



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX
LÓPEZ ESPAM -MFL-**

CARRERA DE PECUARIA

**TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
MÉDICO VETERINARIO**

Tema:

**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS
ENTEROPATÓGENOS EN GALLINAS PONEDORAS
ISA BROWN**

AUTORES:

**VELÁSQUEZ VELÁSQUEZ EDUARDO ARMANDO.
GARCÍA MOLINA PABLO EMILIO.**

TUTORA:

DRA. FÁTIMA ARTEAGA CHAVEZ.

Calceta, 2012

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Eduardo Armando Velásquez Velásquez y Pablo Emilio García Molina, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos nuestros derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

EDUARDO ARMANDO VELÁSQUEZ VELÁSQUEZ

PABLO EMILIO GARCÍA MOLINA

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Dra. Fátima Arteaga certifica haber tutorado la tesis titulada **IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMO ENTEROPÁTOGENOS EN GALLINAS PONEDORAS ISA BROWN**, que ha sido desarrollada por Eduardo Armando Velásquez Velásquez y Pablo Emilio García Molina, previa a la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al Reglamento para la elaboración de tesis de grado de tercer nivel de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”.

Dra. Fátima Arteaga Chávez
TUTORA DE TESIS

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Quienes abajo firmamos, miembros del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** la tesis titulada **IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMO ENTEROPÁTOGENOS EN GALLINAS PONEDORAS ISA BROWN**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Eduardo Armando Velásquez Velásquez y Pablo Emilio García Molina, previa a la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al Reglamento para la elaboración de tesis de grado de tercer nivel de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”

Dr. Derlys Mendieta Chica

MIEMBRO

Ing. Jesús Muñoz Cedeño

MIEMBRO

Dr. Freddy Zambrano Zambrano

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” ESPAM – MFL, que nos dio la oportunidad de capacitarnos, y a la vez nos proveyó el material de siembra utilizado en nuestra investigación.

A la Dirección de la Carrera de Pecuaria que tiene a su cargo el Dr. Alexis Roca

Al quien nos brindo sus conocimientos para la realización de la investigación.

Al Director de Tesis; Dra. Fátima Arteaga por haber asumido la responsabilidad de guiarnos con dedicación y esfuerzo en este paso trascendental para nuestra vida profesional.

A los señores miembros del Tribunal de la Carrera de Pecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí ESPAM – MFL; Dr. Freddy Zambrano Dr. Derlys Mendieta Ing. Jesús Muñoz quienes aportaron con sus conocimientos.

A los catedráticos y compañeros de la Carrera de Pecuaria quienes siempre estuvieron prestos a colaborar cuando se los necesitó.

A Dios y a nuestras familias, pilares fundamentales en la realización de esta investigación.

Y a todas las personas que directa o indirectamente influyeron con la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida y haber sido mi guía en cada una de mis acciones permitiendo que llegue a esta ansiada meta. A mis padres, Eduardo Velásquez, por su apoyo para continuar mis estudios universitarios y Elizabeth Velásquez, por su protección, consejos constantes, esfuerzos y dedicación, ya que sin ellos no sería lo que soy, porque mis fracasos son sus fracasos y mis triunfos los suyos, a mis hermanas Susana, Lorena, Juliana, a mis sobrinos Mateo, Jean Paul, Sahily a mi cuñado Paul Cedeño por sus consejos a mi novia Arely Barreiro por estar siempre a mi lado apoyándome.

A mi abuelita Accidalia (+). La que nuevamente no estará presente en una ocasión tan especial pero sé que desde el cielo está orgullosa de ver esta meta alcanzada.

A toda mi familia, a mis abuelos, tíos y primos por su ayuda incondicional en todo momento.

A todos mis amigos en Calceta por creer en mí y alentarme siempre en las buenas y en las malas.

Y a todas las personas que contribuyeron con su granito de arena para el desarrollo de esta tesis. Muchas gracias.

Eduardo Armando Velásquez Velásquez

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado la vida, el conocimiento y entendimiento; por estar conmigo en los momentos difíciles y por haberme permitido llegar a este logro tan anhelado.

A mi Madre Lucia Molina por haberme procreado y haberme dejado la mejor herencia que es la educación. Por sus consejos y por su entrega y por estar presente en los momentos difíciles, le dedico este logro a ella.

A mis hermanos Jesús Alberto y Paola Elizabeth y a mis sobrinos Reinier, Asael, y Britany les agradezco por su ayuda incondicional.

A mi familia, mi esposa Matilde Mendosa, y mi hijo Joseph Emilio, a mi abuelita Licta Loor y en especial a Narcisa Cedeño por esa preocupación constante y el apoyo que siempre me han brindado.

A todos mis seres queridos y a mis amigos por creer en mí y brindarme la confianza necesaria para lograr esta meta.

Pablo Emilio García Molina

CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	i
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	ii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
CONTENIDO	vii
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
I. ANTECEDENTES	1
1.1.- PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2.- JUSTIFICACION	2
1.3.- OBJETIVOS	3
1.3.1.- OBJETIVO GENERAL	3
1.3.2.-OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.4 HIPÓTESIS	4
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1.- LA SALMONELLA COMO CAUSANTE DE INFECCIONES EN EL SER HUMANO COMO EN AVES	5
2.2.- CLASIFICACIÓN DE LA SALMONELLA SPP.	6
2.3.- SALMONELLA ENTÉRICA SUBGRUPO ENTÉRICA SEROTIPO TYPHIMURIUM COMO CAUSANTE DE LA INFECCION PARATIFUIDEA	10
2.4.- EPIDEMIOLOGÍA	10
2.5.-PATOGENÉISIS	15
2.6.- RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS	18
2.7.-QUE COMPRENDE EL PROCESO DE CONTROL DE LA SALMONELLA	26
2.8.-CÓMO PREVENIR Y TRATAR LA INFECCIÓN DE SALMONELLA	27
2.8.1.-ANTIBIÓTICOS	27
2.8.2.-PROBIÓTICOS	28
2.8.3.-ACIDIFICANTES	29
2.9.-IMPORTANCIA DEL PH GASTROINTESTINALA EN EL CRECIMIENTO DE LA SALMONELLA	31
2.9.1.-VACUNAS INACTIVADAS	32

2.9.2.-VACUNAS VIVAS.....	32
III. DISEÑO METODOLÓGICO.....	36
3.1.- UBICACIÓN.....	36
3.2.- TIPO DE ESTUDIO.....	36
3.3.- DURACIÓN DE TRABAJO.....	37
3.4.- UNIVERSO Y MUESTRA.....	37
3.5.- PROCEDIMIENTO.....	37
3.6.- MATERIALES.....	38
3.7.- TÉCNICAS ESTADÍSTICAS:.....	38
3.8. - TECNICAS QUE SE APLICARAN EN LA TOMA DE MUESTRAS:.....	39
3.9.- MODELO DE CÓMO ORGANIZAR LA ESTRATEGIA EN EL MANEJO SANITARIO DE GALLINAS PONEDORAS.	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	41
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
5.1 CONCLUSIONES.....	46
5.2. RECOMENDACIONES.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	48
ANEXOS.....	59

RESUMEN

Una de las causas de muerte de las aves en la avicultura moderna esta dada por la incidencia de la *Salmonellas* spp. La investigación se realizo en la granja Siria del Cantón Bolívar sitio Mocochal en el periodo de Junio a Agosto del 2012. La misma tuvo como objetivos determinar la presencia de *Salmonellas* spp. en agua, alimentos y huevos de consumo humano, identificar los tipos y subtipos de *Salmonellas* spp y proponer una estrategia biosanitaria en el manejo de granja de gallinas ponedoras. Se evaluaron dos lotes de 13.000 aves cada uno de 18 meses de edad y en producción de huevo. Se tomaron muestras de órganos (hígado, bazo, ovario, corazón), agua y alimento. Para la identificación de los patógenos se utilizó el API 20-E. Los resultados obtenidos no muestran presencia de *Salmonella* spp. en los órganos evaluados , ni en agua ni en el alimento, sin embargo se logra identificar la presencia de los siguientes microorganismos patógenos: *Proteus mirabilis*, *P. penneri*, *Enterobactercloacae* y *E.coli* en los órganos hígado y bazo. Se propuso un plan de bioseguridad en el manejo en granjas de tipo ponedoras.

SUMMARY

One of the causes of death of the birds in the modern poultry is given by the incidence of *Salmonella* spp. The research was conducted at the farm site Bolívar Canton Syria Mocochoal in the period from June to August 2012. It aimed to determine the presence of *Salmonella* spp. in water, food and eggs for human consumption, identify the types and subtypes of *Salmonella* spp and propose a strategy in handling biomedical laying hen farm. We evaluated two lots of 13,000 birds each 18 months of age and egg production. Samples of organs (liver, spleen, ovary, heart), water and food. For the identification of pathogens was used API 20-E. The results did not show the presence of *Salmonella* spp. in the organs tested, or in water or food, is achieved nevertheless identify the presence of the following pathogens: *Proteus mirabilis*, *P. penneri*, *Enterobacter cloacae* organs and *E.coli* in liver and spleen. We proposed a biosecurity plan in handling farm type layers.

I. ANTECEDENTES

1.1.- PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El control de microorganismo enteropatógenos como la *Salmonella* spp. constituye uno de los principales retos para el sector avícola. La importancia radica en las repercusiones en Salud Pública, las restricciones aplicadas a la comercialización de los productos procedentes de granjas infectadas y a las consecuencias sobre los programas sanitarios de las explotaciones Allen, (2002).

Se sugiere que la erradicación de los serotipos *Pullorum* y *Gallinarum*, gracias a la vacunación, permitan la ocupación del nicho ecológico de las aves por *Salmonellas*, las mismas son consideradas de gran importancia en salud pública como es el caso de la *Salmonella entérica* sub especie *entérica* serotipo Enteritidis y *Salmonella entérica* subespecie *entérica* serotipo *Typhimurium* Allen, (2002).

Esta epidemiología es muy compleja y esta asociada a la contaminación ambiental y a la existencia de infinidad de reservorios diferentes de las aves, por lo que es preciso realizar un control exhaustivo mediante medidas de bioseguridad, vacunación e higiene.

La Salmonelosis aviar puede transmitirse verticalmente, propio de ciertos serotipos como Enteritidis, y horizontalmente a través de las heces, agua, insectos, roedores, aves salvajes, humanos, materiales y equipos, etc., en el caso de todos los serotipos. Las aves salvajes constituyen una importante fuente de infección para el hombre. Acha, (2005).

¿Existirá presencia de microorganismo enteropatógenos en las gallinas ponedoras Isa Brown en la granja Siria y que consecuencias nocivas causaran estos animales en la salud pública?

1.2.- JUSTIFICACION

En la actualidad a nivel mundial una de las afectaciones mas comunes en la crianza intensiva de las aves y específicamente la gallina ponedoras es la presencia microorganismo enteropatógenos como es el caso de *Salmonellas* spp. Wall (2007). Los mismos causan grandes brotes de enfermedad y muerte lo que hace que disminuya excesivamente los índices productivos, se conocen que logran infestar al menos 236 especies de aves en todos los continentes. El primer brote de esta enfermedad se presentó en 1926 en Indonesia y en Inglaterra Threlfall y Angulo (2008).

Durante los últimos años, el desarrollo de la avicultura en Venezuela, logra grandes adelantos en su eficiencia productiva, lo que constituye una actividad completamente industrializada, donde se mantiene un crecimiento sostenido y una reserva productiva presentada en 88 millones de aves sanas y libres de microorganismo enteropatógenos Tamada y Nakaoka(2009.)

A pesar de que a nivel mundial existen controles de sanidad contra los microorganismo enteropatógenos y en específico con el patógeno *Salmonella* spp. esta enfermedad, Ecuador no queda exerta de la misma. Se trabaja en la búsqueda de nuevas alternativas, controles y medidas de bioseguridad que permita un control más eficiente a nivel de granjas de la presencia de este patógeno. De ahí que se propone realizar el siguiente trabajo para identificar la presencia de microorganismo enteropatógenos y la identificación de los tipos y sub tipos presentes y prevenir las enfermedades causadas por los mismos y así ayudar al rendimiento y producción de huevos.

1.3.- OBJETIVOS

1.3.1.- OBJETIVO GENERAL

- Identificar microorganismo enteropatógenos en gallinas ponedoras Isa Brown.

1.3.2.-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de microorganismo enteropatógenos en órganos, agua, alimento y huevos de consumo humano.
- Identificar los tipos y subtipos de microorganismo enteropatógenos presentes en esta investigación.
- Proponer una estrategia biosanitaria en el manejo de granjas de gallinas ponedoras.

1.4 HIPÓTESIS

La identificación y control de microorganismo enteropatógenos favorecerá la calidad de las gallinas ponedoras y huevos que contribuirá a que se apliquen correctivos a la granja avícola Siria para evitar contaminaciones de salud pública.

II. MARCO TEÓRICO

2.1.- PRESENCIA DE MICROORGANISMO ENTEROPATÓGENOS COMO CAUSANTE DE INFECCIONES EN EL SER HUMANO COMO EN AVES

Desde principios de 1980 se produjo un aumento mundial de casos de infecciones por *Salmonella entérica* serotipo *Enteritidis* (SE), lo que produjo incremento de estas infecciones en el humano y en aves comerciales, lo que provoca pérdidas económicas en la industria avícola. Mientras que la mayoría de los estudios sobre la patogénesis de *Salmonella* spp. se enfocaron en *Salmonella typhimurium*, la patogénesis de SE ha sido muy poco investigada, aunque estos últimos años se ha superado a *S. typhimurium* como el serotipo más común registrado en Estados Unidos de América. (Agero y Friis, 2000).

En el ámbito avícola, podemos dividir las salmonellas en dos importantes grupos: las salmonellas inmóviles y las móviles. Las salmonellas móviles, llamadas también paratifoideas son capaces de ocasionar toxiinfecciones en animales de sangre fría o caliente incluyendo al hombre. Las inmóviles están representadas por las dos únicas ser variedades de salmonellas huésped específico para las aves: *S. Pullorum* y *S. Gallinarum*, responsables de la pullorosis y la tifoidea o tifosis aviar respectivamente, siendo estas enfermedades de declaración obligatoria por estar en un programa de erradicación nacional según resolución oficial del Programa Nacional contra Salmonelosis aviar. (Huovinen, 2007).

Desde el punto de vista económico las infecciones paratifoideas están entre las enfermedades bacterianas más importantes de la industria avícola. Según estudios recientes, las paratifoideas más frecuentes en los ambientes avícolas son las *S. Enteritidis* y la *S. typhimurium*. (Aguilar, 2006).

La producción avícola doméstica constituye el reservorio más grande de salmonella que existe en la naturaleza, presentándose con mayor frecuencia en las aves que en otras especies animales. Siendo los productos avícolas una importante fuente de proteína animal para el humano, el pollo se ha considerado en nuestro país, un punto álgido de estudio para la medicina preventiva, puesto que éste, puede ser la principal causa de intoxicaciones alimentarias (Alexander, 2007).

