelas en lotes de broilers reproductores y de engorda, en Chile y la UE (EFSA, 2008; SAG, 2009)

Si bien el alimento que las aves consumen es peletizado, este tratamiento térmico no asegura la descontaminación total del alimento, sino que disminuye la carga bacteriana. Un estudio de Veldeman *et al.*, (1995) realizado en fábricas de alimentos para aves en Holanda, mostró que el 1,4% de los alimentos se encontraron positivos a salmonelas luego de la peletización. Con el fin de reforzar los procedimientos térmicos pueden ser utilizados métodos químicos complementarios como es la adición de ácidos orgánicos.

La implementación de sistemas de análisis de riesgos en la planta de alimentos, evaluaciones de materias primas y utilización de aditivos en los alimentos consumidos por las aves, se hacen primordiales en el control de la contaminación por salmonelas. El pasar por alto cualquiera de estos puntos aumenta la probabilidad de la presencia de salmonelas en el producto final. Además si no se previene la re contaminación de los alimentos durante el transporte o en la misma granja, los métodos de control implementados en la planta se hacen ineficientes (Jones, 2011).

En cuanto a los serogrupos identificados en la totalidad de muestras positivas, estos corresponden en su mayoría al serogrupo B, seguidos por el serogrupo E y C2. Gast (2013), indicó que la mayoría de los aislados de *Salmonella* encontrados en aves comerciales pertenecen a los serogrupos B, C o D, coincidiendo así con los resultados obtenidos.

En cuanto al serogrupo B, éste contiene varios de los serotipos de *Salmonella* spp. más comúnmente aislados en lotes de pavos: S. Saintpaul, S. Sandiego, S. Bredeney, S. Heilderberg y S. Typhimurium, siendo los dos últimos los que poseen mayor importancia en salud pública. Cabe destacar que S. Typhimurium se encuentra incluido dentro de los programa de control y monitoreo de *Salmonella* en granjas de pavos reproductores y de engorda en Chile y la UE (EFSA, 2008; SAG, 2009).

Este estudio no consideró la serotipificación de las cepas aisladas, por lo cual el análisis solo nos da una aproximación de las posibles cepas que puedan incidir en la producción de pavos. La serotipificación de los aislados es necesaria para evaluar con exactitud los riesgos que representan las cepas bacterianas identificadas y las relaciones que existen entre los aislados,

ya que un serogrupo posee numerosos serotipos que pueden ser o no relevantes en la salud animal y pública.

Como punto final los estudios de contaminación por salmonelas en lotes de pavos en granjas comerciales son escasos hasta el momento, en comparación con los estudios que apuntan a pollos de engorda, por lo cual muchos de los datos existentes han sido extrapolados de sistemas productivos de pollos. Es por esto que la epidemiología de la infección por *Salmonella* en pavos aún no ha sido descrita del todo, lo que alienta a realizar nuevos estudios con este propósito.

9. CONCLUSIONES

- La frecuencia de detección de *Salmonella* spp. en tómulas de arrastre y alimento obtenidas desde el plantel, es coincidente con la situación nacional e internacional en la industria avícola en general y en la producción de pavos en particular.
- La detección de *Salmonella* en lotes de pavos, puede ser utilizado como un indicador de contaminación bacteriana a nivel global, con el fin de reforzar o implementar medidas de control más eficaces en las etapas de producción primaria.
- Se recomienda en estudios posteriores la serotipificación de los aislados con el fin de establecer la epidemiología de la infección y definir los criterios en la implementación de un plan de control en el plantel.

