

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA

**Identificación y diagnóstico de los puntos de la línea de procesamiento que
generan riesgo de contaminación con *Salmonella* sp. en una planta
procesadora de pollo: presencia, cuantificación y serotipificación del
patógeno**

Walter Rivera Pérez

**Proyecto de Graduación para optar por el Grado Académico de Licenciatura
en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia**

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2012

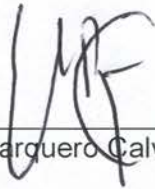
TRIBUNAL EXAMINADOR

Este proyecto ha sido aceptado por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado académico de Licenciado en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.



Lic. Rebeca Zamora Sanabria, MV, M.Sc

Directora de proyecto



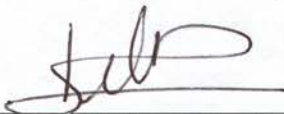
Lic. Elías Barquero Calvo, MQC, M.Sc.

Miembro del Tribunal



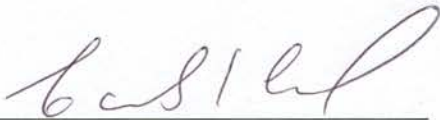
Lic. Alejandro Chacón Villalobos, M.Sc.

Miembro del Tribunal



Inga. Catalina Salas Durán, Ph.D.

Miembro del Tribunal



Ing. Carlos Arroyo Oquendo, M.Sc.

Director de Escuela



Walter Rivera Pérez.

Sustentante

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos por creer en mí y darme su ilimitado apoyo a través del tiempo, por ser la fuerza y razón de todo lo que soy. El camino recorrido ha sido posible gracias a ellos.

¡Árbol de la esperanza, mantente firme!

Frida Kahlo

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rebeca Zamora Sanabria, por su apoyo, enseñanza y guía durante el proceso de mi formación profesional.

Al Dr. Elías Barquero Calvo por proporcionarme su ayuda y experiencia en el desarrollo de este trabajo.

Al señor Hugo Sánchez Zumbado, por su apoyo en éste y otros proyectos.

Al personal del Laboratorio de Bacteriología y Patología Aviar de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, Dr. Esteban Lizano, Laura Orozco, Xindy Víquez y Dionei Quesada, por prestarme su conocimiento, experiencia y amistad.

A mis compañeros y amigos Carlos Bonilla, Carlos Rojas, Guillermo Vega, Ivannia Mendoza, Jeffry Sánchez y Marisol Rodríguez, por su gran apoyo durante los años de estudio.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

TRIBUNAL EXAMINADOR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. General	4
2.2. Específicos	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1. <i>Salmonella</i> sp.: características microbiológicas	5
3.2. Serotificación de <i>Salmonella</i> sp.	7
3.3. Serotipos de <i>Salmonella</i> sp. con mayor prevalencia	8
3.4. Patogénesis e infección de <i>Salmonella</i> sp.	9
3.5. Inocuidad de productos avícolas	11
3.6. Resistencia a antibióticos	13
3.7. Procesamiento de aves	15
3.8. Metodología de muestreo en planta de proceso	18
3.9. Aislamiento diagnóstico de <i>Salmonella</i> sp.	19
3.10. Cuantificación de <i>Salmonella</i> sp.	21
4. MATERIALES Y MÉTODOS	23
4.1. Población en estudio y tamaño de la muestra	23
4.2. Recolección de muestras	23
4.3. Aislamiento bacteriológico (análisis cualitativo)	25
4.3.1. Medio de preenriquecimiento no selectivo	25
4.3.2. Medio de enriquecimiento selectivo	25
4.3.3. Medios de cultivo selectivos	26
4.3.4. Identificación bioquímica	26
4.3.5. Confirmación serológica	27
4.4. Recuento bacteriológico (análisis cuantitativo)	27

4.4.1.	Dilución de la muestra	27
4.4.2.	Inoculación de medio selectivo.....	27
4.4.3.	Identificación bioquímica	28
4.4.4.	Confirmación serológica	28
4.5.	Identificación de los serotipos de <i>Salmonella</i> sp. presentes en la planta procesadora	29
4.6.	Estudio de sensibilidad a los antimicrobianos.....	29
4.6.1.	Antimicrobianos utilizados.....	29
4.6.2.	Medio de cultivo	30
4.6.3.	Lectura de antibiogramas	30
4.7.	Determinación de puntos del procesamiento que generan riesgo de contaminación con <i>Salmonella</i> sp.	30
4.8.	Estimación del riesgo de enfermedad.....	31
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	33
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
6.1.	Determinación de la presencia de <i>Salmonella</i> sp.	34
6.2.	Recuento bacteriológico.....	40
6.3.	Serotipificación de los aislamientos de <i>Salmonella</i> sp.....	46
6.4.	Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos.....	50
6.5.	Estimación del riesgo de enfermedad por ración de carne consumida ...	54
7.	CONCLUSIONES	60
8.	RECOMENDACIONES.....	62
9.	LITERATURA CITADA	72
10.	ANEXOS.....	88

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Serotipos de <i>Salmonella</i> sp. más comúnmente aislados en los Estados Unidos durante el año 2005	8
2. Diámetro de halo de inhibición e interpretación de antibiograma.....	30
3. Recuento total de bacterias viables y <i>Salmonella</i> sp. en medio XLT4 por punto de muestreo.	40
4. Cálculo del número previsto de casos de enfermedad en un año en Costa Rica en función del tamaño de población y población expuesta al consumo de pollo contaminado con <i>Salmonella</i> sp.	55
5. Efecto del cambio en la prevalencia de canales contaminadas con <i>Salmonella</i> sp. al finalizar el procesamiento en el número previsto de casos de enfermedad en Costa Rica por consumo de pollo en un año.	56
6. Prevalencia de <i>Salmonella</i> sp. en las canales de pollo y casos humanos de salmonelosis en algunos países para el año 2008.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Diagrama de Planta de Proceso con puntos de muestreo	24
2. (a) Colonias típicas de <i>Salmonella</i> en XLT4. (b) Pruebas bioquímicas positivas a <i>Salmonella</i> , TSI (K/A, H ₂ S+), LIA (K/NC), Urea (-).....	26
3. Protocolo de dilución y plateo de muestras para cuantificación de <i>Salmonella</i> sp.	28
4. Tasa de contaminación por punto de muestreo en planta de proceso evaluada.	34
5. Recuento total de bacterias viables y <i>Salmonella</i> sp. en medio XLT4. Puntos sin relleno representan sitios donde no se recuperaron bacterias (línea punteada representa el límite de detección).	41
6. Recuento total de bacterias viables en Agar de recuento en placa (PCA).....	42
7. Serovariedades de <i>Salmonella</i> sp. aisladas de canales de pollo.....	46
8. Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos de cepas de <i>Salmonella</i> sp. aisladas en planta de proceso de pollo.....	50
9. Historial de prevalencia de <i>Salmonella</i> sp. en planta de proceso evaluada durante el periodo 2007-2012 (julio).	57
10. Prevalencia de <i>Salmonella</i> sp. por mes del año en planta de proceso evaluada durante el periodo 2009-2011.....	58
11. Sistema de lavado y cepillado para eliminar heces previamente al escaldado.....	65

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Descripción y parámetros del modelo: Almacenamiento en puntos de venta al por menor.....	88
2. Descripción y parámetros del modelo: Transporte desde la compra del producto hasta el domicilio del consumidor	89
3. Descripción y parámetros del modelo: almacenamiento del producto en el domicilio del consumidor.....	90
4. Descripción y parámetros del modelo: preparación y cocción del producto.....	91
5. Descripción y parámetros del modelo: contaminación cruzada durante la preparación del producto	92
6. Descripción y parámetros del modelo: consumo del producto	93

RESUMEN

El procesamiento moderno del pollo hace uso de la mecanización y automatización de ciertos procesos, lo cual implica riesgos de propagación de microorganismos, entre ellos *Salmonella*, que es un patógeno zoonótico con un importante impacto económico y sanitario para las personas en todo el mundo. Se identificó y diagnosticó los puntos de la línea de procesamiento que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* sp. en una planta procesadora de pollo. El estudio se llevó a cabo en una planta procesadora comercial de Costa Rica. Las canales analizadas (n=90), fueron seleccionadas al azar de 9 diferentes puntos de la línea de procesamiento, en un periodo de 5 meses del año 2012 (enero-mayo). Los estudios realizados fueron: a) análisis cualitativo (presencia o ausencia de patógeno), b) análisis cuantitativo (recuento bacterial), c) tipificación de serovariedades aisladas y d) sensibilidad a los antimicrobianos. Los resultados mostraron presencia del patógeno en 26% de las muestras tomadas de la línea de proceso, 60% de las parvadas muestreadas y 20% de jaulas de transporte post-lavado. El máximo recuento bacterial se obtuvo en las muestras tomadas al ingreso del ciclo de proceso ($6,1 \log_{10}$ UFC/canal), seguido de un decrecimiento paulatino. Se observó un incremento en la tasa de contaminación de 10 a 40% durante el eviscerado, las bacterias expuestas tras un eviscerado inadecuado elevaron los recuentos durante el proceso de lavado de canales de 3,9 hasta $5,1 \log_{10}$ UFC/canal. De las canales positivas se identificaron 5 serovariedades: *S. Paratyphi B* (76%), *S. Kentucky* (8%), *S. Saintpaul* (8%) y 2 cepas no tipificables (8%). Las cepas aisladas presentaron 100% de sensibilidad a la ciprofloxacina y gentamicina, y algún grado de resistencia a ampicilina (8%), ceftriazona (4%), cloranfenicol (8%) y trimetoprim sulfamatoxazol (92%). Se utilizó el dato de prevalencia de canales contaminadas y despachadas al comercio (20%), y se estimó que el riesgo de producir enfermedad es de 272 casos de salmonelosis en un año, como consecuencia del consumo de pollo contaminado con *Salmonella* sp. proveniente de la planta evaluada. Este estudio señala a los procesos de eviscerado y lavado como de alto riesgo de contaminación cruzada y/o recontaminación, por lo que se deben implementar medidas de intervención que controlen estos puntos durante el procesamiento de los pollos.

ABSTRACT

The modern chicken processing makes use of mechanization and automation of certain processes, which involves risk of the spread of microorganisms, including *Salmonella*, which is a zoonotic pathogen with a significant economic and health impact for people around the world. Were identified and diagnosed processing line points that generate risk of contamination with *Salmonella* sp. in a chicken processing plant. The study was carried out in a commercial processing plant of Costa Rica. The carcasses analyzed (n= 90), were randomly selected from 9 different points of the processing line, in a period of 5 months of the year 2012 (January-May). The studies were: a) qualitative analysis (presence or absence of pathogen), b) quantitative analysis (bacterial count), c) definition of serovars isolated and d) sensitivity to antimicrobials agents. The results showed presence of the pathogen in 26% of the samples taken from the process line, 60% of the sampled flocks and 20% of transport crates post-wash. The maximum bacterial count was obtained in the samples taken at the entrance of the process cycle (6,1 log₁₀ CFU/carcase), followed by a gradual decrease. It was observed an increase in the rate of contamination of 10 to 40% during the evisceration, bacteria exposed after a evisceration inappropriate elevated counts during the washing process of carcasses of 3,9 to 5,1 log₁₀ CFU/carcase. Positive carcasses were identified 5 serovars: *S. Paratyphi B* (76%), *S. Kentucky* (8%), *S. Saintpaul* (8%) and 2 non-typable isolates (8%). The isolated strains showed 100% of sensitivity to ciprofloxacin, gentamicin, and some degree of resistance to ampicillin (8%), ceftriaxone (4%), chloramphenicol (8%) and trimethoprim sulfamatoxazol (92%). Used the data of prevalence of carcasses contaminated and cleared to trade (20%), and estimated that the risk of disease is of 272 cases of salmonellosis in a year, as a result of the consumption of chicken contaminated with *Salmonella* sp. from evaluated plant. This study indicates to the processes of evisceration and wash as of high risk of crossed contamination and/or re-contamination, by what there must be implemented measurements of intervention that control these points during the processing of the chickens.

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de pollo ha ido en aumento alrededor del mundo en las últimas décadas (Goksoy *et al.* 2004). Esto podría atribuirse a la reducción en los costos y a la eficiencia que ha alcanzado este tipo de explotación resultando en una disminución de los precios al consumidor, haciendo el producto más accesible y atractivo. El procesamiento moderno requiere de una alta tasa de rendimiento para satisfacer la demanda de los consumidores, por lo que se tiene que hacer uso de la mecanización y automatización de los procesos. Como consecuencia de esta automatización, la propagación de microorganismos patógenos como la *Salmonella* sp. se facilita (Goksoy *et al.* 2004).

En los últimos años, la inocuidad alimentaria se ha convertido en una preocupación para la sociedad en general y un tema de mucha importancia para los gobiernos, por lo que se imponen regulaciones, cada vez más estrictas, con el fin de garantizar y aumentar la confianza del consumidor en los alimentos de origen animal. Para garantizar la máxima protección de los consumidores, es fundamental que los conceptos de inocuidad y calidad se introduzcan en toda la cadena de producción de carne de pollo, que va desde la producción primaria hasta el consumo. Lo anterior requiere un planteamiento integrado y sistemático que en la actualidad se engloba bajo el concepto "de la granja a la mesa". En este proceso se hace necesario que el productor, elaborador, transportista, vendedor y consumidor trabajen en conjunto y asuman sus respectivas responsabilidades (FAO/OMS 2010, Marin *et al.* 2011).

A pesar de que es imposible garantizar la ausencia total de patógenos en el producto final, el riesgo de enfermedad debida al consumo del alimento se puede reducir considerablemente al minimizar su número. Goksoy *et al.* (2004) enumeran algunas razones por las que el control de microorganismos en el procesamiento de pollos es difícil: 1) el rápido ritmo de producción, 2) las limitaciones en el diseño de equipos de proceso, 3) la dificultad de lavado de la cavidad abdominal después de la evisceración (canal permanece entera) y 4) la retención de agua por la piel, que tiende a atrapar bacterias en las grietas y los folículos de las plumas.

Las etapas del procesamiento que representan mayor riesgo de contaminación con *Salmonella* sp. son el escaldado, el desplumado, la evisceración

y el enfriamiento de las canales (Mead *et al.* 2010). Es muy importante entender que los pollos acarrearán gran cantidad de microorganismos ambientales en la piel y las plumas, además de otras bacterias gastrointestinales que se exponen tras una cierta cantidad de defecación involuntaria que ocurre con el proceso de aturdimiento. En consecuencia, esta carga de microorganismos ingresa a la planta desde el momento mismo en que inicia la cosecha del animal (Mead *et al.* 2010).

Salmonella sp. es un patógeno zoonótico con un importante impacto económico y sanitario para las personas en todo el mundo. La Unión Europea presentó para el año 2009 un total de 108.614 casos confirmados de salmonelosis y una tasa de letalidad de 0,08% (EFSA 2011a). Se han presentado algunos casos relacionados con el consumo de verduras y frutas, sin embargo, la fuente más común de infección son los alimentos de origen animal; de estos, la mayoría de alimentos asociados son la carne de ave y los huevos (Hue *et al.* 2011).

Debido a la alta incidencia de este patógeno en los alimentos y a la necesidad de estimar de forma más adecuada el impacto potencial de la seguridad de los mismos, se ha desarrollado una nueva herramienta de gestión de inocuidad denominada Análisis de Riesgo. Este tipo de análisis va tornándose rápidamente en un concepto cada vez más aceptado para la administración de peligros microbiológicos en alimentos. La ejecución de este análisis es un proceso estructurado y sistemático que integra y evalúa la información proveniente de diversas fuentes sobre el origen y la destrucción de patógenos a lo largo de la cadena productiva, igualmente determina la magnitud del riesgo para la salud pública (Pinheiro *et al.* 2011).

La compleja epidemiología de la *Salmonella* sp. dificulta la creación de sistemas de control y prevención, ya que complica sus diseños, eleva sus costos y es mucho más exigente de capacidad técnica. Es por esto que en la mayoría de los casos los programas de control existentes, son aplicados por los países con mayor desarrollo y constituye una de las debilidades del mercado avícola de la región latinoamericana (Bravo 2011). Sería de mucha utilidad para los encargados de la gestión de riesgos e inocuidad de alimentos de las plantas procesadoras contar con una evaluación de los factores que afectan la contaminación y la proliferación de *Salmonella* sp. en canales de pollo, para determinar estrategias de intervención que tengan mayor efecto en la reducción del número de infecciones humanas.

El presente trabajo pretende establecer las causas e identificar los sitios en la línea de procesamiento de una planta procesadora de pollo que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* sp., con la finalidad de obtener información confiable para la formulación e implementación de programas específicos dirigidos a la prevención, detección y control del patógeno, con el objetivo de garantizar la inocuidad de las canales procesadas en dicha planta.

Los resultados de la investigación podrán ser utilizados como referencia en la redacción de reglamentos que faciliten el comercio internacional y en la implementación de programas de control de calidad microbiológica en otras plantas procesadoras de pollo en Costa Rica y Centroamérica, debido a que éstas presentan características similares en cuanto a tipo de procesamiento y equipo utilizado. La presencia de *Salmonella* sp. en productos de origen animal ocasiona un problema de salud pública, con la identificación de los puntos de la línea de procesamiento que presentan un mayor riesgo de contaminación con patógenos, se podrá abordar con mayor eficacia la problemática y con esto lograr la obtención de productos de mayor calidad, que se traducen finalmente como una población más saludable, indicador inequívoco del desarrollo de los países.

2. OBJETIVOS

2.1. General

2.1.1. Identificar y diagnosticar los puntos de la línea de procesamiento que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* sp. en una planta procesadora de pollo.

2.2. Específicos

2.2.1. Determinar el porcentaje de muestras (canales de pollo) contaminadas con *Salmonella* sp. en diferentes puntos de la línea de procesamiento.

2.2.2. Cuantificar el número de unidades formadoras de colonia (UFC) de *Salmonella* sp. en canales de pollo positivos al patógeno en diferentes puntos de la línea de procesamiento.

2.2.3. Identificar los serotipos de *Salmonella* sp. más frecuentemente encontrados en canales de pollo contaminados (positivos al patógeno).

2.2.4. Determinar el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos que presentan los serotipos de *Salmonella* sp. aislados de canales obtenidas de diferentes puntos de la línea de procesamiento.

2.2.5. Estimar el riesgo de enfermedad por ración consumida respecto a la presencia estimada de canales de pollo contaminados con *Salmonella* sp. y despachados al comercio.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. *Salmonella* sp.: características microbiológicas

Salmonella sp. es una bacteria de la familia Enterobacteriaceae. Se caracterizan por ser bacilos Gram-negativos de hasta 3 µm de longitud, que fermentan la glucosa y una amplia gama de otros azúcares, es oxidasa-negativa y catalasa-positiva. Esta familia contiene más de 28 géneros y más de 80 especies (Quinn *et al.* 2002). La mayoría de las especies crecen bien a 37 °C, sin embargo, algunas especies crecen mejor entre 25-30°C (Famiglietti *et al.* 2005). Son anaerobias facultativas, por lo que se distribuyen alrededor del mundo y pueden ser encontradas en suelo, agua, plantas y animales (Famiglietti *et al.* 2005). El género *Salmonella* contiene una gran cantidad de serotipos, cada serovariedad específica está definida por la capa de azúcares y proteínas flagelares que rodea a la bacteria (Callaway *et al.* 2008).

Según Gyles *et al.* (2010), realizando un ordenamiento sobre la base de la patogénesis y la biología de la infección, los serotipos de *Salmonella* pueden ser clasificados en al menos tres patovares. Un primer pequeño grupo de serotipos son capaces de producir enfermedad sistémica grave, estas infecciones están asociadas con *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Gallinarum* y *S. Choleraesuis*. Un segundo conjunto de serotipos se asocian con infecciones sistémicas que frecuentemente implican daño al tracto reproductivo de los animales afectados. Estos incluyen *S. Dublín*, *S. Abortusovis*, *S. Abortusequi* y *S. Pullorum*. Por último, la gran mayoría de los serotipos restantes son incapaces de producir infecciones sistémicas, sin embargo, son capaces de colonizar el tracto digestivo de una serie de animales, causando enteritis aguda o infecciones subclínicas

De acuerdo a Uzzau *et al.* (2000), Gyles *et al.* (2010) y Terzolo (2011) otra clasificación puede realizarse de acuerdo al rango de hospederos que abarca cada serotipo, bajo esta asociación se pueden establecer tres grupos: Serovariedades con un hospedero específico, que suelen causar enfermedad sistémica en un número limitado de especies filogenéticamente relacionadas, por lo que están adaptadas solo para determinadas especies de animales. Así, *S. Typhi*, *S. Gallinarum*, y *S. Abortusovis* se asocian casi exclusivamente con enfermedad

sistémica en los seres humanos, aves y ovejas, respectivamente. El segundo conjunto consta de serovariedades con hospederos restringidos, relacionados principalmente a dos especies hospedantes, sin embargo, son potencialmente capaces de infectar a otras especies animales, por ejemplo, *S. Dublin* y *S. Choleraesuis* generalmente son relacionadas con enfermedades sistémicas graves en rumiantes y cerdos. Por último, los serotipos ubicuos, como *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* generalmente inducen gastroenteritis en una amplia gama de especies hospederas no relacionadas (Uzzau *et al.* 2000, Gyles *et al.* 2010, Terzolo 2011).

Se puede mencionar otra clasificación, que suele ser más utilizada y mayormente aceptada, que divide a los serotipos en dos grupos principales, productores de diferentes escenarios patológicos: Serotipos Tifoideos y serotipos Paratíficos (Back 2012). Los primeros se caracterizan por producir una enfermedad sistémica (fiebre tifoidea) y los segundos en su mayoría por colonizar el intestino y producir enteritis (Gyles *et al.* 2010).

Bajo esta última clasificación, el género *Salmonella* sp. actualmente se cataloga en dos especies: *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*. *S. entérica* está dividida en 6 subespecies: entérica, salamae, arizonae, diarizonae, indica y houtenae (Durango *et al.* 2004). También se les conoce como subespecie I, II, IIIa, IIIb, IV y VI, respectivamente (Uzzau *et al.* 2000).

La *Salmonella* entérica subespecie entérica comprende más de 2500 serotipos, de los cuales un 10% aproximadamente han sido aislados de aves de corral (Aabo *et al.* 2002). Por sus características, este subgrupo contiene casi todos los serotipos potencialmente patógenos para los seres humanos, por lo que representa el mayor riesgo a la salud (Chiu *et al.* 2004, Coburn *et al.* 2007).

Esta bacteria ocasiona enfermedad al pasar por el epitelio del tracto gastrointestinal, provocando una inflamación, que libera toxinas muy potentes (entero y endotoxinas) (Callaway *et al.* 2008). La invasión hace que las células epiteliales liberen varias citoquinas pro-inflamatorias, que producen una respuesta inflamatoria aguda responsable de los daños en el intestino (Simmons 2002).

El grupo de las salmonelas representa colectivamente al conjunto de patógenos bacterianos que presenta mayor transmisión e infección por medio de los alimentos y que afectan de forma negativa al ser humano. La salmonelosis le cuesta a la economía mundial miles de millones de dólares por año, en cuanto a gastos por atención médica y pérdida de la productividad (Anderson *et al.* 2010).

3.2. Serotificación de *Salmonella* sp.

Las bacterias *Salmonella* sp. son catalogadas dentro de diversos grupos. La clasificación antigénica o serotipificación utilizada hoy en día, se basa en el esquema de Kauffmann-White (Terzolo 2011). Esta metodología es el resultado de extensos estudios de interacción de anticuerpos con los antígenos de la superficie bacteriana (Chiu *et al.* 2004).

Existen en general, tres tipos de antígenos de superficie, los antígenos somáticos O, los antígenos flagelares H y los antígenos capsulares Vi (Chiu *et al.* 2004). Según Duarte *et al.* (2010) se reconocen alrededor de 59 antígenos somáticos y 87 antígenos flagelares. Por lo que este esquema ha proporcionado una herramienta útil para la diferenciación entre los aislamientos, y ha demostrado ser un gran activo que se correlaciona con los patrones clínicos y epidemiológicos

El antígeno de tipo O, se fundamenta en los polisacáridos que están asociados con los lipopolisacáridos; los diferentes antígenos O se expresan mediante números que se escriben al comienzo de la fórmula antigénica. Luego se expresan los antígenos H, los que se determinan con base en las proteínas flagelares. Los antígenos flagelares se expresan combinando letras y números. Por último algunas cepas portan el antígeno Vi (Vi de virulencia) que se relaciona con la presencia de una cápsula proteica (Terzolo 2011).

Utilizando esta metodología, cada serotipo específico se define como el resultado de la variabilidad en la reacción antígeno-anticuerpo. Este método de tipificación hace uso de algunas reacciones simples de aglutinación para definir los antígenos específicos O y clasificarlos en serogrupos. Los grupos designados son: A, B, C1, C2, D y E. Por ejemplo, el serotipo Infantis y Choleraesuis son catalogados como pertenecientes al grupo C1. Del mismo modo, el serotipo Enteritidis y Typhi, pertenecen al grupo D (Chiu *et al.* 2004).

Para lograr identificar a cada serotipo del grupo tan amplio de las salmonelas existen básicamente dos técnicas: Aglutinación en tubo (STAT) y Aglutinación en placa (Cai *et al.* 2005). Ambas técnicas son muy costosas debido a que requieren de más de 250 diferentes antisueros, consumen cantidades relativamente elevadas de los reactivos y demandan mucho tiempo de los

técnicos, debido a que permiten la detección de una sola reacción antígeno-anticuerpo a la vez (Cai *et al.* 2005).

Por lo anterior, surge el desarrollo de una prueba manual de microtitulación flagelar, denominada microaglutinación “SALMATcor”. Esta microprueba en placa requiere una menor cantidad de reactivos en comparación con las otras dos técnicas disponibles, por lo que permite realizar una tipificación efectiva de las cepas aisladas a un menor costo económico (Duarte *et al.* 2010).

3.3. Serotipos de *Salmonella* sp. con mayor prevalencia

El gran número de serotipos existentes dificulta su clasificación y genera mucha controversia (Back 2012), sin embargo, el conocer el serotipo es una información crítica para entender la propagación de la salmonela a través de la cadena alimentaria (Callaway *et al.* 2008).

Los dos serotipos más frecuentemente ligados como causantes de enfermedad en los humanos son *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. *S. Enteritidis* está asociada a más del 50% de las infecciones (Le Bouquin *et al.* 2010). Según Van Asselt *et al.* (2009), se estima que un 11% del total de pollos de engorde de Europa están contaminados con estos serotipos. Sin embargo, el predominio de algunos serotipos, es específico para cada sistema productivo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Serotipos de *Salmonella* sp. más comúnmente aislados en los Estados Unidos durante el año 2005. Modificado de Callaway *et al.* 2008.