Las técnicas para el aislamiento de la salmonella están bien señaladas; sin embargo, existen algunas combinaciones entre medios de cultivos de enriquecimiento y medios de cultivos selectivos que tienen mayor eficacia para la detección o aislamiento de microorganismos de este género. (Allan y Poppe, 2002).

2.2.- CLASIFICACIÓN DE LA *SALMONELLA* SPP.

Clásicamente se consideran tres tipos de antígenos: somático (O), flagelar (H) y de superficie (Vi) (se presenta en la mayoría del serotipo typhi). El sistema de tipificación fue estudiado por más de 70 años por White en Inglaterra y Kauffmann en Alemania, los cuales desarrollaron un sistema para diferenciar una amplia variedad de serotipos por pruebas exhaustivas de adsorción y de reacción cruzada. (Balbas, 2002).

La identificación de los serotipos de *Salmonella* spp. se basa en exámenes antigénico, estos bacilos poseen un antígeno somático (O), que es un lipopolisacárido termoestable localizado en la pared celular y un antígeno flagelar (H) que es una proteína termolábil contenida en los flagelos. Ciertas especies poseen una capa externa formada por polisacáridos que reciben el nombre de Vi. Generalmente esta capa es tan fina que no adopta el aspecto de cápsula y no llega a cubrir de forma completa al antígeno O, sin embargo, las células que poseen el antígeno Vi solo pueden ser aglutinadas por acción del anti-H o por anticuerpos anti-Vi,

por lo que la aglutinación de tipo O se hace sólo posible a través de la destrucción de los antígenos Vi y H. (Davisy Eise, 2001).

La estructura química de diversos factores O (parte específica de lipopolisacárido bacteriano) ha sido determinada y los genes involucrados en la producción de enzimas esenciales para la reunión de algunos factores O también fueron localizados, clonados y secuenciados. El antígeno H se encuentra en los flagelos, estos están compuestos de subunidades de proteína llamada flagelina. El antígeno Vi es un homopolímero lineal de ácido 2-acetamido-2-deoxy-D-galacturónico unidos por enlaces $\alpha(1-4)$. Este polisacárido capsular es encontrado en serotipos typhi, paratyphi C y Dublín. (Wray y Wray, 2006).

Las complejidades antigénicas de los bacilos entéricos se ponen de manifiesto en el género *Salmonella*. Por reacciones de aglutinación H, O y Vi se identificaron más de 2400 serotipos. Las reacciones cruzadas demuestran que cada antígeno O de *Salmonella* posee dos o tres determinantes específicos, cada uno de los cuales recibe un número, y que es compartido por otros Antígenos O. Las *Salmonellas* son clasificadas en grupos O, donde se designan las primeras 26 por letras (A-Z) y los subsiguientes por números, cada grupo posee su determinante O principal característico (Liébana, 2007).

Los serotipos de cada grupo tienen un determinante antigénico O común hay más grupos, pero las principales bacterias aisladas de muestras biológicas del hombre y animales pertenecen a los grupos A hasta la O. En el cuadro 1 se muestran algunos serogrupos y especies importantes que causan enfermedades en el hombre y los animales (Jawetz y Konema, 2008).

Cuadro 1.- Serogrupos importantes en enfermedades causadas por *Salmonella spp.*

Serogrupo (Antígeno "O"	Serovariedades	Enfermedad
A	<i>S. paratyphi</i>	Fiebre paratifoidea en el hombre
B	<i>S. schottmuelleri</i>	Fiebre paratifoidea en el hombre
	<i>S. typhimurium</i>	Gastroenteritis en el hombre, es la especie más prevalente en la infección de varias especies animales Varias infecciones equinas y en otros animales
C ₁	<i>S. agona</i>	Abortos en yeguas y vacas
	<i>S. abortus equi</i>	Aborto en bovinos
	<i>S. abortus bovis</i>	Aborto en ovinos
	<i>S. abortus ovis</i>	Enteritis porcina; invasor secundario frecuente en fiebre porcina clásica; infecciones humanas.
	<i>S. choleraesuis</i>	Infecciones en cerdos jóvenes
C ₂	<i>S. typhisuis</i>	Infecciones bovinas y porcinas principalmente
	<i>S. montevideo</i>	Infecciones humanas y en varios animales, en especial bovinos
	<i>S. newport</i>	Infecciones en varios animales; gastroenteritis humana Tifoidea aviar, enfermedad intestinal aguda en pollos y pavos jóvenes
D ₁	<i>S. enteritidis</i>	Infecciones intestinales graves de pollos y pavipollos, infecciones crónicas en aves de corral adultas
	<i>S. gallinarum</i>	Fiebre tifoidea humana
E ₁	<i>S. pullorum</i>	Infecciones graves en terneros Enfermedad del pecho en crías de patos
	<i>S. typhi</i>	Infecciones bovinas
	<i>S. dublin</i>	
	<i>S. anatum</i>	
	<i>S. muenster</i>	

Los miembros de cada grupo que se clasificaron con los antígenos O pueden subdividirse en serovariedades basándose en los antígenos flagelares proteicos (H).

Una cepa dada puede elaborar en momentos diferentes cada uno de los dos tipos de antígenos H, los de los primeros tipos denominados de fase 1 solo se comparten con pocas especies de *Salmonella*, mientras que las de fase 2 son menos específicos. Los primeros se indican con letras minúsculas y los segundos con número. En el cuadro 2 se indican algunas serovariedades importantes en animales (Carter y Chengappa, 2005).

Cuadro 2.- Antígenos de serovariedades importantes de *Salmonella* aislada de animales

Serovariedades	Grupo "O"	Antígenos somáticos		Antígenos flagelares "H"	
		"Vi"		Fase 1	Fase 2
<i>S. typhimurium</i>	B	1,4,(5),12		i,2	
<i>S. derby</i>	B	1,4,(5),12		g,f(1,2)	
<i>S. agona</i>	B	4,12		f,g,s-	
<i>S. saint paul</i>	B	1,4,(5),12		e,h,1,2	
<i>S. heidelberg</i>	B	1,4,(5),12		r,1,2	
<i>S. san diego</i>	C ₁	4,(5),12		e,he,n,z15	
<i>S. typhisuis</i>	C ₁	6,7		c1,5	
<i>S. cholerasuis</i>	C ₁	6,7		(c)1,5	
<i>S. cholerasuis</i>		6,7			
biovariedad					
Kunzensdorf					
<i>S. infantis</i>	C ₁ 6,7,14r				1,5
<i>S. oranienburg</i>	C ₁ 6,7m,t				-
<i>S. montevideo</i>	C ₁ 6,7,14g,m,(p),s				-
<i>S. newport</i>	C ₂ 6,8e,h				1,2
<i>S. muenchen</i>	C ₂ 6,8d				1,2
<i>S. manhattan</i>	C ₂ 6,8d				1,2
<i>S. kentucky</i>	C ₃ 8,20i				z ₆
<i>S. panama</i>	D ₁ 1,9,121,v				1,5
<i>S. gallinarum</i>	D ₁ 1,9,12-				-
<i>S. pullorum</i>	D ₁ 9,12-				-
<i>S. enteritidis</i>	D ₁ 1,9,12g,m				(1,7)
<i>S. dublín</i>	D ₁ 1,9,12(Vi)g,p				-
<i>S. anatum</i>	E ₁ 3,10e,h				1,6
<i>S. london</i>	E ₁ 3,101,v				1,6
<i>S. meleagridis</i>	E ₁ 3,10e,h				1,w
<i>S. give</i>	E ₁ 3,101,v				1,7
<i>S. give</i>	E ₁ 3,10e,h				1,5
<i>S. muenster</i>	E ₂ 3,15e,h				1,6
<i>S. newington</i>	G ₂ 1,13,23z				1,w
<i>S. worthington</i>	G ₂ 1,13,23z ₂₉				(z ₃₇)
<i>S. cubana</i>	K ₆ ,14,18z _{42z3}				(1,5)
<i>S. cerro</i>					= Antígeno

En cursivas = Antígeno O cuya presencia se debe a conversión por fago; ()

Las técnicas que se usan para clasificar las bacterias entran en dos categorías: métodos fenotípicos y métodos moleculares. Por mucho tiempo se establecieron pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas en conjunción con la serología tradicional para la tipificación de *Salmonella*, sin embargo, en la última década se introduce e incrementa el uso de anticuerpos monoclonales, enzimas de restricción, pruebas de ADN y PCR. Cada una de estas herramientas proveen un aumento en el poder de resolución, sin embargo el desarrollo de proposiciones con la habilidad de discriminar realmente diferencias en aislamientos de la misma especie posee un mayor desafío (Barrett y Goldsby, 2004).

2.3.- SALMONELLA ENTÉRICA SUBGRUPO ENTÉRICA SEROTIPO TYPHIMURIUM COMO CAUSANTE DE LA INFECCION PARATIFUIDEA

Salmonella Pullorum (SP), *S. Gallinarum (SG)*, *S. Enteritidis (SE)*, *S. Typhimurium (ST)* y *S. Heidelberg* son consideradas generalmente como las especies más reconocidas dentro del género *Salmonella*. La SP y SG, especies adaptadas al huésped o inmóviles se han controlado mayormente en los países industrializados. La SE, ST y SH pertenecientes al grupo de la Paratifoidea aviar incluye decenas de especies en su mayoría móviles, que todavía representan un serio problema desde el punto de vista de la salud animal y pública, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vía de desarrollo. (Becton y Dickinson., 2006).

Estas especies pueden sobrevivir con mayor facilidad bajo las condiciones ambientales existentes en las casetas y granjas avícolas. Generalmente las infecciones causadas por el grupo de la Paratifoidea se presentan de forma asintomática y la respuesta inmune evaluada mediante pruebas serológicas es limitada en aves jóvenes que se convierten en portadoras. A estas características favorables para su desarrollo se añade su capacidad de mantener las infecciones por largos períodos, aún en presencia de tratamientos con diversos agentes antimicrobianos. (Bergey y Manual, 2007).

2.4.- EPIDEMIOLOGÍA

La *Salmonella* spp. es uno de los principales contaminantes de productos alimenticios y en algunos países como Francia y USA son el principal agente responsable de brotes de gastroenteritis. Durante las últimas décadas la *Salmonella entérica* es reconocida como el mayor riesgo para humanos en muchos países desarrollados y la principal fuente de infección es en alimentos de origen animal contaminados (Baggesen y Sandvang, 2000).

El aislamiento de *Salmonella* spp. en alimentos o ingredientes alimenticios se reporta desde principios de los años 50s. Por lo general, las infecciones y epidemias se originan de alimentos y agua contaminada con heces de roedor, manos de trabajadores que manejan alimentos y equipo y utensilios contaminados. Los casos esporádicos ocurren por contacto directo con un animal o persona infectada. Las fuentes de infección más importante en humanos son: agua, leche y derivados, mariscos, huevos secos o congelados, carne y sus productos, colorantes animales y animales domésticos. (Milleman y Gaubert, 2000).

Las heces fecales de animales con un cuadro sub clínico o portadores son una fuente de contaminación más importante que los francamente clínicos. Otras fuentes son heces humanas y de animales, aves de corral, fertilizantes y alimentos para animales preparados con harina de hueso, harina de pescado y carne (Blaha , 2004).

Durante la década pasada se incremento el conocimiento de los patógenos que ocasionan la contaminación de los alimentos y su potencial impacto en la salud humana. Aunque el dato exacto no se conoce, el mejor estimado está en 3.6 a 7.1 millones de personas que fueron afectadas por alguna enfermedad relacionada con patógenos específicos asociados a alimentos en 1993 de los cuales 2.1 a 5 millones fueron atribuidos al consumo de carne o pollo (Morris, 2008).

En México, este tipo de infecciones se notificaron de manera ocasional, aunque se sospecha que la frecuencia puede ser mayor, debido al escaso control que se tiene en la manufactura y distribución de alimentos.

En estudios realizados en niños recién nacidos en el estado de Morelos se reportó el aislamiento de *Salmonella* spp. en el 3.2 % de niños sanos de 0-6 meses de edad mientras que en Mérida Yucatán en 1990, se reportó una frecuencia de aislamiento de 5.15 % y 7.27 % en niños de 0-90 días de edad (Chávez, 2001).

También revisten importancia epidemiológica como fuente de contagio los animales de vida silvestre, así como los de zoológico y mascotas. Las aves migratorias pueden difundir las *Salmonella* spp. por naciones y continentes. En particular los roedores y posiblemente también los insectos, desempeñen un papel nada despreciable en la epidemiología de las infecciones (Ouabdesselam, 2006).

En lo que se refiere al hombre, se partirá del principio de que todas las *Salmonellas* spp. son patógenas para él y que su salud está amenazada de manera constante por ingerir alimentos y materias primas de origen animal. También pueden contaminarse por la transmisión directa entre personas y por la contaminación de alimentos en el transcurso del tratamiento y preparación de estos. Por último, las personas que eliminen *Salmonellas* spp. pueden ser también fuentes de contagio para los animales (Blaha, C 2004).

La transmisión de *Salmonella* spp. del animal al hombre se realiza generalmente a través de los alimentos y se da con mucho mayor frecuencia que la transmisión de hombre a hombre o la del hombre al animal. Los productos cárnicos son un vehículo importante para la infección, tales productos son seguros cuando se manejan en forma adecuada, sin embargo, cuando existe una pobre higiene o un mal cocimiento puede ocasionarse un cuadro de salmonelosis (Pérez, A; y Castro, V. 2006).

El nivel de producción animal es relevante con respecto a las utilidades de la granja y la posición del sector agropecuario en el mercado, pero también con respecto a la calidad y seguridad de productos de origen animal relacionados con la salud pública. La producción animal es parte de la cadena de producción alimenticia. Por lo tanto, los productores toman en cuenta las expectativas de consumo, las demandas en el campo de la

salud animal y el medio ambiente dentro de su informe (Noordhuizen, G y Frankena, H. 2009).

La *Salmonella* spp. provoca un gran impacto económico por el deterioro de la salud y la contaminación de carne y huevo. En Japón, fue encontrada en sanos, gallinas en granjas y rastros. *S. typhimurium* fue el serotipo más importante en gallinas y humanos. La prevalencia de *Salmonella* spp. en gallinas aparentemente sanos en rastros, disminuyó a finales de los 80s (5.7%) comparado con 23.1 % a finales de los 70s (Menanteau y Lantier, 2002).

En 1998, la *Salmonella* spp. fue aislada de 2.3 % de gallinas aparentemente sanos en 37 % de granjas, por lo que se considera como una prevalencia baja en Japón. Para reducir el impacto económico debido a *S. typhimurium* y la contaminación simultánea del medio ambiente, es importante prevenir la invasión del medio ambiente externo, remover las heces fecales y desinfectar el medio ambiente interno (Asai *et al.*, 2002).