10. BIBLIOGRAFÍA

- **ABDULLAH, F.; AL-NASSER, A.; AL-ZENKI, S.; AL-SAFFAR, A.; AL-BAHOUH, M.; MASHALY, M.** 2012. Effect of adding various organic acids during the feed withdrawal period on *Salmonella* reduction in broilers. *Int. J. Poult. Sci.* 11 (7): 482-487.
- **AGABOU, A.** 2009. Air-borne bacterial contaminations in two broiler hatcheries in the North-East of Algeria. *Vet. World.* 2:48–49.
- **APA. ASOCIACIÓN DE PRODUCTORES AVICOLAS DE CHILE A.G.** 2013. Sector avícola/ Análisis sectorial año 2013. [en línea] <http://www.apa.cl/index/plantilla1.asp?id_seccion=2&id_subsecciones=8> [consulta: 02-04-2014].
- **BARROW, P; DESMIDT, M; DUCATELLE, R; GUTTET, M.; VAN DER HEIJDEN, H; HOLT, P; HUIS IN'T VELT, J; MCDONOUGH, P; NAGARAJA, K; PORTER, R; PROUX, K; SISAK, F; STAAK, C; STEINBACH, G; THORNS, C; WRAY, C; VAN ZIJDERVELD, F.** 1996. World Health Organization (OMS). Supervised interlaboratory comparison of ELISAs for the serological detection of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chickens. *Epidemiol. Infect.* 117: 69–77.
- **BASKERVILLE, A.; HUMPHREY, T.; FITZGEORGE, R.; COOK, R.; CHART, H.; ROWE, B.; WHITEHEAD, A.** 1992. Airborne infection of laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Vet. Rec.* 130: 395–398.
- **BATZ, M.; HOFFMANN, S.; MORRIS J.** 2011. Ranking the risks: the 10 pathogen–food combinations with the greatest burden on public health. *Emerging Pathogen Institute, U of F.* 68 p.
- **BEAL, R.; WIGLEY, P.; POWERS, C.; HULME, S.; BARROW, P.; SMITH, A.** 2004. Age at primary infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken influences persistence of infection and subsequent immunity to re challenge. *Vet. Immuno. Pathol.* 100:151-164.

- **BETANCOR, L.; PEREIRA, M.; MARTINEZ, A.; GIOSSA, G.; FOOKES, M.; FLORES, K.; BARRIOS, P.; REPISO, V.; VIGNOLI, R.; CORDEIRO, N.; ALGORTA, G.; THOMSON, N.; MASKELL, D.; SCHELOTTO, F.; CHABALGOITY, J.** 2010. Prevalence of *Salmonella* enterica in poultry and eggs in Uruguay during an epidemic due to *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. J. Clin. Microbiol. 48: 2413–2423.

- **BRENNER, F.; VILLAR, R.; ANGULO F.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B.** 2000. Nomenclature *Salmonella*. J. Clin. Microbiol. 38(7):2465.

- **BROENNUM, T.; ELMERDAHL, J.; BISGAARD, M.** 2008. Persistence of *Salmonella* Senftenberg in poultry production environments and investigation of its resistance to desiccation. Avian. Pathol. 37:421–427.

- **CASON, J.; COX, N.; BAILEY, J.** 1994. Transmission of *Salmonella* Typhimurium during hatching of broiler chicks. Avian. Dis. 38: 583–588.

- **CHERRINGTON, C.; HINTON, M.; MEAD, G.; CHOPRA, I.** 1991. Organic Acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications. Adv. Microb. Physiol. 32: 87–108.

- **CREUS, E.** 2005. *Salmonella* en la alimentación animal (I): Contaminación en materias primas y piensos. Albéitar. 85: 115-126

- **DAFM. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, FOOD AND THE MARINE.** 2014 *Salmonella* testing of turkey flocks. [en línea] <<https://www.agriculture.gov.ie/media/migration/farmingsectors/poultry/Turkeysalmonellatestingrequirements191010.doc> >[consulta: 02-06-2015]

- **DAVIES, R.; WALES, A.** 2010. Investigations into *Salmonella* contamination in poultry feedmills in the United Kingdom. J. Appl. Microbiol. 109 (4):1430-1440.

- **DE SMET, K; MÄKELÄ, P.** 2013. Chapter 23: EU legislation on the control of *Salmonella*, monitoring and reporting. **In:** Barrow, P; Methner, U. (Eds.). *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. CABI North American. pp. 476-497.

