

AISLAMIENTO DE *Salmonella* EN CANALES DE AVES Y EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE DIFERENTES MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO Y SELECTIVOS

Isolation of *Salmonella* in Poultry Carcasses and Evaluation of the Effectiveness of Different Enrichment and Selective Media

Carlos Pérez¹, Sergio Rivera¹, Angela Pirela de Verá², Hirwin Rincón¹, Yaneth Mavárez² y Rafael Román¹

¹Universidad de Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias. E-mail: carlpere@cantv.net. ²LABSUR C.A. Empresa Privada.

RESUMEN

Se evaluó la frecuencia de salmonela en canales de aves y la efectividad de su aislamiento en diferentes medios de cultivo de enriquecimiento y selectivos. Noventa y un canales de pollos fueron tomadas directamente de la cadena de procesamiento de dos plantas beneficiadoras (estado Zulia, Venezuela). Para el aislamiento, fueron usados medios de enriquecimiento y selectivos. Los medios de enriquecimiento incluyeron: Caldo Selenito Cistina (CS) y Caldo Tetrionato (CT). Los medios selectivos incluyeron: Bismuto Sulfito Agar (BSA), Xylosa Lisina Desoxicholato (XLD), Verde Brillante (VB) y *Salmonella Shigella* Agar (SSA). Cada medio de enriquecimiento fue combinado con todos los 4 medios selectivos, resultando en 8 combinaciones diferentes de medios por muestra. Los análisis estadísticos fueron realizados con el procedimiento lineal general del SAS, sobre la transformación arcoseno de los porcentajes. El modelo lineal incluyó los efectos de semana, medio de enriquecimiento, medio selectivo y la interacción entre estos últimos. De las 91 canales, 21 resultaron positivas para el aislamiento de salmonela (23,08%). De los casos que resultaron positivos para salmonela, fueron identificados por serología cuatro (4) *S. enteritidis* y cuatro (4) *S. typhimurium*. También fueron aisladas salmonelas del grupo C2 y otras salmonelas no clasificadas. Fue obtenido un porcentaje de aislamiento significativamente mayor ($P \leq 0,001$) cuando fue usado CT (8%) comparado con CS (1%). No fue observada diferencia significativa entre los medios selectivos, aunque el mayor porcentaje de aislamiento ocurrió cuando se usaron los medios XLD y BSA. Este estudio confirma la presencia de salmonela en canales de aves, específicamente *S. enteritidis* y *S. typhimurium*. El medio CT resultó en mayores porcentajes de aislamientos que el medio CS.

Palabras clave: *Salmonella*, enriquecimiento, medio selectivo, canales, pollo de engorde.

ABSTRACT

The frequency of the salmonela was evaluated in poultry carcasses and the effectiveness of its isolation in different enrichment and selective media. Ninety one broiler carcasses were taken directly from the processing line of two slaughter houses (Zulia state, Venezuela). For the isolation, enrichment and selective media were used. Enrichment media included Selenite Cystine Broth (SCB) and Tetrionate Broth (TTB). The selective media used, were Bismuto Sulfito Agar (BSA), Xylose Lisine Desoxicholato (XLD) Brilliant Green (BG) and *Salmonella Shigella* Agar (SSA). Each enrichment media was combined with all four selective media, resulting in 8 different media combinations per sample. The statistical analysis was carried out using the general lineal procedure of S.A.S., and the arccosine transformation of the percentages. The lineal model included the effects of week(time), enrichment media, selective media and the interaction between the two media. Of the 91 carcasses 21 resulted positive for isolation of salmonela (23.08%). Of all the cases that resulted positives by serology for salmonela, *S. enteritidis* and *S. typhimurium* were identified in 4 carcasses each. Salmonela from the C2 group and the other unclassified salmonelas were also isolated. A significantly greater ($P \leq 0.001$) isolation percentages was obtained when TTB (8%) was used compared with SCB (1%). No significant differences were observed among selective and differential media, although higher isolation percentages were obtained when using the XLD and BSA media. This study confirms the presence of salmonela in poultry carcasses, specifically *S. enteritidis* and *S. typhimurium*. The TTB media resulted in greater isolation percentages than SCB media.

Key words: *Salmonella*, enrichment, selective media, carcasses, broiler.