Muchos animales, pueden estar infectados en forma natural con diversas *Salmonellas* spp. y contener a los microorganismos en sus tejidos corporales, sus excreciones o sus productos. En USA la frecuencia de fiebre tifoidea disminuye pero se incrementa las infecciones por otras *Salmonellas* spp.. El problema se agrava aún más por el uso indiscriminado de antimicrobianos como promotores de crecimiento y en la prevención de enfermedades, los cuales favorecen la proliferación de salmonellas resistentes a los medicamentos y como consecuencia su potencial transmisión al hombre y convertirse esto en un problema de salud pública Cruchaga, (2008).

Recientes brotes en humanos se relacionan con el consumo de productos provenientes de animales. La regulación de la inspección de carne en los Estados Unidos, incrementa el énfasis en la seguridad alimentaria en los mercados internacionales presionando para reducir la prevalencia de

patógenos que originan contaminación de los alimentos humanos en las poblaciones animales de las granjas. En Estados Unidos, la salmonelosis fue categorizada como la enfermedad más importante de origen alimenticio y utiliza como vehículo la carne roja y los productos avícolas (O'Carroll y Slanning, 2005).

La *S. typhimurium* es en particular de importancia clínica y es también el serotipo más frecuentemente aislado de material patológico bovino y sus productos. El desarrollo de marcadores moleculares para probar la clonación de cepas de *Salmonella* spp. y relacionar los brotes con fuentes de origen bovino es por demás importante. Esto también ayudará para precisar la difusión de cepas e identificar el origen del riesgo de contaminación y por lo tanto el origen de la contaminación de productos alimenticios (Milleman et al., 2000).

Basado en estudios serológicos en cerdos de Dinamarca, los riesgos se clasifican en tres niveles: Nivel 1, en el cual la prevalencia de *S. entérica* es baja y aceptable. Nivel 2, con una moderada prevalencia de seroreactores a *S. entérica* (>10% a >50%). Nivel 3, la seroprevalencia a *S. entérica* es claramente insatisfactoria (>50%) (Alban, 2002).

Uno de los principales objetivos que se plantean al realizar un estudio de algún brote endémico o epidémico de etiología bacteriana es identificar si se trata de una misma cepa o de cepas similares de una especie. Para ello se emplean métodos de caracterización fenotípica y técnicas de biología molecular, dentro de las cuales el estudio de los perfiles plasmídicos es la más confiable entre las accesibles a un laboratorio de investigación clínica (Schwartz, J. 2007).

Los plásmidos son moléculas circulares de ADN extracromosómico bicatenario circular dotados de replicación autónoma, es decir que no son necesarios para el crecimiento normal de la bacteria. Estos pueden tener distintos tamaños dependiendo del número de pares de bases que los

compongan y pueden aparecer en una cantidad variable. Un gran número de características fenotípicas se relacionan con la presencia de plásmidos como la producción de toxinas, metabolismo de hidratos de carbono simples, producción de bacteriocinas, síntesis de enzimas intra o extracelulares o la resistencia a determinados antibióticos (Giraud, E. 2006).

El estudio de la dotación plasmídica es el primer método genotípico para el estudio de un brote epidémico, posee un alto poder de discriminación sobre todo cuando se usa en combinación con otros métodos de tipificación y una misma metodología puede ser aplicada a distintos géneros y especies bacterianas (Merino y Alonso, 2003)

2.5.-PATOGENÉISIS

La característica de la salmonelosis en aves depende del serotipo aislado, virulencia del mismo, resistencia del hospedero, ruta de infección y la dosis infectante. La *Salmonella* spp. es normalmente introducida vía oral, pasa a través de estómago y coloniza el intestino (Roof y Kramer, 2008).

El mecanismo por el cual la *Salmonella* spp. induce la diarrea no está totalmente conocida, pero las entero toxinas son factores importantes para producirlas (Agerso y Nielsen, 2000).

Una vez en el intestino, se lleva a cabo la adherencia de la bacteria o la endocitosis por las células "M" del hospedero. La adherencia de la bacteria a los receptores epiteliales provocan la formación de vacuolas, las *Salmonellas* spp. permanecen en estas vacuolas y son transportadas a través del citoplasma y llagan a la lámina propia del epitelio vía exocitosis a la membrana basal. También se demostro que la invasión ocurre por la captura de bacterias a través de las células M de las placas de Peyer (Roof, 2008)

La interacción *Salmonella*-enterocito más la producción de toxinas puede resultar en la liberación de prostaglandinas y adenil-ciclase, lo cual estimula la producción de adenosin mono fosfato cíclico (AMPc) que incrementa el potencial eléctrico, donde se estimula la salida de líquidos y electrólitos de la célula, produciendo la diarrea. La entero toxina termolábil es similar a la toxina del *Vibrio cholerae* o la producida por *Escherichia coli* esta toxina es codificada por genes y tiene una reacción cruzada con la toxina del cólera (Resano y Cervera, 2004).

Una vez en la lámina propia, la bacteria es expuesta a un gran número de células fagocíticas donde se incluyen los neutrófilos y macrófagos asociados con el tejido linfoide (GALT - gutassociatedlymphoidtissue) que está conformado por placas de Peyer, folículos linfoides, linfocitos intraepiteliales y nódulos linfoides mesentéricos (Gebreyes y Altier, 2002).

La ingestión de *Salmonella* spp. por estas células, permite que sean muertas muchas de las bacterias invasoras, pero algunas pueden sobrevivir. La *Salmonella* spp. es un patógeno intracelular facultativo y puede sobrevivir por largos periodos en el interior de las células fagocíticas. Una vez dentro del fagocito, la bacteria puede usar a este como vehículo y protegerse de su destrucción y al mismo tiempo utilizarlo para su diseminación (Jubb, 2004).

El primer paso importante en la patogénesis de la *Salmonella* spp. es la asociación y unión con el epitelio intestinal, especialmente del íleon. La presencia de flagelos y adhesinas es importante en este punto de la enfermedad. Las fimbrias tipo 1 manosa sensibles y las manosa resistentes están involucradas en la adherencia e invasión, pero su papel aún no es muy claro. Los flagelos permiten la asociación con el epitelio intestinal pero también es un importante factor que permite la supervivencia dentro de los macrófagos (Chístense, 2007).

Las investigaciones hechas en *S. typhimurium* aislada de animales demostraron que 98 % de éstas poseen fimbria tipo I y todas tienen flagelo. La invasión es un requerimiento indispensable para la patogénesis. La habilidad de la bacteria para invadir es codificada por plásmidos específicos de serotipo. Estos plásmidos de virulencia tienen un rango de tamaño de 100 kilobases (kb) en *Salmonella typhimurium* a 50 kb en *Salmonella choleraesuis*. La remoción de este plásmido resulta en una bacteria incapaz de invadir a través de las placas de Peyer a los nódulos linfático mesentéricos y bazo después de la infección oral (Gensberg, 2003).

El análisis genético de bacterias mutantes, indican que cada una contiene solo una inserción de transposon y está localizado en el gene codificado para la producción de fosfatasa ácida no específica (phoP). Los mutantes que pierden este gen son avirulentos, indicando que esta phoP puede regular la expresión de otros genes involucrados en la virulencia y la respuesta al estímulo del medio ambiente (Bergey, 2007).

Salmonella typhimurium tiene una citotoxina asociada con la membrana externa (lípidio A), la cual inhibe la síntesis de proteínas y puede explicar los efectos citopáticos asociados con la gastroenteritis. El lípidio A esta asociado con los lipopolisacáridos (LPS) y es la porción tóxica de la molécula. También se muestra la actividad en los macrófagos, que estimulan la pirogenicidad, induce leucocitosis y causa liberación de mediadores químicos que causan shock, resultado de severos cambios vasculares (Heurtin, 2007).

La habilidad para sobrevivir en el medio ambiente intracelular de la célula del hospedero puede ser el problema más significativo asociado con el diagnóstico, vacunación y desarrollo del estado de portador en la gallina. Signos clínicos y lesiones en las gallinas presentan principalmente dos tipos de cuadros clínicos. El cuadro septicémico que es causado por *S. entérica subesp. choleraesuis* y el cuadro diarreico que son ocasionados por *S. entérica subesp. entérica* y sus variedades por lo que los signos

clínicos de la salmonelosis pueden ser el resultado de la septicemia o enterocolitis (Kado, y 2003).

Cuando se trata de identificar los gérmenes en animales con infección latente (eliminadores clínicamente sanos), se toman muestras en especial del hígado, ganglios linfáticos hepáticos y vesícula biliar, así como del los ganglios linfáticos del intestino delgado y amígdalas para el análisis bacteriológico (Blaha, 2004).

2.6.- RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

El uso de los antibióticos se expande enormemente, los grupos principales, se describen a continuación:

Aminoglucósidos: incluye gentamicina, amikacina y netilmicina, estos fármacos contienen amino-azúcares unidos a un anillo aminoclitol mediante enlaces glucosídicos. El uso principal es el tratamiento de infecciones causadas por bacterias aerobias Gram.-negativas; actúan interfiriendo con la síntesis proteica de los microorganismos (Baggesen, 2008).

Las mutaciones que afectan a las proteínas en el ribosoma bacteriano, blanco de estos fármacos pueden conferir una resistencia pronunciada a su acción. También puede producirse resistencia por la adquisición de plásmidos que contienen genes que codifican las enzimas metabolizadoras de aminoglucósidos. Las bacterias que adquieren resistencia a uno de ellos, pueden exhibir resistencia a otros amino glucósidos (Mazurek, 2005).

Penicilinas y cefalosporinas: Inhibe la capacidad regeneradora de la membrana de la célula bacteriana al producir una disrupción en la permeabilidad selectiva de las bacterias y consecuentemente la muerte de la célula. Varios son los mecanismos de resistencia bacteriana, el microorganismo puede tener una resistencia intrínseca a causa de

diferencias estructurales en las PBP. Otras instancias de resistencia bacteriana son causadas por la incapacidad del agente para penetrar a su sitio de acción. Las bacterias pueden destruir los antibióticos betalactámicos mediante mecanismos enzimáticos (Farrington, 2001).

En las bacterias Gram.-negativas, las betalactamasas se encuentran en cantidades pequeñas, pero están localizadas en el espacio periplásmico entre las membranas celulares externa e interna, dando una mayor protección a la bacteria. Las betalactamasas en las bacterias Gram.-negativas están codificadas en cromosomas o en plásmidos y pueden ser constitutivas o inducibles. Trimetoprim-sulfametoxazol: La sulfonamida inhibe la incorporación del PABA en el ácido fólico y la trimetoprima previene la reducción de dihidrofolato (Davis, 2001).

La frecuencia del desarrollo de resistencia bacteriana es menor cuando se usan en combinación estos antibióticos que la que se produce cuando se usan individualmente. La resistencia en las bacterias Gram.-negativas se asocia a menudo con la adquisición de un plásmido que codifica una dihidrofolato reductasa alterada (Carlson, 2004).

Nitrofurantoína: Las enzimas capaces de reducir la nitrofurantoína parecen ser cruciales para su activación. Las bacterias reducen la nitrofurantoína con mayor rapidez que las células de los mamíferos y se cree que ésta es la causa de la actividad antimicrobiana selectiva del compuesto. No se conoce exactamente el mecanismo de acción, pero se sabe que inhibe la síntesis de ciertas enzimas bacterianas (Giraudy Cloeckert, 2000).

Cloranfenicol: Inhibe la síntesis proteica de las bacterias y en menor grado en las células eucariotas. Por lo general la resistencia en las bacterias Gram.-negativas está causada por un plásmido adquirido por conjugación y se debe a la presencia de una acetil-transferasa específica

que la inactiva. Se han caracterizado no menos de tres tipos de enzimas (Herikstad y Hayes, 2005).

Quinolonas: Estos fármacos desarrollan una rápida resistencia bacteriana. Contra este inconveniente surgieron 4 quinolonasfluorinadas, como la norfloxacin y la ciprofloxacina que tienen una amplia actividad antimicrobiana y parecen tener una cantidad mínima de efectos adversos y no produce un rápido desarrollo de resistencia bacteriana. Actúan sobre la DNA girasa, que es responsable de la introducción continua de súper enrollamientos negativos en el ADN.

Las topoisomerasas tipo I cortan una de las dos cadenas del DNA, lo que permite que la hélice gire liberando una vuelta y relajando el DNA; mientras que las topoisomerasas tipo II (principalmente la girasa) aumentan una vuelta al DNA lo que incrementa la tensión (Balbas, 2002).

Estas enzimas están involucradas en el movimiento de la burbuja replicativa en bacterias y células eucariotas. Los cambios genotípicos adquiridos que inducen resistencia, puede ser producido por una mutación, que altera un componente celular o por infección de un plásmido que aporta genes para nuevas enzimas, los mecanismos fisiológicos de la resistencia son: Disminución en la actividad de un medicamento, la formación de un receptor alterado, la disminución de la permeabilidad y el nivel aumentado de una enzima que destruya o nulifique al antibiótico (Davis, 2003).

La frecuencia de resistencia debida a patógenos de origen alimenticio se incrementan dramáticamente presumiblemente debido al uso extensivo de agentes antimicrobianos en medicina humana y veterinaria (Gebreyes y Altier, 2002).

El abuso de antibióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas agudiza el problema de resistencia bacteriana, lo que resulta en el desarrollo de nuevos químicos con menos bacterias resistentes. Estos son las quinolonas, las que son usadas contra infecciones donde se incluyen las de tracto genitourinario, meningitis, tracto respiratorio superior e infecciones en piel (Bello, 2006).

El gran beneficio de los antibióticos en la salud humana hace difícil evaluar los riesgos genotóxicos. Existen pocos reportes de una adecuada clasificación de los riesgos genotóxicos debido a la terapia con quinolonas. Meanwhile *et al.* 1991 citado por Arriaga *et al.* 2000) reportaron que las quinolonas pueden producir cambios y aberraciones cromosomales Threlfall (2007).

La ciprofloxacina y enoxacina fueron mutagénicos (Arriaga *et al.*, 2000) en cepas de *S. typhimurium*. La resistencia antimicrobiana incrementa la morbilidad, mortalidad y costos asociados con la enfermedad. Hoy en día, la resistencia antimicrobiana es uno de los mayores problemas de salud en medicina humana y veterinaria y se reconoce por la Organización Mundial de la Salud como un gran problema de salud pública. La resistencia antibiótica en *Salmonella enterica* de alimentos de origen animal se incrementa en diferentes países en años recientes (Baggesen y Aarestrup, 2000).

La vigilancia ulterior a la prohibición de los antibióticos causantes de ese efecto, reveló una reducción significativa de la resistencia en un lapso de 5 a 10 años. Lamentablemente esas políticas estrictas se dejan muchas veces de lado y por lo general llevan a un incremento compensatorio del uso de antibióticos para fines terapéuticos (Ramos, 2006).