- **DONOGHUE, A.; BLORE, P.; COLE, K.; LOSKUTOFF, N.; DONOGHUE, D.** 2004. Detection of *Campylobacter* or *Salmonella* in turkey semen and the ability of poultry semen extenders to reduce their concentrations. *Poultry. Sci.* 83: 1728–1733.
- **DUNKLEY, K; CALLAWAY, T; CHALOVA, V; MCREYNOLDS, J; HUME, M; DUNKLEY, C; KUBENA, L; NISBET, D; RICKE, S.** 2009. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. *J. anaerobe.* 15: 26–35.
- **EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY.** 2008. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in turkey flocks, in the EU, 2006-2007. Part B. *J. EFSA.* 1-224.
- **EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY.** 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *J. EFSA.* 13: 1-162.
- **FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION.** 2008. Environmental sampling and detection of *salmonella* in poultry houses. [en línea] <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm114716.htm>> [consulta: 02-04-2014].
- **FICA, A; ALEXANDRE, M; PRAT, S; FERNANDEZ, A; FERNANDEZ, J; HEITMANN, I.** 2001. Cambios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile. Desde *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Enteritidis. *Rev. Chile Infect.* 18(2): 85-93
- **FOLEY, S.; NAYAK, R.; HANNING, I.; JOHNSON, T.; HAN, J.; RICKE, S.** 2011. Population dynamics of *Salmonella* enterica serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl. Environ. Microb.* 77: 4273–4279.
- **GAST, R.** 2013. Chapter 16: *Salmonella* infections. **In:** Glisson, J; McDougald, L.; Nolan, L.; Suarez, D.; Nair, V. (Eds). *Disease of Poultry*, 13th ed. John Wiley & Sons, Inc. Ames, Iowa; pp. 677-736.
- **GAZDZINSKI, P.** 2004 *Salmonella* control in turkeys at farm level. **In:** Hafez, H. (ed.) *Proceedings of the 5th international symposium on turkey diseases*, Berlin. DVG-Service-GmbH, Giessen. pp. 57–63

- **GOOSNEY, D.; KNOECHEL, D; FINLAY, B.** 1999. Enteropathogenic of *E. coli*, *Salmonella* and Shigella: Master of host cell cytoskeletal exploitation. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 216-223.
- **GRIMONT, P.; WEILL, F.** 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. Institut Pasteur, Paris. 9th ed. Pp: 1-166.
- **HABIMANA, O.; MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S.; VESTBY, L.; NESSE, L.; HEIR, E.** 2010. Micro ecosystems from feed industry surfaces: a survival and biofilm study of *Salmonella* versus host resident flora strains. *Vet. Res.* 6-48.
- **HAFEZ, H.; STADLER, A.** 1997. *Salmonella* Enteritidis colonization in turkey poult. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* 104: 118–120.
- **HAFEZ, H.** 2011. *Salmonella* of turkeys: Update. **In:** Hafez, H.M. (ed.) Turkey production and Health: An Update. Proceedings of the 6th International Symposium on Turkey Production. Meeting of the Working Group 10 (Turkey) of WPSA. Berlin. Mensch & Buch Verlag, Berlin. pp. 250–255.
- **HAFEZ, H.** 2013. Chapter 10: *Salmonella* infections in turkeys. **In:** Barrow, P; Methner, U. (Eds.). *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. CABI North American. pp. 193-220.
- **HALD, T.; PIRES, S.; KNEGT, L.** 2012. Development of a *Salmonella* source-attribution model for evaluating targets in the turkey meat production. *J. EFSA.* 259: 1-35.
- **HINSHAW, W.; MCNEIL, E.** 1940. Eradication of pullorum disease from turkey flocks. **In:** Proceeding of 44th ann. Meet. U.S. Live Stk. sanit. Ass. pp. 1941: 178–194.
- **HOLT, P.; BUHR, R.; CUNNINGHAM, D.; PORTER, R.** 1994. Effect of two different molting procedures on a *Salmonella* Enteritidis infection. *Poult Sci.* 73:1267–1275.
- **HOOVER, N.; KENNEY, P.; AMICK, J.; HYPES, W.** 1997. Preharvest sources of *Salmonella* colonization in turkey production. *Poult Sci.* 76:1232–1238.