Orden de prevalencia	Origen			
	Carne de res	Carne de cerdo	Carne de pollo	Humanos enfermos
Primero	Montevideo	Derby	Kentucky	Typhimurium
Segundo	Anatum	Typhimurium	Heidelberg	Enteritidis
Tercero	Muenster	Infantis	Typhimurium	Newport
Cuarto	Newport	Anatum	Enteritidis	Heidelberg

Bajo condiciones de una integración avícola, entre cinco y diez serotipos, representan la mayoría de los aislamientos (Back 2012). Según EFSA (2011b) los riesgos de contaminación de las canales de pollo con *Salmonella* sp. varían significativamente entre países y entre plantas procesadoras de un mismo país.

El predominio de los serovares varía conforme al tipo de ave, región y época (Back 2012). Ciertos serotipos surgen dentro de un país o región durante un período y luego desaparecen sin ninguna causa aparente o medida de intervención. Hoy en día, en América Latina, *S. Enteritidis* es la serovariedad predominantemente aislada de humanos, animales, alimentos y medio ambiente, lo que representa entre el 25 y el 60% del total de los aislamientos de *Salmonella* sp. (Terzolo 2011).

Específicamente en Costa Rica, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG *et al.* 2011), reportan una prevalencia del 14,3% en carnes frescas y subproductos de pollo, de acuerdo con un estudio realizado durante el año 2009. En dicho estudio las serovariedades con mayor incidencia fueron: *S. Paratyphi B* var tartrato (+) (38,3%), *S. Kentucky* (23,1%), *S. Oranienburg* (17,9%) y *S. Agona* (10,3%). Por otro lado, el Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza de Nutrición y Salud (INCIENSA) reporta a la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el 2010 las 15 serovariedades de *Salmonella* de origen humano más frecuentemente aisladas en Costa Rica. Este reporte indica que de un total de 186 muestras aisladas el 30,1% pertenece al serotipo *S. Typhymurium* y el 17,2% al *S. Enteritidis* (WHO 2010).

3.4. Patogénesis e infección de *Salmonella* sp.

Las infecciones por *Salmonella* sp. han sido encontradas en todas las especies de aves domésticas y en algunas especies de aves silvestres. Muchos aspectos de la patogénesis de la salmonelosis son en la actualidad poco conocidos. Lo que se conoce claramente es su característica de patógeno intracelular, y con esto, su amplia capacidad de invasión y resistencia a las defensas de las células huésped (Quinn *et al.* 2002).

Los pollos se pueden contaminar con *Salmonella* sp. a través del contacto directo con aves infectadas que presenten o no signos clínicos (Cardinale *et al.* 2004). Esta bacteria se propaga fácilmente de una ave a otra, a través de la vía fecal-oral que se genera dentro de los sistemas de alojamiento modernos. También puede propagarse a través de otros vectores como los insectos, roedores y seres humanos (Callaway *et al.* 2008).

Una vez ingerida, la *Salmonella* sp. se establece en el buche y en los intestinos, para luego ser eliminada de forma intermitente por las heces (Back 2012). Esta bacteria puede producir infección sistémica y colonizar otros órganos. La relativa facilidad de transmisión de las salmonelas entre las especies animales, torna difícil o casi imposible su erradicación (Back 2012).

Las salmonelas se propagan en forma vertical desde los padres (reproductores) hacia su prole (Terzolo 2011). *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* se presentan como serotipos que tienen un alto potencial de transmisión vertical y frecuentemente son aislados de ponedoras comerciales (Aabo *et al.* 2002). Los demás serotipos que se consideran con mayor potencial de transmisión horizontal son más comúnmente aislados de pollos de engorde (Aabo *et al.* 2002). La razón de la diferencia en la distribución de serotipos de *Salmonella* sp. entre pollos de engorde y gallinas ponedoras no es clara aun (Aabo *et al.* 2002).

Después de la infección las aves pueden permanecer como portadoras y excretar el organismo continuo o intermitentemente por largos periodos o inclusive de por vida. Terzolo (2011) describe tres tipos de portadores: activo, cuando las bacterias se multiplican in vivo y se excretan en gran número; pasivo, cuando las bacterias no son capaces de multiplicarse, por lo que no es posible su excreción; y latente, cuando no se excreta *Salmonella* sp. ya que las bacterias permanecen ocultas, pero cualquier estímulo puede desencadenar la excreción, convirtiéndose así en portadores activos.

La mayoría de los resultados positivos a *Salmonella* sp. cuando se analiza la cadena productiva avícola, se generan en las granjas, debido a que durante el periodo de crecimiento y engorde existen numerosas rutas de contaminación, este punto se considera como la base para controlar e impedir la propagación posterior de la infección, ya que este patógeno se puede encontrar en el suelo, la basura, las camas, las heces y los alimentos de las granjas (Cardinale *et al.* 2004, Rodríguez *et al.* 2006).

La contaminación de las canales de pollo con *Salmonella* sp., está al parecer íntimamente vinculada con la contaminación durante el engorde y/o durante el transporte a la planta de proceso (Arsenault *et al.* 2007). Existe una gran cantidad de investigación destinada a comprender los aspectos que tienen un efecto significativo sobre las poblaciones de *Salmonella* sp; como lo es el estrés que se genera con el ayuno y el transporte previo al procesamiento. En general se dice

que a mayor tiempo entre la salida de la explotación de origen y el momento propio del proceso, aumenta la incidencia de *Salmonella* sp., debido a que se ha demostrado que la excreción fecal de la bacteria aumenta significativamente (Callaway *et al.* 2008).

Por lo tanto, los factores de riesgo de mayor importancia y que deben ser tomados en cuenta en la lucha contra la contaminación con *Salmonella* sp. se incluyen: la estación o época del año, la granja de origen, las fábricas de alimento balanceado y en general las medidas de higiene y bioseguridad implementadas durante la cadena de producción (Arsenault *et al.* 2007).

3.5. Inocuidad de productos avícolas

La producción y comercialización de canales de pollo enteras representa una parte importante en el comercio de alimentos de origen animal. Los criterios de seguridad e inocuidad y las medidas correctivas a tomar, dependen mucho de la etapa de la cadena alimentaria en la que se detecte el patógeno, la sensibilidad y metodología de muestreo, además del tipo y método de análisis con el que se identifica la amenaza (Chaves *et al.* 2011).

Los alimentos podrán declararse inocuos en la medida que se establezcan controles a lo largo de la cadena alimentaria. Para evaluar el impacto de la inocuidad o en su defecto la contaminación se ha creado el Análisis de Riesgos, que es un proceso que se compone de tres elementos: evaluación del riesgo, gestión del riesgo y comunicación del riesgo (Chaves *et al.* 2011). Michanie (2002) define, riesgo como una estimación de la probabilidad de que ocurra un peligro o un efecto adverso, como el de afectar la salud del consumidor. El grado o nivel de riesgo mide, con anterioridad a su ocurrencia, la probabilidad de un futuro resultado no deseado, de acuerdo a la experiencia. El riesgo que un alimento afecte la salud variará entre una probabilidad cero: que no se presente nunca, y la probabilidad 1: que se presente siempre. En rigor la probabilidad no es ni cero ni uno, sino que se encuentra en valores intermedios (Michanie 2002)

En los últimos años, instituciones gubernamentales y no gubernamentales se han ocupado de la elaboración de diversos Análisis de Riesgos; que describen modelos matemáticos que permiten estimar la probabilidad de adquirir una

infección luego de la ingesta de una dosis dada de microorganismos patógenos (Michanie 2002).

Uno de estos modelos matemáticos desarrollados para obtener una estimación cuantitativa del riesgo de sufrir salmonelosis al consumir productos avícolas, se denomina Evaluación de riesgos de *Salmonella* en huevos y pollos (FAO/WHO 2002), este se define en relación con varios parámetros que describen los procesos de distribución, almacenamiento, preparación, cocción y consumo de carne de pollo. Algunos de esos parámetros pueden considerarse generales en el sentido de que pueden utilizarse para describir la situación en muchos países. Al mismo tiempo, algunos parámetros son específicos de determinados sitios o regiones, como la prevalencia de canales contaminadas con *Salmonella* sp. al final del proceso de elaboración.

La evaluación de la exposición a *Salmonella* sp. en canales de pollo reproduce el movimiento de los pollos contaminados a lo largo de la cadena alimentaria, tomando como base el nivel de contaminación presente en el punto en que termina el proceso de sacrificio (FAO/WHO 2002).

El modelo representa el promedio del riesgo para todos los individuos de la población que consumen raciones de pollo. Debe reconocerse que algunas personas que consumen una ración en determinadas ocasiones experimentarían un riesgo mucho mayor que otras que podrían estar consumiendo raciones sin riesgo alguno de salmonelosis, pues su ración no contendría el agente patógeno (FAO/WHO 2002). Por otro lado, debido a que la *Salmonella* sp. genera un tipo de infección oportunista, es muy importante considerar el riesgo letal en individuos inmunosuprimidos, en especial pacientes diagnosticados con SIDA (Cardinale *et al.* 2004).

La amplia difusión de los microorganismos en el medio ambiente hace muy difícil producir alimentos con riesgo cero; sin embargo, ésta debe ser la meta de todos los operadores a lo largo de la cadena alimentaria, incluyendo al consumidor (Michanie 2002).

La *Salmonella* sp. representa una seria amenaza para la producción avícola debido a su capacidad de transmisión, poniendo en riesgo la inocuidad de los productos que derivan de esta industria (Callaway *et al.* 2008). En general, la presencia de bacterias patógenas en los alimentos refleja una manipulación higiénica deficiente durante el proceso de producción y procesamiento o

condiciones inadecuadas de almacenamiento que producen contaminación cruzada post-proceso (Chaves *et al.* 2011).

La vía hacia el consumidor directamente a través del productor o mayorista suele estar regulada por normativas y controles de calidad, disminuyendo de esta manera la probabilidad de contaminación. Sin embargo, la manipulación que hacen los consumidores adquiere mayor riesgo, debido a la aplicación de una gran cantidad de prácticas inadecuadas con respecto al transporte, almacenamiento, preparación y cocción de los alimentos. Por lo que el operador de alimentos doméstico tiene una gran responsabilidad en la inocuidad de los productos que lleva hasta su mesa (Boscán *et al.* 2005).

3.6. Resistencia a antibióticos

Las infecciones causadas por bacterias del género *Salmonella* provocan enfermedades que afectan gravemente la industria avícola, generando a esta actividad pecuaria importantes pérdidas económicas debido a la disminución en los rendimientos productivos, alcanzando una sensible reducción en las ganancias de peso, altas tasas de conversión alimenticia, muertes súbitas e incluso decomiso de canales a nivel de planta de proceso (Boscán *et al.* 2005).

En contraste, en los últimos años, ha aumentado la preocupación acerca de la resistencia a los antimicrobianos, en general, pero específicamente la resistencia en el suministro de alimentos. La incidencia y severidad de la resistencia antimicrobiana entre las infecciones por *Salmonella* sp. ha crecido, al menos en la percepción, en los últimos años (Callaway *et al.* 2008).

El uso de medicamentos antimicrobianos para promover el crecimiento o la profilaxis de la enfermedad en animales productores de alimentos, se sugiere como la presión selectiva más importante para inducir la aparición de bacterias resistentes (Vaz *et al.* 2010). Muchos agentes antimicrobianos usados en animales pertenecen a las mismas familias de tratamientos aplicados en la medicina humana. Por lo tanto, la aparición de patógenos resistentes representa un importante problema de salud pública, debido a que la gastroenteritis humana causada por salmonelosis puede ser autolimitada (Vaz *et al.* 2010).

En general, los estudios han mostrado niveles bajos o moderados de resistencia a los antimicrobianos (Vaz *et al.* 2010), sin embargo, lo más alarmante

es el reconocimiento de la *Salmonella* multi-resistente, que ha provocado gran preocupación por la seguridad del suministro de alimentos directamente como una fuente de *Salmonella* insensible o indirectamente como un reservorio de elementos genéticos antimicrobianos que pueden ser intercambiados entre las bacterias intestinales (Callaway *et al.* 2008).

Las bacterias muestran diferente susceptibilidad a los antimicrobianos. Por esto es indispensable determinarla *in vitro*, para tratar de predecir el éxito de la terapia antimicrobiana a utilizar. El estudio de la resistencia a antimicrobianos se realiza al exponer un cultivo puro a diferentes concentraciones de antibióticos, para determinar el grado de resistencia, utilizando métodos de dilución (en tubo o en platos de agar) y de difusión en agar (Rodríguez *et al.* 2005).

En los métodos de dilución se prepara el medio de cultivo con diferentes concentraciones del antibiótico y se distribuye en tubos o placas, que serán inoculadas. El inóculo determinado se enfrentará a diversas concentraciones de cada antibiótico para calcular la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). En los métodos de difusión, siendo el Kirby y Bauer, el más comúnmente utilizado, se emplean discos de papel adsorbente, impregnados con una concentración conocida del antimicrobiano. Estos discos se colocan en la superficie de una placa de agar de Mueller-Hinton inoculada con la bacteria (Rodríguez *et al.* 2005).

Los agentes antimicrobianos son utilizados para el tratamiento de las infecciones por *Salmonella* sp., ya que han comprobado su efectividad en casos de infección severa. En el pasado, la ampicilina, el cloranfenicol, y trimetoprim-sulfametoxazol (SXT) fueron utilizados con frecuencia para el tratamiento de estos casos, pero en la actualidad, su utilidad es limitada debido a la creciente resistencia de *Salmonella* sp. a los antibióticos. Hoy en día, las fluoroquinolonas, como ciprofloxacina, son más comúnmente utilizadas (Chen *et al.* 2010).

En Costa Rica, datos reportados por MAG *et al.* (2011) en su estudio de análisis de patrón de sensibilidad de *Salmonella* a los antibióticos, indican que todos las cepas consideradas mostraron 100% de sensibilidad a amoxicilina ácido clavulánico, ceftazidima, cefotaxima, piperacilina tazobactam, cloranfenicol y gentamicina. Para el resto de los antibióticos, se presentó algún nivel de resistencia.

La vigilancia de las resistencias bacterianas actuales no debe basarse exclusivamente en la determinación de los fenotipos resistentes. La

caracterización genética de la conjugación es actualmente una herramienta que puede ser utilizada para entender mejor la propagación de la resistencia a los antibióticos en las bacterias zoonóticas (Bounar-Kechih *et al.* 2012).

3.7. Procesamiento de aves

En términos generales, la industria de procesamiento avícola se caracteriza por manipular un gran volumen de aves, tornándose crítico el manejo a partir de los 3.600 pollos/hora, debido a que el monitoreo en tiempo equivale a un pollo/segundo (Cervantes 2010a). Por ser la última etapa de la cadena productiva avícola, el procesamiento tiene la gran responsabilidad de transformar en carne y productos comestibles inocuos todas las aves que llegan a la planta (Meleán *et al.* 2008).

Cuando las aves ingresan a la planta de proceso portan cierta carga microbiana cuya magnitud depende de las condiciones que prevalecen en las granjas de engorde y durante su transporte hasta la planta. En todas las plantas dedicadas al procesamiento de aves existen numerosos puntos donde puede ocurrir contaminación cruzada, tales como en la recepción, sacrificio, escaldado, desplume, evisceración, enfriamiento, clasificación, porcionado y empaque (Valera *et al.* 2000).

El control de la infección por *Salmonella* sp. antes de la cosecha podría ayudar a reducir la incidencia de la contaminación y las poblaciones en la planta de procesamiento. Se prevé que, cuando los niveles de contaminación se reducen en y sobre el ave viva, el riesgo de contaminación cruzada de las canales y del producto final durante el procesamiento también debe reducirse (Santos *et al.* 2005).

La carga bacteriana del producto final está directamente correlacionada con la carga bacteriana inicial del pollo, por lo que la determinación de los puntos críticos de contaminación y riesgos microbiológicos desde el ingreso del pollo vivo y durante el procesamiento, es imprescindible para garantizar la calidad microbiológica de dicho producto (Valera *et al.* 2000).

Durante el transporte hacia la planta de procesamiento, las aves defecan y permanecen en contacto directo con la materia fecal al caminar o postrarse en la

jaula de transporte. Esto conduce a un aumento de la contaminación con microorganismos de origen fecal (Simmons 2000).

Una vez que las jaulas llenas de aves vivas ingresan a la planta de proceso, se transportan hasta la zona de descarga, donde se sacan de las jaulas y se suspenden por las patas en la cadena de producción que está provista de ganchos. Las jaulas una vez vacías pasan a la instalación de lavado y desinfección (López y Casp 2004).

El procesamiento como tal, da inicio con el aturcido, previo al sacrificio, a fin de obtener un buen desangrado. Consiste en adormecer a las aves, provocando la alteración del ritmo cardíaco y un rápido efecto de bombeo. Para ello, esto se hace pasar un pulso de energía eléctrica por su cuerpo. Para lograr un proceso exitoso se debe mantener un preciso balance entre el voltaje, amperaje, frecuencia de la corriente, tiempo de permanencia dentro del recipiente y peso promedio de los pollos que se van a procesar (Cervantes 2010b).

El sacrificio se efectúa realizando un corte cervical dorsolateral que secciona la carótida externa y la yugular. El desangrado del ave se produce inmediatamente después de efectuado el sacrificio y la canal debe llegar al escaldado con la menor sangre posible. La operación de escaldado tiene la función de dilatar el folículo y hacer más fácilmente el desprendimiento de la pluma mediante la desnaturalización de la proteína (Cervantes 2010b).

El siguiente paso es el desplumado, que consiste en retirar la mayor cantidad de plumas en el menor tiempo posible, exponiendo al pollo a una serie consecutiva de rodillos con dedos de goma que atrapan de manera mecánica las plumas. Una gran parte de un desplumado exitoso, depende de un adecuado escaldado (Cervantes 2010b). Esta etapa del procesamiento ha sido identificada como una oportunidad de contaminación con bacterias procedentes del tracto intestinal y además como generadora de contaminación cruzada entre las canales (Cason *et al.* 2004).

La presencia y desarrollo de bacterias patógenas en los folículos de las plumas es muy importante, sin embargo, el papel de las plumas en la contaminación bacteriana de las canales no se limita a los folículos. Las mismas plumas tienen una gran población bacteriana al ingreso a la planta de proceso. Además, se debe tener en cuenta al evaluar esta etapa el tamaño de la canal, la topografía de la piel y el tamaño relativo de las bacterias, por lo que existen

muchos sitios en una canal para que las bacterias se adhieran y/o permanezcan atrapadas (Cason *et al.* 2004).

Es indiscutible la necesidad de eliminar todas las plumas de la canal, sin embargo, en la mayoría de las plantas se presenta un uso excesivo de la máquina desplumadora. Allen *et al.* (2003). mencionan que la mayoría de las plumas son retiradas en los primeros 10 segundos de proceso, pero las canales permanecen dentro de la desplumadora 30 segundos o más. Este exceso asegura el retiro total de las plumas, pero por otro lado aumenta la posibilidad de generar contaminación cruzada y daños en la piel de la canal.

Berrang *et al.* (2001) reportan que cualquier exceso innecesario de desplume puede aumentar la posibilidad de contaminación fecal, debido a que las bacterias fecales escapan del tracto intestinal, posiblemente debido a la presión excesiva que ejercen los dedos de goma desplumadores.

Una vez que a la canal se le hayan retirado las estructuras externas (plumas, cabeza, patas), inicia el proceso de eviscerado, el cual consiste en la extracción de las vísceras para lograr una mejor y más larga conservación. Este proceso inicia con el corte de las cloacas mediante una cuchilla rotatoria, al mismo tiempo se efectúa la abertura de la cavidad abdominal, para luego lograr el retiro de la masa vísceral completa. Durante esta etapa es de vital importancia mantener la integridad de los órganos extraídos. Se debe evitar el escape del contenido digestivo por la cloaca o por algún corte accidental que pueda contaminar la canal (Meleán *et al.* 2008, López y Casp 2004).

En condiciones normales de ayuno (entre 8 a 12 horas), generalmente los intestinos y la vesícula biliar deben tener una resistencia normal, la cual impida que se rompan al ser removidos. Una situación similar se debe dar con la cutícula de la molleja y la extracción del buche y la tráquea (Cervantes 2010b).

El lavado interior y exterior de las canales una vez finalizado el proceso de eviscerado, y su inmediato drenaje se debe realizar con efectividad para que no ingresen al sistema de enfriamiento con residuos de material fecal y agua sanguinolenta en su interior, situaciones que incrementan la carga orgánica, demandando una mayor reposición de agua durante el proceso o el incremento de adición de bactericidas (Cervantes 2010b).

El propósito principal del tratamiento con frío que sufren las canales de pollo, es reducir la tasa de crecimiento de microorganismos patógenos y el

deterioro (Northcutt *et al.* 2008). Existen básicamente dos tipos de sistemas para el enfriamiento de canales de pollo: por aire o por inmersión en agua. El primero consiste en la exposición de las canales a corrientes de aire frío, en recintos (túneles) especialmente contruidos para conseguir altas velocidades de aire que permiten alcanzar tiempos cortos de enfriamiento. Presenta el inconveniente de provocar defectos en la piel como pérdida de brillo y resequedad. El segundo sistema consiste en la inmersión de la canal en un tanque que contiene agua fría. La disipación del calor en este caso se efectúa por convección forzada, a través de la película de agua que cubre la superficie del producto (López y Casp 2004).

El enfriamiento por inmersión ha sido tradicionalmente el método más utilizado, debido a su eficiencia y economía, sin embargo en éste aumentan las posibilidades de contaminación microbiológica, por lo que se hace necesario controlar la absorción de agua con alta carga orgánica por las canales, además es criticada debido a que requiere grandes volúmenes de agua (Northcutt *et al.* 2006).

Al finalizar el proceso de enfriamiento, las canales están listas para ser distribuidas o almacenadas como producto para consumo humano. Algunas canales son clasificadas y continúan en una línea de porcionado, donde se realizan una serie de cortes, con el fin de obtener diversos productos. Las canales de pollo que se transforman en piezas o se usan para fabricar subproductos pueden presentar una mayor incidencia de *Salmonella* sp. debido a la posible contaminación cruzada que se genera durante el proceso, por lo que asegurar la inocuidad de la canales, es de suma importancia para minimizar la posibilidad de una mayor contaminación durante el procesamiento posterior (Chaves *et al.* 2011).

3.8. Metodología de muestreo en planta de proceso

La vigilancia y el control de la *Salmonella* sp. en producción de aves de corral ha sido una prioridad durante las últimas décadas, ya que la mayoría de los casos humanos de salmonelosis se cree que están relacionadas con el consumo de huevos y pollo (Carrique-Mas y Davies 2008). Diferentes métodos se han desarrollado para detectar la presencia de bacterias en canales de aves, entre los que se incluyen sistemas de muestreo de raspado, limpieza y escisión de piel,

contacto directo con agares y enjuagues de canal (Smith *et al.* 2007a, Brichta-Harhay *et al.* 2008).

Para la determinación de la prevalencia de *Salmonella* sp. en canales de pollo se aplican en general dos metodologías; a saber; el método de enjuague de la canal completa (WCR) y el método de la escisión de la piel del cuello (NSE) (Cason *et al.* 2010). Ambos métodos se originan de la investigación científica, y por lo tanto han sido incorporados como parte de las normas microbiológicas nacionales e internacionales para fines reglamentarios en diferentes países.

Dos áreas geográficas del mundo con una gran influencia en el comercio mundial de aves, como lo son los Estados Unidos y La Unión Europea difieren en la metodología a usar en este análisis. Los primeros aceptan el WCR como norma y los segundos exigen muestrear bajo el sistema NSE (Cason *et al.* 2010).

A pesar de que ambas metodologías funcionan en la determinación de la prevalencia de *Salmonella* sp., difieren en algunos atributos, por ejemplo, el WCR establece 12 como máximo número de muestras positivas en un conjunto total de 51 muestras, mientras que el método NSE establece 7 como máximo número de muestras positivas en un conjunto total de 50 muestras (Cason *et al.* 2010).

Jorgensen *et al.* (2002) y Simmons *et al.* (2003), indican que el método de muestreo tiene un efecto considerable sobre la recuperación de *Salmonella* sp., aun más cuando el contenido de bacterias por canal es pequeño, además de que el tipo de muestra, los medios usados y las condiciones de incubación afectan la probabilidad de detectar estas bacterias.

3.9. Aislamiento diagnóstico de *Salmonella* sp.

La confirmación del diagnóstico de *Salmonella* sp. requiere del aislamiento e identificación del agente causal como prueba definitiva. Esta bacteria puede ser aislada mediante el cultivo directo de diversos tipos de muestras tomadas (órganos, heces, hisopados cloacales, lavados, etc) a depender del objeto de análisis (Elizondo 2006).

Numerosas técnicas y métodos han sido descritos para el aislamiento de la *Salmonella* sp. Entre las más utilizadas y con mayor eficacia reportada, se encuentran los caldos de enriquecimiento no selectivo y selectivo, y diferentes agares para seleccionar e identificar las colonias mediante un criterio morfológico

típico, reconociendo tamaño, forma, color, superficie y consistencia (Terzolo 2011, Bailón *et al.* 2003). La detección de *Salmonella* sp. utilizando agar en placa se basa en la no fermentación de la lactosa y la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) que realiza el organismo (Hyeon *et al.* 2012).

Los caldos de enriquecimiento no selectivo incluyen el agua peptonada y el caldo lactosado (Terzolo 2011). Estos son utilizados para el cultivo de muestras en las que los organismos han sufrido daños subletales, como los generados durante el procesamiento, debido a la exposición a altas temperaturas, desinfectantes o deshidratación (Elizondo 2006). En la práctica, es necesario optimizar esta etapa para no inhibir la recuperación de *Salmonella* sp. dañada o de lento crecimiento y al mismo tiempo evitar el sobrecrecimiento de los organismos que generan competencia (Carrique-Mas y Davies 2008).

Los caldos de enriquecimiento selectivo más comunes son Salmocyst®, Tetrionato, Rappaport-Vassiliadis y Selenito-Cistina (Terzolo 2011). Estos medios de enriquecimiento se recomiendan para cultivar muestras contaminadas con un alto número de bacterias, muestras ambientales o subcultivos preenriquecidos (Elizondo 2006). Estos caldos crean un ambiente especialmente favorable para un límite estrecho de bacterias e inhiben el crecimiento del resto (Bailón *et al.* 2003).

Con el fin de lograr un aislamiento efectivo de bacterias del género *Salmonella* se han formulado una gran cantidad de medios sólidos o agares, a los cuales se les ha incorporado varios agentes diferenciales y selectivos para facilitar el aislamiento de la bacteria a partir de muestras contaminadas con otros microorganismos (Elizondo 2006).