En veterinaria, dos áreas son de importancia. La primera es la falla en la terapia debido a microorganismos resistentes. Si este patógeno es

confinado a una o pocas especies animales será solamente un problema veterinario. De mayor importancia es el desarrollo de resistencia en bacterias patógenas zoonóticas.

Estas pueden difundirse a humanos y son consecuentemente una materia de salud pública y medicina humana. Además las características de resistencia seleccionadas en patógenos animales o bacterias comensales pueden expandirse por el intercambio de ADN y finalmente llegar a patógenos zoonóticos y humanos. En la producción animal, los antimicrobianos son usados para tres propósitos: terapia, profilaxis y promotores de crecimiento (Baggesen, 2008).

En todas las instancias, una presión selectiva es impuesta en las poblaciones bacterianas y las resistentes a los antibióticos son seleccionadas. El mayor problema es que el grupo de genes de resistencia se incrementa y estos residen en los plásmidos u otro elemento genético móvil donde se puede difundir.

El primer reporte de resistencia en *Salmonella* se remonta a los años sesentas y describen casos de cepas mono resistentes. En 1961 se detecto un nivel de resistencia de 2.5 %, el cual incremento a 9.5 % en 1970. En numerosas investigaciones realizadas durante las últimas décadas la prevalencia de aislamientos con múltiple resistencia, de las mismas serovariedades, fagotipos y marcadores moleculares son descritos (Wray y Wray, 2000).

En otro estudio se observó la resistencia antimicrobiana de 365 aislamientos de *Salmonella* spp. recuperados de nódulos linfoides y contenido cecal en cerdos de abasto en USA, donde se usaron 13

antibióticos comunes en el tratamiento de enfermedades en humanos y medicina veterinaria. La mayor frecuencia de resistencia múltiple incluía tres antibióticos, penicilina G, estreptomina y clortetraciclina (Farrington *et al.*, 2001). Sin embargo, esta tendencia engloba a otros antibióticos lo que traen como consecuencia el aumento en la dificultad de los tratamientos en los casos clínicos.

La resistencia a las quinolonas en *Salmonella* spp. de origen veterinario fue reportada por primera vez en 1988. Cepas de *Salmonella typhimurium* DT204c multiresistente y muy resistente a las fluoroquinolonas fueron observadas en 1988. En 1990 el número de aislamientos de *Salmonella typhimurium* DT204c disminuyó en Alemania. Sin embargo en forma paralela, el número de aislamientos pentaresistentes DT104 se incrementó quedando como el serotipo y fagotipo más prevalente en aislamientos veterinarios (**Organización Mundial de la Salud 2005**).

Recientemente en Dinamarca un caso fatal de *Salmonella typhimurium* DT104 resistente a quinolonas fue reportado en un brote asociado con el consumo de carne de cerdo contaminada (Malorny *et al.*, 2001). Aunque la infección gastrointestinal usualmente no requiere terapia antibiótica, la resistencia a estos por parte de los agentes es de importancia en la salud pública ya que se pueden complicar con septicemia, endocarditis, epiema, meningitis e infección en huesos y articulaciones, especialmente en individuos inmunocomprometidos (Blackburn y Davies, 2006).

La infección con *Salmonella* spp. es el ejemplo más típico de enfermedades entéricas implicadas principalmente en fuentes comunes de epidemias. La identificación de cepas es esencial para una investigación efectiva de estos brotes y los métodos tradicionales y moleculares son satisfactoriamente aplicados (Vatopoulos, 2003).

Existen varios fármacos disponibles para el tratamiento de la fiebre tifoidea. El cloranfenicol continúa siendo utilizado, y otras alternativas son la ampicilina y el trimetoprim-sulfametoxazol; sin embargo, se observa un incremento en la resistencia durante los últimos cinco años, con porcentajes cercanos a 40 % para los tres antibióticos mencionados; en estos casos es necesario utilizar fluoroquinolonas para el tratamiento de la enfermedad. En Dinamarca, *S. enteritidis* fue el serotipo más común de salmonelosis en 1999. El segundo serotipo más común fue *S. typhimurium*, de los cuales una cuarta parte fue DT104 (Alban et al., 2002).

La distribución general de *Salmonella* spp. Entre humanos y animales productores de alimento y otros tipos de animales es atribuida en la actualidad a *S. typhimurium* fagotipo DT104. Este fagotipo es muy importante por varias razones. Es multirresistente, tiene una amplia distribución geográfica y puede ser aislada de humanos, alimentos y una gran variedad de especies animales y los genes de resistencia están localizados en el cromosoma (Threlfall, 2002).

Desde 1990 se incrementa la incidencia de la infección en humanos y animales causada por este fagotipo en muchos países como Alemania, Estados Unidos, Canadá, Italia, Bélgica, Israel y Dinamarca. Estudios moleculares demostraron que la resistencia a β -lactamasas, aminoglicósidos y sulfonamidas son codificadas cromosómicamente por dos diferentes integrones. DT104 inicialmente emergió en ganado vacuno en 1988 en Inglaterra y Gales (Pang y Altwegg, 2002).

En humanos el primer aislamiento fue obtenido en Inglaterra y Gales a principio de 1984. En los siguientes años, la incidencia de DT104 incremento dramáticamente, de 259 aislamientos en 1990 a 3837 en 1995 y en 1997 de 2956 aislamientos 95 % fueron pentaresistentes. Esta

epidemia no solo fue confinada a las islas Británicas, reportes de Alemania en 1997 mostraron una prevalencia de la DT104 de 30 % en humanos, 75 % en bovinos, 50 % en cerdos, 30 % en pollos y 39 % en otros animales (Connerton, 2000).

Los factores de riesgo para adquirir DT104 incluyen el consumo de alimento contaminado de aves, cerdo y bovino, así como el contacto con animales productivos y mascotas. Una inadecuada refrigeración o una conservación y transporte de productos de cerdo a temperaturas > a 7°C puede ocasionar crecimiento de *Salmonella* spp (Alban *et al.*, 2002).

Se asume que la infección sub-clínica está presente en una proporción considerable de animales y la erradicación es imposible. En los años setenta se identificó en México y Centroamérica un brote debido a *S. typhimurium* termoresistente. La resistencia a cloranfenicol durante 1972, fue mayor a 75 %, y más del 92 % de las cepas resultaron resistentes a tetraciclina, estreptomycinina y sulfonamidas (Solórzano y Miranda, 1998). En otros países como Grecia se observó también un incremento relativo en la resistencia a la ampicilina de 7.9 % en 1987 a 30.4 % en 1991 (Vatopoulos, 2003).

En la actualidad la DT104 se reporta en una gran variedad de huéspedes, caballos, cabras, perros, alce, ratón, coyotes, ardillas, pichones y el medio ambiente. En el ganado vacuno puede persistir en portadores con síntomas muy leves por más de 6 meses y producir infecciones recurrentes. Esto produce un alto riesgo de infección ocupacional para veterinarios, granjeros y manipuladores de alimentos. Otro importante fagotipo del serotipo *typhimurium* que también exhibe multiresistencia es el DT193, este fue responsable de brotes en humanos a finales de los 80s y principios de los 90s principalmente en Europa. Dos de los brotes (Italia y Reino Unido) fueron debidos a productos de aves contaminados (Gebreyes y Altier, 2002).

2.7.-QUE COMPRENDE EL PROCESO DE CONTROL DE LA SALMONELLA

La complejidad del origen de las infecciones causadas por la Paratifoidea provoca que varios sectores del negocio avícola trabajen en un esfuerzo mancomunado para su prevención y control. La reacción de las compañías genéticas y de las plantas de procesamiento de productos avícolas consiste en producir aves reproductoras, huevos y carnes libres de contaminación (Gebreyes y Altier, 2002).

La tarea de control de la Salmonelosis se convierte en un proceso integrado que se extiende desde la producción de un pollito recién nacido libre de *Salmonella* spp. hasta la entrega de carnes u otro tipo de productos avícolas totalmente libres de estos agentes patógenos. Con cierta frecuencia los productos avícolas como el huevo y la carne se asocian con infecciones causadas por la Paratifoidea en humanos (Neidhardt, 2009).

Varias publicaciones y trabajos científicos realizados en mataderos avícolas por el Departamento de Agricultura Federal (USDA) y otros centros de investigación de los Estados Unidos, indican que las cepas patógenas de *Salmonella* spp. detectadas después de que las canales de pollos salen del tanque de enfriamiento ("chiller") son las mismas que se aíslan en las pollas, reproductoras, residuos de la incubadora y en los pollitos recién nacidos. Las mismas especies también se pueden aislar cuando se toman muestras de la yacija dentro de la caseta, lo que indica su relevancia en la transmisión de la infección y la importancia de tomar hisopos de arrastre cuando se intenta determinar si una parvada se ha infectado (Alvarado, 2005).

2.8.-CÓMO PREVENIR Y TRATAR LA INFECCIÓN DE SALMONELLA

El primer punto a considerar en un programa de prevención es determinar el origen de la infección y qué especie de *Salmonella* spp. está presente. Es decir, saber si la fuente de infección es algún ingrediente o ingredientes añadidos al alimento, el personal o equipo contaminado que se pone en contacto con las aves, la presencia de vectores (roedores por ejemplo) o la presencia de transmisión transovárica (vertical). Si desconocemos si la infección se origina en las madres, en las granjas o proviene del alimento será difícil tomar las medidas adecuadas (Connerton, 2000).

La mayoría de los expertos en el área consideran que idealmente se deben utilizar por los menos dos métodos de prevención. Esta combinación de medidas debe acompañarse de múltiples pasos para que resulten exitosas, donde se incluye un mejoramiento del nivel de bioseguridad y control de roedores e insectos, aspectos cruciales en la prevención de las infecciones. Tradicionalmente se usan diferentes tipos de enfoques para la prevención y/o tratamiento de la Salmonelosis, como el uso de los antibióticos, la exclusión competitiva (probióticos), acidificantes, prebióticos y la administración de vacunas vivas e inactivadas (Bains, 2009).

2.8.1.-ANTIBIÓTICOS

Se aplican por varias décadas en el tratamiento y la prevención de las infecciones con un costo de aplicación en el alimento y agua de bebida relativamente bajo. Productos como la Furazolidona, hoy en día prohibidos en muchos países, se utilizaron ampliamente por décadas para el control de la Salmonelosis. Últimamente las medidas de control establecidas en los países industrializados no se basan en el uso de antibióticos porque su

aplicación indiscriminada puede provocar la presencia de cepas resistentes en humanos (Ashton, 2006).

Tradicionalmente se reporta que provocan el desarrollo de aves portadoras y se reconoce que de la misma manera que ocurre con la Micoplasmosis aviar, no es posible eliminar la infección permanentemente. Uno de los resultados de la utilización de los antibióticos en aves infectadas consiste en que con frecuencia no se aíslan las especies patógenas de *Salmonella* en los hisopos cloacales (eliminación fecal), lo que brinda una falsa tranquilidad al veterinario, quien piensa que se eliminó la infección luego de la medicación Kado y Liu, (2003).

En realidad lo que ocurre es que muchas de las aves tratadas terminan como portadoras porque el tratamiento evitó la presencia del germen en las heces, pero no dentro de los órganos internos, donde la bacteria se aloja esperando el momento adecuado (pico de producción, mal manejo, corte de pico o cualquier tipo de estrés) para producir la infección nuevamente.

Varias publicaciones científicas indican que cuando se tratan parvadas con antibióticos para controlar las infecciones, posteriormente el ave se torna más susceptible a la enfermedad con otras especies del género, porque se suprime el crecimiento de la *microbiota* intestinal beneficiosa y por lo tanto el ave no es capaz de impedir el crecimiento de otras especies patógenas de *Salmonella* spp. a nivel intestinal (Barrientos, 2008).

2.8.2.-PROBIÓTICOS

Estos productos son usados mayormente de manera preventiva. Desde hace varias décadas se demostró que los pollitos recién nacidos presentan una alta susceptibilidad a las infecciones provocadas por la Paratifoidea. Según adquieren más edad, se hacen más resistentes. Esta resistencia asociada con la edad se atribuye en gran medida a la adquisición de una

micro flora intestinal protectora obtenida del medio ambiente. La exclusión competitiva o uso de probióticos consiste en una carrera por colonizar los intestinos con la *microbiota* beneficiosa antes de que la *Salmonella* spp. patógena invada al huésped (Tamada y Nakaoka, 2009)

Este enfoque se usa ampliamente en todo el mundo y se considera uno de los métodos más eficientes de prevención. Los probióticos demuestran consistentemente una disminución tanto en la colonización intestinal como en la subsiguiente invasión de los tejidos internos por parte de varias especies de *Salmonella* spp. Se considera que su efectividad es producto de la combinación de varios mecanismos de interferencia, donde se incluye la producción de ácidos grasos volátiles, disminución del pH intestinal, desarrollo de inmunidad local, ocupación de puntos específicos en el tejido epitelial, producción de varios compuestos antibacteriales y la competencia por nutrientes a nivel intestinal (Biester, 2006).

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 *Salmonella*. En algunos reportes científicos se observa que la combinación simultánea de antibióticos como la Enrofloxacin con probióticos en pollitos recién nacidos contaminados con *Salmonella* reduce el nivel de infección en las parvadas usadas en las pruebas (Boler, 2009).

2.8.3.-ACIDIFICANTES

Se pueden usar tanto en el tratamiento como en la prevención de las infecciones. Numerosos reportes científicos han demostrado que microorganismos patógenos como el *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* y especies patógenas de *Salmonella* spp. muestran una reducción de su tasa de crecimiento cuando el pH del ambiente donde se desarrollan baja de 5. Por otro lado, en el caso de microorganismos que toleran la

presencia de ácidos como los *Lactobacillus*, generalmente su crecimiento no se ve afectado. Las especies patógenas de *Salmonella* pueden sobrevivir a un pH de 4 a 9 con un rango óptimo para su crecimiento de 6.5 a 7.5, de manera que un pH por encima o debajo de esos límites será capaz de inhibir su crecimiento (Brugh, 2007).

En años recientes los acidificantes se convirtieron 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. 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 (Malorny, 2008).

Los ácidos orgánicos, se clasifican como ácidos débiles. En su forma no disociada (no ionizada y más lipofílica) pueden penetrar la pared celular bacteriana donde atraviesan la membrana y dañan los procesos normales que ocurren a través de ella en algunas bacterias (Asai y Otagiri, 2002).

Una vez los ácidos orgánicos penetran al interior de la bacteria se disocian y provocan que el pH en su interior disminuya. La bacteria reacciona llevando el pH a los niveles normales, pero mantener este proceso conlleva el consumo de más energía y eventualmente puede detenerse el crecimiento bacteriano y ocurrir su destrucción. Desde el punto de vista químico, la porción aniónica (carga negativa) del ácido permanece atrapada dentro de la bacteria porque es capaz de difundirse libremente a través de la pared celular en su forma no disociada (Burger, 2003).