- **IAFFALDANO, N.; REALE, A.; SORRENTINO, E.; COPPOLA, R.; DI IORIO, M.; ROSATO, M.** 2010. Risk of *Salmonella* transmission via cryopreserved semen in turkey flocks. Poultry Sci. 89: 1975–1980.
- **INE. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA.** 2014. Carne de Ave. Producción pecuaria, período 2008 – 2013 y primer semestre 2014. Pp: 33-36.
- **INN. INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION.** 2008. Norma Chilena Oficial. Productos Hidrobiológicos- Detección de *Salmonella*. NCh 2675. Pp: 1-31.
- **IRWIN, R.; POPPE, C.; MESSIER, S.; FINLEY, G.; OGGEL, J.** 1994. A national survey to estimate the prevalence of *Salmonella* species among Canadian registered commercial turkey flocks. Can. J. Vet. Res. 58: 263–267.
- **ISP. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA.** 2012. Boletín laboratorio y vigilancia al día. N°15. [en línea] <<http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2012/06/BOLETIN%2015.pdf>> [consulta: 02-04-2014]
- **JONES, F.** 2011. A review of practical *Salmonella* control measures in animal feed. J Appl Poultry Res. 20:102–113.
- **JONES, F.; RICHARDSON K.** 2004. *Salmonella* in commercially manufactured Feeds. Poultry Sci. 83:384-391.
- **JONES, F.; INGRAM, L; CIESLAK, P.; VUGIA, D.; TOBIN-D'ANGELO, M.; HURD, S.; MEDUS, C.; CRONQUIST, A.; ANGULO, F.** 2008. Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype. J. Infect. Dis. 198: 109–111.
- **KELLER, L; BENSON, C; KROTEC, K; ECKROADE R.** 1995. *Salmonella* Enteritidis colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. Infect. Immun. 63: 2443-2449.
- **KOYUNCU, S.; HAGGBLOM, P.** 2009. A comparative study of cultural methods for the detection of *Salmonella* in feed and feed ingredients. BMC Vet. Res. 5: 6-12.
- **LOYOLA, P.** 2012. Resultados Programa Nacional de Control *Salmonella* spp. en establecimientos comerciales de aves para certificación de exportación a la Unión

Europea. 2009-2011, Proyecto SAG-APA **In:** Reunión mensual de Asoc. Médicos Vet. Especialistas en Avicultura (AMEVEA-CHILE). Santiago, Chile. 5 de Marzo 2012.

- **MARM. MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MEDIO MARINO ESPAÑA.** 2011. Programa nacional para la vigilancia y control de determinados serotipos de *Salmonella* en pavos de: reproducción y de engorde. Pp: 1-32.
- **MIYAMOTO, T ; BABA, E ; TANAKA, T ; SASAI, K ; FUKATA, T ; ARAKAWA, A.** 1997. *Salmonella* Enteritidis contamination of eggs from hens inoculated by vaginal, cloacal and intravenous routes. Avian Dis. 41: 296-303.
- **MORROW, C.** 2001. An integrated approach to *Salmonella* control. *Salmonella* 2001. Avigen, Ltd., Newbridge, Midlothian, UK.12: 230-241.
- **MULDER, R.** 1996. Probiotics and competitive exclusion microflora against *Salmonella*. World Poultry Misset *Salmonella* Special, May. pp. 30–32.
- **MULLER, A.; KAISER, P.; DITMMAR, K.; WEBER, T.; HAUETER, S. ; ENDT, K.** 2012. *Salmonella* gut invasion involves TTSS-2-dependent epithelial traversal, basolateral exit, and uptake by epithelium-sampling lamina propria phagocytes. Cell Host Microbe 11:19–32.
- **MUELLER-DOBLIES, D.; SAYERS, A.; CARRIQUE-MAS, J.; DAVIES, R.** 2009. Comparison of sampling methods to detect *Salmonella* infection of turkey flocks. J. Appl. Microb. 107:635–645.
- **OIE. ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS.** 2014. Capítulo 6.5. Prevención, detección y control de las infecciones de aves de corral por *Salmonella*. **In:** Código sanitario para los animales terrestres v1. [en línea]<
<http://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea>>
[consulta: 02-07-2014]