Los agares Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD), *Salmonella-Shigella*, Hektoen-Entérico (HE) y Sulfito de Bismuto (BS) son adecuados para la detección y el aislamiento de la mayoría de las colonias de *Salmonellas* paratíficas (Terzolo 2011, Hyeon *et al.* 2012). En general USDA/FSIS (2011) recomiendan el Agar Xilosa-Lisina-Tergitol 4 (XLT4) y Agar Sulfa-Verde Brillante (BG sulfa) para el aislamiento de cualquier serotipo de *Salmonella* sp.

Para caracterizar fenotípicamente a los aislamientos se utilizan en conjunto medios de cultivo, comprobaciones bioquímicas y pruebas serológicas. Diversas pruebas bioquímicas son necesarias para confirmar un aislamiento de *Salmonella* sp.; entre ellas están Agar Triple Azúcar-Hierro (TSI), Agar Citrato de Simmons, Agar Lisina-Hierro-Arginina (LIA) y Agar Urea de Christensen (Elizondo 2006).

Además como mínimo, los aislamientos deben ser probados con el Antisuero Polivalente O (USDA/FSIS 2011).

La prueba TSI, determina la capacidad de una bacteria de atacar un carbohidrato específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases (Mc Faddin 2003). La reacción de la ureasa determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por la acción de la enzima ureasa produciendo un cambio de color (Mc Faddin 2003). La prueba LIA, mide la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido y formar una amina (Mc Faddin 2003).

El estándar para la detección de *Salmonella* sp. en los alimentos son los métodos de cultivo convencionales, debido a que han sido conocidos como las técnicas más fiables y precisas para la detección de patógenos de origen alimentario (Hyeon *et al.* 2012).

3.10. Cuantificación de *Salmonella* sp.

Existe en la actualidad la necesidad de crear pruebas más estrictas y sensibles para detectar y caracterizar patógenos transmitidos por los alimentos, como *Salmonella* sp. Éstas deben desarrollarse para ayudar a salvaguardar el suministro mundial de alimentos (Anderson *et al.* 2010).

Los métodos tradicionales de aislamiento se basan en pruebas que establecen presencia o ausencia de *Salmonella* sp. (análisis cualitativo), sin embargo, Cason (2011), indica que las tendencias y exigencias modernas con respecto a la inocuidad de los alimentos requieren de la determinación del número de unidades formadoras de colonia por unidad de muestra (análisis cuantitativo), para lograr una mayor correlación con el riesgo de enfermedad, lo que lleva a un mejor diagnóstico del peligro.

Pese a que la asociación de *Salmonella* sp. con productos avícolas ha sido bien descrita, la concentración de estas bacterias en las canales, no ha sido ampliamente estudiada. Las estimaciones de la carga de patógenos son necesarias para poder definir las medidas correctivas que deben aplicarse, y para estar en capacidad de probar la eficacia de nuevas estrategias de intervención. Las estimaciones de prevalencia no son suficientes para evaluar la eficiencia de los métodos de intervención, lo que surge como un obstáculo y pone de manifiesto la

necesidad de enumerar de forma rentable y segura los agentes patógenos a partir de muestras de la canal de pollo (Brichta-Harhay *et al.* 2008)

Cada tipo de recuento de microorganismos viables es potencialmente útil para fines específicos. Los recuentos de bacterias viables se basan en el número de colonias que se desarrollan en placas enriquecidas con medios, previamente inoculadas con cantidades conocidas del alimento a analizar, diluido e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas (Padilla 2007).

Existen diversas metodologías que pueden ser utilizadas para la cuantificación de *Salmonella* sp. Una de estas opciones es la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR). Esta proporciona algunas ventajas en cuanto a eficiencia, sensibilidad y disminución del tiempo de detección, debido a que lleva a cabo simultáneamente los procesos de amplificación y detección en el mismo vial y determina la cantidad de ADN sintetizado en cada momento de la reacción (Yáñez *et al.* 2008, Terzolo *et al.* 2006). Sin embargo presenta el inconveniente de ser una técnica económicamente costosa.

Otra opción para la cuantificación, la presenta el método de enumeración bacteriana conocida como el Numero Más Probable (NMP). Esta es una estrategia eficiente de estimación de densidades poblacionales especialmente cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible (Rodríguez *et al.* 2007).

La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia en réplicas de diluciones consecutivas. El estimado de densidad poblacional se obtiene del patrón de ocurrencia en diluciones seriadas y el uso de una tabla probabilística. Algunas ventajas del NMP son que provee una recuperación uniforme de las poblaciones microbianas y determina sólo organismos vivos y activos metabólicamente, pero presenta el inconveniente de ser una técnica muy laboriosa, que dificulta la eficiencia del trabajo en el laboratorio (Camacho *et al.* 2009).

En contraste, se desarrollan otros métodos de enumeración basados en la siembra directa en placa, tales como el método de recuento en placa espiral (SPCM) y el método de filtración con membrana hidrofóbica (HGMF). Éstos tienen la ventaja de proporcionar una medida de los recuentos bacterianos viables sin una etapa de enriquecimiento, además se pueden realizar con un costo menor, en comparación con NMP (Brichta-Harhay *et al.* 2008).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Población en estudio y tamaño de la muestra

Con el fin de determinar el porcentaje de muestras contaminadas y la distribución de los serotipos de *Salmonella* sp. presentes en los diferentes puntos de la línea de procesamiento, se analizaron canales de pollo obtenidas de una planta procesadora de Costa Rica, que procesa en promedio 182.000 aves por semana.

Utilizando el programa Win Episcopo® 2.0 para el cálculo muestral, asumiendo 5% de error absoluto, un nivel de confianza de 90% y una distribución normal (z), se utilizaron un total de 90 muestras (90 canales de pollo) obtenidas al azar de diferentes puntos de la línea de procesamiento. Se realizó un muestreo fraccionado en 10 periodos, distribuidos en 5 meses, que correspondieron a los meses de enero, febrero, marzo, abril y mayo del año 2012. Se efectuaron 2 visitas por mes a la planta de proceso (segunda y cuarta semana de cada mes).

4.2. Recolección de muestras

De acuerdo con Mead *et al.* (2010), y a las características propias que presenta la planta procesadora, se establecieron 9 puntos específicos de muestreo (Figura 1), que van de la mano con el flujo de proceso y que garantizan la valoración de todas las etapas. Los puntos de muestreo fueron los siguientes:

- A. Proceso de desangrado.
- B. Proceso de escaldado.
- C. Proceso de desplume.
- D. Proceso de descloaque.
- E. Proceso de eviscerado.
- F. Proceso del lavado.
- G. Proceso de enfriamiento: pre-chiller.
- H. Proceso de enfriamiento: chiller.
- I. Despacho de producto terminado.

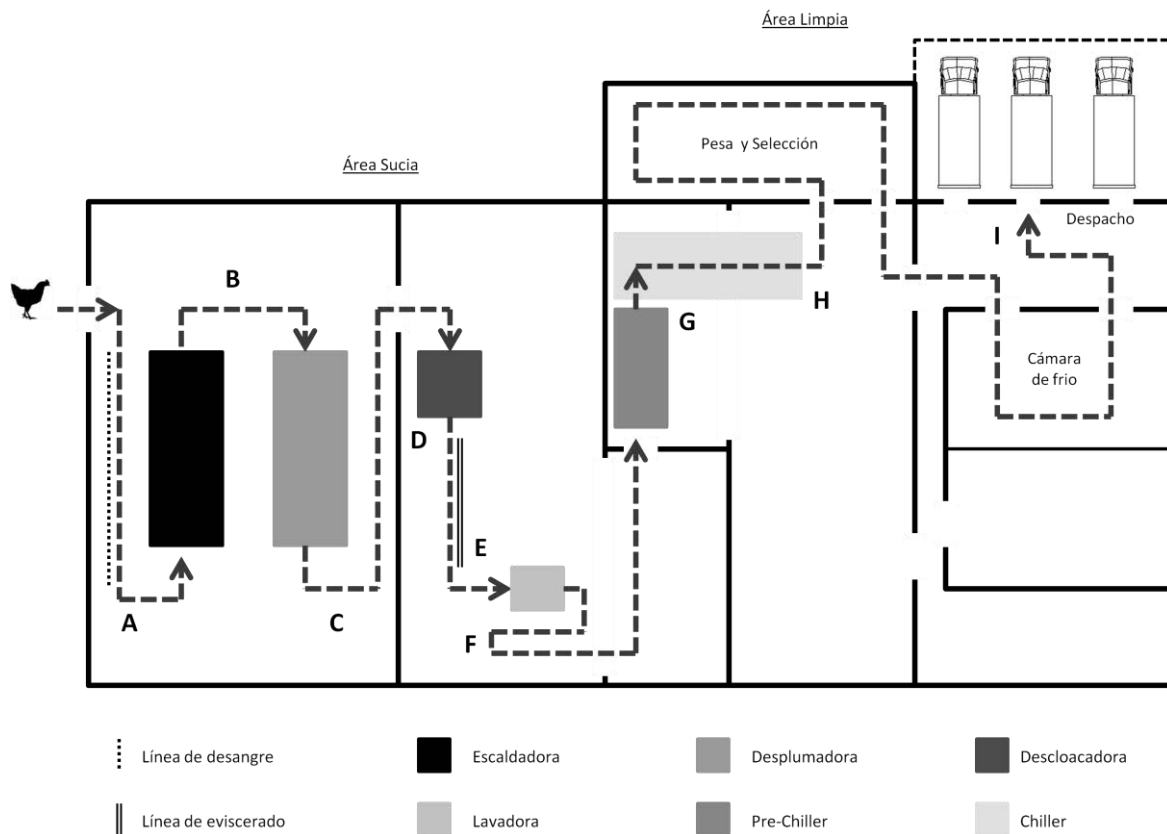


Figura 1. Diagrama de Planta de Proceso con puntos de muestreo (línea punteada presenta el flujo de proceso).

Las canales de pollo fueron tomadas de la línea de procesamiento al finalizar cada proceso individual que se designó como punto de muestreo (al finalizar el proceso de desangrado, al finalizar el proceso de escaldado, etc.), se obtuvo al azar una muestra en cada punto de muestreo por período. Por esta razón se tomaron en total 9 muestras por período, que sumaron las 90 muestras al final de la etapa de muestreo (10 periodos/5 meses).

Las muestras fueron recolectadas según la metodología descrita por USDA/FSIS (1998), que consiste en la toma de muestras no destructiva para la recolección de datos microbiológicos, denominada Enjuague de la Canal Completa (WCR, por sus siglas en inglés). Esta consiste en el enjuague de la canal entera con 400 ml de agua peptona tamponada (BPW, por sus siglas en inglés) y toma de alícuota de 100 ml para la realización de los cultivos. Las canales muestreadas son lavadas y reintegradas a la línea de proceso.

La prueba WCR se ajusta a un número máximo de 12 positivos en un conjunto de muestras de 51 canales, lo que concuerda con una planta de proceso que opera con una prevalencia aproximada del 20% (Cason 2010). Según Bravo (2011) Costa Rica utiliza este criterio como normativa nacional para pollo fresco.

Las muestras recolectadas (alícuotas) se colocaron en hieleras manteniendo la cadena de frío (0 a 4°C) y se transportaron al Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional para el aislamiento y cuantificación de *Salmonella* sp. en menos de 24 horas para su análisis.

4.3. Aislamiento bacteriológico (análisis cualitativo)

Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, donde se realizó el análisis y determinación de presencia o ausencia de *Salmonella* sp., utilizando los métodos descritos por el USDA/FSIS (2011) en el Microbiology Laboratory Guidebook.

4.3.1. Medio de preenriquecimiento no selectivo

Como medio de preenriquecimiento se utilizó agua peptona tamponada (Oxoid®). Se realizó una dilución 1:1 (30ml) de la muestra en el medio y se incubó durante 24 horas a 36°C ± 1°C de temperatura.

4.3.2. Medio de enriquecimiento selectivo

Como medios de enriquecimiento se utilizaron Rappaport-Vassiliadis (Acumedia®) y Tetracionato (Acumedia®). Se realizó una disolución 1:100 (100µL:10mL) y 1:20 (500 µL:10mL), respectivamente de la muestra en cada medio y se incubaron en Baño María a 42°C ± 0,5°C durante 24 horas.

4.3.3. Medios de cultivo selectivos

Como medios de cultivo selectivos se utilizaron Agar Xilosa-Lisina-Tergitol 4 (XLT4, Acumedia®) y Agar Sulfa-Verde Brillante (BG sulfa, Acumedia®). Se inocularon las muestras en ambos medios sólidos (placas de Petri) y se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Se tomaron como colonias sospechosas típicas las rojas con centro negro en XLT4 o rojo-rosa-blanco, opacas en BG sulfa (Figura 2).

4.3.4. Identificación bioquímica

Como pruebas bioquímicas de identificación se utilizaron el Agar Triple Azúcar-Hierro (TSI, Merck®), Agar Lisina-Hierro-Arginina (LIA, Oxoid®) y Agar Urea (Oxoid®). Se identifican cepas positivas a *Salmonella* TSI (K/A, H₂S+), LIA (K/NC) y Urea (-) (Figura 2).

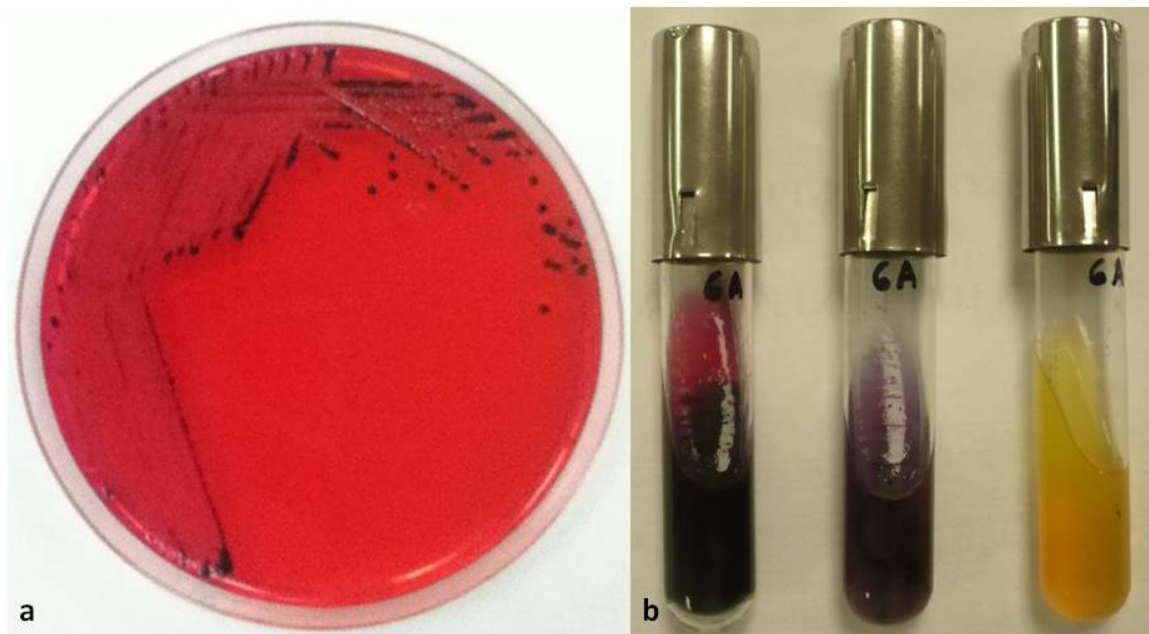


Figura 2. (a) Colonias típicas de *Salmonella* en XLT4. (b) Pruebas bioquímicas positivas a *Salmonella*, TSI (K/A, H₂S+), LIA (K/NC), Urea (-).

4.3.5. Confirmación serológica

Las cepas sospechosas identificadas positivas a *Salmonella* sp. con las pruebas bioquímicas se confirman con la utilización de la prueba rápida en placa con Antisuero omnivalente (Seiken®). Se tomó como confirmación definitiva la formación de aglutinación en placa.

4.4. Recuento bacteriológico (análisis cuantitativo)

Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, donde se realizó un análisis de cuantificación utilizando un protocolo de recuento por diluciones, denominado Recuento por Diluciones en Placa, utilizando el XLT4 como medio selectivo (protocolo experimental probado en la presente investigación).

4.4.1. Dilución de la muestra

Como medio de dilución se utilizó agua peptona tamponada (Oxoid®). Se prepararon tres diluciones decimales sucesivas: para la disolución 1 se tomó 1 ml de la alícuota muestral, luego se tomó 1 ml de la disolución 1 y se mezcló con 9 ml del diluyente, obteniendo la disolución 2, para obtener la última disolución (disolución 3), se tomó un 1 ml de la disolución 2 y se mezcló con 9 ml del diluyente (Figura 3).

4.4.2. Inoculación de medio selectivo

Como medio de cultivo selectivo se utilizó XLT4 (Acumedia®). Según Lévano y López (2001), este es un medio que ha comprobado su eficiencia y selectividad en la recuperación y el aislamiento de especies del género *Salmonella*.

Se inocularon por duplicado medios sólidos (placas de Petri) con 100 µl de las disoluciones 1, 2 y 3 (antes mencionadas), logrando así obtener el plateo de disoluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Los inóculos se esparcieron utilizando un asa de

Drigalski y fueron incubados a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Se tomaron como colonias sospechosas típicas las rojas con centro negro (Figura 2).

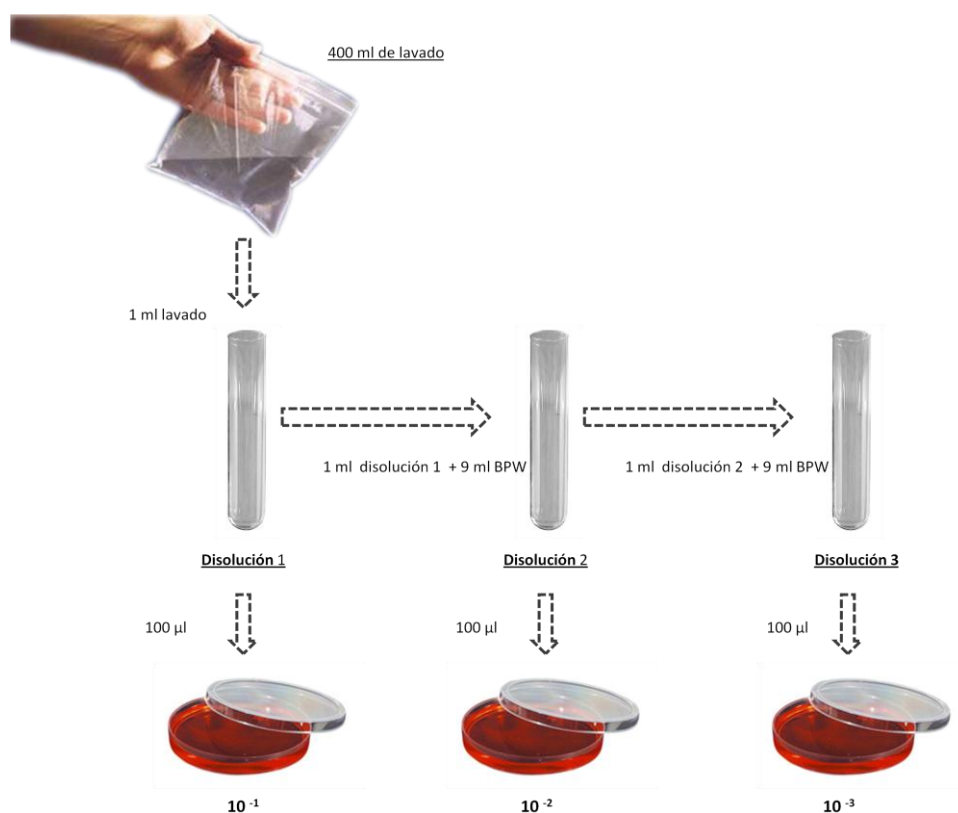


Figura 3. Protocolo de dilución y plateo de muestras para cuantificación de *Salmonella*.

4.4.3. Identificación bioquímica

Como pruebas bioquímicas de identificación se utilizaron el Agar Triple Azúcar-Hierro (TSI, Merck®), Agar Lisina-Hierro-Arginina (LIA, Oxoid®) y Agar Urea (Oxoid®). Se identifican cepas positivas a *Salmonella* TSI (K/A, H₂S+), LIA (K/NC) y Urea (-) (Figura 2).

4.4.4. Confirmación serológica

Las cepas sospechosas identificadas positivas a *Salmonella* sp. con las pruebas bioquímicas se confirman con la utilización de la prueba rápida en placa con Antisuero omnivalente (Seiken®). Se tomó como confirmación definitiva la formación de aglutinación en placa.

4.5. Identificación de los serotipos de *Salmonella* sp. presentes en la planta procesadora

Una vez realizado el aislamiento respectivo a cada muestra recolectada e identificada positiva, se realizó una serotipificación. Esta tipificación se llevó a cabo según la metodología SALMATcor (Duarte *et al.* 2010), basada en el esquema de Kauffman-White, para identificar y clasificar el serotipo de *Salmonella* sp. presente en cada muestra.

Las muestras se tipificaron en el Laboratorio de Bacteriología del Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA).

4.6. Estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

Todas las cepas de *Salmonella* sp. aisladas fueron sometidas a un estudio de sensibilidad a antimicrobianos. Utilizando el método Kirby-Bauer (difusión en disco) siguiendo las especificaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (2012) y el procedimiento indicado por Rodríguez *et al.* (2005).

Las cepas se procesaron en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

4.6.1. Antimicrobianos utilizados

Los antibióticos evaluados fueron ampicilina (AMP, 10 µg), ceftriaxona (CRO, 30 µg), ciprofloxacina (CIP, 5 µg), cloranfenicol (C, 30 µg), gentamicina (CN, 10 µg) y trimetoprim sulfamatoxazol (SXT, 25 µg). La selección de los antimicrobianos fue basada en la frecuencia de uso de estos medicamentos en el tratamiento de salmonelosis humana, como representantes de las familias de los betalactámicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, fenicoles, aminoglicósidos y la combinación de diaminopirimidinas-sulfamidas, respectivamente.

4.6.2. Medio de cultivo

Como medio de cultivo se utilizó agar de Mueller-Hinton (Acumedia®) en placa de 4 mm de espesor. Los medios se inocularon con una suspensión de la bacteria (0,5 nefelómetro de McFarland) y se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

4.6.3. Lectura de antibiogramas

Al pasar 24 horas de incubación se midió el halo de inhibición y se clasificó dependiendo del resultado como susceptible (S), susceptibilidad intermedia (I) o resistente (R), siguiendo las especificaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (2012) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diámetro de halo de inhibición (mm) e interpretación de antibiograma. Modificado de Clinical and Laboratory Standards Institute (2012).

Agente Antimicrobiano	Contenido de disco (μg)	Halo de Inhibición (mm)		
		S	I	R
Ampicilina	10,0	≥ 17	14-16	≤ 13
Ceftriaxona	30,0	≥ 23	20-22	≤ 19
Ciprofloxacina	5,00	≥ 21	16-20	≤ 15
Cloranfenicol	30,0	≥ 18	13-17	≤ 12
Gentamicina	10,0	≥ 15	13-14	≤ 12
Trimetoprim-sulfamatoxazol	25,0	≥ 16	11-15	≤ 10

S= sensible, I=sensibilidad intermedia, R=resistente.

4.7. Determinación de puntos del procesamiento que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* sp.

Con los resultados del análisis cualitativo y cuantitativo de *Salmonella* sp. por punto de muestreo, se analizó la dinámica que sigue en conjunto la línea de procesamiento. La determinación de los procesos individuales que generan riesgo de contaminación a las canales de pollo, se hizo con base en el porcentaje de muestras halladas positivas y recuento de unidades formadoras de colonia.

Al identificar los puntos durante el procesamiento que presentan una mayor contaminación con *Salmonella* sp., se procedió a diagnosticar las causas por las cuales dichos puntos presentan esta particularidad. El diagnóstico se hizo para determinar los aspectos que generan mayor riesgo en el proceso individual, tomando en cuenta las características propias del mecanismo evaluado y el ambiente donde se encuentra. Se hizo uso del criterio técnico y la investigación literaria, además de la colaboración del grupo asesor y su experiencia.

4.8. Estimación del riesgo de enfermedad

Para estimar el riesgo de enfermedad por ración de carne consumida, con respecto a la presencia estimada de canales de pollo contaminados con *Salmonella* sp. y despachados al comercio, se hizo uso del modelo de Evaluación de Riesgos de *Salmonella* en Huevos y Pollo para Asar (FAO/WHO 2002). Dicho modelo presenta una serie de supuestos que se usaron para la determinación numérica del riesgo, y que se mencionan a continuación.

Para empezar, la caracterización del riesgo estima la probabilidad de enfermedad humana en un año provocada por la ingestión del agente patógeno presente en canales de pollo enteros frescos con piel que se cocinan en el hogar para su consumo inmediato.

El cálculo del riesgo se basa en la prevalencia de canales de pollo contaminados al final del proceso de elaboración en la planta. Para el presente estudio se usó el 20% de canales positivas a *Salmonella* sp. encontrado en el punto I (despacho). El cual se considera como el nivel de contaminación más representativo del riesgo de producir enfermedad.

El modelo tiene en cuenta la manipulación y las prácticas culinarias en el hogar, estableciendo una relación dosis-respuesta, al describir una correspondencia matemática entre la dosis ingerida de *Salmonella* sp. y la probabilidad de enfermedad humana.

Desde el punto final del proceso y hasta el consumo, el modelo toma en cuenta los cambios en el tamaño de la población de *Salmonella* sp. en la canal contaminada. La proliferación de *Salmonella* sp. se previó utilizando datos aleatorios respecto del tiempo de almacenamiento en puntos de venta al por

menor, el tiempo de transporte, el tiempo de almacenamiento en el hogar y las temperaturas a las que estaba expuesta la canal durante cada uno de esos períodos. La muerte de *Salmonella* sp. durante el proceso de cocción se previó utilizando datos aleatorios que describían la probabilidad de que una canal estuviera insuficientemente cocida, la proporción de organismos adheridos a partes de la canal protegidas del calor, la temperatura de exposición de las bacterias protegidas y el tiempo durante el cual se produce esa exposición.

El número de organismos de *Salmonella* sp. consumidos se obtuvo utilizando un elemento aleatorio en el que se definía el peso de carne de pollo consumida por ración y el número de células de *Salmonella* sp. en la carne.

La probabilidad de enfermedad se obtuvo combinando el número de organismos ingeridos, con la información sobre la relación dosis-respuesta y se ajustó a datos obtenidos de brotes. Por lo que el modelo se basa en datos reales observados y, como tal, no está sometido a algunos de los defectos propios del uso de datos puramente experimentales.

La probabilidad de enfermedad representa el promedio del riesgo para todos los individuos de la población que consumen raciones de pollo que son almacenadas, transportadas y preparadas de la forma descrita en el modelo (Anexos 1-6). Para el análisis actual se utilizó el dato de tamaño de población costarricense al momento del estudio (4.301.712 personas) que proporciona Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC, 2011). Además según la Encuesta Nacional de Consumo de Alimentos que realiza el Ministerio de Salud (2001), el 71,8% de los hogares de Costa Rica consumen pollo frecuentemente.