La acumulación de esos aniones se hace tóxica para la bacteria y es capaz de inhibir sus reacciones metabólicas, donde se reduce su capacidad de

síntesis y finalmente ocurre la destrucción de las membranas internas. Se reporta que las bacterias tipo Gram positivo contienen una alta concentración de potasio intracelular (catión, es decir carga positiva), lo que les permite neutralizar las cargas negativas presentes en los aniones y equilibrar su pH interno (Nielsen y Baggesen, 2006).

Las bacterias del género *Lactobacillus*, no son tan sensibles a los cambios en el pH y pueden tolerar una diferencia mayor entre el pH interno y el externo. Varias publicaciones han reportado la presencia de cepas patógenas de *Salmonella* que pueden desarrollar resistencia a los ácidos, cuando se exponen a pH bajos por períodos de tiempo prolongados, lo que representa una limitación importante en el caso de varios acidificantes (Calnek, 2000).

2.9.-IMPORTANCIA DEL PH GASTROINTESTINALA EN EL CRECIMIENTO DE LA SALMONELLA

En condiciones comerciales una práctica de manejo muy común en compañías avícolas que procesan los pollos a nivel de mataderos consiste en retirar el alimento de los comedores varias horas antes del sacrificio para evitar la contaminación de la canal. El objetivo es mantener el tracto digestivo casi vacío o con poco alimento durante el proceso de evisceración, ya sea manual o automático, de manera que se reduzca la posibilidad de contaminar la canal con alimento o con heces, dos elementos que pueden contener especies patógenas de *Salmonella* u otros contaminantes (Jawetz y Melnick, 2009).

La ausencia de alimento en el buche y el intestino grueso provoca que el pH aumente (inclinándose hacia el lado alcalino) y por lo tanto estimula el crecimiento de especies patógenas de *Salmonella*. Por este motivo la

aplicación de acidificantes en el agua de bebida de los pollos de engorde es usada frecuentemente (Clubb, 2006).

2.9.1.-VACUNAS INACTIVADAS

Existe un gran número de bacterinas comerciales que contienen la SE aplicadas mayormente a las ponedoras en forma de una emulsión oleosa y que evitan la colonización intestinal. Algunas compañías preparan autovacunas o vacunas autógenas con las cepas de SE que aíslan en sus granjas. Cuando se usan las bacterinas, deben aplicarse por lo menos dos dosis durante la etapa de crecimiento para que sean efectivas (Cruchaga y Echeita, 2001).

Después de la aplicación generan una buena respuesta humoral que ofrece protección parcial contra la invasión de los órganos internos y la colonización intestinal. Se reporta que no son capaces de proteger efectivamente en el caso de desafíos muy severos, son costosas y las aves deben estar libres de la infección antes de la aplicación. Son efectivas contra la especie de *Salmonella* spp. presente en la vacuna, dado que su nivel de protección cruzada es muy bajo. El método de aplicación es laborioso y a veces costoso depende de la región geográfica (Daniel, J. 2004).

2.9.2.-VACUNAS VIVAS

En la actualidad se comercializan varias vacunas vivas para prevenir las infecciones con la Salmonelosis alrededor del mundo. En el caso de la Unión Europea y EE.UU. se desarrollan vacunas mediante mutaciones de la ST que ofrecen la gran ventaja de que protegen contra serotipos múltiples.

Estas vacunas a pesar de pertenecer al grupo B (ST) son capaces de proteger contra el grupo D (SE). Desafortunadamente, de la misma manera que ocurre con otras vacunas vivas aplicadas en avicultura, la protección

es corta, sólo dura entre 30 y 60 días. Por lo tanto en el caso de ponedoras comerciales es necesario aplicar varias vacunas en crecimiento para obtener un buen nivel de protección (Erickson, 2009).

Hasta el momento no existe un método único que por sí solo pueda prevenir estas infecciones y por lo tanto existen varias técnicas que se usan de rutina para prevenir o tratar las infecciones causadas por diferentes especies de *Salmonella*. El control de la Salmonelosis es y seguirá siendo un tema sumamente importante y complejo desde el punto de vista de la salud aviar y pública a nivel mundial (Figuroa, 2003).

La *Salmonella* es un bacilo gran negativo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Se sabe, recientemente, que la causa más común del envenenamiento de comida por especies de *Salmonella* spp. es debido a la *S. typhimurium*. como su nombre sugiere, esta bacteria causa enfermedades parecidas a la fiebre tifoidea en ratones (Reyna, 2006).

En humanos, *S. typhimurium* no causa una enfermedad tan severa como la *S. typhi* (otra variación de *Salmonella* que causa la fiebre tifoidea) y normalmente no es fatal). La enfermedad se caracteriza por causar diarreas, dolores abdominales, vómitos y náuseas, y, generalmente, dura aproximadamente siete días.

Desde principios de 1980 se produjo un aumento mundial de casos de infecciones por *Salmonella entérica* serotipo *enteritidis*(SE), lo que produjo incremento de estas infecciones en el humano y en aves comerciales, provocando pérdidas económicas en la industria avícola. Mientras que la mayoría de los estudios sobre la patogénesis de *Salmonella* spp se enfocaron en *Salmonella typhimurium*, la patogénesis de SE es muy poco investigada, aunque estos últimos años SE supera a *S. typhimurium* como el serotipo más común registrado en Estados Unidos de América (Chistense, 2007).

En el ámbito avícola, podemos dividir las salmonellas en dos importantes grupos: las salmonellas inmóviles y las móviles. Las *Salmonellas* móviles, llamadas también paratifoideas son capaces de ocasionar toxiinfecciones en animales de sangre fría o caliente donde se incluye al hombre.

Las inmóviles están representadas por las dos únicas serovariedades de *Salmonellas* spp. huésped específico para las aves: *S. pullorum* y *S. gallinarum*, responsables de la pulorosis y la tifoidea o tifosis aviar respectivamente, siendo estas enfermedades de declaración obligatoria por estar en un programa de erradicación nacional según resolución oficial del Programa Nacional contra Salmonelosis aviar Merino. (Alonso y Ronconi, 2003).

La producción avícola doméstica constituye el reservorio más grande de *Salmonella* spp. que existe en la naturaleza, donde se presenta con mayor frecuencia en las aves que en otras especies animales. Siendo los productos avícolas una importante fuente de proteína animal para el humano, el pollo se considera en nuestro país, un punto álgido de estudio para la medicina preventiva, puesto que éste, puede ser la principal causa de intoxicaciones alimentarias (Herikstad y Hayes, 2005).

Las técnicas para el aislamiento de la *Salmonella* spp. están bien señaladas; sin embargo, existen algunas combinaciones entre medios de cultivos de enriquecimiento y medios de cultivos selectivos que tienen mayor eficacia para la detección o aislamiento de microorganismos de este género. Es decir que la tarea de control de la Salmonelosis se ha convertido en un proceso integrado que se extiende desde la producción de un pollito recién nacido libre de *Salmonella* spp. hasta la entrega de carnes u otro tipo de productos avícolas totalmente libres de estos agentes patógenos (Reyna, 2006).

Varias publicaciones y trabajos científicos realizados en mataderos avícolas por el Departamento de Agricultura Federal (USDA por sus siglas en inglés) y otros centros de investigación de los Estados Unidos, indican que las cepas patógenas de *Salmonella* spp. detectadas después de que las canales de pollos salen del tanque de enfriamiento ("chiller") son las mismas que se aíslan en las pollas, reproductoras, residuos de la incubadora y en los pollitos recién nacidos.

Las mismas especies también se pueden aislar cuando se toman muestras de la yacija dentro de la caseta, lo que indica su relevancia en la transmisión de la infección y la importancia de tomar hisopos de arrastre cuando se intenta determinar si una parvada se ha infectado. *Salmonella Pullorum* (SP), *S. Gallinarum* (SG), *S. Enteritidis* (SE), *S. Typhimurium* (ST) y *S. Heidelberg* son consideradas generalmente como las especies más reconocidas dentro del género *Salmonella*. La SP y SG, especies adaptadas al huésped o inmóviles se han controlado mayormente en los países industrializados (Figueroa, 2003)

2.9.3.-Galería API 20E (Sistemas de identificación multipruebas)

Api 20 E es un sistema estandarizado que permite la identificación de enterobacteriaceae y otros bacilos gran negativos no exigentes, que incluye 21 tests bioquímicos mini autorizados así como una base de datos la lista completa de las baterías posibles de identificar con este sistema se presenta en la tabla de identificación al final de la presente ficha técnica. La galería del sistema api 20 e se compone de 20 micro tubos que contienen los substratos des hidratados. Los micro tubos se inoculan con una suspensión bacteriana que re constituye los tests. Las reacciones producidas durante el periodo de incubación se traducen en cambios de color espontáneo o revelado mediante la adición de reactivos. La lectura de estas reacciones se lleva acabo utilizando la tabla de lectura y la identificación se obtiene con la ayuda de catalogo analítico o del software de identificación (Appelbaum P.C. 2012)

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1.- UBICACIÓN.

El presente trabajo se realizó en la Granja Siria, situada en el sitio Mocochal, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, a 00°49'23" de latitud sur 80°11'01" de longitud oeste^{1/}.

CONDICIONES CLIMÁTICAS.

PRECIPITACIÓN MEDIA ANUAL: 838,7 mm²

TEMPERATURA MEDIA ANUAL: 26°C

HUMEDAD RELATIVA ANUAL: 80,9%

HELIOFANIA ANUAL: 1325,4 (horas/sol)

EVAPORACIÓN ANUAL: 1739,5 mm

FUENTE: Estación meteorológica de la ESPAM MFL 2012.

3.2.- TIPO DE ESTUDIO

De acuerdo a las características y al tipo de objetivo planteado, esta investigación se llevó a cabo bajo la modalidad de investigación pues en ella se plantea la identificación de Microorganismos enteropatógenos como la *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras, mediante un proceso de ciertos parámetros de seguridad y el uso de herramientas idóneas que permita obtener datos confiables.

3.3.- DURACIÓN DE TRABAJO

El proceso de desarrollo de este proyecto se ejecuto por los postulantes en el lapso de 45 días, en los meses comprendido entre junio /agosto del 2012.

3.4.- UNIVERSO Y MUESTRA

Previo a la visita al lugar donde se encontró el objeto de estudio se calculo una existencia aproximada de 26.000 aves en producción las mismas que se encontraban distribuidas en dos lotes sin considerar tamaño, edad y capacidad de producción. Cada lote estaba conformado por 13.000 aves, todas de la misma raza en estudio lo que resulta favorable para el desarrollo de la investigación. Se aplico la metodología de toma al azar de las aves y una por cada mil aves de diferentes lotes y jaulas.

De las mismas se tomo órganos (hígado, corazón, bazo y ovario) y se le determino la presencia de contaminación por microorganismos enteropatógenos específicamente para *Salmonella* spp. en estos animal.

Las aves analizadas se sometieron una alimentación *ab-libintum* con una dieta según los instructivos técnicos para la crianza de la ponedora.

3.5.- PROCEDIMIENTO

Se tomaron las muestras en estudio y se aplicó un diseño completamente aleatorizado para escoger las aves y huevos sin tener restricción en cuanto

a tamaño, color etc., de acuerdo a la distribución en las jaulas de cada uno de los galpones.

Las muestras de agua tomadas provienen de la cisterna de la granja avícola y las muestras recolectadas fueron tomadas en envase plásticos estériles.

Para la necropsia de las aves se tuvo en cuenta todas las normas de asepsia conocidas a fin de precautelar posibles contaminaciones.

3.6.- MATERIALES

- hisopos
- Guantes
- Tijeras
- Pinzas
- Caja Petry
- Agujas
- Alcohol
- Api 20 E
- Gallinas
- Huevos
- Mechero de buffer

3.7.- TÉCNICAS ESTADÍSTICAS:

En la investigación no se aplicó ningún método estadístico, los resultados obtenidos se presentan con las imágenes que se ubican en el acápite de anexos.

3.8. - TECNICAS QUE SE APLICARON EN LA TOMA DE MUESTRAS:

Para identificación de la presencia de microorganismos enteropatógenos como *Salmonella* spp. en huevos, órganos, agua y alimento se aplicaron técnicas confiables utilizando el medio selectivo de caldo de selenito para la identificación de *Salmonella* spp.

Para el reconocimiento de la presencia de *Salmonella* spp. en órganos, se llevaron aves de diferentes edades y lotes al Laboratorio de Microbiología de la ESPAM-MFL, donde con medidas de asepsia se les realizó la necropsia.

Pasos seguidos:

1. Se sacrificaron las aves con corriente 110 v. en pico y cloaca.
2. Se desinfectó el área con el mechero de buffer
3. Se procedió a la necropsia de las aves con el equipo de disección con los que se extrajeron los diferentes órganos (hígado, bazo, corazón, ovario)
4. Luego de extraído los órganos se llevaron al medio de cultivo (caldo de selenito) cual se encubaron de 24 - 48 horas.
5. Identificación de crecimiento de bacterias a nivel presuntivo y con ayuda del microscopio.
6. Después de observado el crecimiento de bacterias se llevaron las muestras a la etapa confirmativa de la posible presencia de *Salmonella* spp. para eso se utilizo el medio de cultivo agar *Salmonella Shigela* (SS)
7. Para refutar la confirmación de la presencia de *Salmonella* spp. se utilizó el API 20- E para la identificación de este enteropatógeno.

Para la identificación de la *Salmonella* spp. en huevos se llevaron al Laboratorio de Microbiología de la ESPAM-MFL, y se inicio con el proceso de lavado y desinfección del mismo externamente con jabón yodado a los lados el mechero de buffer para una mejor esterilización del área.

Después esterilizada el área y el huevo se hicieron unos orificios en la parte superior del mismo donde se cogió muestras de la yema con un hisopo y se llevaron al agar SS, las muestras fueron incubadas en un periodo de 24-48 horas.

Las pruebas de agua, se realizo tomando muestras de los reservorios de agua de la granja y se llevaron en botellas esterilizadas al Laboratorio de Microbiología de la ESPAM-MFL, y donde se hizo la prueba de crecimiento bacteriano en el caldo de selenito con un periodo de incubación de 24-48 horas.

En el alimento la muestra se tomo en la mezcladora y se envaso en frascos esterilizados y posteriormente llevado al Laboratorio de Microbiología de la ESPAM-MFL, donde se cultivo en caldo de selenito durante 24-48 horas.

3.9.- MODELO DE CÓMO ORGANIZAR LA ESTRATEGIA EN EL MANEJO SANITARIO DE GALLINAS PONEDORAS.

Se llevaron a cabo los pertinentes controles sanitarios para la detención o fuentes posibles de contaminación por *Salmonellas* spp. en los casos en que se haya detectado la presencia de la bacteria u otro microorganismo en los animales.