- **OSMAN, K., YOUSEF, A.; ALY, M.; RADWAN, M.** 2010. *Salmonella* spp. infection in imported 1-day-old chicks, ducklings, and turkey poults: a public health risk. *Foodborne Pathog. Dis.* 7: 383–390.
- **PAPADOPOULOU, C.; DAVIES, R.H.; CARRIQUE-MAS, J.; EVANS, S.** 2009. *Salmonella* serovars and their antimicrobial resistance in British turkey flocks in 1995 to 2006. *Avian Pathol.* 38: 349–357.
- **PFAFF, F.** 1921. A turkey's disease with paratyphoid findings. *Infect. Dis. Anim.* 22: 285–292.
- **POMEROY, B.; FENSTERMACHER, R.** 1939. Paratyphoid infections in turkeys. *J Amer. Vet. Med. Assoc.* 94: 90–97.
- **POPOFF, M.; L. LE MINOR.** 1997. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. Institut Pasteur, Paris. Pp: 1-45
- **PRIMM, N.** 1998. Field experiences with the control of *Salmonella* introduction into turkey flocks via contaminated feeds. **In:** Proceedings of the 47th annual western poultry disease conference, Sacramento, CA. Pp. 27–30
- **PORTER, R.** 1998. Bacterial enteritides of poultry. *Poult. Sci.* 77:1159-1165.
- **QUINN, P.; MARKEY, B.; CATER, M.; DONNELLY, W.; LEONARD, F.** 2002. *Veterinary microbiology and microbial diseases* 1st ed. Blackwell Sci, Inc., Oxford. pp: 106-107.
- **RUANO, M.** 2013. Salmonelosis y su Impacto en la Avicultura Moderna. [en línea] <www.iica.int/Esp/.../Bueno,%20Salmonellosis%20en%20Avicultura.pdf> [consulta: 02-04-2015]
- **RUSSELL, S.** 2012. Controlling *Salmonella* in poultry production and processing. CRC press by Taylor & Francis Group. New York, USA. pp: 1-278

- **RYCROFT, A.** 2011. Structure, function and synthesis of surface polysaccharides in *Salmonella*. **In:** Barrow, P; Methner, U. (Eds.). *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. CABI North American. pp. 20-37.
- **SAG. SERVICIO AGRICOLA GANADERO.** 2011. Programa de control de *Salmonella* spp. en establecimientos comerciales de aves. **In:** III Encuentro del programa de reducción de patógenos. Valdivia, Chile. 26-27 de abril.
- **SAG. SERVICIO AGRICOLA GANADERO.** 2009. Instructivo técnico para la detección de *Salmonella* sp. móviles en fecas según método tradicional ISO 6579:2002/AMD 1 (E). Código IT-LAB-26-v01. Pp. 1-16.
- **SALYERS, A.; WHITT, D.** 2002. Bacterial Pathogenesis. A molecular approach. 2nd Ed. ASM Press. Washington, D.C. Pp: 1-345.
- **SANCHEZ, S.; HOFACRE, L.; LEE, M.; MAURER. J.; DOYLE, M.** 2002. Animal sources of salmonellosis in humans. J. Am. Vet. Med. Assoc. 221:492–497.
- **SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R.; ANGULO, F.; TAUXE, R.; WIDDOWSON, M.; ROY, S.; JONES, J.; GRIFFIN, P.** 2011. Foodborne Illness Acquired in the United States- Major Pathogens. Emerging Infect. Dis. 17(1): 7- 15
- **SHIVAPRASAD, H.; METHNER, U.; BARROW, P.** 2013. Chapter 9: *Salmonella* infections in the domestic fowl. **In:** Barrow, P; Methner, U (Eds). *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. CABI North American; pp. 162-193.
- **SCHLUNDT, J.; TOYOFUKU, H.; JANSEN, J.; HERBST, S.** 2004. Emerging food-borne zoonoses. Revue scientifique et technique-office international des epizooties. 23: 513–533.
- **SMITH, A.; BEAL, R.** 2008. Chapter 13: The avian enteric immune system in health and disease. **In:** Davison, F.; Kaspers, B.; Schat, K. (eds) Avian Immunology. Academic Press, London; pp. 243–271.
- **STERZENBACH, T.; CRAWFORD, R.; WINTER, S.; BÄUMLER, A.** 2013. *Salmonella* virulence mechanisms and their genetic basis. **In:** Barrow, P; Methner, U (Eds). *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. CABI North American; pp. 80-103.