Por último, se supone que el riesgo que plantea una exposición (ración) es estadísticamente independiente de cualquier otra exposición (ración), entonces el riesgo global de infección tras una serie de exposiciones (riesgo anual) se estima a partir del riesgo de infección por exposición (riesgo diario o por ración). La población costarricense es una gran consumidora de pollo. Pérez (2011) reporta un consumo per cápita de 22,4 kilogramos y Cardoza (2012)¹ estima que el consumo se realiza con una frecuencia semanal, con lo que se consumen aproximadamente 52 raciones en el año.

¹ Cardoza, W. Comunicación personal. Director Ejecutivo, Cámara Nacional de Avicultores (CANAVI), Costa Rica.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de las pruebas se analizaron realizando un estudio descriptivo, para esto se hizo uso del programa Excel del paquete Microsoft Office 2007. Para estimar la tasa de contaminación (TC) que presenta cada punto de muestreo, se utilizó la siguiente fórmula.

$$TC = \frac{\text{Numero de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

Los recuentos obtenidos del análisis cuantitativo fueron transformados en logaritmos para el análisis estadístico; se les realizó un estudio de medias presentadas en cada punto de muestreo para identificar los posibles valores extremos, además para determinar las diferencias entre las medias de los distintos puntos se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), y la prueba de rangos múltiples de Duncan. Dicho análisis se realizó usando el modelo lineal general del paquete estadístico Infostat 2012®. Se utilizó una probabilidad $\alpha < 0,05$.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para identificar los puntos de la línea de procesamiento que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* sp. en una planta procesadora de pollo se analizaron 90 canales provenientes de 9 puntos diferentes de muestreo, durante el periodo comprendido entre los meses de enero y mayo del año 2012.

6.1. Determinación de la presencia de *Salmonella* sp.

Un total de 23 canales resultaron positivas a *Salmonella* sp., lo que equivale a un 26% de las muestras analizadas durante la línea de proceso. Este dato es muy superior al 4% reportado por Arosemena (2000) e inferior al 31 y 50% reportado por Marin *et al.* (2011) y Boonmar *et al.* (1998), respectivamente. La tasa de contaminación obtenida por punto de muestreo se muestra en la Figura 4.

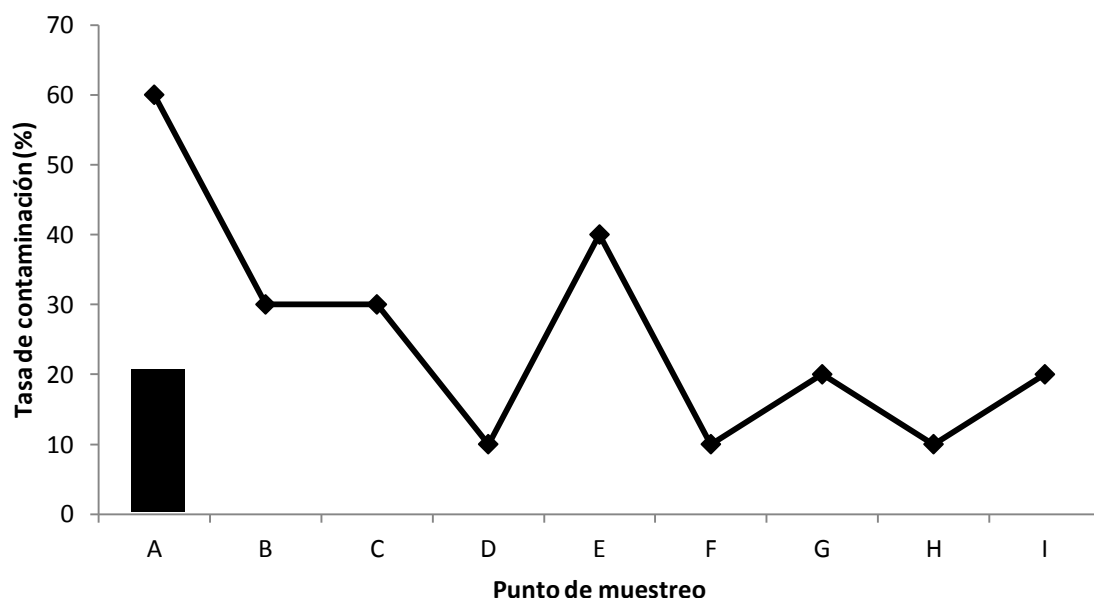


Figura 4. Tasa de contaminación por punto de muestreo en planta de proceso evaluada. La barra representa la tasa de contaminación registrada en jaulas de transporte de pollo.

El punto A presenta la mayor tasa de contaminación (60%). Este porcentaje es sensiblemente menor al reportado por Mellor *et al.* (2010) quienes obtienen una prevalencia relativa de 98,9% en canales pre-escaldado. Esta tasa representa un punto de referencia para estimar la presencia de *Salmonella* sp. en granjas de engorde. Debido a que en este sitio de muestreo no se ha iniciado propiamente el procesamiento de las aves y el riesgo de generar contaminación cruzada es muy bajo, ya que esta etapa tiene pocas implicaciones microbiológicas subsecuentes. Esto indica que las bacterias aisladas de estas muestras tienen su origen en las granjas y/o en el transporte hasta la planta de proceso.

Según Rasschaert *et al.* (2007), el sacrificio de parvadas positivas a *Salmonella* sp. conlleva una alta probabilidad de provocar contaminación a la línea de proceso. En este sentido Conner y Wakefield (2006) reportan un aumento que osciló entre 30-70% en la incidencia de *Salmonella* sp. en las canales de pollo procesadas después del sacrificio de aves positivas al patógeno. Esta última observación indica el peligro existente de la contaminación cruzada entre canales y equipo durante el procesamiento. Por esta razón Ponsa (2005), menciona la importancia de conocer mediante análisis microbiológicos periódicos el estado de las parvadas, con el fin de implementar acciones correctivas que minimicen el riesgo, como sacrificar los lotes contaminados hasta el final de la faena para evitar dicha contaminación.

Arsenault *et al.* (2007) reportan una prevalencia de *Salmonella* sp. en parvadas de pollo de engorde de 50%. Según Marin *et al.* (2011) en un estudio realizado en España, el 41,3% de las granjas de engorde evaluadas fueron positivas a *Salmonella* sp. y un 20% de las mismas granjas permanecieron positivas después de realizar un protocolo del lavado y desinfección de instalaciones. Estos resultados demuestran que los procedimientos de lavado y desinfección aplicados fueron incapaces de erradicar la bacteria en granja, lo que establece un factor de riesgo importante relacionado con la alta contaminación de las parvadas que se pudo observar en la presente diagnóstico y que aumenta las probabilidades de contaminación cruzada durante el procesamiento (Valera *et al.* 2000).

Un factor que al parecer incide en la alta tasa de aves contaminadas con el patógeno detectado al inicio del procesamiento (60%), es la etapa de transporte desde la granja hasta la planta. Según Marin y Lainez (2009), la prevalencia de

aves contaminadas antes y después del transporte muestra diferencia estadística significativa ($p < 0,05$). Estos autores reportan un aumento en la tasa de muestras positivas desde un 15,4% (antes del transporte) hasta un 41,2% al finalizar el mismo.

Bailey *et al.* (2001) informaron del aislamiento de *Salmonella* sp. en canales de pollo y en jaulas pre-transporte, pero no de las muestras tomadas de animales en las granjas de engorde. Esto indica la probabilidad de que las jaulas estaban contaminadas por una parvada anterior; sin embargo, Marin y Lainez (2009) indican que el aumento de la prevalencia puede deberse a factores estresantes que desencadenan la excreción de la bacteria, debido a que en su estudio encontraron que el 50% de las parvadas halladas negativas a nivel de granja, presentaron heces positivas al patógeno a su llegada a la planta de proceso.

En el presente estudio se midió la presencia de *Salmonella* sp. en jaulas de transporte de aves vivas, encontrando un 20% de jaulas positivas al patógeno al finalizar el proceso de lavado (Figura 4). Estas mismas son inmediatamente cargadas y enviadas a la siguiente granja para la recolección del pollo, lo que señala un alto riesgo de generar contaminación horizontal durante el transporte. Esta tasa de jaulas contaminadas es mayor al 11% reportado por Rasschaert *et al.* (2007), e intermedia al rango de 13-87% reportado por Olsen *et al.* (2003).

La presencia de la bacteria en jaulas de transporte post limpieza indica un proceso de lavado inadecuado e insuficiente que puede crear y mantener un ciclo de contaminación por *Salmonella* sp. durante el transporte y proceso. Corry *et al.* (2002) mencionan que un procedimiento de lavado inadecuado puede acarrear el riesgo de aumentar la contaminación, debido a que en su estudio encontraron mayor cantidad de jaulas contaminadas post lavado, que las encontradas positivas a la descarga del pollo. Dichos autores concluyen que existe un riesgo de contaminación con otros serotipos de *Salmonella*.

Según Rigby *et al.* (1980) y Bailey *et al.* (2001), el uso de jaulas contaminadas se traduce directamente en la transmisión de la bacteria a las aves justo antes ingresar al ciclo de procesamiento. Estos autores informan el aumento en la incidencia de *Salmonella* sp. en los animales de 3,8 y 42,0% pretransporte, a 8,1 y 93,0%, respectivamente, tras el transporte en jaulas de plástico contaminadas. Por su parte, Conner y Wakefield (2006) reportan que la incidencia

del patógeno osciló entre 10-20% en muestras de pollos que se transportaron en jaulas esterilizadas, en contraste, la incidencia osciló entre 70-100% en muestras de pollos que se transportan en las jaulas contaminadas.

Por lo tanto, un proceso adecuado de desinfección de las jaulas podrá disminuir la carga bacteriana de los pollos que entran en la planta de procesamiento. Sin control, este punto puede aumentar la posibilidad de contaminación cruzada de las aves y posteriormente las canales.

Siguiendo el flujo de proceso propio de la planta (puntos B, C y D), se pudo observar una disminución paulatina de la tasa de contaminación, hasta alcanzar un punto mínimo obtenido en el estudio (10%). Esta dinámica señala un procedimiento apropiado en los procesos de escaldado, desplume y descloaque, que minimizan el riesgo de contaminación. Nde *et al.* (2007) reportan una dirección contraria, ya que encontraron un aumento significativo ($p < 0,05$) en la prevalencia de *Salmonella* sp., pasando de una 47% (pre-desplume) a 63% (post-desplume), con lo que se señala la etapa de desplume como punto de alto riesgo. Lo anterior es compartido por Goksoy *et al.* (2004), quienes realizan un estudio en dos plantas de proceso y evaluaron seis etapas de la línea; encontrando que las tasas de contaminación con *Salmonella* sp. aumentaron de 33,3% (después del escaldado) hasta un 60 y 40% al finalizar el desplume.

Continuando con el análisis de la planta evaluada, se pudo observar que al llegar al punto E se genera un aumento importante en la tasa de contaminación hasta alcanzar un 40%. Destaca de este modo, el proceso unitario de eviscerado como punto de alto riesgo de contaminación con *Salmonella* sp. Este resultado concuerda con el obtenido por Arosemena (2000) que observó un aumento significativo ($p < 0,05$) en el porcentaje de muestras positivas al terminar el proceso de eviscerado, pasando de un 3% antes del sacrificio hasta un 9% post-eviscerado, lo que puede deberse a la contaminación cruzada durante esta etapa, ya sea por los operarios y/o por el equipo.

Este resultado sugiere que el eviscerado se realiza de una manera incorrecta, que permite el escape de la bacteria del tracto gastrointestinal colonizado. Durante este proceso las vísceras son extraídas de forma violenta, por lo que se producen incisiones en el paquete intestinal que transmiten la bacteria a la canal. Igualmente los operadores pueden transferir el patógeno al

resto de canales que manipulan, consecuentemente la tasa de contaminación se ve incrementada (Figura 4).

El impacto de este mal procedimiento provoca una contaminación de las otras canales y de la línea de procesamiento en sí. De acuerdo con Russell y Walker (1997) la evisceración inadecuada con ruptura intestinal puede aumentar significativamente la contaminación de la canal, debido a que las bacterias de los intestinos desgarrados pueden filtrarse en el interior y hasta el exterior de la canal.

La contaminación del equipo presenta un factor de riesgo en la generación de contaminación cruzada debido a que el proceso de limpieza y desinfección que se realiza al finalizar las actividades de sacrificio no siempre elimina el patógeno del mecanismo y entorno de procesamiento. Un estudio realizado por Rasschaert *et al.* (2007), mostró que el equipo permanece contaminado aun al iniciar el siguiente ciclo de proceso. De acuerdo a Olsen *et al.* (2003) y Wakefield y Conner (1997), algunas cepas de *Salmonella* pueden sobrevivir hasta 5 días en el medio ambiente a pesar de la limpieza y desinfección diaria.

En los siguientes etapas del proceso (puntos F, G, H e I), se logró disminuir nuevamente la tasa contaminación debido al proceso de lavado de las canales y su posterior tratamiento en pre-chiller y chiller. En este punto, según Arosemena (2000) y Nortcutt *et al.* (2006), existe un estricto control mediante la regulación del flujo de agua y de los niveles de cloro que eliminan y evitan la multiplicación bacterial.

Los últimos puntos del procesamiento lograron la disminución de la tasa de contaminación nuevamente, sin embargo, se pueden observar variaciones entre puntos (disminución-aumento), hasta alcanzar un 20% de contaminación con *Salmonella* sp. en canales de pollo que concluyen de manera definitiva el proceso y son despachados al comercio (punto I). Esta tasa de contaminación es la más representativa del riesgo de provocar enfermedad a los consumidores al ingerir carne de pollo contaminada.

El aumento en la tasa de contaminación que se observa entre el punto H e I, puede deberse al tiempo de espera (60 minutos máximo) y manipulación que sufren las canales desde que salen del chiller y son colgadas nuevamente en la línea de proceso hasta el empaque y almacén en cuarto frío. Durante este período las canales pasan por toda el área de porcionado hasta ser clasificadas y descolgadas, donde tienen contacto directo con otras canales y el equipo de la

sala de cortes. Voidarou *et al.* (2007) y Chaves *et al.* (2011) afirman que durante esta etapa las canales pueden presentar una mayor incidencia de *Salmonella* sp. debido a que las bacterias de las canales contaminadas pueden adherirse a las superficies húmedas del equipo y formar biopelículas que proporcionan una fuente de contaminación cruzada a las canales posteriormente procesadas.

Lo anterior se ve reflejado en los resultados reportados por MAG *et al.* (2011), ya que productos que conllevan mayor manipulación como carne deshuesada mecánicamente (CDM) y muslos presentaron una mayor positividad para *Salmonella* sp. (30,6 y 18,6%, respectivamente), en comparación con la presentada en canales enteras (10%).

La prevalencia determinada en el presente estudio (10%), utilizando el punto de muestreo normativo (H, post-chiller) según el Reglamento Sanitario y de Inspección Veterinaria de Mataderos y plantas procesadoras de aves (SENASA 2011), es la misma a la reportada por MAG *et al.* (2011), como prevalencia nacional para pollo limpio; superior a la reportada por Bailey *et al.* (2001) e inferior a la reportada por Berrang *et al.* (2009), Valcheva *et al.* (2011), Goksoy *et al.* (2004) y Mellor *et al.* (2010), quienes obtuvieron 6, 20, 26, 33 y 38%, respectivamente.

Si bien es cierto, la tasa de contaminación encontrada post-chiller en el presente estudio, no sobrepasa el parámetro máximo de prevalencia (23,5% - 12 positivos en un conjunto de 51 muestras) que establece SENASA para plantas de Costa Rica, y se considera aceptable; se debe tomar en cuenta que las actuales tendencias en inocuidad de alimentos establecen cambios en las regulaciones, haciéndolas más estrictas. Estados Unidos se encuentra en el proceso de cambio para establecer un máximo de 5 positivos en un conjunto de 51 muestras, lo que reduciría la tolerancia en la prevalencia hasta un 9,8%. Según Corry *et al.* (2002) se considera una prevalencia baja cuando esta es menor al 5%.

Oort (2011) indica que bajo esta nueva regulación, las plantas procesadoras se clasificarían en categorías en función del número de canales encontradas positivas a *Salmonella* sp. y el nombre de las que sobrepasen el parámetro (5 de 51) será publicado en línea, afectando de esta manera la percepción y confianza del consumidor. Por lo que desde ahora se debe operar

con cautela y controlar estrictamente la presencia del patógeno durante el procesamiento.

6.2. Recuento bacteriológico

En el cuadro 3 y figura 5 se presenta el recuento total de bacterias viables aisladas en el medio selectivo para *Salmonella* sp. XLT4. Estos muestran la elevada contaminación bacteriana con la que llegan los pollos a la planta de procesamiento; específicamente en el punto A, se cuantifica 7,8 log₁₀ UFC/canal. Goksoy *et al.* (2004) mencionan que de manera general algunas de estas bacterias podrían ser potencialmente patógenas para el ser humano.

Cuadro 3. Recuento total de bacterias viables y *Salmonella* sp. en medio XLT4 por punto de muestreo.

Etapa de proceso evaluada	Punto de muestreo	Recuento (Log ₁₀ UFC/canal)	
		Bacterias totales	<i>Salmonella</i> sp.
Desangrado	A	7,8 ^a	6,1
Escaldado	B	6,1 ^{cd}	3,6
Desplume	C	6,3 ^{bc}	3,9
Descloaque	D	7,0 ^b	3,6*
Eviscerado	E	6,5 ^b	3,9
Lavado	F	5,9 ^d	5,1
Pre-enfriamiento	G	4,4 ^e	3,6*
Enfriamiento	H	4,2 ^e	3,6*
Despacho	I	4,0 ^e	3,6*

^{abcde} Valores con superíndices no comunes difieren a p<0,05. * No se recuperaron bacterias, se asume límite de detección de la prueba utilizada (4000 UFC/canal).

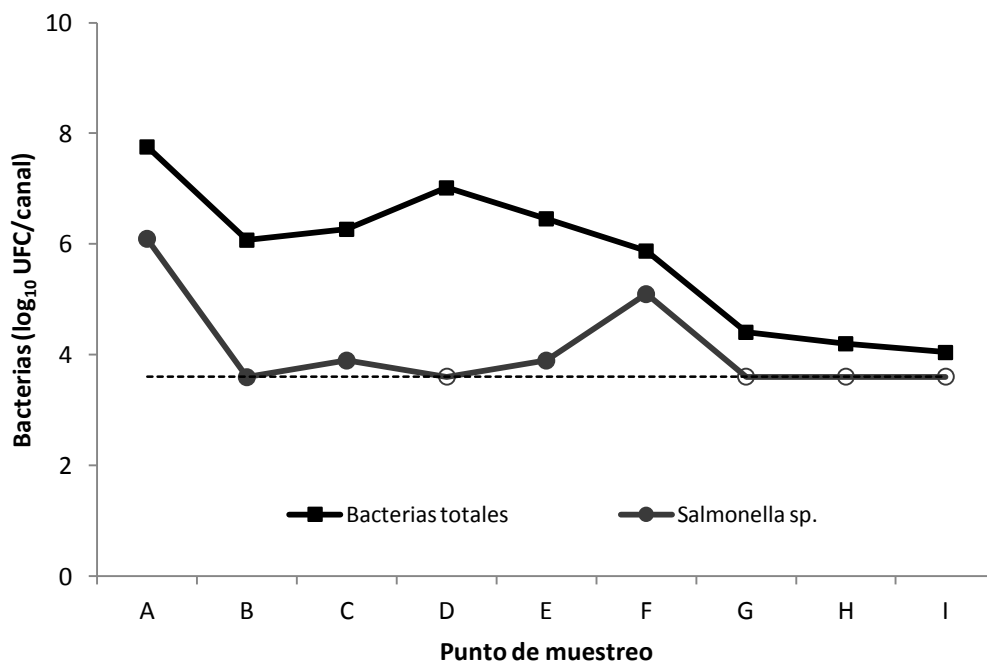


Figura 5. Recuento total de bacterias viables y *Salmonella* sp. en medio XLT4. Puntos sin relleno representan sitios donde no se recuperaron bacterias (línea punteada representa el límite de detección de la prueba utilizada).

Al finalizar la etapa del escaldado la carga bacteriana disminuye significativamente ($p < 0,05$), alcanzando $6,1 \log_{10}$ UFC/canal, lo que concuerda con lo indicado por Allen *et al.* (2003), quienes señalan que las canales después del escaldado presentan un número significativamente diferente de bacterias al compararlo con el número obtenido de muestras tomadas al ingreso del procesamiento. Guerin *et al.* (2010), atribuyen esta reducción al efecto de la temperatura del agua sobre las bacterias.

En los dos siguientes procesos unitarios (desplumado y descloaque), el recuento bacteriano tiende a aumentar, hasta alcanzar $7,0 \log_{10}$ UFC/canal en el punto D (descloaque), luego de este punto la cantidad de bacterias presenta la tendencia a disminuir de manera gradual hasta obtener recuentos de $4,0 \log_{10}$ UFC/canal en el punto I (despacho).

Allen *et al.* (2003) también observaron un aumento en la carga bacteriana al finalizar la etapa de desplume. Esta diferencia en los recuentos fue atribuida a la dispersión bacteriana y consecuente contaminación cruzada generada por la dirección, velocidad y tiempo que ejercen los dedos de goma desplumadores. Cason *et al.* (2004), reportan que si bien es cierto las plumas presentan una alta

carga bacteriana, la etapa del desplumado y el tiempo de duración presenta una muy pequeña contribución a la contaminación cruzada de la canal, debido a que en su estudio los recuentos de bacterias no se vieron afectados significativamente.

El comportamiento esperado en una línea de proceso en una planta que realiza procedimientos adecuados es el presentado por Goksoy *et al.* (2004) en la figura 6. Según Mellor *et al.* (2010) y Nde *et al.* (2007) se espera un comportamiento durante el procesamiento que reduzca de forma constante la presencia de bacterias en las canales, por lo tanto, un adecuado procesamiento de las aves, presenta mayores recuentos de bacterias viables durante las primeras etapas del procesamiento y un menor recuento al finalizar el proceso, estableciendo así un comportamiento decreciente en todo momento.

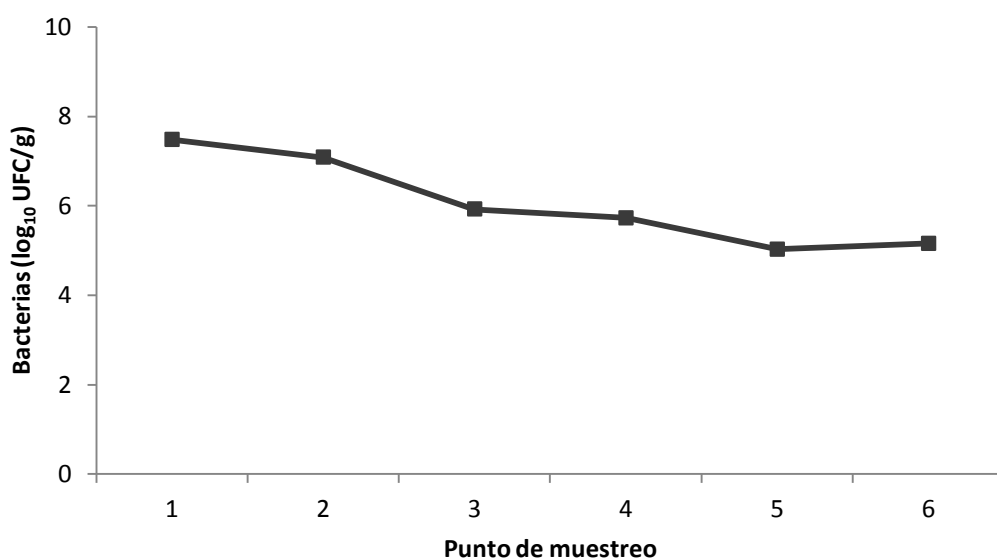


Figura 6. Recuento total de bacterias viables en Agar de recuento en placa (PCA). Modificado de Goksoy *et al.* 2004.

Los resultados del presente estudio muestran que existe una situación de no conformidad a un comportamiento no deseado en la planta de proceso analizada, en cuanto a recuento total de bacterias viables se refiere, señalando una anomalía en los puntos C y D, que al parecer funcionan como puntos de riesgo para la contaminación de bacterias en general. Sin embargo, el objetivo principal del flujo de descontaminación se logra satisfactoriamente, disminuyendo

gradualmente la carga bacteriana, alcanzando una diferencia significativa ($p < 0,05$) en los recuentos al inicio (punto A) y final del proceso (punto I).

En el cuadro 3 y figura 5 se presenta también el recuento total de *Salmonella* sp. viable aislada en medio XLT4. Ésta, al igual que el recuento total de bacterias viables, muestra la elevada contaminación con *Salmonella* sp. con que ingresan los pollos a la planta de procesamiento, nuevamente, en el punto A se cuantifica la mayor cantidad de *Salmonella* sp. ($6,1 \log_{10}$ UFC/canal).

A partir del escaldado (punto B) la cantidad de *Salmonella* sp. disminuye de forma importante, lo que concuerda con el comportamiento observado en el recuento total de bacterias viables antes discutido. Además, se observa coincidencia en la tendencia al aumento tras el desplume (punto C). Sin embargo, en esta ocasión no se logra disminución posterior, por el contrario se cuantifica $5,1 \log_{10}$ UFC/canal en el punto F (lavado). De acuerdo con Murmann *et al.* (2008) el recuento de más de 3 Log UFC del patógeno han sido detectados en la mayoría de los alimentos implicados en brotes de salmonelosis, por lo que obtener conteos superiores manifiesta un aumento en la probabilidad de causar enfermedad e impacto en la salud pública.

La elevada cuantificación de *Salmonella* sp. al finalizar el lavado podría explicarse a la luz del concepto de fijación bacteriana, mencionado por Jiménez *et al.* (2002) y Smith *et al.* (2007b). Las bacterias expuestas tras un mal proceso de eviscerado que involucre ruptura del tracto gastrointestinal están débilmente unidas a la canal, debido a que la fijación bacteriana es un proceso dependiente del tiempo y el flujo de proceso es relativamente veloz. Bajo este escenario la carga microbiana recién exhibida podría ser esparcida a otras regiones de la canal durante el lavado y/o diseminarse a otros canales adyacentes por medio del agua. Según Guerin *et al.* (2010), durante esta etapa aumenta la posibilidad de que el agua del lavado lleve las bacterias hasta los pliegues y grietas de la piel y se mantengan atrapadas.