IV. RESULTADOS

Determinación e identificación de la presencia de microorganismos enteropatógenos en órganos, agua, alimento y huevos de consumo humano.

Los resultados obtenidos del estudio de determinación de la presencia de microorganismos enteropatógenos en los órganos arrojó en la prueba presuntiva que podía existir la presencia de *Salmonella* spp. en los órganos hígado y bazo. No así para el resto de los órganos evaluados (corazón y ovario). En la prueba confirmativa con ayuda del API 20-E se observó la presencia de otros patógenos en los órganos antes mencionado.

Este resultado puede estar enmascarado por la utilización de los programa de vacunación (Vacunet en la semana 7-8).

El estudio en el agua, huevos y el alimento no arrojaron la presencia de ningún patógeno.

Los patógenos identificados con la ayuda del API 20-E arrojó la presencia en las muestras afectadas de los siguientes microorganismos:

3 muestras con *Proteus mirabilis*

3 muestras con *Proteus penneri*

3 muestras con *Enterobactercloacae*

3 muestras con *Escherichia coli* tipo1

Propuesta de una estrategia biosanitaria en el manejo de granjas de gallinas ponedoras.

- Medidas apropiadas de lavado, limpieza, desinfección de los galpones.
- Lavado: Es un procedimiento de limpieza que incluye todas las superficies expuestas, tales como cielos, cortinas, campanas, pilares, comederos, pisos, bebederos y sus líneas, exteriores, etc. Además se debe lavar todo el equipo que se utilice en las etapas de crianza y producción, siempre y cuando sea resistente a los desinfectantes, debiendo ser previamente desarmado.
- Limpieza: Eliminación de polvo, residuos de alimentos, suciedad, grasa u otras materias objetables.
- Desinfección: Utilizar agentes químicos, en estado parcial o totalmente gaseoso para matar, eliminar o esterilizar virus o microorganismos.
- Los productos químicos a utilizar deben estar autorizados y registrados por el organismo estatal sanitario correspondiente, y se dosificará de acuerdo a la ficha técnica del producto, la cual debe estar a la vista en el lugar de la desinfección.
- Realizar programas de vacunación adecuados contra la presencia de microorganismos enteropatógenos específicamente contra la *Salmonella* spp. por su grado de virulencia. La actividad debe estar a cargo de la parte técnica de esa granja.
- Implementar las medidas idóneas de control de roedores, insectos, aves silvestres y otros animales domésticos como:

- Mallas laterales: Deben evitar el ingreso de aves silvestres de cualquier tamaño.
- Portones de acceso: Deben ser cerrados e impedir el ingreso de aves y roedores.
- Juntas de techos y paredes laterales: Deben estar selladas para impedir ingreso y anidación de aves silvestres.
- Se deben adoptar medidas adecuadas para prevenir la transmisión de *Salmonella* spp. a través del agua de bebida y alimento.
 - El agua de bebida debe estar provista para las aves deberá ser microbiológicamente inocua.
 - Sanitizar el agua con un agente autorizado (cloro u yodo) en el caso de utilizarse agua de fuentes superficiales.
- Manejo de alimentos en la granja:
 - Se adquirirá materias primas en lugares autorizados.
 - Se deberá almacenar el alimento en silos o bodegas cerrados y estar libre roedores.

Control de las visitas y del personal de la explotación

En la medida de lo posible se debe reducir al mínimo las visitas de personal extraño a la granja, aunque somos conscientes de que esto es muy difícil de conseguir, por lo que es necesario contar con un programa de bioseguridad en relación a las visitas.

Recordemos que las enfermedades infecciosas pueden propagarse de una granja a otra a través de la ropa y el calzado de las visitas o del personal que se mueve de granja en granja de diferentes lotes de aves.

Antes de la entrada de los vehículos, éstos serán lavados, para lo cual se contará con el correspondiente equipo de lavado o con un arco de desinfección con la solución desinfectante pertinente, habrá de cubrir todos los lados del vehículo. Las zonas más peligrosas de los camiones suelen ser los ascensores de carga, la cabina y los bajos; junto con el calzado y la ropa de los camioneros.

De igual forma la entrada de todo el personal a la explotación se hará previa ducha, poniendo un especial énfasis en el lavado de pelo y uñas. Al interior de la granja se accederá con ropa y calzado para tal fin, en las mejores condiciones higiénicas posibles y que sólo debe ser usada para esa granja. En la sala de duchas debe haber dos zonas, zona limpia y zona sucia, y el movimiento debe ser en un solo sentido, aparte de esto se tiene que tener en cuenta el corte de las uñas ya que es un reservorio de microorganismos.

Es conveniente contar con un libro de registro de visitas en el que se especifique: nombre del visitante, empresa, motivo de la visita, fecha y último lugar donde tuvo lugar contacto con parvadas

A la entrada de la granja y de cada galpón se colocará un pediluvio para la desinfección del calzado, Se utiliza un producto yodado, 20 cm. / litro de agua. El pediluvio se llenará con una solución desinfectante que no se vea afectada por la temperatura y por los rayos solares. Esta solución debe renovarse como mínimo una vez a la semana, siendo muy importante la limpieza de las botas antes de sumergirlas en el pediluvio. Este es uno de los puntos más delicados y al que habría que prestarle una mayor

atención, ya que en el 90% de las contaminaciones microbianas actúa el hombre como transmisor.

El tránsito del personal deberá ser siempre de las granjas de aves más jóvenes a las de mayor edad. Es conveniente lavarse las manos cuando manipulemos aves de distintos lotes o edades. Por último, comprobar que el personal que trabaje en la granja no tenga aves en su casa.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos podemos llegar a las siguientes conclusiones:

- Los lotes seleccionados presentaron las características de aves ponedoras de una edad de 18 meses las cuales estaban al final de su periodo de producción de huevos.
- De las 26 aves que se tomaron las muestras de los órganos (hígado, bazo, ovario y corazón) presentaban características muy similares en su parte morfológica.
- Los resultados de las muestras sometidas a los diferentes procedimientos de diagnósticos arrojaron negatividad para *Salmonella* spp.
- Se identificaron las siguientes especies en los órganos evaluados: *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, *Enterobactercloacae* y *Escherichia coli* tipo 1.
- La iniciativa de este trabajo nos permite concluir que en esta granja a pesar de no tener establecido un programa estricto de bioseguridad no se detectaron casos positivos de *Salmonella* spp.

5.2. RECOMENDACIONES

En base a las conclusiones se recomienda:

- Establecer programas de bioseguridad que se ajusten a las normas y procedimientos técnicos conocidos.
- Incentivar y capacitar a los productores y personal vinculado a la explotación avícola así como los registros de cada uno de los parámetros zootécnicos proyectados.
- Establecer programas de control de roedores u otros animales ajenos a la explotación avícola.
- Dar un tratamiento adecuado al manejo de la gallinaza.
- Investigar la presencia o no de microorganismos enteropatógenos específicamente *Salmonella* spp. en un mayor número de granja en este cantón y de otros circundantes.
- Aplicar control de calidad a los insumos de los alimentos y su almacenamiento en la granja.

BIBLIOGRAFÍA

- Acha, P. 2005. Zoonosis y enfermedades comunes al hombre y a los animales. 2 ed. EE.UU. Washington D.C. p. 248, 254, 631.
- Alban, L; Stege, H. y Dahl, J. (2002). The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish Salmonella surveillance and control program. Preventive Veterinary Medicine, 53, 133-146.
- Alexander, D. 2007. Taxonomy and nomenclature of avian Paramyxoviruses. Avian Pathology. (G.B.) 16 (4) 547-552.
- Agero, H; Friis, C. (2000). Pharmacokinetics and tissue distribution of amoxicilina in healthy and Salmonella Typhimurium inoculated pigs. American Journal of Veterinary Research, 61, 992-996.
- Aguilar, T. 2006. Determinación del nivel de anticuerpos circulantes contra la Enfermedad de Newcastle en aves de patio (*Gallus gallus*), en el municipio de Todos Santos Cuchumatanes, Huehuetenango. Tesis Med. Veterinario Universidad de San Carlos de Guatemala. p 64.
- Allan, K. y Poppe, C. (2002) Occurrence and characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins mediated by β -lactamase CMY-2 in *Salmonella* isolated from food-producing animals in Canada. The Canadian Journal of Veterinary Research, 66, 137-144
- Altman, R. 2006. Avian medicine and surgery. Estados Unidos de América, Saunders. 304-306.

- Anderson, C. 2007. Antigenic variation in avian Paramixovirustipe 3isolated detected by mouse monoclonal antibodies. Avian Pathology(G.B.) 16 (4)691-698.
- Arcangioli, M; Leroy-Setrin, S; Marlet, J. y Chaslus-Dancia, E. (2006).Anew chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integronstructures in Salmonella typhimurium DT104. FEMS Microbiology Letters,174, 327-332.
- Arriaga, A; Rivera, S; Parra, C; Barro, M; Flores, P.R., y Garcia,J.E. (2000). Antimutagenesis of β -carotene to mutations induced byquinolone on Salmonella typhimurium. Archives of Medical Research, 31,156-161.
- Asai, T. y Otagiri, Y. (2002).Isolation of Salmonella from diarrheic feces of pigs. Journal VeterinaryMedicine Science, 64, 159-160.
- Ashton, W. 2006. The risks and problems connected with the important export of captive birds. BritishVeterinary Journal. (G.B.) 140 (4) 320-321.9. Bains, B S. 1979. A manual ofpoultry diseases. Switzerland, Roche.p. 133-138.
- Baerger, E. 2001.Diseases and parasites of poultry.5 ed. Estados Unidos de América. P. 191-195.
- Baggesen, D. y Aarestrup, F. (2007). Characterization of recently emergedMultipleantibiotic-resistant Salmonella enteric serovartyphimurium DT104 and other multiresistant phage types from Danish pigherds. The Veterinary Record, 143, 95-97.
- Baggesen, D. (2008). Herd prevalence of Salmonella enterica infections in Danishslaughter pigs determined by microbiological testing. PreventiveVeterinary Medicine, 26, 201-213.

- Balbas, P. (2002). De la biología molecular a la biotecnología (1ª ed.) México. D.F.: Trillas.
- Barrientos, k. 2006. Estudio sexológico por inhibición de la hemoaglutinación (HI) de la Enfermedad de Newcastle en el municipio de Patzún, Chimaltenango. Tesis Med. Veterinario. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Blackburn, C. y Davies, A .(2006).Development of antibiotic-resistant strains for the enumeration of food bone pathogenic bacteria in stored foods. International Journal Food Microbiology, 24, 125-136.
- Blaha, T. (2006). Epidemiología especial veterinaria. Zaragoza, España. Acribia.
- Becton-Dickinson. (2006). Manual de procedimientos para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. (Rue Aristide Beryes 38800) France.
- Bello, P. (2006). Salmonella en carnes crudas: Un estudio en localidades del Estado de Guerrero. Salud Pública de México, 32, 74-79.
- Bernard, S; Boivin, R; Menanteau, P.y Lantier, F. (2002). Cross-protection of Salmonella abortusovis, S. Choleraesuis, S. dublin and S. gallinarum in mice induced by S. abortusovis and S. gallinarum: bacteriology and humoral immune response. Veterinary Research, 33, 55-69.
- Bergey's Manual.(2007). Manual of systematic bacteriology. Vol I. Williams & Wilkins.
- Biester, H. 2004. Enfermedades de las aves. 3 ed. México, Editorial UTHERA. p. 450-461.

- Bülte, M. y Jakob, P. (2001). The use of a PCR generated in probe for the detection of *Salmonella* spp. in artificially and naturally contaminated foods. *International Journal Food Microbiology*, 26, 335-344.
- Calnek, B. 2005. *Enfermedades de las aves*. Trad. Jorge Mérito Jane. 9na. ed. México, D.F., El Manual Moderno. p. 609, 612-613; 617-619; 623.
- Carlson, S. (2004) Evaluation of invasion-conferring genotypes and antibiotic-induced hyperinvasive phenotypes in multiple antibiotic resistant *Salmonella typhimurium* DT104. *Microbiology Pathology*, 28, 373-378.
- Carter, G. y Chengappa, M. (2008). *Microbiología y micología veterinaria "Aspectos esenciales"*. (2a ed.) México, D.F.: El Manual Moderno.
- Chávez, P; Higuera, I; Huertas, J; Báez, M; Morales, L; Arteaga, C; Rangel y Ponce de León, R. (2001). Brote de *Salmonella enteritidis* en trabajadores de un hospital. *Salud Pública de México*, 43, 211-216.
- Chístense, J. (2007). Multiple change-point analysis applied to the monitoring of *Salmonella* prevalence in Danish pigs and pork. *Preventive Veterinary Medicine*, 36, 131-143.
- Connerton, P. (2000). Epidemic typhoid in Vietnam: Molecular typing of multiple-antibiotic resistant *Salmonella enteric* serotype typhi from four outbreaks. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 895-897.
- Cruchaga, S. y Echeita, A. (2001). Antimicrobial resistance in *Salmonellae* from humans, food and animals in Spain in 1998. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47, 315-321.

Daniel, J. 1998. Pigeon avian Paramyxoviruses type: Isolate characterization and pathogen city after chicken or embryo passage of selected isolates. EE.UU. United States Department of Agriculture. (EnLínea) Disponible. <http://www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/000006/65/0000066595>.

Daniel, W. (2000). Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. (3ª Ed.) México D.F.: Noriega.

Davis, B. (2001). Tratado de Microbiología. (3ª ed.) México D.F.: Salvat.

Davies, R. y Wray, C. (1997). Study of multi-resistant Salmonella typhimurium infection in pig herds: Preliminary finding. The Pig Journal, 40, 8088.

Davies, R; Morrow, E; Jones, T; Deen, J., Fedorka, J; y Gray, T. (2005). Risk of shedding Salmonella organisms by market-age hogs in a barn with open-flush gutters. Journal of the American Veterinary Medical Association, 210, 386-389.

Dirección General de Estadística e Informática de la Secretaría de Salud, México. (2001). Salud Pública de México, 43, 67-73.

Erickson, G. Velogenic Viscerotropic Newcastle Disease in Selected Captive Avian Species. American Association of Zoo Veterinarians. Annual Proceedings 2007. Iowa, EE.UU. p. 133-136.

Farrington, L. (2001). Prevalence of antimicrobial resistance in Salmonella isolated from market-age swine. Journal of Food Protection, 64, 1496-1502.

Feder, I; Nietfeld, C; Galland, J;Yeary, T;Sargeant, M;Oberst, R; Tamplin, L. y Luchansky, B.J. (2001). Comparison of cultivation and PCR – Hybridization for detection of Salmonella in porcine fecal and water samples.

Journal of Clinical Microbiology, 39, 2477-2484.

Gebreyes, A. y Altier, C. (2002). Molecular characterization of multidrug-Resistant Salmonella entericasubspentericaserovarTyphimurium isolated from swine. Journal of Clinical Microbiology, 40, 2813-2822.