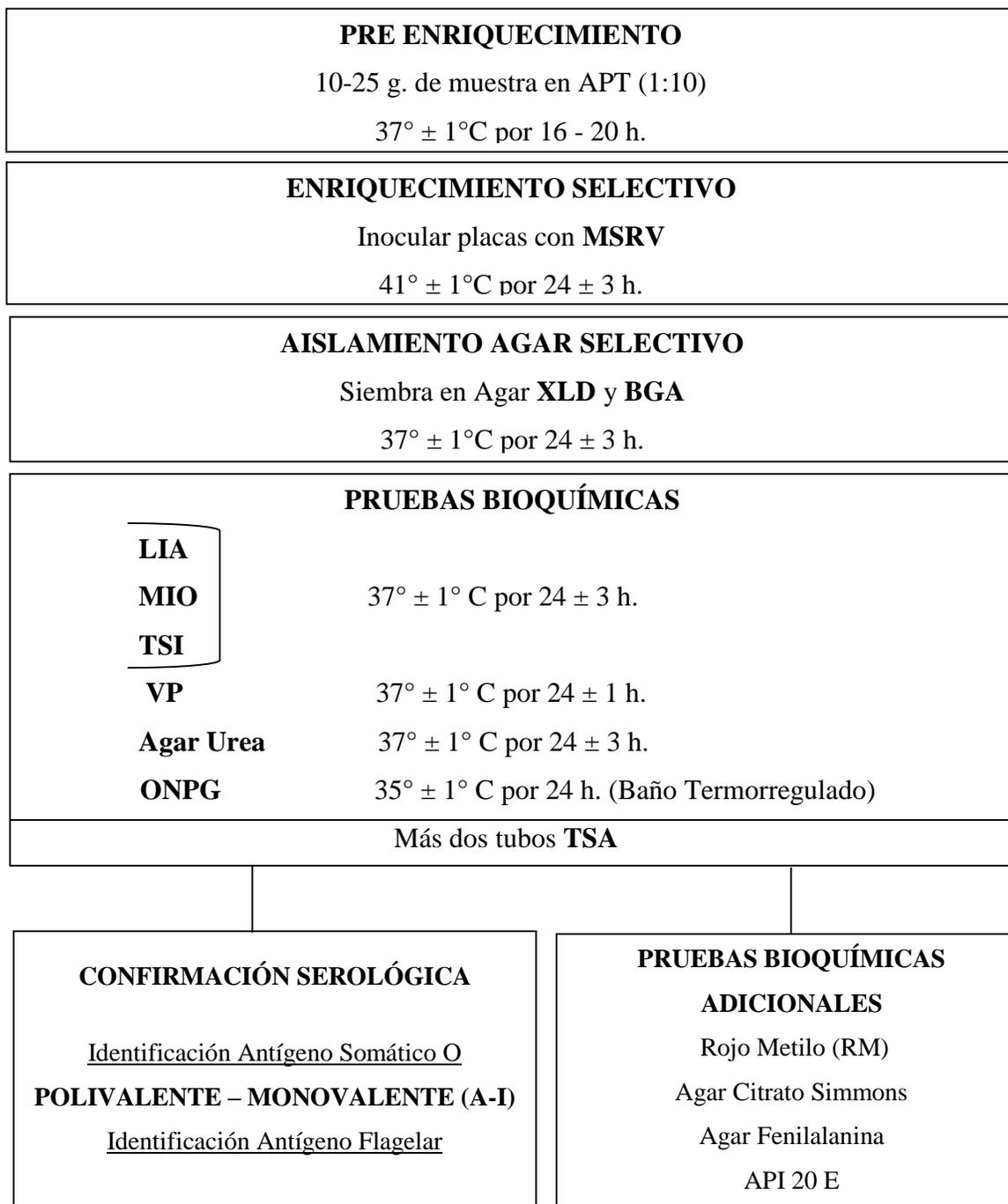
- **STEVENS, M.; HUMPHREY, T.; MASKELL, D.** 2009. Molecular insights into farm animal and zoonotic *Salmonella* infections. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 364: 2709–2723.
- **SUÁREZ, M.** 2003. Las infecciones paratifoideas, impacto en la avicultura. *Rev. Avi.* 101:3-40.
- **SU, L.; CHIU, C.** 2007. *Salmonella*: Clinical importance and evolution of nomenclature. *Med. J.* Vol. 30 (3): 210- 219.
- **UE. UNIÓN EUROPEA. PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO.** 2003. Reglamento (CE) N° 2160/2003 Sobre el control de la *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos. 17 de Noviembre de 2003.
- **UE. UNIÓN EUROPEA. PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO.** 1992. Directiva 92/177/CEE del consejo. Relativa a las medidas de protección contra determinadas zoonosis y determinados agentes productores de zoonosis en animales y productos de origen animal, a fin de evitar el brote de infecciones e intoxicaciones procedentes de los alimentos. 17 de Diciembre de 1992.
- **VAN ASSELT, E.; ZWIETERING, M.** 2006. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *Int. J. Food. Microbiol.* 107: 73–82.