En los siguientes puntos (G, H e I) no se obtuvo la cuantificación debido posiblemente a una disminución de la cantidad de bacterias en la canal después de sufrir los tratamientos de desinfección en el pre-chiller y chiller. Estos tratamientos pueden lograr el decrecimiento bacteriano por debajo del límite de detección que presenta la prueba desarrollada para la cuantificación (4000 UFC/canal) y/o deterioro de las bacterias en un grado que sin la ventaja de un

proceso de enriquecimiento no selectivo y selectivo puedan replicarse y crecer en placa.

Los resultados del presente estudio muestran que la no cuantificación en placa, no implica la ausencia del patógeno, sino señala una baja carga bacteriana imposible de cuantificar por el método usado y/o la necesidad de un tratamiento que ayude a las bacterias que han sufrido daños subletales. Según Chaves *et al.* (2011) existe una interacción significativa ($p < 0,05$) entre los factores de estrés que causan deterioro a las bacterias y la reducción en el número de UFC en la superficie de la canal. Por ejemplo, Northcutt *et al.* (2006) mencionan que el enfriamiento adecuado por inmersión (chiller), reduce la carga hasta en tres unidades logarítmicas.

Al comparar los resultados de ambos recuentos bacteriales (bacterias totales y *Salmonella* sp. viables (figura 6), se hace evidente la diferencia en la dinámica. Los recuentos de bacterias totales tienden al decrecimiento paulatino indicando que el flujo de procesamiento y medidas higiénicas realizadas en la planta son efectivas en la disminución de carga bacteriana en general. Sin embargo, no se puede afirmar lo mismo cuando se analiza en detalle la carga de *Salmonella* sp., en las canales de pollo, debido a que sus recuentos no presentan una tendencia a la disminución progresiva, señalando el proceso de lavado como punto de alto riesgo de contaminación y un flujo de proceso no efectivo para esta bacteria en específico.

La dispersión bacteriana convierte al lavado en un proceso insuficiente para eliminar completamente la contaminación de las canales, por lo tanto, éstas ingresan al pre-chiller con una alta carga microbiológica que va a contaminar el agua donde se enfriarán las canales posteriormente procesadas. Esto evidencia la necesidad de una sincronización y manejo adecuado en todos los procesos de la planta, ya que como sugieren los resultados del presente estudio, un error durante el eviscerado puede ser acarreado hasta el proceso mismo del despacho, poniendo en riesgo la calidad e inocuidad del producto final y la salud del consumidor.

El protocolo experimental aplicado en el presente estudio para cuantificar *Salmonella* sp. alcanzó 21,7% de efectividad. Esto quiere decir que un 78,3% de las muestras encontradas positivas al patógeno aplicando el protocolo estándar para la determinación de presencia/ausencia de *Salmonella* sp. (USDA/FSIS

2011) no se logró cuantificar. En contraste Brichta-Harhay *et al.* (2008) evaluaron dos métodos de enumeración directa en placa: recuento en placa espiral (SPCM) y filtración con membrana hidrofóbica (HGFM); y reportaron una efectividad de 47,7 y 38,3%, respectivamente. Por su parte, Borowsky *et al.* (2007), Ristori *et al.* (2008) y Hue *et al.* (2011) reportan un 71, 8 y 33%, respectivamente de efectividad para el recuento de *Salmonella* sp. usando la metodología NMP, mientras que Abdunaser *et al.* (2009) indica 100% de efectividad, en muestras inoculadas y contaminadas naturalmente con un protocolo que combina NMP y PCR a tiempo real. Esta última metodología presenta una repetibilidad aceptable con un coeficiente de variación de menos de 20%.

Según Brichta-Harhay *et al.* (2008) al evaluar la efectividad de los protocolos de enumeración de *Salmonella* sp. no solo se debe tomar en cuenta la sensibilidad y repetibilidad de los resultados, sino también la rapidez en la obtención de los mismos. En este sentido, existe una considerable diferencia entre métodos de cuantificación que requieren enriquecimiento (ej. NMP) y métodos directos de numeración en placa (ej. SPCM y HGFM), obteniendo resultados con mayor prontitud en los últimos. En contraste, la PCR a tiempo real presenta la mayor rapidez, permitiendo la obtención de resultados en máximo 18 horas.

Pese a los porcentajes de efectividad bajos y medios que se han reportado en las evaluaciones de varias metodologías desarrolladas para la cuantificación de *Salmonella* sp., este objetivo sigue siendo importante en la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos. Cox (2011) menciona que todo esfuerzo en cualquier etapa de producción o transformación que reduzca el número de células de *Salmonella* sp. en un producto, reduce el riesgo de enfermedad, lo cual justifica el prestar mucha más atención y dirigir la investigación a este aspecto.

6.3. Serotipificación de los aislamientos de *Salmonella* sp.

De las canales de pollo encontradas positivas con *Salmonella* sp. se identificaron cinco serovariedades. Según Back (2012), en un sistema de procesamiento avícola, se espera el aislamiento de máximo diez serotipos, Berrang *et al.* (2009), Chiu *et al.* (2010), MAG *et al.* (2011) y Valcheva *et al.* (2011) reportan 33, 13, 8 y 15 serotipos, respectivamente.

En el presente estudio se identificaron *S. Paratyphi B* (76%), *S. Kentucky* (8%), *S. Saintpaul* (8%) y cepas no tipificables² (8%) (Figura 7). Comparativamente en Costa Rica, MAG *et al.* (2011) encontraron *S. Paratyphi B* (Java, 38,3%), *S. Kentucky* (23,1%), *S. Oranienburg* (17,9%) y *S. Agona* (10,3%), como las serovariedades con mayor frecuencia de aislamiento. Por lo que se encuentra correspondencia en ambos estudios realizados en el país, señalando la predominancia de *S. Paratyphi B* y *S. Kentucky*.

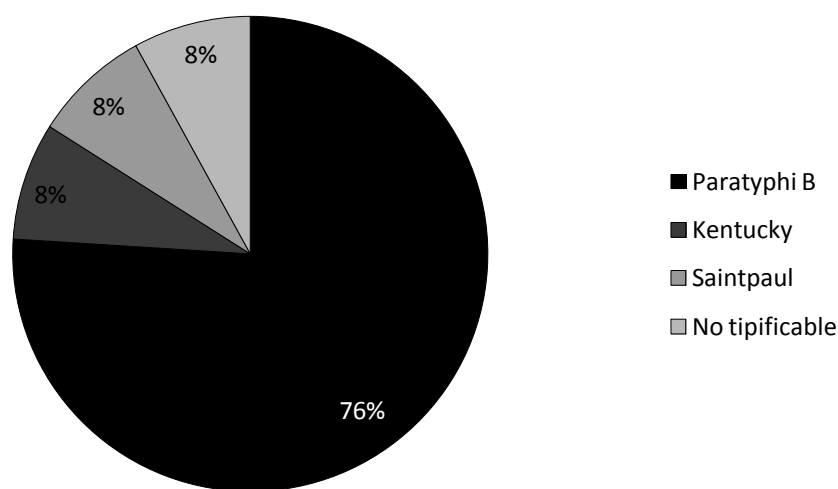


Figura 7. Serovariedades de *Salmonella* sp. aisladas de canales de pollo.

En muchos países se han encontrado una amplia gama de serotipos de *Salmonella* en canales de pollo. Valcheva *et al.* (2011) y Hue *et al.* (2011) encontraron que en Bulgaria y Francia los serotipos más comúnmente aislados

² Formula antigénica: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (I) 4:-1,2 y *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (II) 1,4,(5),12,(27):b:(e,n,x).

fueron *S. Montevideo* (25,6%), *S. Enteritidis* (20,9%), *S. Infantis* (20,9%); y *S. Indiana* (33,3%), *S. Kottbus* (13,9%) y *S. Derby* (11,1%).

Según Callaway *et al.* (2008) los recientes hallazgos revelan que los serotipos de esta bacteria aislados durante el procesamiento comercial pueden variar dependiendo de la ubicación geográfica y la planta de procesamiento. Los resultados reportados por Anderson *et al.* (2010) muestran la diferencia en serotipos en dos regiones geográficas diferentes de los Estados Unidos, obteniendo *S. Derby* (82,7%) y *S. Hadar* (7,4%) en una región, y *S. Typhimurium* (38,6%) y *S. Brandenburg* (18,9%) en otra región. Por el contrario, Boscán *et al.* (2005) reportan los mismos serotipos en dos plantas que procesan aves de dos integraciones avícolas independientes de Venezuela, encontrando *S. Paratyphi B*, *S. Heidelberg*, *S. Amager* y *S. Javiana* como las principales serovariedades en ambas plantas.

De forma general, los resultados muestran una diferencia entre los serotipos aislados antes y después de la evisceración en un mismo muestreo. Esto puede indicar diferentes fuentes de contaminación; encontrando al inicio del procesamiento cepas que se pueden considerar externas o ambientales y que son llevadas hasta la planta en las plumas, piel y patas de los pollos. En otro sentido, otras cepas diferentes son encontradas al finalizar el eviscerado, teniendo origen en el paquete intestinal colonizado; por ejemplo en el muestreo #2, se encontró *S. Paratyphi B* en los puntos A y B (cepas externas); mientras que en el punto E e I se aisló *S. Saintpaul* (cepas internas). Esta divergencia de serovariedades señala nuevamente que el proceso de eviscerado se está realizando de manera inapropiada, exponiendo nuevas cepas de la bacteria y creando un foco de re-contaminación. Esto concuerda con lo reportado por Olsen *et al.* (2003), quienes han demostrado que los serotipos de *Salmonella*, que se detectan en diferentes puntos durante el procesamiento de aves de corral, pueden recuperarse también de los productos finales.

Las cepas aisladas de las jaulas de transporte de pollo vivo pos-lavado, concuerdan con las encontradas en las primeras etapas del procesamiento, lo que podría indicar la generación de contaminación cruzada durante el transporte desde la granja hasta la planta de proceso. Se observa un predominio del serotipo *Paratyphi B*, como serovariedad externa o ambiental. Según Boscán *et al.* (2005), esta puede causar cuadros clínicos septicémicos y daños a órganos

internos; siendo asociada con una gran variedad de brotes y casos clínicos en humanos con diferentes grados de severidad, desde gastroenteritis hasta fiebre paratifoidea.

Otro serotipo aislado en la planta de proceso evaluada y que recientemente, ha encontrado un nicho ecológico en las aves de corral es *S. Kentucky*, que es un serotipo de *Salmonella* común en pollos vivos y procesados. Berrang *et al.* (2009) reportan que el 100% (20/20) de las plantas de procesamiento estudiadas en Estados Unidos presentan el serotipo. Roy *et al.* (2002) y Parveen *et al.* (2007) también reportan su frecuente aislamiento. Según estos investigadores, esta serovariedad no causa infección en las aves, pero si causa enfermedad a los seres humanos que procesan, preparan y consumen carne de pollo contaminada.

Johnson *et al.* (2010) encontraron que el 73% de las cepas de *S. Kentucky* poseen un plásmido específico (CoIV). La presencia casi idéntica del plásmido aislado que pertenece a un perfil único, sugiere una expansión clonal, que ha producido un tipo prominente de cepa en pollos de engorde. El hecho de que este fenómeno ha ocurrido en todo el mundo sugiere una fuente común de estas bacterias, como la planta de incubación de los reproductores que comercializa la línea genética.

El serotipo *S. Saintpaul* también se ha aislado con frecuencia. El Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC 2011) lo clasificó entre las diez principales serovariedades causantes de salmonelosis humana en Europa. Munnoch *et al.* 2009, Beutlich *et al.* (2010) y Mody *et al.* (2011), reportan brotes ocasionados por este serotipo asociado con el consumo de melón, chile jalapeño, alfalfa y pavos, respectivamente, estableciendo un alto grado de similitud entre cepas causantes de enfermedad. Según Foley *et al.* (2008) la mayoría de las muestras positivas se originaron a partir de carne de pavo. Este serotipo es menos patógeno para los pavos y muestra un mayor nivel de virulencia en huéspedes mamíferos, incluyendo seres humanos.

Tras el reporte de estas cepas como fuente de infección para el ser humano, los serotipos que sobresalen en las estadísticas de serovariedades aisladas de humanos y de pollos no presentan una relación entre ellos. Berrang *et al.* (2009) y Chen *et al.* (2010) encontraron en sus estudios que los serotipos con mayor frecuencia de aislamiento en plantas de proceso de pollo de Estados

Unidos y Taiwán, fueron *S. Kentucky* (39%), *S. Heidelberg* (13,2%) y *S. Typhimurium* (7,9%); y *S. Albany* (36,7%), *S. Schwarzengrund* (33,5%) y *S. Istanbul* (13,3%), respectivamente. Por otro lado, Chiu *et al.* (2004) reportan para estas dos mismas naciones, que los serotipos de *Salmonella* más repetidamente aislados de humanos enfermos son *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*; y *S. Typhimurium* y *S. Choleraesuis*, respectivamente.

Galanis *et al.* (2006) reportan para la región de Latinoamérica y el Caribe que los serotipos con mayor proporción de aislamientos de origen humano son *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, con 31 y 18% respectivamente. Lo que concuerda con el reporte de WHO (2010) para Costa Rica (30,1 y 17,2%, respectivamente). En este caso, tampoco se encuentra relación con los serotipos aislados de carnes frescas y subproductos de pollo, reportados por MAG *et al.* (2011) y los encontrados en el presente estudio (*S. Paratyphi* y *S. Kentucky*). Sin embargo, Chiu *et al.* (2010) reportan que *S. Albany*, *S. Anatum* y *S. Derby* se encuentran en común en aislamientos de humanos y pollos, pero con un menor impacto en la incidencia de infecciones humanas.

El conocimiento de estos serotipos es de gran importancia en salud pública, ya que marca la dirección de intervención para el control de la salmonelosis humana. Sin embargo, los datos obtenidos en este estudio y los encontrados por MAG *et al.* (2011) concuerdan en que los serotipos presentes en plantas de Costa Rica no reflejan una relación que justifique las estrategias de vigilancia y control implementadas actualmente en el país y en otros naciones del mundo, incluso las recomendadas por el Codex Alimentarius (2011) y Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2011), ya que esta divergencia en los serotipos señala que la mayor parte de las infecciones son producidas por otro alimento que no es la carne de pollo.

Además, Costa Rica no cuenta con una base de información epidemiológica completa de las infecciones alimentarias debido a que los centros de salud no siempre tienen la infraestructura y el personal necesario para diagnosticar la enfermedad, igualmente muchos casos no son registrados ya que numerosos pacientes no asisten a los centros de salud.

6.4. Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos.

En la figura 8 se presenta el análisis global de los perfiles de resistencia de las cepas aisladas, de las cuales el 100% de los aislamientos presentó sensibilidad a la ciprofloxacina (CIP) y gentamicina (CN). Para el resto de los antimicrobianos se presentó algún grado de resistencia (sensibilidad intermedia + resistencia): ampicilina (AMP) 8%, ceftriaxona (CRO) 4%, cloranfenicol (C) 8% y trimetoprim sulfamatoxazol (SXT) 92%.

En el estudio se encontró que el 100% de las cepas analizadas mostraron algún grado de resistencia (I + R) al menos a un antimicrobiano. Este resultado es análogo al reportado por Chen *et al.* (2010) y superior a los reportados por Cruchaga *et al.* (2001), Al-Bahry *et al.* (2007), Elgroud *et al.* (2009) y Bounar-Kechih *et al.* (2012), quienes encontraron 96, 24, 80 y 53%, respectivamente. Del total de cepas analizadas, 16% fueron multiresistentes (resistencia a dos o más agentes antimicrobianos). Este porcentaje es menor al 72,5 reportado por Parveen *et al.* (2007), mayor al 1,2% descrito por Al-Bahry *et al.* (2007) y 15% reportado por Bornert (2000) y Bounar-Kechih *et al.* (2012).

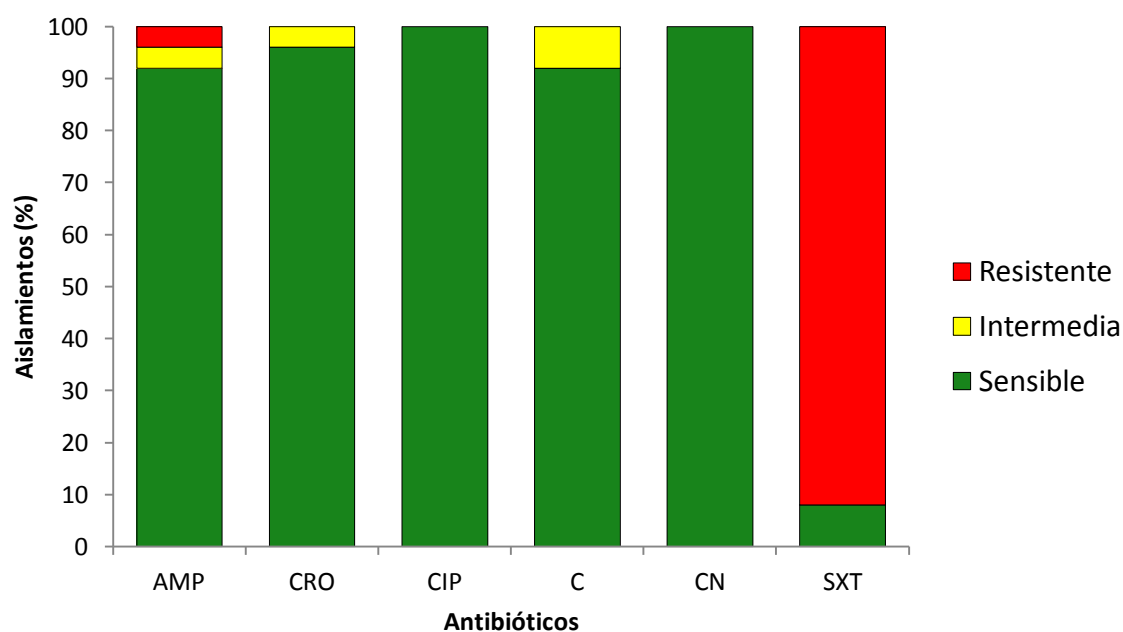


Figura 8. Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos de cepas de *Salmonella* sp. aisladas en planta de proceso de pollo. AMP=ampicilina, CRO=ceftriaxona, CIP=ciprofloxacina, C=cloranfenicol, CN=gentamicina, SXT=trimetoprim sulfamatoxazol.

El análisis de sensibilidad a los antibióticos realizado por MAG *et al.* (2011) reporta una tendencia a ser serovariedad dependiente. En el presente estudio no parece existir una asociación entre el fenotipo de resistencia a los antimicrobianos y un serotipo particular. Sin embargo, una excepción notable se observó ya que las cepas de *S. Kentucky* mostraron únicamente resistencia al SXT, para el resto de los antibióticos evaluados se presentó sensibilidad. Por contrario, Beutlich *et al.* (2010) reportan para este serotipo específico resistencia a AMP (82%), CN (78%), C (9%) y CIP (29%).

La resistencia a AMP encontrada en este estudio también es reportada por MAG *et al.* (2011), Temelli *et al.* (2012), Al-Bahry *et al.* (2007) y Molina *et al.* (2010) con 3, 11, 41 y 66,7%, respectivamente; por el contrario Ruiz *et al.* (2006) reportan 100% de sensibilidad. La resistencia de las cepas evaluadas indica la existencia de presión de selección en estas bacterias, pese al bajo uso de este medicamento en los sistemas de producción avícola, debido a la pobre biodisponibilidad que se logra en las aves (Sumano y Gutiérrez 2010).

Por su parte, la resistencia intermedia observada en CRO concuerda con los resultados de White *et al.* (2001), mientras que Berrang *et al.* (2009) reportan un 100% de sensibilidad a este antibiótico. La resistencia a este fármaco adquiere importancia clínica debido a que según White *et al.* (2001) y Weill *et al.* (2006) es el medicamento de elección para el tratamiento de la salmonelosis en los niños debido a sus propiedades farmacocinéticas favorables en este grupo etario.

En cuanto a los resultados de la susceptibilidad de las cepas de *Salmonella* sp. a la ciprofloxacina se encuentra similitud con los resultados reportados por Al-Bahry *et al.* (2007) con 100% de sensibilidad. Otros autores como MAG *et al.* (2011) y Temelli *et al.* (2012) si encontraron resistencia (13 y 17%, respectivamente) al antimicrobiano. La sensibilidad a este fármaco es muy buena, tomando en consideración que el grupo de las fluoroquinolonas al cual pertenece el CIP, es una de los más utilizados en el tratamiento de problemas infecciosos de las aves y otras especies domésticas.

En lo que se refiere a la resistencia intermedia observada al cloranfenicol, coincide con los resultados reportados por Seyfarth *et al.* (1997), Al-Bahry *et al.* (2007) y Cruchaga *et al.* (2001) con 8, 22 y 50%, respectivamente, pero difieren de los de MAG *et al.* (2011), en los cuales el 100% de los aislamientos fue

susceptible al cloranfenicol. La resistencia observada no es un resultado esperado, ya que este antimicrobiano y en general la familia de los Fenicoles no son utilizados en la terapéutica de las enfermedades en los pollos de engorde.

El hallazgo de la susceptibilidad total a CN coincide con los resultados de Ruiz *et al.* (2006) y MAG *et al.* (2011). Sin embargo, Cruchaga *et al.* (2001) y Temelli *et al.* (2012) si reportan resistencia (1,6 y 42%, respectivamente). Según Sumano y Gutiérrez (2010) el uso de CN en la avicultura es moderado, debido a que éste presenta gran incompatibilidad química con otros medicamentos por lo que se reserva solo para el tratamiento de parvadas con casos difíciles.

El estudio mostró resistencia a SXT, lo que concuerda con Temelli *et al.* (2012), MAG *et al.* (2011), Cruchaga *et al.* (2001) y Molina *et al.* (2010) con 9, 38, 49 y 100%, respectivamente; pero difieren de los de Ruiz *et al.* (2006) y Berrang *et al.* (2009), quienes obtienen 100% de sensibilidad. Debido a los resultados obtenidos este grupo farmacológico (diaminopirimidinas-sulfamidas) merece especial atención.

Pui *et al.* (2011) y Bounar-Kechih *et al.* (2012) mencionan que la alta tasa de resistencia que se registra a los antimicrobianos tradicionales de primera línea, como el trimetoprim-sulfametoxazol, podría explicarse por el uso elevado de estos fármacos con fines terapéuticos, profilácticos o como promotores del crecimiento en aves de corral en general. Por ejemplo, de acuerdo a Oliveira *et al.* (2006) la incidencia de cepas de *Salmonella* sp. resistentes a las quinolonas se incrementó sustancialmente en Brasil en los años siguientes a la concesión de licencias de fluoroquinolonas, como enrofloxacin para su uso en animales.

El tratamiento veterinario de elección contra la salmonellosis en aves son las sulfonamidas que suelen ser eficaces (Sumano y Gutiérrez 2010). El extenso uso de este antimicrobiano, podría explicar la alta resistencia (92%) al SXT que se observó en el estudio. Sin embargo, en nuestro país, este antibiótico no se utiliza frecuentemente en la terapéutica de las enfermedades infecciosas de los pollos de engorde, ni como promotor de crecimiento. Por lo que esta resistencia puede deberse al intercambio de elementos genéticos antimicrobianos entre animales no expuestos y antecesores que si fueron expuestos a las sulfas y/o la transferencia entre bacterias de origen humano. Según Terzolo (2011) algunos de los determinantes moleculares pueden ser seleccionados y reproducidos en las bacterias, ya sea en la misma especie bacteriana o en otras especies del

género (*Salmonella* con otras Enterobacterias). De acuerdo con Temelli *et al.* (2012), el uso del SXT como fármaco por períodos amplios, dosis inadecuadas y la extensa automedicación por el fácil acceso al antibiótico sin receta en la medicina humana, juega un papel importante en la resistencia debido a que estos genes se relacionan con elementos genéticos móviles, en este caso se genera resistencia por plásmidos.

Según Cardinale *et al.* (2004) y Le Bouquin *et al.* (2010) los seres humanos pueden ser vectores mecánicos indirectos para *Salmonella* sp., por lo que el riesgo de infección se incrementa al aumentar el número de visitantes que ingresan a la granja y tienen contacto con las aves. Además Soncini (2011) menciona la importancia del personal de la explotación, como un factor clave en un programa eficaz de control de la bacteria. El colaborador debe conocer y cumplir todas las normas de bioseguridad establecidas, por lo que tiene que obedecer todas las reglas de higiene en el baño, las manos, la ropa y el calzado.

No es fácil demostrar la relación del uso de antibióticos en animales y el incremento en resistencia o falla en tratamientos en humanos. Sin embargo, hay evidencias recientes de esta relación con el aumento en su uso. En este sentido, Chen *et al.* (2010) realizaron un estudio de sensibilidad a antimicrobianos a cepas de *S. Schwarzengrund* aisladas de carne de pollo y de humanos enfermos en Taiwán y reportaron elevada resistencia en AMP (84,2 y 87,5%), CN (66,2 y 67,5%), SXT (96,1 y 87,5%) y C (91,7 y 80%), encontrando una alta similitud entre ambos perfiles de resistencia (pollos y humanos, respectivamente).

En el caso específico de la CN, se menciona ha sido ampliamente utilizado como un promotor del crecimiento o como un agente profiláctico en la cría de animales en Taiwán durante las últimas 2 a 3 décadas. Sin embargo, también estos autores señalan que la transmisión de cepas de *S. Schwarzengrund* entre los seres humanos y la carne de pollo también puede ser una razón que explica este fenómeno.

Por otro lado, un estudio realizado por Glynn *et al.* (1998) reveló que el porcentaje de los aislamientos de *S. Typhimurium* que fueron resistentes a la ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclina, aumentó de un 0,6% durante el período 1979-1980 a 34% en 1996, que concuerda con el aumento del uso de estos fármacos en animales.

Sin embargo, y a diferencia de los trabajos anteriormente mencionados, otros investigadores no han encontrado una asociación entre el uso de antibióticos en medicina veterinaria y la aparición de salmonelas resistentes a estos antimicrobianos en el hombre. Así, Calvert *et al.* (1998) reportan que en Escocia, el porcentaje de cepas de *S. Typhimurium* resistentes a ciprofloxacina fue inferior en los aislados animales (1%) que en los aislados humanos (9%). Cormican *et al.* (1998) indican que en Irlanda, a pesar de que las fluoroquinolonas habían sido utilizadas en animales durante más de 10 años, no se encontró ninguna cepa de *Salmonella* sp. resistente a ciprofloxacina.

Según Camacho *et al.* (2010) las diferencias observadas entre los resultados reportados por diversos investigadores se debe a que la resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno variable en espacio y tiempo, y depende de manera importante del uso que se les dé a los fármacos. Gutiérrez y De la Fuente (2001) señalan que la relación causal entre el uso de antibióticos en medicina veterinaria y el aislamiento de bacterias resistentes en humanos no ha sido generalmente probada y, además, el uso de estos fármacos en animales es sólo uno de los muchos factores implicados en la resistencia a estos medicamentos.