Giraud, E. (2006).Comparative studies of mutations in animal isolated and experimental in vitroand in vivo selected mutants of Salmonella spp. suggest a counterselectionof highly fluoroquinolone resistant strains in the field. Antimicrobial Agentsand Chemotherapy, 43, 2131-2137.

Giraud, E. Y Cloeckert, A. (2000). Evidence for efflux as the primary mechanism of resistance to ciprofloxacin in Salmonella entericaserovarTyphimurium.Antimicrobial Agents andChemotherapy, 44, 1223-1228.

Hakanen, A; Siitonen, A; Kotilainen, P. yHuovinen, P. (2007). Increasing fluoroquinolone resistance in Salmonella serotypes in Finland during 1995-1997. Journal of Antimicrobial. Chemotherapy, 43, 145-148.

Herikstad, H. y Hayes, P. (2005). Emergence of quinolone-resistant Salmonella in the United States.Emerging Infection Diseases, 3, 371-372.

Heurtin-L. (2007). Increasing incidence and comparison of nalidixic acid-resistant Salmonella enterica subsp. Enterica serotype typhimurium isolates from humans and animals. Journal of Clinical Microbiology, 37,

266-

269. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=nucleotide](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=nucleotide&list_uids=16754839&dopt=GenBank)

[e&list_uids=16754839&dopt=GenBank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=nucleotide&list_uids=16754839&dopt=GenBank)).

Innis, A; Gelfand, H; Sninsky, J. y White, J. (2005). PCR protocols. A guide to methods and applications. London: Academic Press.

Jawetz, E; y Melnick, J. (2009). Microbiología Médica. (11ª ed.) México D.F.: El Manual Moderno.

Jubb, K; Kennedy, P. y Palmer, N. (2004). Pathology of Domestic Animals. (4a ed.) London. Academic Press.

Kado, C. y Liu, S. (2003). Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *Journal of Bacteriology*, 145, 1365-1373.

Koneman, W; Alien, D; Dowell, R. y Sommers, M.H. (2006). Diagnóstico Microbiológico. México, D.F.: Médica Panamericana.

Liébana, E. (2007). Molecular typing of *Salmonella* serotypes prevalent in animals in England: Assessment of methodology. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 3609-3616.

Liebisch, B. y Schwarz, S. (2008). Molecular typing of *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Enteritidis* isolates. *Journal of Medical Microbiology*, 44, 52-59.

Lin, W; Usera, A; Barrett, J. y Goldsby, A. (2008). Application of random amplified polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella enteritidis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 870-876.

- Marthe, J. (2009). Prevalencia de Streptococcus serotipo 2 en rastros del Valle de Toluca. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Malorny, B. (2008). Incidence of quinolone resistance over the period 1986-1998 in veterinary Salmonella isolates from Germany. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43, 2278-2282.
- Mazurek, G. (2005). DNA fingerprinting by infrequent-restriction-site amplification. Journal of Clinical Microbiology, 34, 2386-2390.
- Merino, L; Alonso, J y Ronconi, M. (2003). Dotación Plasmídica como marcador epidemiológico bacteriano. www.unne.edu.ar/cyt/medicina/m-034.pdf. Milleman, Y. (2001). Epidemiologic markers of Salmonella Veterinary Research, 29, 3-19
- Milleman, S; Remy, D. y Colmin, C. (2000). Evaluation of ISO2000-PCR and comparison with other molecular markers to trace Salmonella enterica subsp serotype typhimurium bovine farm to meat. Journal of Clinical Microbiology, 38, 2204-2209.
- Morgan, M; Todd, S; Eisemann, H. y Davies, R. (2002). Effect of withdrawing feed from swine on meat quality and prevalence of Salmonella colonization at slaughter. Journal American Veterinary Medicine Association, 220, 497-502.
- Morris, J.G. (2009). Current trends in human diseases associated with food of animal origin. Journal of the American Veterinary Medical Association, 209, 2045-2047.

- Mousing, J., Thode Jensen, P., Halgaard, C., Bager, F., Feld, N., Nielsen, B. Nielsen, J.P., y Bech-Nielsen, S. (a)(2007). Nation-wide Salmonella enteric surveillance and control in Danish slaughter swine herds. Preventive Veterinary Medicine, 29, 247-261.
- Mousing, J., Kyrval, J., Jensen, T.K., Aalbaek, B., Buttenschon, J., Svensmark, B., Willeberg, P. (2007). Meat safety consequences if implementing visual postmortem meat inspection procedures in Danish slaughter pigs. Veterinary Record, 140, 472-477.
- Nair, S; Kwai Lin, T; Pang, T. y Altwegg, M. (2002). Characterization of Salmonella serovars by PCR-Single-Strand conformation polymorphism analysis. Journal of Clinical Microbiology, 40, 2346-2351.
- Neidhardt, C. (2009). Escherichia coli and Salmonella typhimurium. Cellular and molecular biology. American Society for Microbiology. Washington, D.C. United States of America.
- Nielsen B. y Baggesen, D. (2006). The serological response to Salmonella serovar typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. Veterinary Microbiology, 47, 205-218.
- Noordhuizen, J. y Frankena, K. (2006). Epidemiology and quality assurance: applications at farm level. Preventive Veterinary Medicine, 39, 93-110.
- O'Carroll, J; Davies, P; Correa, M. y Slenning, B.D. (2008). Effects of sample storage and delayed secondary enrichment on detection of Salmonella spp. in swine feces. American Journal of Veterinary Research, 60, 359-362.

Olsen, J;Skov, M;Threlfall, E. y Brown, D.J. (2005). Clonal lines of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis documented by IS200-, ribo-, pulsed-field gel electrophoresis and RFLP typing. *Journal Medical Microbiology*,

Organización Mundial de la Salud. (2005). Zoonosis bacterianas y víricas. Informe del comité de expertos de la OMS, con la participación de la FAO. Serie de Informes Técnicos 682. Ginebra.

Ouabdesselam, SJ. (2006). Quinolone resistance mutations in the *gyrA* gene of clinical isolates of *Salmonella*. *Microbiology Drug Resistant*, 2, 299-302.

Piddock, L. (2007). Quinolone resistance in *Salmonella* spp: veterinary pointers. *Lancet*, 336, 125.

Ramos, J; Ales, J; Cuenca-Estrella, M; Fernandez-Robles, R; Soriano, F. (2001) Changes in susceptibility of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* and *Salmonella virchow* to six antimicrobial agents.

Resano, D; Trujillo, A; Cervera, B. y Landa, L. (2005). Detección de enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* por nefelometría de rayos láser. *Arch. Inv. Med.*, 16, 71-79.

Reyna, F. (2006). *Salmonella typhimurium gyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 1621-1623.

Roof, B; Roth, J. y Kramer, t. (2009). Porcine salmonellosis on characterization, Immunity Potential vaccines. *Compendium continuing education for the practicing veterinary*. Article #10. 14, USA.

- Ruiz, J; Castro, D;Goni, P;Santamaria, J; Borrego, J. y Vila, J. (2009). Analysis of mechanism of quinolone resistance in nalidixic acid resistant clinical isolates of Salmonella serotype typhimurium. Journal of Medical Microbiology, 46, 623-628.
- Schwartz, J. (2007). La salmonelosis en el cerdo. PIGS-Misset. 18-21.
- Solorzano, S.F. y Miranda, N.M.G. (2007). Resistencia de bacteria respiratorias y entéricas a antibióticos. Salud Pública de México, 40, 509-515.
- Suárez, H; Flores, A; Puc, F. y Heredia N. (2007). Excreción de Salmonella en heces durante los tres primeros meses de vida. Revista Latino-Americana de Microbiología, 33, 245-247.
- Tamada, Y; Nakaoka, Y. (2009). Molecular typing and epidemiological study of Salmonella enteric serotype Typhimuriumisolates .Journal of Clinical Microbiology, 39, 1057-1066.
- Threlfall, E; Angulo, F. y Wall, P.G. (2007). Ciprofloxacin-resistantSalmonella typhimurium DT104. TheVeterinary Record, 142, 255. Thrusfield, M. (2007).Veterinary Epidemiology. Butterworth and Coo.Publishers LTD. pp. 15

ANEXOS



ANEXO1.GRANJA SIRIA, SITUADA EN EL SITIO MOCOCHAL, PARROQUIA CALCETA, CANTÓN BOLÍVAR, PROVINCIA DE MANABÍ.



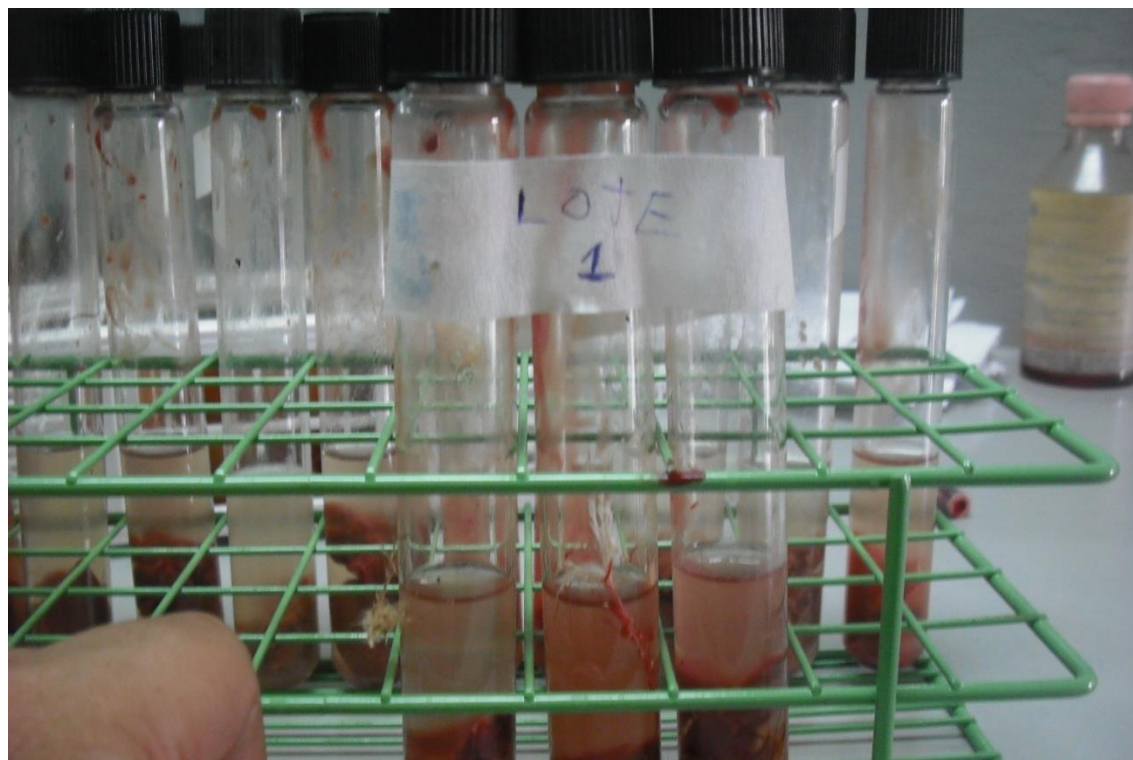
ANEXO 2. DISTRIBUCIÓN DE GALLINAS POR LOTES



ANEXO 3.ELECCION AL AZAR DE LAS GALLINAS PARA LAS MUESTRAS DE LABORATORIO



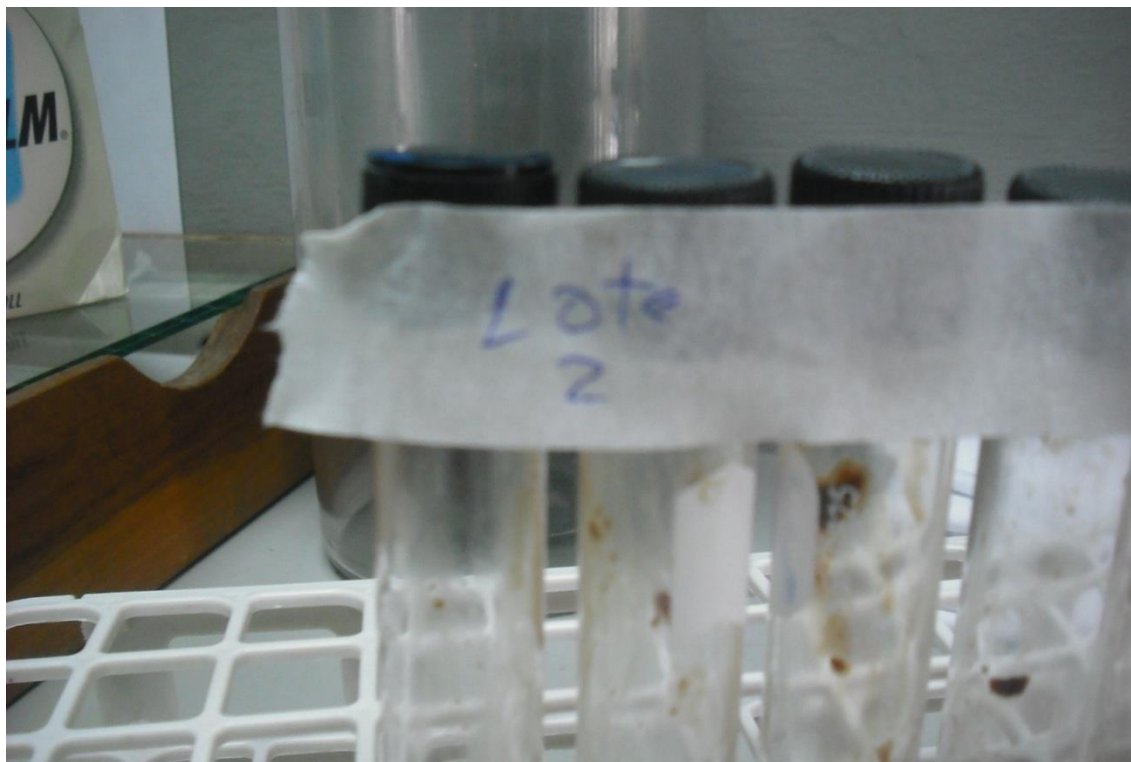
ANEXO 4.NECROPSIA DE LAS GALLINAS PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS ÓRGANOS