- **VELDMAN, A.; VAHL, H.; BORGGREVE, G.; FULLER, D.** 1995. A survey of the incidence of *Salmonella* species and Enterobacteriaceae in poultry feeds and feed components. *Vet. Rec.* 135:169-172.
- **VELGE, P.; WIEDEMANN, A.; ROSSELIN, M. ; ABED, N.; BOUMART, Z.; CHAUSSE, A.; GREPINET, O. ; NAMDARI, F. ; ROCHE, S. ; ROSSIGNOL, A. ; VIRLOGEUX-PAYANT, I.** 2012. Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *Open Microbiol J.* 1(3): 243-258.
- **VICENTE, J.; HIGGINS, S.; BIELKE, L.; TELLEZ, G.; DONOGHUE, D.; DONOGHUE, A.; HARGIS, B.** 2007. Effect of probiotic culture candidates on *Salmonella* prevalence in commercial turkey houses. *J. Appl. Poul. Res.* 16: 471–476.

- **WIERUP, M.** 2013. Chapter 19: *Salmonella* in feed **In:** Barrow, P; Methner, U. (Eds.). *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. CABI North American. pp. 377-399.
- **WILLINGER, H.; FLATSCHER, J.; DREIER, F.; WILDNER, T.** 1986. Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen in Geflügelhaltungen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift. 73:141–148.

11. ANEXOS

Anexo 1:

Detección de *Salmonella* spp móviles en fecas según metodología tradicional ISO 6579:2002/AMD



Anexo 2:

Detección de *Salmonella* spp. móviles en alimentos basado en la Norma Chilena 2675.Of 2008.