6.5. Estimación del riesgo de enfermedad por ración de carne consumida

En los últimos años se ha desarrollado una política de inocuidad que establece cero tolerancia a la *Salmonella* sp. Este concepto suele ser engañoso, debido a que la cero tolerancia implica cero riesgos asociados con el alimento, o cero prevalencia del patógeno en el mismo. Esta noción tiene expectativas poco realistas ya que es muy difícil generar un producto libre de la bacteria, a partir de una materia prima que por su naturaleza ya la contiene (Ponsa 2005, Cox 2011).

Más que cero tolerancia, el propósito de una política de control de *Salmonella* sp. en plantas de proceso debe ser proporcionar una alerta que revele la necesidad de una revisión de manejos y procedimientos, con el fin de disminuir la contaminación (Cox 2011). El riesgo designa la probabilidad de que se produzca un incidente perjudicial para la salud de las personas y la magnitud probable de sus consecuencias biológicas y económicas (Michanie 2002). El

control de calidad e inocuidad de las plantas de proceso debe estimar la probabilidad de afectar la salud del consumidor, con anterioridad a su ocurrencia; tomando en cuenta que la probabilidad nunca será nula.

Haciendo uso de todos los supuestos establecidos por el modelo (evaluación de Riesgos de *Salmonella* en Huevos y Pollo para Asar, FAO/WHO 2002), y la incorporación de datos de la población costarricense y sus hábitos de consumo de carne de pollo, asumiendo además que la planta de proceso evaluada representa el 15% de producción nacional de pollo, se estiman o predicen 272 casos posibles de salmonelosis en un año, como consecuencia del consumo de pollo contaminado con *Salmonella* sp. proveniente de la misma planta (Cuadro 4).

Cuadro 4. Cálculo del número previsto de casos de enfermedad en un año en Costa Rica en función del tamaño de población y población expuesta al consumo de pollo contaminado con *Salmonella* sp. proveniente de la planta evaluada.

Riesgo anual probable	
Prevalencia de canales contaminadas (%)	20
Riesgo previsto por ración	$1,13 \times 10^{-5}$
Riesgo previsto por 100 mil raciones	1,13
Numero de raciones consumidas en un año	52
Riesgo anual previsto	$5,88 \times 10^{-4}$
Tasa de enfermedad por 100 mil habitantes	58,76
Casos de enfermedad prevista en Costa Rica	
Población de Costa Rica	4.301.712
Población que come pollo (%)	71,8
Población que come pollo	3.088.629
Producción de planta con respecto al mercado nacional (%)	15
Población expuesta a <i>Salmonella</i> sp.	463.294
Número de casos (año)	272
Número de casos (% de la población nacional)	0,006

Los datos resultantes de este análisis de riesgo de enfermedad pueden usarse para evaluar la eficacia de una medida correctiva o nuevas estrategias de intervención en el proceso de producción como parte de la gestión integral de inocuidad de las canales procesadas en la planta evaluada, debido a que como

se muestra en el cuadro 5, cualquier medida que reduzca la prevalencia de canales contaminadas con *Salmonella* sp. al finalizar el proceso muestra una relación directa con la reducción del riesgo de enfermedad.

Cuadro 5. Efecto del cambio en la prevalencia de canales contaminadas con *Salmonella* sp. al finalizar el procesamiento en la planta evaluada en el número previsto de casos de enfermedad en Costa Rica por consumo de pollo en un año.

Prevalencia al finalizar el proceso (%)	Riesgo por ración de carne consumida	Tasa de enfermedad/100 mil habitantes	Numero previsto de casos de enfermedad por año en C.R.
30	$1,80 \times 10^{-05}$	93,6	434
20	$1,13 \times 10^{-05}$	58,8	272
10	$5,63 \times 10^{-06}$	29,3	136
5	$2,81 \times 10^{-06}$	14,6	68

Según FAO/WHO (2002) esta relación es 1:1, en la que suponiendo que todos los demás factores permanecen constantes, un cambio porcentual de la prevalencia reduce el riesgo previsto en el mismo porcentaje. Además se estima que si se aplican estrategias de gestión que reduzcan el número de organismos de *Salmonella* sp. en las canales, se cree que la relación con el riesgo de enfermedad es mayor que una relación 1:1. Por lo que nuevamente se reitera la importancia de generar investigación en metodologías eficientes y económicamente viables para la cuantificación de *Salmonella* sp.

En la figura 9 se muestra el historial de prevalencia de *Salmonella* sp. que presenta la planta de proceso evaluada. En ésta se observa el comportamiento que ha sufrido la incidencia de canales encontradas positivas al finalizar el proceso (post chiller) por año, lo que indica la posibilidad real de mitigación de la bacteria. Al parecer el cambio en la prevalencia se debe a una serie de estrategias de intervención que se han aplicado en la planta, por lo que la disminución en la tasa de contaminación es posible, exponiendo como ejemplo la prevalencia (5,9%) alcanzada al cierre del año 2011, logrando una reducción a cerca de la mitad (47,8%) en comparación con la presentada el año anterior que cerró con una prevalencia de 11,3%. Sin embargo, también se puede observar el aumento que se sufre en el año de elaboración de esta investigación, alcanzando

16% hasta el mes de julio, lo que indica la necesidad actual de tomar medidas correctivas.

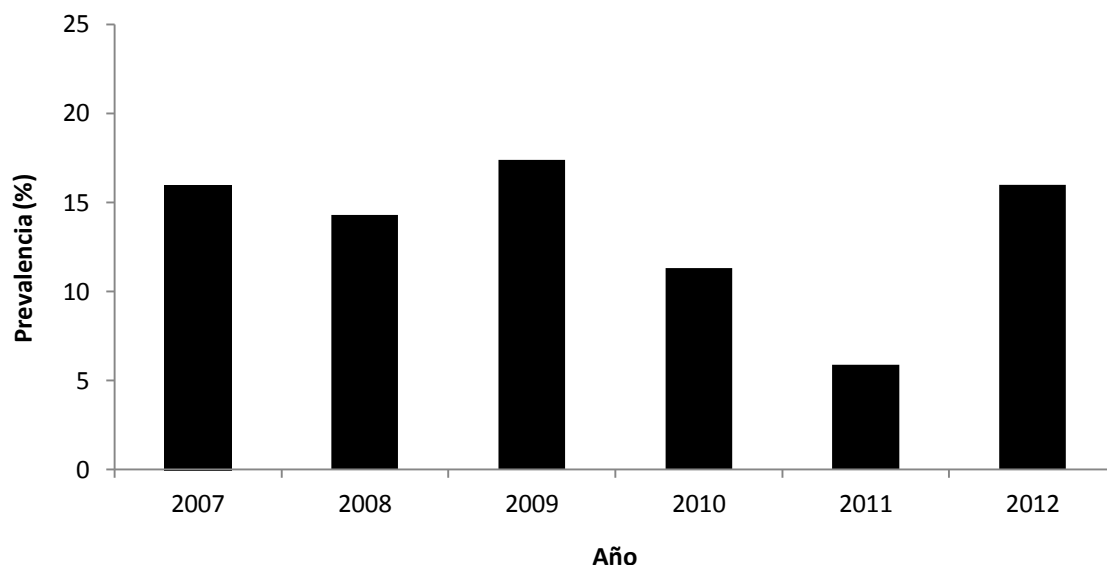


Figura 9. Historial de prevalencia de *Salmonella* sp. en planta de proceso evaluada durante el periodo 2007-2012 (julio).

En otro sentido, cuando se analiza el comportamiento de la prevalencia con respecto al mes del año (Figura 10), parece no seguir ninguna tendencia que indique estacionalidad en la aparición de *Salmonella* sp., lo que concuerda con Parveen *et al.* (2007). Por el contrario Logue *et al.* (2003), Khaitisa *et al.* (2007) y Cason (2012b), si reportan estacionalidad en el comportamiento de aparición de la bacteria en canales de pollo. Esta diferencia puede deberse a varios factores, incluyendo variaciones en la región y su clima, el tipo de pollo, los procedimientos de muestreo, los niveles de contaminación de las aves, la contaminación post-procesamiento, diferencias en el tamaño de la muestra y los métodos de detección de la bacteria.

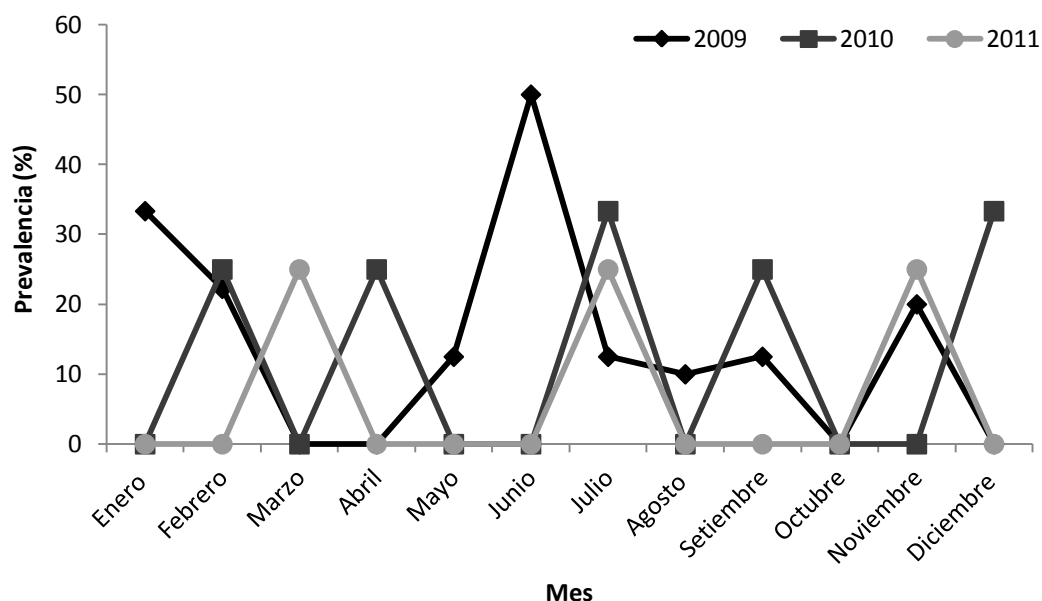


Figura 10. Prevalencia de *Salmonella* sp. por mes del año en planta de proceso evaluada durante el periodo 2009-2011.

Según Cason (2012b) y Pérez (2001) se ha observado un claro patrón de estacional con respecto a los casos de salmonelosis humana, en Estados Unidos y España, respectivamente, ya que se presenta un pico en el mes de julio, lo que indica un predominio de la incidencia de enfermedad en los meses cálidos del año. Sin embargo, Logue *et al.* (2003) y Cason (2012b) mencionan que no se presenta correspondencia con el patrón estacional que exhibe la prevalencia de *Salmonella* sp. en pollos en Estados Unidos, donde se presenta el pico en el mes de setiembre y los mínimos en abril o mayo.

Esta diferencia en el patrón estacional y la incompatibilidad en los serotipos aislados de humanos y pollos antes discutida, revela que el vínculo entre la enfermedad humana y la presencia de *Salmonella* sp. en carne de pollo no está claro aún. Por otro lado, cuando se analiza la relación que sigue la prevalencia de *Salmonella* sp. en canales de pollo y los casos de salmonelosis humana en varios países que han logrado minimizar la prevalencia en planta como resultado de la puesta en marcha de programas de control de la bacteria, que resultan exitosos, sin embargo, no presenta disminución en las tasas de enfermedad en sus poblaciones (Cuadro 6).

Cuadro 6. Prevalencia de *Salmonella* sp. en las canales de pollo y casos humanos de salmonelosis en algunos países para el año 2008. Modificado de Cason (2012a).

País	Prevalencia en canales de pollo (%)	Casos de salmonelosis /100 mil habitantes
Dinamarca	0,0	67,0
Finlandia	0,0	59,0
Suecia	0,2	45,6
Nueva Zelanda	0,2	31,9
Estados Unidos	7,3	16,2
Países bajos	9,5	15,5

7. CONCLUSIONES

La prevalencia de *Salmonella* sp. en planta es el resultado de todas las prácticas individuales que se realizan durante el proceso y además involucran el control de la bacteria en granja de engorde y transporte. La prevención de la contaminación por *Salmonella* sp. requiere un conocimiento detallado de los factores de riesgo más importantes asociados a su presencia en el sistema de producción.

El 60% de las parvadas muestreadas que ingresan a la planta de proceso se encuentran positivas a *Salmonella* sp. en este punto se cuantifica 6,1 log₁₀ UFC/canal. Las bacterias aisladas de estas muestras tienen su origen en el ambiente de las granjas y/o el transporte hasta la planta de proceso. Este nivel de infección se relaciona con la tasa de contaminación (20%) encontrada en las jaulas de transporte de aves muestreadas al finalizar el proceso de lavado.

El objetivo de disminuir la contaminación durante el procesamiento es eficaz, sin embargo, durante el eviscerado se genera un aumento en la tasa de contaminación pasando de 10 a 40%. Este procedimiento se realiza de manera incorrecta y permite el escape de la bacteria del tracto gastrointestinal colonizado, aumentando el riesgo de contaminación a las otras canales y a la línea de procesamiento. Las bacterias expuestas tras el mal eviscerado son esparcidas por medio del agua a otras regiones de la canal durante el lavado, por lo que se cuantifica una elevada cantidad (5,1 log₁₀ UFC/canal) de *Salmonella* sp. al finalizar esta etapa.

La cuantificación de los niveles de contaminación (UFC/canal) es importante para la evaluación del sistema de gestión de calidad e inocuidad durante el proceso, por lo que se deben desarrollar mejores metodologías de enumeración de *Salmonella* sp. que sean aceptables a nivel internacional. Este aspecto debe recibir mayor atención, ya que permite la identificación de los elementos más altamente contaminados, traduciendo el riesgo a parámetros medibles y comparables que puedan ser utilizados por la industria y evaluados por las instituciones fiscalizadoras como estrategias que tienen un impacto directo sobre la salud pública.

El análisis de los serotipos aislados durante la línea de proceso evidencia la diferencia en la fuente de contaminación; encontrando al inicio del procesamiento cepas que se pueden considerar externas o ambientales. Por otro lado, otras cepas diferentes son encontradas al finalizar el eviscerado, estableciendo su origen en el tracto gastrointestinal colonizado; esto señala que el proceso de eviscerado se está realizando de manera inapropiada, exponiendo nuevas cepas de la bacteria y creando una fuente de contaminación cruzada.

Las cepas aisladas en el estudio presentan un nivel adecuado de sensibilidad a los antimicrobianos en general, sin embargo, la alta resistencia que se observó al SXT puede deberse al intercambio de elementos genéticos antimicrobianos entre animales no expuestos y antecesoros que si fueron expuestos a este medicamento y/o la transferencia entre bacterias animal-hombre.

El 20% de canales muestreadas que concluyen de manera definitiva el proceso y son despachadas al comercio están contaminadas con *Salmonella* sp. Con este dato se estiman 272 casos posibles de salmonelosis en un año, como consecuencia del consumo de pollo contaminado procesado en la planta evaluada. Esta estimación demuestra el impacto que puede tener el manejo de las canales durante el procesamiento en la calidad microbiológica del producto final y su compromiso como potencial peligro a la salud humana.

8. RECOMENDACIONES

1. Incluir el proceso de recolección del pollo en la granja, las condiciones de transporte y el lavado de jaulas como puntos críticos de control.
2. Instalar un sistema de duchas y cepillos para limpiar las aves antes de ingresar al proceso de escaldado.
3. Optimizar el proceso de eviscerado, estableciendo un equilibrio entre el número de operadores y la velocidad de la línea de procesamiento.
4. Adicionar un ácido orgánico al agua durante el lavado de canales en el punto posterior a la evisceración.
5. Evaluar el protocolo de limpieza y desinfección de superficies en el área de corte y porcionado, para evitar la formación de biopelículas.
6. Implementar medidas de intervención en granjas de aves reproductoras y/o pollos de engorde que reduzcan la carga bacteriana en los animales vivos que ingresan a la planta.

A continuación se desarrollan de forma extensa y con apoyo de literatura las recomendaciones antes mencionadas, debido a que los resultados presentados y discutidos en secciones anteriores, señalan la importancia de vigilar todas las etapas del proceso e implementar algunos programas de prevención y control que puedan evitar la recontaminación o la contaminación cruzada durante el proceso.

Según Cox (2011) la evidencia reciente sugiere que en la actualidad no hay tratamientos de intervención que se pueden aplicar en todas las plantas de proceso, para asegurar la completa eliminación de *Salmonella* sp. en productos avícolas. FAO/WHO (2009) menciona que la presencia y nivel de la bacteria durante el proceso es específico de cada país, región o planta, ya que el nivel de infección variará en relación con los métodos utilizados en cada planta de

procesamiento, por lo que las recomendaciones realizadas están en función de las características propias que presenta la planta evaluada.

El diagnóstico de la planta muestra que la etapa de transporte y el uso de jaulas contaminadas, son factores que influyen en la alta prevalencia comprobada en los primeros puntos de muestreo. Se ha demostrado que el estrés que se le ocasiona a las aves durante la recolección y transporte aumenta la excreción de *Salmonella* sp. (Nógrády *et al.* 2008, Marin y Lainez 2009, Vosmerova *et al.* 2010). La captura y el manejo son causas de estrés para el pollo, por lo que deberán aplicarse procedimientos apropiados con el fin de reducir este problema. Es por ello que la operación de captura se debe planear con todo cuidado y con anticipación, supervisando en detalle todas las etapas. Es necesario realizar la manipulación de las aves con personal competente, bien capacitado y que respete las medidas de bioseguridad que se establecen en la explotación.

Además durante el transporte se debe proveer a cada ave espacio suficiente para descansar y levantarse sin restricción alguna y evitar la exposición a fluctuaciones excesivas de temperatura, humedad o presión de aire.

Se recomienda que el lavado de las jaulas de transporte de pollos vivos, en la planta de proceso se establezca como una importante medida de bioseguridad. Para que haya una buena higiene, se debe disponer de un buen equipo, darle el mantenimiento adecuado y verificar su correcto funcionamiento (Nunes 2012). En el presente estudio se pudo observar que las jaulas de transporte de pollo permanecen contaminadas con *Salmonella* sp. después de su lavado, esto puede facilitar la contaminación cruzada de las aves. El lavado de las superficies de la jaula no siempre elimina de forma eficaz las bacterias, y como consecuencia de esto la contaminación adquirida en el transporte tiene la oportunidad de permanecer con las canales durante el proceso.

La desinfección de las jaulas utilizadas en el transporte de aves entre las unidades de producción y procesamiento ha sido difícil de lograr, es probable que el tipo y tiempo de lavado, la elección del desinfectante y su aplicación, sea responsable total o parcialmente del fracaso en la eliminación los patógenos (Ramesh *et al.* 2002)

Ha habido informes en la literatura de aplicaciones de productos químicos y procedimientos diseñados para desinfectar las jaulas de transporte y disminuir el número de bacterias patógenas asociadas a ellas. Una de estas estrategias es

la utilización de desinfectantes químicos, según Ramesh *et al.* (2002), estos compuestos producen reducciones en las poblaciones de *Salmonella* sp. de hasta 7,2 Log₁₀ UFC. Productos comerciales que contienen hipoclorito de sodio y peróxido alcalino como ingredientes activos, fueron efectivos a una concentración de 0,05% (vol/vol) y 1% (peso/vol), respectivamente.

Por otro lado, según Berrang y Northcutt (2005b) el uso de un desinfectante químico no mejora el efecto antibacteriano y la eliminación de los agentes patógenos. Es posible que los procesos de lavado puedan hacerse más eficaces mediante el uso de mayores concentraciones de productos químicos, tratamientos de alta temperatura y presión o repetidas aplicaciones de aspersion de agua. En este sentido Ramesh *et al.* (2003) encontró resultados positivos al aplicar de forma repetida (5 veces) un protocolo de lavado con agua caliente a alta presión (70°C/6094 kPa). Sin embargo estos métodos requieren grandes cantidades de agua y no siempre son lo suficientemente eficaces como para justificar el uso indebido del agua y el gasto asociado.

Berrang y Northcutt (2005a) presentan una alternativa económica que consiste en el lavado con un chorro de agua a baja presión seguido de un secado por largo tiempo. Este protocolo resulta en la reducción significativa del número de bacterias debido a una combinación de extracción del material remanente que se logra con el agua y la producción de lesiones físicas por desecación que ocurre a los microorganismos. Según estos autores un período de 24 o 48 horas de secado puede ser un método viable para reducir el número de bacterias en estas superficies. El permitir que las jaulas se sequen completamente entre los usos podría ser parte de una estrategia comercial efectiva para limitar la exposición de las aves a jaulas contaminadas con el patógeno.

En resumen se recomienda que la planta de procesamiento considere el transporte de las aves a la planta de procesamiento y el lavado de jaulas como puntos críticos de control y deben ser evaluados de forma constante, para asegurar su buen procedimiento.

Por otro lado, se pudo observar durante el estudio, que las aves en sus jaulas durante el transporte y en el andén de espera excretan y vacían el tracto digestivo. Las heces de las aves en las jaulas superiores caen sobre las aves que se encuentran en las jaulas más abajo en la estiba, contaminando sus plumas y piel. Debido a esto, las aves ya contienen una alta carga orgánica al ser colgadas

en las cadenas de transporte aéreo y además durante el aturdimiento algunas defecan cuando se administra la descarga eléctrica.

Por lo anterior, al terminar el sangrado, las aves ingresan al escaldador con una gran carga bacteriana, aumentando la posibilidad de arrastrar de esta manera *Salmonella* por toda la línea de proceso. Para reducir este problema, se recomienda instalar duchas y cepillos para limpiar las aves antes de iniciar el proceso de escaldado (Figura 11). Los cepillos y el agua clorinada remueven físicamente las heces de las plumas y piel de las aves. Cervantes (2012) estima que esta técnica puede disminuir aproximadamente en un 90% la cantidad de materia fecal que entra en la escaldadora, cuando se utiliza agua a presión con 40 ppm de cloro.



Figura 11. Sistema de lavado y cepillado para eliminar heces previamente al escaldado. Cervantes 2012.

Este diagnóstico reveló además que el proceso de eviscerado presenta un mayor riesgo de generar contaminación cruzada, debido a la ruptura de las vísceras y con esto la propagación bacteriana. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de este procedimiento con respecto a la contaminación en la planta. Esta característica funciona como indicativo del comportamiento de los operadores, de su falta de precaución y control en un proceso absolutamente repetitivo. Se debe recordar que la evisceración manual conlleva un mayor

esfuerzo que debe hacer el personal para retirar los órganos adheridos a la pared abdominal sin provocar desgarro.

La ruptura del tracto gastrointestinal durante la evisceración tal como fue observado durante el diagnóstico, crea un problema no solo de inocuidad del producto reduciendo su calidad, si no que reduce la eficiencia de la producción a causa del trabajo adicional requerido para reprocesar canales y disminución del rendimiento durante el recorte de las partes contaminadas.

Según Hue *et al.* (2011) el número de personas presentes durante el proceso de evisceración representa un factor de riesgo para la contaminación de las canales con *Salmonella* sp. La probabilidad de contaminación aumenta cuando menos personas realizan la evisceración, además el riesgo de contaminación cruzada mediante la ruptura de vísceras aumenta cuando nadie evalúa la operación.

Por lo que es de suma importancia establecer un equilibrio entre la cantidad de operadores y la velocidad de la línea de proceso, esto para reducir el tiempo de contacto entre las vísceras y la canal. Además, Cox y Pavic (2010) mencionan que el lavado frecuente de manos e instrumentos es esencial para minimizar la contaminación cruzada de las canales.

Por otro lado, es importante que en la planta evaluada se minimice la carga bacteriana antes del ingreso de la canal al sistema de enfriamiento, ya que según los resultados obtenidos, este punto es de alto riesgo de contaminación. De acuerdo con Guerin *et al.* (2010), el tanque de refrigeración (chiller) presenta la mayor superficie de exposición donde la contaminación cruzada puede ocurrir, por lo que existe el riesgo de que canales que entran en el tanque libres de la bacteria, se pueden contaminar con la *Salmonella* sp. introducida por canales con una alta carga.

Como estrategias válidas para mejorar la calidad microbiológica, podrían utilizarse diferentes tratamientos antimicrobianos durante el lavado de las canales. Han sido objeto de numerosas investigaciones la cloración del agua, la utilización de agua fría o caliente y la adición de soluciones de ácidos orgánicos. Según Jiménez *et al.* (2008) muchos de estos estudios han sido probados en canales de pollo, confirmando su efectividad, pero pocos o ninguno han sido adoptados en la industria avícola.

Se recomienda adicionar un ácido al agua para el lavado de canales en el punto posterior a la evisceración. Según los resultados obtenidos por Jiménez *et al.* (2008) el ácido acético presenta una opción económica con aceptable eficacia en la reducción de células viables de *Salmonella* sp., logrando la disminución de hasta 5 Log. Por lo que con su uso podría obtenerse una menor contaminación de los equipos y una disminución de la contaminación cruzada entre canales e instalaciones, realizando lavados con soluciones de ácido acético a concentración de 1,4% a 55 °C ó 2,8% a 37 °C.

Además, existen diversos productos químicos de uso en el procesamiento avícola que contienen como ingrediente activo clorito de sodio acidificado, ácido hipocloroso, fosfato trisódico o dióxido de cloro. Con los resultados obtenidos por Berrang *et al.* (2009) se concluye que los productos que contienen clorito de sodio acidificado y ácido hipocloroso son lo más efectivos para el tratamiento de las canales. Sin embargo Cox y Pavic (2010) señalan que alrededor del mundo se crea una corriente que demanda la utilización de productos más naturales. Según Oort (2011) el tratamiento de canales con estos productos está prohibido por la Unión Europea. Por lo que los procesadores deben hacer uso de productos que logren la desinfección de las canales de pollo con la mínima adición de químicos, de esta manera surgen los ácidos orgánicos de grado alimentario como la mejor opción.

Se recomienda que el tratamiento de lavado con algún desinfectante, deba realizarse a todas las canales procesadas en la planta. Según Jiménez *et al.* (2002) y Cason *et al.* (1997), no existe diferencia significativa que justifique la discriminación entre canales con y sin contaminación fecal visible, la clasificación en estos grupos no es apropiada, debido a que no presenta interrelación o predice de ninguna manera la presencia de *Salmonella* sp., en todo caso Ponsa (2005) indica que el lavado únicamente con agua de las canales que presentan contaminación fecal visible, elimina el contenido fecal, pero no la contaminación microbiológica.