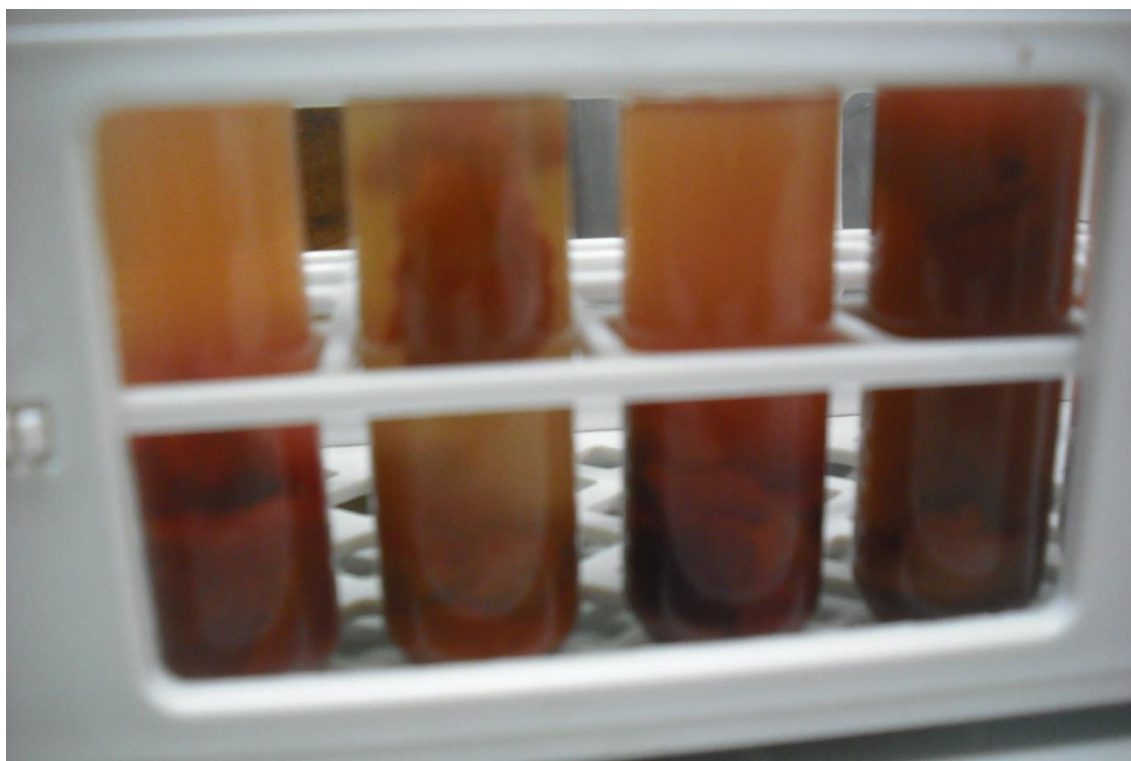
ANEXO 5- MEDIO DE CULTIVO CALDO DE SELENITO CON ORGANOS



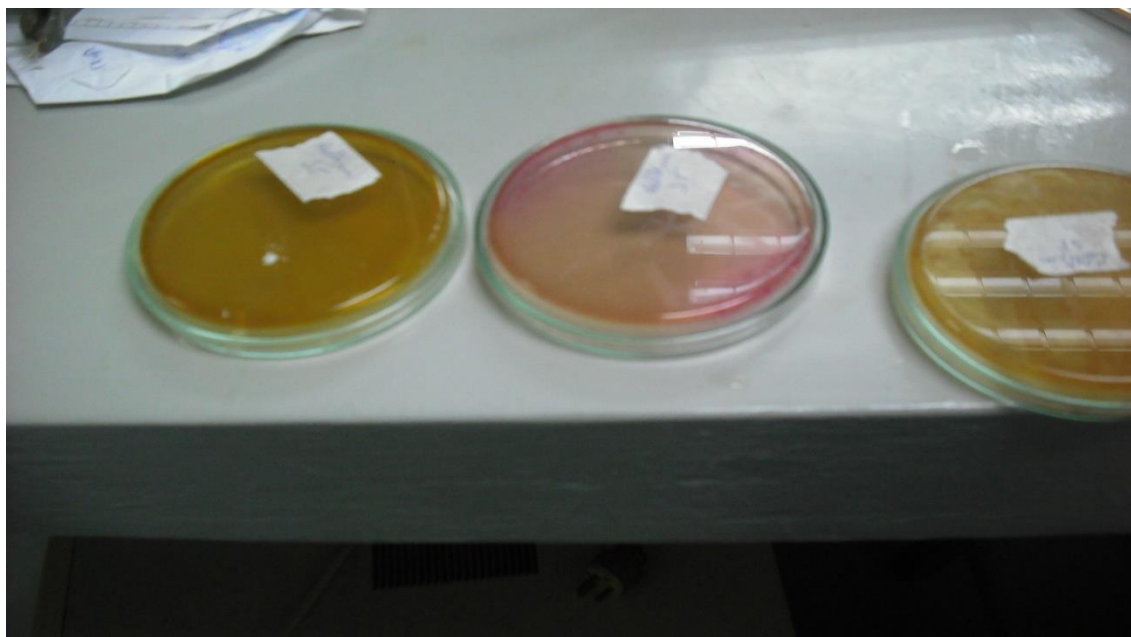
Anexo 6.ORGANOS CON CALDO DE SELENITO



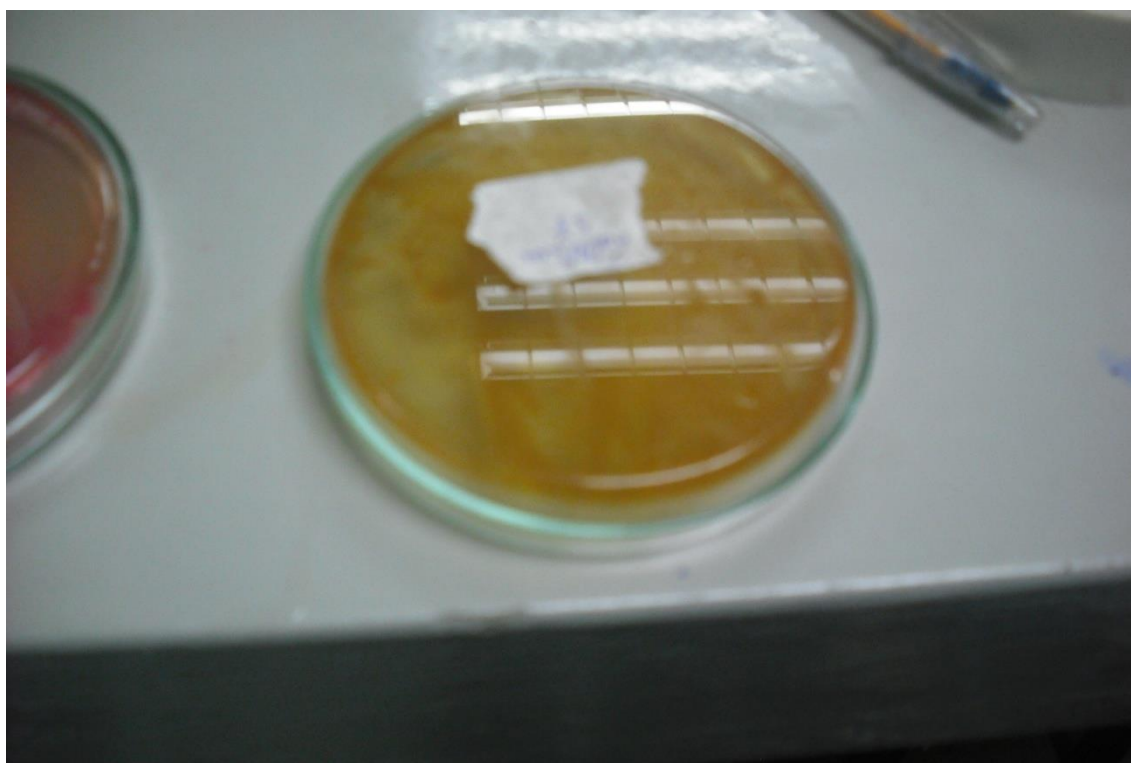
Anexo 7. MUESTRAS DE ORGANOS DE LOTE 2 CALDO DE SELENITO



Anexo 8. ORGANOS CON CALDO DE SELENITO



Anexo 9. CAJAS PETRITT CON PRESUNTA *SALMONELLA* spp.



Anexo 10. CAJA PETRIT CON MICROORGANISMOS ENTEROPATÓGENOS

TOMA DE MUESTRA DE AGUA Y ALIMENTO**Anexo 11. CISTERNA DE AGUA DE LA GRANJA SIRIA****Anexo12.MUETRA DE ALIMENTO TOMADA EN LA MESCLADORA DE ALIMENTO****ANEXO 13.MUESTRAS DE AGUA Y ALIMENTO YA TOMADAS EN EL LABORATORIO**



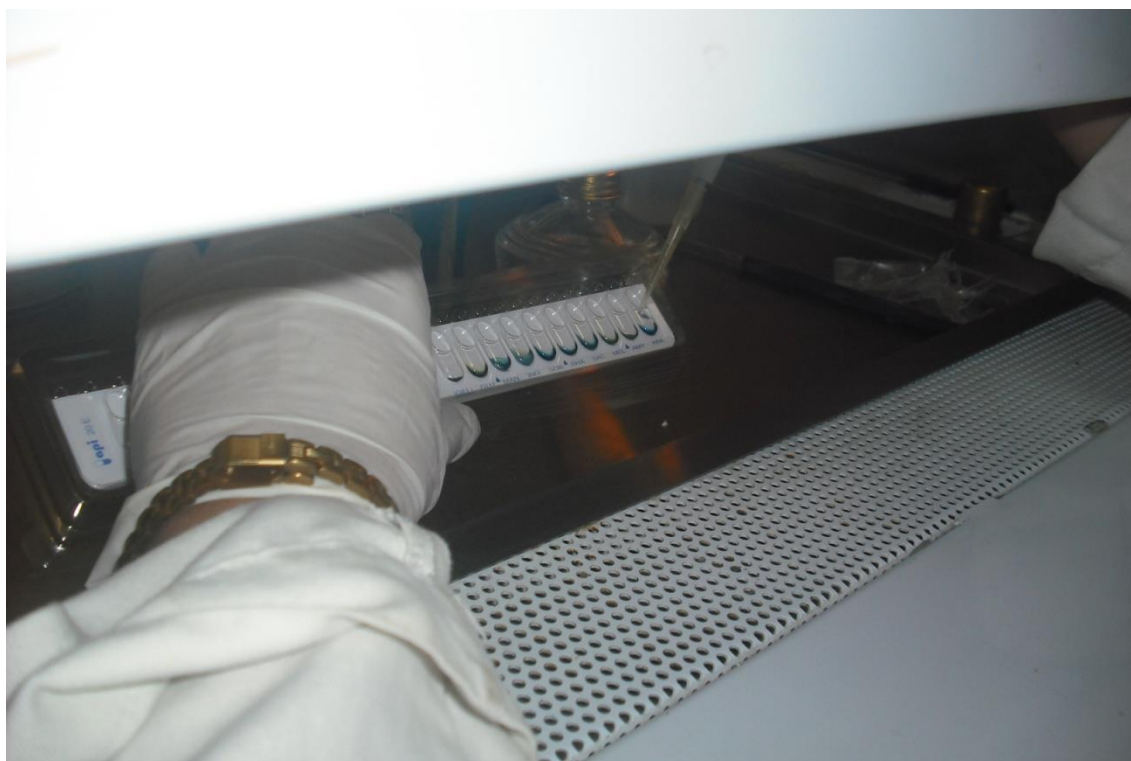
ANEXO 14. TOMA DE HUEVOS PARA LABORATORIO



Anexo15. RECOLECCION DE HUEVOS PARA LABORATORIO



ANEXO 17



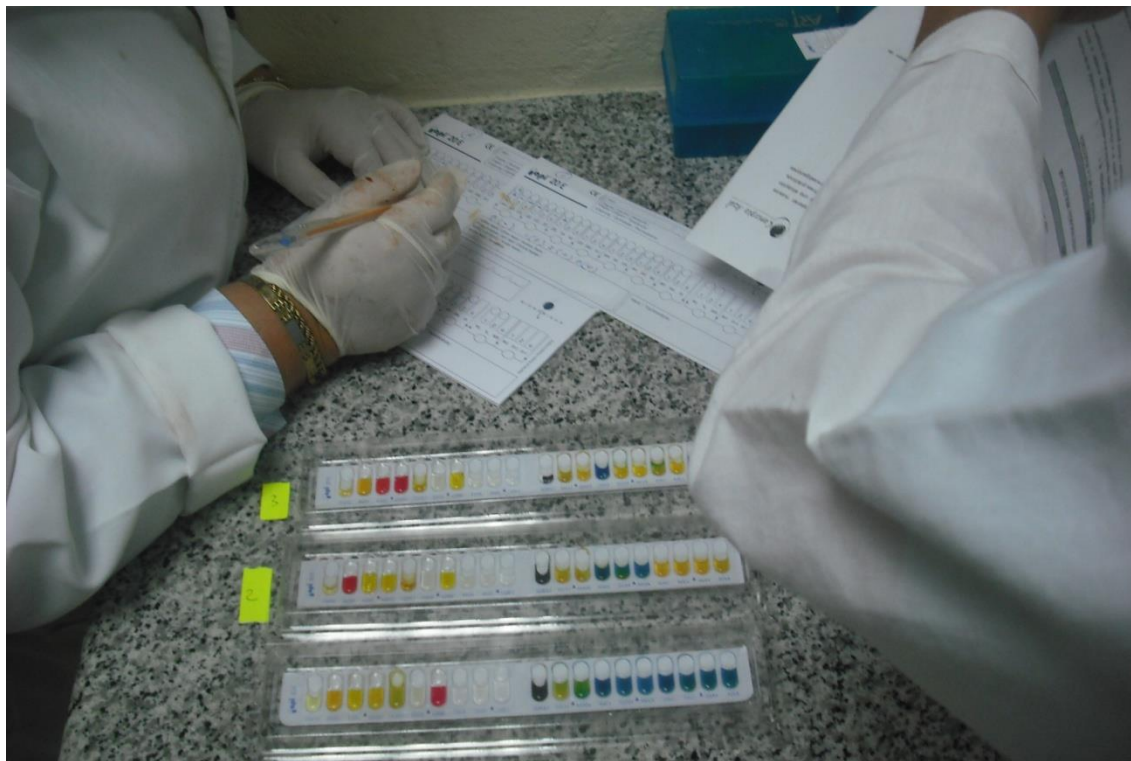
ANEXO 18



ANEXO 19



ANEXO 20.



ANEXO 21



ANEXO 22

API 20 E V4.1

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
1			1		0	1		3	1		7	1		0	1		0	1		0

NO ₂	N ₂	MOB	M&C	OF-O	OF-F
1	2	4	1	2	4
1			1		

REFERENCIA	FECHA
COMENTARIO	7/09/12

PERFIL INACEPTABLE

Galería API 20 E V4.1
 Perfil 1 0 3 7 0 0 0
 Nota

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Proteus mirabilis</i>			ONPG 1% ODC 99% H ₂ S 75% VP 1%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Proteus penneri</i>			ONPG 1% VP 0% SAC 100%

[Cerrar](#) [Imprimir](#)