Los resultados y diagnóstico del aumento observado entre los puntos de muestreo H e I muestran la importancia de reducir la formación de biopelículas en las superficies y equipos de la planta, para disminuir la contaminación cruzada. Según Lapidot *et al.* (2006) y Simoes *et al.* (2010) el control de la formación de biopelículas queda reducido a la efectividad de la limpieza que se realice, por lo

que esta debe combinar factores físicos y químicos. Con el uso de químicos se logra la suspensión y disolución de residuos de alimentos, esto debido a la disminución de la tensión superficial, emulsificación de grasas y peptización de proteínas. En la literatura se reportan varias sustancias que ha mostrado una alta efectividad en la remoción de biopelículas, como: ácido etilendiaminotetraacético (Navia *et al.* 2010), hipoclorito de sodio (Lapidot *et al.* 2006), peróxido de hidrogeno, ácido paraacético (Marques *et al.* 2007), cloro y ozono (Robbins *et al.* 2005).

Con base en los resultados de Lomander *et al.* (2004) se recomienda desinfectar las superficies con agua clorinada (200 ppm) idealmente a intervalos de menos de 12 horas. Este protocolo demostró eliminación de la bacterias de las superficies de acero inoxidable, por lo que este presenta una opción eficiente, económica y de fácil aplicación para el control en la planta de proceso.

Si bien se deben implementar muchas medidas para controlar la contaminación de las canales con *Salmonella* sp. en la planta de proceso, también se deben poner en práctica intervenciones en la granja que reduzcan la prevalencia en las aves. La vacunación de reproductores ha sido una de estas medidas que presenta una buena opción en el control de la bacteria, ya que tiene el potencial de reducir tanto la transmisión horizontal como la vertical, esto según Namata *et al.* (2009) reduce la posibilidad de infección humana a través del consumo de productos avícolas contaminados.

Dórea *et al.* (2010) reportan diferencias significativas ($p < 0,001$) en la prevalencia de *Salmonella* sp. en aves reproductoras vacunadas (usando una vacuna viva atenuada de *S. Typhimurium* y una bacterina de *S. Berta* y *S. Kentucky*) y no vacunadas (38,3 frente a 64,2% en ciegos y 14,2 frente a 51,7% en tractos reproductivos). También se observó una menor prevalencia en su progenie de pollos de engorde (18,1 frente a 33,5%) y sus canales durante el proceso (23,4 frente a 33,5%).

Una opción de intervención en granja de engorde la presenta la adicción de ácidos orgánicos al agua de bebida y alimento, debido a su acción antimicrobiana se puede disminuir la carga bacterial en el intestino (Tablante *et al.* 2002). La acidificación conduce a una reducción en el pH digestivo que tiene un efecto adverso sobre el desarrollo y la supervivencia de *Salmonella* sp. Jarquín *et al.* (2007) mencionan que la adición directa de ácidos orgánicos en el

agua potable puede reducir significativamente la contaminación de las canales en la planta de proceso cuando se aplica justo antes de la matanza. Esta sería una estrategia provechosa en respuesta al fenómeno de re-contaminación observado en el diagnóstico, donde las canales tienen contacto con salmonelas intestinales como consecuencia de errores durante la evisceración.

Heyndrickx *et al.* (2002) y Le Bouquin *et al.* (2010) identificaron una asociación significativa entre la acidificación del agua y la prevalencia del patógeno, según estos autores la probabilidad de encontrar parvadas positivas a *Salmonella* sp. se reduce significativamente cuando el agua potable se acidifica, por lo que se establece un efecto directo con el nivel de contaminación. Según Byrd *et al.* (2001) el ofrecimiento de agua con ácido acético, ácido láctico o ácido fórmico a una concentración de 0,5%, durante ocho horas pre-transporte, redujo significativamente los recuentos de *Salmonella* sp. de 1,45 a 0,96, 0,79 y 0,94 Log₁₀ UFC, respectivamente.

La adición de ácidos orgánicos y/o aceites esenciales a la dieta de los pollos de engorde demuestra tener efectividad en el control de *Salmonella* sp. Amerah *et al.* (2012) reportan reducción significativa ($p < 0,05$) en la incidencia de la transmisión horizontal en un 77%, con la adición dietética de 0,01% (100g/ton) de una mezcla de aceites esenciales (timol y cinamaldehído). Además se mejoró ($p < 0,05$) la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia medida en animales de 42 días de edad.

Borsoi *et al.* (2011) observan una reducción significativa en la excreción fecal de la bacteria tras la alimentación de los animales con una dieta que contiene una mezcla de ácidos orgánicos (butírico, propiónico, láctico y fórmico) y aceites esenciales (timol, carvacrol, citrol y cinamaldehído) a una concentración de 0,05 y 0,1% (500 y 1000g/ton de alimento). Estos autores reportan la ausencia de un efecto dependiente de la dosis, sin embargo, Vikari (2011) informa como concentración mínima inhibitoria para carvacrol, cinamaldehído y timol, 150, 369 y 150 ppm, respectivamente.

Por otro lado, el uso de probióticos en la alimentación de las aves se ha convertido en una opción adecuada y eficaz en el control de la *Salmonella* sp. de acuerdo a Tellez *et al.* (2012) esta herramienta proporciona una solución rentable de fácil inclusión en las dietas comerciales. Maruta y Miyazaki (1996) administraron a pollos de engorde un probiótico basado en *B. subtilis*, para

evaluar su efecto sobre la *Salmonella* sp., los resultados mostraron decrecimiento ($p < 0,01$) en el número y rango de detección de la bacteria con respecto al control. Milián *et al.* (2008) indica que el efecto benéfico de los *Bacillus* como probióticos se produce cuando se ingieren en cantidades adecuadas (1×10^9 UFC/kg de concentrado), modificando el ecosistema del intestino y generando un equilibrio que se manifiesta en un buen estado de salud.

El uso de la exclusión competitiva (EC) en pollos de engorde para reducir el nivel de contaminación por *Salmonella* sp. presenta otra opción para implementar en un programa de control. La EC se define como el tratamiento de los pollitos recién nacidos con suspensiones de microbiota intestinal obtenida de aves adultas sanas. Este procedimiento consiste fundamentalmente en la exclusión de las bacterias potencialmente patógenas por parte de las bacterias beneficiosas. Debido a la rápida colonización del tracto gastrointestinal, las bacterias beneficiosas cubren la pared intestinal y previenen la intrusión de bacterias dañinas como la *Salmonella* sp. (Rondón y Laurencio 2008). Existen productos comerciales de EC, entre los que se destacan el Broilact®, Aviguard® y Avifree®. Dichas mezclas están formadas, fundamentalmente, por bacterias ácido lácticas, *Bacillus* y Bifidobacterias, que son aisladas y desarrolladas en dichas formulaciones.

Esta opción es recomendada, ya que Palmu y Camelin (1997) estudiaron la eficacia de esta estrategia en granja y su relación con la incidencia de la bacteria en planta de proceso, aplicando Broilact® a razón de 1mg/pollo en el agua de bebida al día de edad. Los resultados muestran diferencia significativa en la prevalencia entre parvadas tratadas y no tratadas, al día 45 de edad (6 y 42%, respectivamente). Además el porcentaje de canales positivos a *Salmonella* sp. en planta fue significativamente menor en las parvadas tratadas (44%) en comparación con las no tratadas (62%). Según Nakamura *et al.* (2002) los pollos tratados con Aviguard® presentan una clara protección a la colonización por *Salmonella* sp. por lo que concluyen que este producto es eficaz en el control profiláctico de estos patógenos.

Para finalizar, se recalca la importancia de mantener un protocolo de control de plagas en las granjas, este como parte del programa de bioseguridad. En este tema toma relevancia el control del *Alphitobius diaperinus*, el cual según Roche *et al.* (2009) y Soncini (2011) se ha demostrado que la ingestión de larvas

o adultos de este escarabajo infectado con *Salmonella* sp. es un vector importante para su transmisión a los pollos. Agabou y Alloui (2010) reportan el aislamiento e identificación de varios serotipos de *Salmonella* en estos insectos (S. Heidelberg, S. Worthington, S. Saintpaul y S. Typhimurium). Skov *et al.* (2004) encontraron un genotipo idéntico de S. Indiana aislada de muestras de pollos y escarabajos de una misma granja, aislando también esta misma cepa en escarabajos recolectados durante el período de vacío entre lotes, indicando de este modo el grado de persistencia de la plaga.

De acuerdo con USDA/FSIS (2005) cualquier tratamiento que logre la reducción de por lo menos una unidad logarítmica de la bacteria se considera exitoso y de interés para los procesadores, estableciéndose como una técnica de descontaminación eficaz, por lo que la aplicación de algún procedimiento de los antes mencionados que vigile la contaminación en cualquier punto del un sistema de producción avícola sería de mucha utilidad.

Tras los resultados tan alentadores que se presentan en la literatura con la aplicación de diversas metodologías para el control de la *Salmonella* sp. es trascendental señalar la importancia de crear un programa de prevención integral que incluya todas las divisiones del sistema de producción avícola integrado, ya que el uso de medidas individuales limitan el procedimiento de intervención del patógeno haciendo menos eficaz.

9. LITERATURA CITADA

- AABO S., CHRISTENSEN J., CHADFIELD M., CARSTENSEN B., OLSEN J., BISGAARD M. 2002. Quantitative comparison of intestinal invasion of zoonotic serotypes of *Salmonella enterica* in poultry. *Avi. Pathol.* 31:41-47.
- ABDUNASER D., ALMABROUK F., ASHRAF W., YVES M., OLIVIER C., MOEZ S. 2009. Combination of most-probable-number method with light cycler real-time PCR assay (MPN-real-time PCR) for rapid quantification of *Salmonella* in artificially and naturally contaminated bovine fecal samples at slaughter house. *Iraqi J. Vet. Sci.* 23 (Sup II):231-243.
- AGABOU A., ALLOUI N. 2010. Importance of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) as a reservoir for pathogenic bacteria in algerian broiler houses. *Veterinary World.* 3(2):71-73.
- AL-BAHRY S., ELSHAFIE A., AL-BUSAIDY S., AL-HINAI J., AL-SHIDI I. 2007. Antibiotic resistant *Salmonella* spp. from human and nonhuman sources in Oman. *East. Mediterr. Health J.* 13:49-55.
- ALLEN V., TINKER D., HINTON M., WATHES C. 2003. Dispersal of micro-organisms in commercial defeathering systems. *Br. Poult. Sci.* 44:53–59.
- AMERAH A., MATHIS G., HOFACRE C. 2012. Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and *Salmonella* colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella* Heidelberg. *Poult. Sci.* 91:943-947.
- ANDERSON P., HUME M., BYRD J., HERNADEZ C., STEVENS S., STRINGFELLOW K., CALDWEL D. 2010. Molecular analysis of *Salmonella* serotypes at different stages of commercial turkey processing. *Poult. Sci.* 89:2030-2037.
- AROSEMENA A. 2000. Determinación de la contaminación de *Salmonella* sp. en carne de pollo parrillero en Costa Rica utilizando el sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP). Tesis de Maestría, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 60 p.
- ARSENAULT J., LETELLIER A., QUESSY S., NORMAND V., BOULIANNE M. 2007. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.* 81:250-264.
- BACK A. 2012. Salmonelosis paratífica: la enfermedad y su control. *Industria Avícola.* Mayo: 14-17.
- BAILEY J., STERN N.J., FEDORKA P., CRAVEN S., COX N., COSBY D., LADELY S., MUSGROVE M. 2001. Sources and movement of *Salmonella* through integrated poultry operations: A multistate epidemiological investigation. *J. Food Prot.* 64(11):1690-1697.

- BAILÓN L., CRUZ R., CERVANTES A. 2003. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. UNAM, México. 175 p.
- BERRANG M., BAILEY J., ALTEKRUSE S., SHAW W., PATEL B., MEINERSMANN R., FEDORKA P. 2009. Prevalence, serotype and antimicrobial resistance of *Salmonella* on broiler carcasses postpick and postchill in 20 U.S. processing plants. *J. Food Prot.* 72(8):1610-1615.
- BERRANG M., BUHR R., CASON J., DICKENS A. 2001. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J. Food Prot.* 64:2063–2066.
- BERRANG M., NORTH CUTT J. 2005a. Use of Water Spray and Extended Drying Time to Lower Bacterial Numbers on Soiled Flooring from Broiler Transport Coops. *Poult. Sci.* 84:1197-1801.
- BERRANG M., NORTH CUTT J. 2005b. Water Spray and Immersion in Chemical Sanitizer to Lower Bacterial Numbers on Broiler Transport Coop Flooring. *J. Appl. Poult. Res.* 14:315-321.
- BEUTLICH J., RODRÍGUEZ I., SCHROETER A., KÄSBOHRER A., HELMUTH R., GUERRA B. 2010. A predominant multidrug-resistant *Salmonella* enterica serovar Saintpaul clonal line in German turkey and related food products. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(11):3657-3667.
- BOONMAR S., BANGTRAKULNONT A., PORNRUNANGWONG S., MARNRIM N., KANEKO K., OGAWA M. 1998. *Salmonella* in broiler chickens in Thailand with special reference to contamination of retail meat with *Salmonella enteritidis*. *J. Vet. Med. Sci.* 60:1233-1236.
- BORNERT G. 2000. Le poulet sans *Salmonella*: Mythe ou realite? *Rev. Med. Vet. (Toulouse)*. 151:1083–1094.
- BOROWSKY L., SCHMIDT V., CARDOSO M. 2007. Estimation of most probable number of *Salmonella* in minced pork samples. *Braz. J. Microbiol.* 38:544-546.
- BORSOI A., SANTOS L., DINIZ G., SALLE C., MORAES H., NASCIMENTO V. 2011. *Salmonella* fecal excretion control in broiler chickens by organic acids and essential oils blend feed added. *Brazilian Journal of Poultry Science.* 13(1):65-69.
- BOSCÁN L., ARZÁLLUZ A., UGARTE C., SÁNCHEZ D., DÍAZ D., WITTUM T., HOET A. 2005. Aislamiento de *Salmonellas* de importancia zoonótica en vísceras de pollos beneficiados en el Estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ XV(6):576-582.*

- BOUNAR-KECHIH S., HAMDI T., MEZALI L., ASSAOUS F., RAHAL K. 2012. Antimicrobial resistance of 100 *Salmonella* strains isolated from *Gallus gallus* in 4 wilayas of Algeria. *Poult. Sci.* 91:1179-1185.
- BRAVO E. 2011. Programas de prevención y control de especies de *Salmonella* de interés para la salud humana (*S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*). In: Memoria I Seminario Internacional sobre Salmonelosis Aviar. Rio de Janeiro, Brasil. 12 p.
- BRICHTA-HARHAY D., ARTHUR T., KOOHMARAIE M. 2008. Enumeration of *Salmonella* from poultry carcass rinses via direct plating methods. *J. Appl. Microbiol.* 46:186-191.
- BYRD J., HARGIS B., CALDWELL D., BAILEY R., HERRON K., MCREYNOLDS J., BREWER R., ANDERSON R., BISCHOFF K., CALLAWAY T. 2001. Effect of acid lactic administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. *Poult. Sci.* 80:278-283.
- CAI H., LU L., MUCKLE C., PRESCOTT J., CHEN S. 2005. Development of a novel protein microarray method for serotyping *Salmonella* enteric strains. *J. Clin. Microbiol.* 43:3427-3430.
- CALLAWAY T., EDRINGTON T., ANDERSON R., BYRD J., NISBET D. 2008. Gastrointestinal microbial ecology and the safety of our food supply as related to *Salmonella*. *J. Anim. Sci.* 86(E. Suppl):E163-E172.
- CALVERT N., STEWART W., REILLY W. 1998. *Salmonella typhimurium* DT104 infection in people and animals in Scotland: a collaborative epidemiological study 1993-96. *Vet. Rec.* 143:351-354.
- CAMACHO A., GILES A., ORTEGÓN A., PALAO M., SERRANO B., VELÁZQUEZ O. 2009. Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 17 p.
- CAMACHO O., ACEDO L., MORENO G., SÁNCHEZ R., CASTILLÓN L., NAVARRO M. 2010. Detección de *Salmonella* resistente a los antibióticos en vísceras de pollo. *Biotécnica.* XII(1):3-11.
- CARDINALE E., TALL F., GUÈYE E., CISSE M., SALVAT G. 2004. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *Enteric* infection in senegalese broiler-chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* 63:151-161.
- CARRIQUE-MAS J., DAVIES R. 2008. Sampling and bacteriological detection of salmonella in poultry and poultry premises: a review. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 27(3):665-677.
- CASON J. 2011. Testing Poultry Meat for *Salmonella*: Making Test Results More Relevant to Risk. In: Memoria I Seminario Internacional sobre Salmonelosis Aviar. Rio de Janeiro, Brasil. 1 p.

- CASON J. 2012a. Salmonella and risk in FSIS-inspected poultry. Poultry USA. May:24-25.
- CASON J. 2012b. Salmonella link between humans and chickens is obscured. Poultry USA. June:20-22.
- CASON J., BAILEY J., STERN N., WHITTEMORE A., COX N. 1997. Relationship between aerobic bacteria, salmonellae and Campylobacter on broiler carcasses. Poult. Sci. 76:1037-1041.
- CASON J., COX N., BUHR R., RICHARDSON L. 2010. Comparison of the statistics of Salmonella testing of chilled broiler chicken carcasses by whole-carcass rinse and neck skin excision. Poult. Sci. 89:2038-2040.
- CASON J., HINTON A., BUHR R. 2004. Impact of feathers and feather follicles on broiler carcass bacteria. Poult. Sci. 83:1452-1455.
- CENTERS FOR DISEASES CONTROL (CDC). 2009. Outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections associated with eating alfalfa sprouts-United States, 2009. MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 58:500-503.
- CERVANTES E. 2010a. La velocidad marca la diferencia: la velocidad de reacción debe ser un valor empresarial. Industria Avícola Octubre:8-10.
- CERVANTES E. 2010b. Mantenimiento de infraestructura, operacional y responsabilidades básicas. Industria Avícola Diciembre:8-10.
- CHAVES B., HAN I., DAWSON P., NORTHCUTT J. 2011. Survival of artificially inoculated *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium on the surface of raw poultry products subjected to crust freezing. Poult. Sci. 90:2874-2878.
- CHEN M., WANG S., HWANG W., TSAI S., HSIH Y., CHIOU C., TSEN H. 2010. Contamination of *Salmonella* Schwarzengrund cells in chicken meat from traditional marketplaces in Taiwan and comparison of their antibiograms with those of the human isolates. Poult. Sci. 89:359-365.
- CHIU C., SU L., CHU C. 2004. *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis: Epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. Clin. Microbiol. Rev. 17(2):311-322.
- CHIU L., CHIU C., HORN Y., CHIOU C., LEE C., YEH C., YU C., WU C., CHANG C., CHU C. 2010. Characterization of 13 multi-drug resistant *Salmonella* serovars from different broiler chickens associated with those of human isolates. BMC Microbiology. 10:86-95.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Second Informational Supplement. M100-S22 Vol 32(3).

- COBURN B., GRASSL G., FINLAY B. 2007. *Salmonella*, the host and disease: A brief review. Immunol. Cell Biol. 85:112-118.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2011. Guidelines for the control of *campylobacter* and *salmonella* in chicken meat CAC/GL 78-2011. En http://www.codexalimentarius.net/.../CXG_078e.pdf. Consultado el 31 de setiembre de 2012.
- CONNER D., WAKEFIELD C. 2006. Incidence of *Salmonella* in processed broilers following transportation in contaminated coops. Memorias del XII European Poultry Conference. Verona, Italia.
- CORMICAN M., BUTLER C., MORRIS D., CORBETT-FEENEY G., FLYNN J. 1998. Antibiotic resistance amongst *Salmonella enterica* species isolated in the Republic of Ireland. J. Antimicrob. Chemother. 42:116-118.
- CORRY J., ALLEN V., HUDSON W., BRESLIN M., DAVIES R. 2002. Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. J. Appl. Microbiol. 92:424-432.
- COX J., PAVIC A. 2010. Advances in enteropathogen control in poultry production. J. Appl. Microbiol. 108:745-755.
- COX N. 2011. Zero *Salmonella* tolerance on poultry: worthy goal or trade protectionism. Word poultry. *Salmonella Special*:12-13.
- CRUCHAGA S., ECHEITA A., ALADUEÑA A., GARCÍA-PEÑA J., FRIAS N., USERA M. 2001. Antimicrobial resistance in *Salmonellae* from human, foods and animals in Spain in 1998. J. Antimicrob. Chem. 47:315-321.
- DÓREA F., COLE D., HOFACRE C., ZAMPERINI K., MATHIS D., DOYLE M., LEE M., MAURER J. 2010. Effect of *Salmonella* Vaccination of Breeder Chickens on Contamination of Broiler Chicken Carcasses in Integrated Poultry Operations. Appl. Environ. Microbiol. 76 (23):7820-7825.
- DUARTE F., SÁNCHEZ L., ACUÑA M., BOLAÑOS H., DITTEL I., CAMPOS E. 2010. SALMAT *cor*. Microagglutination for *Salmonella* flagella serotyping. Foodborne Pathogens and Disease. 7(8):907-911.
- DURANDO J., ARRIETA G., MATTAR S. 2004. Presencia de *Salmonella* spp. en un área del Caribe Colombiano: un riesgo para la salud pública. Biomédica 24:89-96.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). 2011a. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. EFSA Journal. 9(3):2090.

- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). 2011b. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008. Part B: Analysis of factors associated with *Salmonella* contamination of broiler carcasses. *EFSA Journal*. 9(2): 2017.
- ELGROUD R., ZERDOUMI F., BENAZZOUZ M., BOUZITOUNA-BENTCHOUALA C., GRANIER S., FREMY S., BRISABOIS A., DUFOUR B., MILLEMANN Y. 2009. Characteristics of *Salmonella* contamination of broilers and slaughterhouses in the region of Constantine (Algeria). *Zoonoses Public Health*. 56: 84–93.
- ELIZONDO R. 2006. Diagnóstico serológico de *Salmonella enteritidis* y *Salmonella thphimurium* en pollos de engorde, aves reproductoras pesadas y gallinas de postura de huevo comercial, utilizando los ensayos de ELISA de Biochek. Trabajo Final de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 60 p.
- ECDC (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL). 2011. Annual epidemiological report Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data:101-104.
- FAMIGLIETTI A., QUINTEROS M., VÁZQUEZ M., MARÍN M., NICOLA F., RADICE M., GALAS M., PASTERÁN F., BANTAR C., CASELLAS J., KOVENSKY J., COUTO E. 2005. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en *Enterobacteriaceae*. *Rev. Argentina de Microbiología*. 37:57-66.
- FOLEY S., LYNNE A., NAYAK R. 2008. *Salmonella* challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *J. Anim. Sci.* 86(E. Suppl.):149-162.
- FAO/OMS (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD). 2010. Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. 94 p.
- FAO/WHO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2009. *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat. Microbiological Risk Assessments Series. Meeting report 19. 66 p.
- FAO/WHO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2002. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological Risk Assessments Series 2. 329 p.

- GALANIS E., LO FO WONG D., PATRICK M., BINSZTEIN N., CIESLIK A., CHALERMCHAIKIT T., AIDARA-KANE A., ELLIS A., ANGULO F., WEGENER H. 2006. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000–2002. *Emerging Infectious Diseases* 12(3):381-388.
- GLYNN M., BOPP C., DEWITT W., DABNEY P., MOKHTAR M., ANGULO F. 1998. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT104 infections in the United States. *N. Engl. J. Med.* 338:1333-1338.
- GOKSOY E., KIRKAN S., KOK F. 2004. Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey. *Poult.Sci.* 83:1427-1432.
- GUERIN M., SIR C., SARGEANT J., WADDELL L., O'CONNOR A., WILLS R., BAILEY R., BYRD B. 2010. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: A systematic review. *Poult.Sci.* 89:1070-1084.
- GUTIÉRREZ J., DE LA FUENTE R. 2001. Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal. *Rev. Esp. Salud Pública.* 75: 313-320.
- GYLES C., PRESCOTT J., SONGER G., THOEN C. 2010. Pathogenesis of bacterial infections in animals. 4th ed. Wiley-Blackwell. USA. 643 p.
- HEYNDRICKX M., VANDEKERCHOVE D., HERMAN L., ROLLIER I., GRIJSPEERDT K., DE ZUTTER L. 2002. Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect.* 129:253-265.
- HUE O., LE BOUQUIN S., LALANDE F., ALLAIN V., ROUXEL S., PETETIN I., QUESNE S., LAISNEY M., GLOAGUEN P., PICHEROT M., SALVAT G., BOUGEARD S., CHEMALY M. 2011. Prevalence of *Salmonella* spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008. *Food Control.* 22:1158-1164.
- HYEON J., PARK J., CHON J., WEE S., MOON J., KIM Y., SEO K. 2012. Evaluation of selective enrichment broths and chromogenic media for *Salmonella* detection in highly contaminated chicken carcasses. *Poult.Sci.* 91:1222-1226.
- INEC (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS). 2011. X Censo Nacional de Población y VI de Vivienda 2011: Resultados Generales. San José, Costa Rica. 140 p.
- JARQUIN R., WOLFENDEN A., DONOGHUE A., HANNING I., HIGGINS S., HARGIS B. 2007. The evaluation of organic acids and probiotic cultures to reduce *Salmonella enteritidis* horizontal transmission and crop infection in broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 6:182-186.

- JIMÉNEZ S., SALSÍ M., TIBURZI M., PIROVANI M. 2002. A comparison between broiler chicken carcasses with and without visible faecal contamination during the slaughtering process on hazard identification of *Salmonella* spp. *J. Appl. Microbiol.* 93:593-598.
- JIMÉNEZ S., TIBURZI M., SALSÍ M., MOGUILVSKY M., PIROVANI M. 2008. Tratamientos con ácido acético de cultivos de *E. coli* y *Salmonella* in-vitro y en líquidos escurridos del lavado de canales de pollo. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 6(2):90-94.
- JOHNSON T., THORSNESS J., ANDERSON C., LYNNE A., FOLEY S., HAN J., FRICKE F., MCDERMOTT P., WHITE D., KHATRI M., STELL A., FLORES C., SINGER R. 2010. Horizontal gene transfer of a ColV plasmid has resulted in a dominant avian clonal type of *Salmonella* Enterica serovar Kentucky. *PLoS ONE.* 5(12):15524-15534.
- JORGENSEN F., BAILEY R., WILLIAMS S., HENDERSON P., WAREING D., BOLTON F., FROST J., WARD L., HUMPHREY T. 2002. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *International Journal of Food Microbiology.* 76:151-164.
- KHAITSA M., KEGODE R., DOETKOTT D. 2007. Occurrence of antimicrobial-resistant salmonella species in raw and ready to eat turkey meat products from retail outlets in the midwestern United States. *Foodborne Pathog. Dis.* 4(4):517-525.
- LAPIDOT A., ROMLING U., YARON S. 2006. Biofilm formation and the survival of *Salmonella* Typhimurium on parsley. *International Journal of Food Microbiology* 109:229-233.
- LE BOUQUIN S., ALLAIN V., ROUXEL S., PETETIN I., PICHEROT M., MICHEL V., CHEMALY M. 2010. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prev. Vet. Med.* 97:245-251.
- LÉVANO G., LÓPEZ C. 2001. Evaluación de la presencia de *Salmonella* en huevos frescos, utilizando el medio Xilosa-Lisina-Tergitol 4 (XLT4). *Ciencia e Investigación.* 4(1):50-56.
- LOGUE C., SHERWOOD J., OLAH P., ELIJAH L., DOCKTER M. 2003. The incidence of antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. on freshly processed poultry from US Midwestern processing plants. *J. App. Microbiol.* 94:16-24.
- LOMANDER A., SCHREUDERS P., RUSSEK-COHEN E., ALI L. 2004. Evaluation of chlorines impact on biofilms on scratched stainless steel surfaces. *Bioresources Technology* 94:275-283.

- LÓPEZ R., CASP A. 2004. Tecnología de mataderos. Mundi-Prensa. Madrid. España. 431 p.
- MARIN C., BALASCH S., VEGA S., LAINEZ M. 2011. Sources of Salmonella contamination during broiler production in Eastern Spain. *Prev. Vet. Med.* 98:39-45.
- MARIN C., LAINEZ M. 2009. *Salmonella* detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. *Poult. Sci.* 88:1999-2005.
- MARQUES S., REZENDE J., ALVES L., SILVA B., ALVES E., ABREU L., PICCOLI R. 2007. Formation of biofilms by *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces and its resistance to some selected chemical sanitizers. *Brazilian Journal of Microbiology* 38:538-543.
- MARUTA K., MIYAZAKI L. 1996. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on intestinal microflora in broilers. *Animal Sci. Tech. Japan* 7:273-276.
- MC FADDIN F. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ª ed. Panamericana, Argentina. 198 p.
- MEAD G., LAMMERDING A., COX N., DOYLE M., HUMBERT F., KULIKOVSKIY A., PANIN A., PINHEIRO DO NASCIMENTO V., WIERUP M. 2010. Scientific and technical factors affecting the setting of Salmonella criteria for raw poultry: a global perspective. *J. Food Prot.* 73(8):1566-1590.
- MELEÁN R., BONOMIE M., RODRÍGUEZ G. 2008. Procesos productivos de la industria avícola Zuliana: fases de alimento, engorde y beneficio. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 25:160-184.
- MELLOR G., DUFFY L., DYKES G., FEGAN N. 2010. Relative prevalence of *Salmonella* Sofia on broiler chickens pre and postprocessing in Australia. *Poult.Sci.* 89:1544-1548.
- MICHANIE S. 2002. Análisis de peligros versus análisis de riesgos. *Ganados y carnes.* 15:1-4.
- MILIÁN G., PÉREZ M., BOCOURT R. 2008. Empleo de probióticos basado en *Bacillus* sp y de sus endosporas en la producción avícola. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.* 42:117-122.
- MAG (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA/INSTITUTO COSTARRICENSE DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA DE NUTRICIÓN Y SALUD/MINISTERIO DE SALUD. 2011. Prevalencia de *Salmonella* spp. en carnes frescas y subproductos de pollo. Costa Rica, septiembre-noviembre de 2009. Informe técnico. Costa Rica.
- MINISTERIO DE SALUD. 2001. Encuesta Nacional de consumo de alimentos. San José, Costa Rica. 28 p.

- MODY R., GREENE S., GAUL L., SEVER A., PICHETTE S., ZAMBRANA I., DANG T., GASS A., WOOD R., HERMAN K., CANTWELL L. 2011. National outbreak of salmonella serotype saintpaul infections: Importance of Texas restaurant investigations in implicating jalapeño peppers. *PLoS ONE*. 6(2):1-7.
- MOLINA N., MILLÁN B., ARAQUE M. 2010. Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella* entérica aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela. *Revista Infectio*. 14(3):174-185.
- MUNNOCH S., WARD K., SHERIDAN S., FITZSIMMONS G., SHADBOLT C., PIISPANEN J., WANG Q., WARD T., WORGAN T., OXENFORD C., MUSTO J., MCANULTY J., DURRHEIM D. 2009. A multi-state outbreak of *Salmonella* Saintpaul in Australia associated with cantaloupe consumption. *Epidemiol. Infect.* 137:367-374.
- MURMANN L., DOS SANTOS M., MENDES S., CORREA J., CARDOSO M. 2008. Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 39:529-534.
- NAKAMURA A., OTA Y., MIZUKAMI A., ITO T., NGWAI Y., ADACHI Y. 2002. Evaluation of Aviguard, a commercial competitive exclusion product for efficacy and after-effect on the antibody response of chicks to *Salmonella*. *Poult. Sci.* 81:1653-1660.
- NAMATA H., WELBY S., AERTS M., FAES C., CORTIÑAS J., IMBERECHTS H., VERMEERSCH K., HOOYBERGHS J., MÉROC E., MINTIENS K. 2009. Identification of risk factors for the prevalence and persistence of *Salmonella* in Belgian broiler chicken flocks. *Preventive Veterinary Medicine*. 90:211-222.
- NAVIA D., VILLADA H., MOSQUERA S. 2010. Las biopelículas en la industria de alimentos. *Fac. Cien. Agr.* 8(2):118-128.
- NDE C., MCEVOY J., SHERWOOD J., LOGUE C. 2007. Cross contamination of turkey carcasses by *Salmonella* species during defeathering. *Poult.Sci.* 86:162-167.
- NÓGRÁDY N., KARDOS G., BISTYÁK A., TURCSÁNYI I., MÉSZÁROS J., GALÁNTAI Z., JUHÁSZ A., SAMU P., KASZANYITZKY J., PÁSZTI J., KISS I. 2008. Prevalence and characterization of salmonella infantis isolates originating from different points of the broiler chicken–human food chain in Hungary. *International Journal of Food Microbiology* 127:162-167.
- NORTHCUTT J., CASON J., INGRAM K., SMITH D., BUHR R., FLETCHERT D. 2008. Recovery of bacteria from broiler carcasses after immersion chilling in different volumes of water, part 2. *Poult. Sci.* 87:573-576.

- NORTHCUTT J., CASON J., SMITH D., BUHR R., FLETCHERT D. 2006. Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either low or high volume of water. *Poult. Sci.* 85:1802-1806.
- NUNEZ F. 2012. Mantenimiento, calidad y rendimiento en el procesamiento avícola. *Industria Avícola* junio:12-15.
- OLIVEIRA F., BRANDELLI A., TONDO E. 2006. Antimicrobial resistance in *Salmonella* enteritidis from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil. *The New Microbiologica.* 29:49-54.
- OLSEN J., BROWN D., MADSEN M., BISGAARD M. 2003. Cross-contamination on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. *J. Appl. Microbiol.* 94:826-835.
- OORT R. 2011. Salmonella control: A global perspective. *Word poultry. Salmonella Special:*18-19.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE). 2011. Código Sanitario para los Animales Terrestres: prevención, detección y control de las infecciones de aves de corral por salmonella. 20 ed. Volumen 1. 437 p.
- PADILLA J. 2007. Validación secundaria del método de recuento en placa en superficie de *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* en muestras de alimentos en un laboratorio de referencia. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- PALMU L., CAMELIN I. 1997. The use of competitive exclusion in broilers to reduce the level of *Salmonella* contamination on the farm and at the processing plant. *Poult.Sci.* 76:1501-1505.
- PARVEEN S., TAABODI M., SCHWARZ J., OSCAR T., HARTE J., WHITE D. 2007. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* recovered from processed poultry. *J. Food Prot.* 70(11):2466-2472.
- PÉREZ E. 2011. La evolución reciente de la producción de carnes en Costa Rica. *Revista ECAG Informa.* 55:64-66.
- PÉREZ I., RESUSTA A., MAIRAL P., LARROSA A., HERRERA D., MARTINEZ F. 2001. Estudio comparado de infección por *Salmonella* y *Campylobacter* en Huesca: 1996-199. *Rev. Esp. Salud Pública* 75:459-466.
- PINHEIRO V., RUSCHEL L., RODRIGUEZ L., PULIDO M., BORSOI A. 2011. *Salmonella* en productos avícolas: desafíos en seguridad alimentaria y exigencias para el comercio internacional. In: Memoria I Seminario Internacional sobre Salmonelosis Aviar. Rio de Janeiro, Brasil. 15 p.

- PONSA F. 2005. Puntos críticos para el control de *Salmonella* y *Campylobacter* en la carne de pollo. Memorias de las Jornadas Profesionales de Avicultura de Carne. Valladolid, España.
- PUI C., WONG W., CHAI L., TUNUNG R., JEYALETCHUMI P., NOOR HIDAYAH M., UBONG A., FARINAZLEEN M., CHEAH Y., SON R. 2011. *Salmonella*: A foodborne pathogen. International Food Research Journal. 18:465-473.
- QUINN P., MARKEY B., CARTER M., DONNELLY W., LEONARD F. 2002. Veterinary microbiology and microbial disease. Blackwell Science. USA. 517 p.
- RAMESH N., JOSEPH S., CARR L., DOUGLASS L., WHEATON F. 2002. Evaluation of chemical disinfectants for the elimination of *Salmonella* biofilms from poultry transport containers. Poult. Sci. 81:904-910.
- RAMESH N., JOSEPH S., CARR L., DOUGLASS L., WHEATON F. 2003. Serial disinfection with heat and chlorine to reduce microorganism populations on poultry transport containers. J. Food Prot. 66:793-797.
- RASSCHAERT G., HOUF K., DE ZUTTER L. 2007. Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. J. Appl. Microbiol. 103:333-341.
- RIGBY C., PETTIT J., BAKER M., BENTLEY A., SALOMONS M., LIOR H. 1980. Flock infection and transport as sources of *Salmonellae* in broiler chickens and carcasses. Can. J. Comp. Med. 44:328-337.
- RISTORI C., MORATO A., GRAVATO R., LOPES G., DE PAULA A., DE OLIVEIRA M., ABEID E., DELLA TORRE J., PRADO S., YOSHIDA J., RODRIGUES R., TAHA O., MARSIGLIA D., JAKABI M. 2008. Quantificação de *Salmonella* spp. e avaliação dos dizeres de rotulagem de carcaças de frango congeladas comercializadas no Estado de São Paulo. Boletim Epidemiológico Paulista. 5(52):16-19.
- ROBBINS J., FISHER J., MOLTZ A., MARTIN S. 2005. Elimination of *Listeria monocytogenes* biofilms with ozone, chlorine, and hydrogen peroxide. J. Food Prot. 68:494-498.
- ROCHE A., COX N., RICHARDSON L., BUHR R., CASON J., FAIRCHILD B., HINKLE N. 2009. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Poult. Sci. 88:44-48.
- RODRIGUEZ A., PANGLOLI P., RICHARDS H., MOUNT J., DRAUGHON F. 2006. Prevalence of *Salmonella* in diverse environmental farm samples. J. Food Prot. 69:2576-2580.

- RODRÍGUEZ E., GAMBOA M., HERNÁNDEZ F., GARCÍA J. 2005. Bacteriología general: principios y prácticas de laboratorio. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 480 p.
- RODRÍGUEZ N., TORO C., MARTINEZ M., MERCADO M. 2007. Estandarización de condiciones para la prueba cuantitativa del NMP con bacterias nitrificantes y denitrificantes usando como matriz compost. *Universitas Scientiarum*. 12(2):69-81.
- RONDÓN A., LAURENCIO M. 2008. Utilización de las mezclas de exclusión competitiva en la avicultura moderna. *Rev. Cub. Cienc. Agri.* 42(1):3-11.
- ROY P., DHILLON A., LAUERMAN L., SCHABERG D., BANDLI D., JOHNSON S. 2002. Results of Salmonella isolation from poultry products, poultry environment and other characteristics. *Avian Dis.* 46:17-24.
- RUIZ J., SUÁREZ M., URIBE C. 2006. Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de cepas de *Salmonella spp.* en granjas de ponedoras comerciales del departamento de Antioquia. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 19(3):297-305.
- RUSSELL S., WALKER J. 1997. The effect of evisceration on visible contamination and the microbiological profile of fresh broiler chicken carcasses using the Nu-Tech evisceration system or the conventional streamlined inspection system. *Poult. Sci.* 76:780-784.
- SANTOS F., LI X., PAYNE J., SHELDON B. 2005. Estimation of most probable number Salmonella populations on commercial North Carolina turkey farms. *J. Appl. Poult. Res.* 14:700-708.
- SERVICIO NACIONAL DE SALUD ANIMAL (SENASA). 2011. Reglamento Sanitario y de Inspección Veterinaria de Mataderos y plantas procesadoras de aves. Versión N° 2. San José, Costa Rica.
- SEYFARTH A., WEGENER H., FRIMODT N. 1997. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar typhimurium from humans and production animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 40:67-75.
- SIMMOMS M. 2002. Influence of methodology on the recovery of Salmonella from retail chicken. Tesis de Maestría, CAES, University of Georgia, USA. 85 p.
- SIMMONS M., FLETCHERT D., BERRANG M., CASON J. 2003. Comparison of sampling methods for the detection of salmonella on whole broiler carcasses purchased from retail outlets. *J. Food Prot.* 66(10):1768-1770.
- SIMOES M., SIMOES L., VIEIRA M. 2010. A review of current and emergent biofilm control strategies. *Food Science and Technology* 43:573-583.

- SKOV M., SPENCER A., HALD B., PETERSEN L., NAUERBY B., CARSTENSEN B., MADSEN M. 2004. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between brooder broiler flocks. *Avian Dis.* 48:9-18.
- SMITH D., CASON J., FLETCHERT D., HANNAH J. 2007(a). Evaluation of carcass scraping to enumerate bacteria on prechill broiler carcasses. *Poult.Sci.* 86:1436-1439.
- SMITH D., NORTHCUTT J., CASON J., HINTON A., BUHR R., INGRAM K. 2007(b). Effect of external or internal fecal contamination on numbers of bacteria on prechilled broiler carcasses. *Poult. Sci.* 86:1241-1244.
- SONCINI R. 2011. Reducing risks of *Salmonella* infections in poultry. *Word Poultry. Salmonella Special:*16-17.
- SUMANO H., GUTIERREZ L. 2010. *Farmacología clínica en aves comerciales.* 4ªed. McGraw-Hill Interamericana, México. 664 p.
- TABLANTE N., MYINT M., JOHNSON Y., RHODES K., COLBY M., HOHENHAUS G. 2002. A survey of biosecurity practices as risk factors affecting broiler performance on the Delmarva Peninsula. *Avian Dis.* 46(3):730-734.
- TELLEZ G., PIXLEY C., WOLFENDEN R., LAYTON S., HARGIS B. 2012. Probiotics/direct fed microbials for *Salmonella* control in poultry. *Food Research International* 45:628-633.
- TEPELLI S., KAHYA S., EYIGOR A., CARLI K. 2012. Antibiotic resistance phenotypes of *Salmonella* isolates of broiler meat and chicken origin. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 59:107-114.
- TERZOLO H. 2011. Estudio bacteriológico de las salmonelosis de las aves (*S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*) en América Latina. *Memorias del Seminario Internacional sobre Salmonelosis Aviar.* Rio de Janeiro, Brasil. 19 p.
- TERZOLO H., FEINGOLD S., VELILLA A. 2006. Avances en el diagnóstico molecular de *Salmonella*. *Mundo Lácteo y Cárnico.* Enero/febrero:18-20.
- USDA/FSIS (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE/FOOD SAFETY AND INSPECCION SERVICE). 1998. *Salmonella Analysis: collecting raw meat and poultry product samples.* Washington, DC. 67 p.
- USDA/FSIS (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE/FOOD SAFETY AND INSPECCION SERVICE). 2011. *Isolation and identification of Salmonella from meat, poultry, pasteurized egg and catfish products.* Chapter revised MLG 4.05. Washington, DC. 16 p.

- USDA/FSIS (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE/FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE). 2005. Meat and poultry hazards and controls guide. Washington, DC. 35 p.
- UZZAU S., BROWN D., WALLIS T., RUBINO S., LEORI G., BERNARD S., CASADESUS J., PLATT D., OLSEN J. 2000. Host adapted serotypes of *Salmonella* enteric. Epidemiol. Infect. 125:229-255.
- VALCHEVA R., BELOPOPSKA P., MATEVA G., HRISTOVA T., DASKALOV H. 2011. Distribution and serological typing of salmonella spp. isolates from broiler carcasses in Bulgaria. Bulg. J. Vet. Med. 14(1):31-38.
- VALERA M., HUERTA N., FERRER O. 2000. Evaluación microbiológica de los puntos críticos en la cadena de procesamiento de una planta beneficiadora de pollos del estado Zulia. Revista Científica, FCV-LUZ 10(5):405-409.
- VAN ASSELT E., THISSEN J., VAN DER FELS H. 2009. *Salmonella* serotype distribution in the dutch broiler supply chain. Poult. Sci. 88:2695-2701.
- VAZ C., STRECK A., MICHAEL G., MARKS F., RODRIGUEZ D., DOS REIS, E., CARDOSO M., CANAL C. 2010. Antimicrobial resistance and subtyping of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis isolated from human outbreaks and poultry in southern Brazil. Poult. Sci. 89:1530-1536.
- VIKARI A. 2011. Feed additives role in reducing Salmonella in poultry. Word poultry. Salmonella Special:10-11.
- VOIDAROU C., VASSOS D., KEGOS T., KOUTSOTOLI A., TSIOTSIAS A., SKOUFOS J., TZORA A., MAIPA V., ALEXOPOULOS A., BEZIRTZOGLU E. 2007. Aerobic and anaerobic microbiology of the immersion chilling procedure during poultry processing. Poult.Sci. 86:1218-1222.
- VOSMEROVA P., CHLOUPEK J., BEDANOVA I., CHLOUPEK P., KRUIKOVA K., BLAHOVA J., VECEREK V. 2010. Changes in selected biochemical indices related to transport of broilers to slaughterhouse under different ambient temperatures. Poult. Sci. 89:2719-2725.
- WAKEFIELD C., CONNER D. 1997. Survival of salmonellae in broiler feces. Poult.Sci. 76 (supplement 1):30-36.
- WEILL F., GUESNIER F., GUIBER V., TMINOUNI M., DEMARTIN M., POLOMACK L., GRIMONT P. 2006. Multidrug resistance in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium from humans in France (1993 to 2003). J. Clin. Microbiol. 44:700-708.
- WHITE D., ZHAO S., SUDLER R., AYERS S., FRIEDMAN S., CHEN S., MCDERMOTT P., MCDERMOTT S., WAGNER D., MENG J. 2001. The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meats. N. Engl. J. Med. 345:1147-1154.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2010. Global Foodborne Infections Network: Top 15 lists from a Country, parameters. En http://thor.dfvf.dk/pls/portal/GSS.COUNTRY_DATA_SET_REP.show_params. Consultado el 17 de noviembre de 2011.

YÁNEZ E., MÁTTAR S., DURANGO A. 2008. Determinación de Salmonella spp. por PCR en tiempo real y método convencional en canales de bovinos y en alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba. Rev. Asoc. Colombiana de Infectología. 12(04):246-254.

10. ANEXOS

Anexo 1. Descripción y parámetros del modelo: Almacenamiento en puntos de venta al por menor. Modificado de FAO/WHO 2002.

Descripción	Variable	Unidad	Distribución o Ecuación	Distribución o Ecuación			
				Media	DE	Min	Max
Temperatura mínima	Rtl_Temp	°C	Corte Normal	4	2,8	-7,2	10
Tiempo mínimo	Rtl_Time	días	Uniformidad correlacionada	Media 2	Max 7	CF -0,75	
Crecimiento en temperatura mínima	MGT	°C	Constante	10			
Concentración de sal	NaCl	%	Constante	1,9			
Crecimiento por hora (Log)	LogSGR_Rtl	log/hr	$=EXP(-6,2251(0,0114*NaCl)+(0,3234*Rtl_Temp) + (0,0002*(NaCl*Rtl_Temp)) - (0,0085(NaCl*NaCl)) - (0,0045*(Rtl_Temp*Rtl_Temp)))$				
Menor crecimiento total (Log)	Rtl_Crecim	log	$=IF (Rtl_Temp < MGT.0.Rtl_Time*24*LogSRG_Rtl)$				

Anexo 2. Descripción y parámetros del modelo: Transporte desde la compra del producto hasta el domicilio del consumidor.
Modificado de FAO/WHO 2002.

Descripción	Variable	Unidad	Distribución o Ecuación				
Temperatura ambiental durante el transporte	Trans_Temp	°C	Pert	Min 0	ML 13	Max 24	
Cambio máximo de temperatura durante el transporte	TransMax	°C	=Trans_Temp-Rtl_Temp				
Cambio potencia de temperatura durante el transporte	Trans_DTemp1	°C	Corte Normal	Media 3,72	DE 2,82	Mín 0	Máx TransMax
Cambio de temperatura durante el transporte	Trans_DTemp2	°C	= IF (Trans_Temp-Rtl_Temp<=0,0,Trans_DTemp1				
Temperatura del pollo después del transporte	Post_Trans_Temp	°C	=Rtl_Temp_Trans_DTemp2				
Temperatura promedio del transporte	Avg_Trans_Temp	°C	=Average(Rtl_Temp, Post_Trans_Temp)				
Duración del transporte	Trans_Time	Minutos	Correlación Acumulativa	Min 5	Max 240	CF -0,75	
Crecimiento por hora (Log)	LogSGR_Trans	log/hr	=EXP(-6.2251 -(0,0114*NaCl)+(0,3234*Avg_Trans_Temp) +(0,002*(NaCl*Avg_Trans_Temp (0,0085*(NaCl* NaCl))- (0,0045*(Avg_Trans_Temp*Avg_Trans_Temp))))				
Crecimiento total durante el transporte (Log)	Trans_growth	log	=IF(Avg_Trans_Temp<MGT,0,Trans_Time/60*LogSGR_Trans)				

Anexo 3. Descripción y parámetros del modelo: almacenamiento del producto en el domicilio del consumidor. Modificado de FAO/WHO 2002.

Descripción	Variable	Unidad	Distribución o Ecuación				
Temperatura de almacenamiento en el hogar	Home_Temp	°C	Normal	Media 4	DE 2,65	Min -6,1	Max 21,1
Tiempo de almacenamiento en el hogar	Home_Time	días	Correlación PERT	Min 0	ML 2	Max 5	CF -0,75
Crecimiento por hora (Log)	LogSGR_Home	Log/hr	$=EXP (-6,2251 -(0,0114*NaCl)+(0,3234*Home_Temp) + (0,002*(NaCl*Home_Temp))-(0,0085*NaCl*NaCl)) - (0,0045*(Home_Temp* Home_Temp))$				
Crecimiento Total en el hogar (Log)	Home_growth	log	+IF(Home_Temp<MGT,0, Home_Tiempo*24* LogSGR_Home)				
Crecimiento (almacenamiento, transporte y hogar)	Growth	log	Rtl_growth+Trans_growth+Home_growth				

Anexo 4. Descripción y parámetros del modelo: preparación y cocción del producto. Modificado de FAO/WHO 2002.

Descripción	Variable	Unidad	Distribución o Ecuación			
Probabilidad de inadecuado cocimiento	Prob_AC	-	Pert	Min 0,05	ML 0,10	Max 0,15
Adecuado cocimiento	AC	-	=binomial(1,1-Prod_AC)			
Proporción de células en áreas con cambio en supervivencia	Prop_Prot		Pert	Min 0,10	ML 0,16	Max 0,20
Número de células con cambio en supervivencia	Num_Prot	Log	=IF(Conc=0,0,LOG10(10^Conc*Prop_Prot))			
Tiempo de exposición y temperatura de células en "áreas protegidas"	Time_Prot	minutos	Pert	Min 0,50	ML 1,00	Max 1,50
Temperatura de exposición durante en cocimiento en "áreas protegidas"	Temp_Prot	°C	Pert	Min 60	ML 64	Max 65
D-valor (a esta temperatura)	D_Prot	minutos	=10^(-0,139*Tem_Prot+8,58)			
Reducción en "áreas protegidas" Log	Prto_LR	log	=IF(AC=1,"death",Time_Prot/D_Prot)			

Anexo 5. Descripción y parámetros del modelo: contaminación cruzada durante la preparación del producto. Modificado de FAO/WHO 2002.

Descripción	Variable	Unidad	Distribución o Ecuación			
Número de organismos / ave	Num	células	=IF(Conc=0,0,10^Conc)			
Pollo - Manos						
Transferencia de pollos a manos	XCH	-	=IF(Num=0,0,1)			
Proporción transferida del pollo	Pop_CH	proporción	Pert	Min 0	ML 0,1	Max 0,15
Número en manos	Num_H	células	=IF(XCH=0,0,Num*Prop_CH)			
Manos - Otro alimento						
Probabilidad de que manos no se laven	HW_Prob	-	Beta	alpha 64	beta 46	
Manos no lavadas	HW	-	=binomial(1,HW_Prob)			
Proporción transferida de manos	Prop_HF	-	Pert	Min 0,00	ML 0,10	Max 0,15
Número de otras alimentos vía manos	Num_OF1	-	=IF(HW=0,0,Num_H*Prop_HF)			
Pollo – Tabla						
Transferencia de pollo hacia tabla	XCB	-	=IF(Num=0,0,1)			
Proporción transferida de pollo a tabla	Prop_CB	Proporción	Pert	Min 0	ML 0,1	Max 0,15
Número de tablas	Num_B	células	=IF(XCB=0,0,Num*Prop_CB)			
Tabla - Otros alimentos						
Tabla usados por otro alimento	Brd_use	-	=binomial(1,Brd_use_Prob)			
Proporción transferida / tabla	Prop_BF	-	Pert	Min 0,00	ML 0,10	Max 0,15
Número de otros alimentos vía tabla	Num_OF2	-	=IF(Brd_use=0,0,Num_B*Prop_BF)			
Número ingesta vía contaminación cruzada	Num_XC	células	=Num_OF+Num_OF2			
Ingestion vía contaminación cruzada	-	-	+IF(Num_XC=0,0,1)			

Anexo 6. Descripción y parámetros del modelo: consumo del producto. Modificado de FAO/WHO 2002.

Descripción	Variable	Unidad	Distribución o Ecuación			
Peso de la carcasa	Broiler_WT	gramos	Pert	Min 1100	ML 1500	Max 2500
Proporción comestible de carne	Prop_edible	-		Fixed 0,3		
Peso comestible de carne	Edible_WT	gramos		=Broiler_WT*Prop_Comestible		
Tamaño pieza	Serve_size	gramos	Cumulativo	Min 19		Max 550
Número de piezas por pollo	Num_Serve	-		=IF(Comestible_WT<Serve_Size,1, ROUND(Edible_WT/Serve_Size,0))		