INTRODUCCIÓN

En el ámbito avícola, podemos dividir las salmonelas en dos importantes grupos: las salmonelas inmóviles y las móviles. Las salmonelas móviles, llamadas también paratifoideas son capaces de ocasionar toxoinfecciones en animales de sangre fría o caliente incluyendo al hombre. Las inmóviles están representadas por las dos únicas serovariedades de salmonelas huésped específico para las aves: *S. pullorum* y *S. gallinarum*, responsables de la pulorosis y la tifoidea o tifosis aviar respectivamente [4], siendo estas enfermedades de declaración obligatoria por estar en un programa de erradicación nacional según resolución oficial del Programa Nacional contra Salmonelosis aviar [21].

Desde el punto de vista económico las infecciones paratifoideas están entre las enfermedades bacterianas más importantes de la industria avícola [17]. Según estudios recientes, las paratifoideas más frecuentes en los ambientes avícolas son las *S. enteritidis* y la *S. typhimurium* [14, 19, 24].

La producción avícola doméstica constituye el reservorio más grande de salmonela que existe en la naturaleza, presentándose con mayor frecuencia en las aves que en otras especies animales [4]. Siendo los productos avícolas una importante fuente de proteína animal para el humano, el pollo se ha considerado en nuestro país, un punto álgido de estudio para la medicina preventiva, puesto que éste, puede ser la principal causa de intoxicaciones alimentarias [16].

Las técnicas para el aislamiento de la salmonela están bien señaladas [8, 12]; sin embargo, existen algunas combinaciones entre medios de cultivos de enriquecimiento y medios de cultivos selectivos que tienen mayor eficacia para la detección o aislamiento de microorganismos de este género.

La amplia gama de medios de enriquecimiento y medios selectivos para el aislamiento de microorganismos del género salmonela existente en el mercado, exalta el interés en reconocer las ventajas de unos con respecto a otros y la mejor combinación entre medios de enriquecimiento y selectivos.

Los objetivos de esta investigación fueron evaluar las diferencias en cuanto a resultados de aislamientos de salmonela en canales de aves utilizando diferentes medios de enriquecimiento para determinar la mejor combinación entre dichos medios y medios selectivos; en virtud de que existen investigaciones que aseguran un mejor desempeño de algunos de ellos con respecto a otros [10, 11, 16, 25, 26]. Así mismo determinar serológicamente la frecuencia de *S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium* y *Salmonella spp.*, aisladas de los canales de pollo, beneficiadas, en dos plantas procesadoras de aves; otro objetivo fue determinar el aislamiento de la salmonela en cada una de las semanas que duró el estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación fue realizada en el marco geográfico del noreste del estado Zulia, la zona es clasificada como bos-

que muy seco tropical según Morales y col. [23], con temperatura promedio de 30°C y una precipitación que oscila entre los 400 y 600 mm/año. La región cuenta con una población avícola soportada en 365 granjas de pollos de engorde [13].

El estudio tomó como referencia dos plantas de procesamiento de aves, ubicadas cada una en diferente localidad, suficientemente alejadas una de otra para poder inferir sobre la posibilidad de diferencias en cuanto al área de influencia. Las plantas procesadoras distribuyen su producto a toda la región zuliana por lo que la presencia del problema representaría un riesgo importante.

Las muestras de canales de aves fueron tomadas semanalmente hasta completar un lapso total de seis semanas de muestreo. Los procedimientos de aislamiento e identificación se realizaron en el laboratorio de la cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia.

Muestra

El estudio se realizó durante 6 semanas consecutivas. Se seleccionaron al azar 91 canales de aves beneficiadas correspondiendo 45 a una planta denominada A (primeras 3 semanas) y 46 a una planta denominada B (siguientes 3 semanas). Las unidades experimentales fueron las 15 canales tomadas semanalmente durante las primeras 5 semanas, exceptuando la última donde se muestreó un total de 16 canales; todas en el punto previo al empacado, directamente de la cadena de procesamiento de cada una de las plantas a una misma hora (8:00 a.m.) y el mismo día de la semana (lunes).

Es importante señalar que cada semana de estudio se sacrificaron aves de diferentes granjas y diferentes sectores del área geográfica señalada, según información aportada por la gerencia de las plantas procesadoras.

Luego de recolectadas y debidamente refrigeradas, fueron llevadas en una cava con hielo e inmediatamente trasladadas hacia el laboratorio donde, al llegar, se realizaron los procedimientos descritos a continuación:

Aislamiento e identificación de salmonela

Se tomó como base para el aislamiento las normas estandarizadas de COVENIN [8], las cuales se realizan como rutina en los laboratorios de diagnósticos en el país tanto para el aislamiento de la bacteria en aves, como en alimentos para el consumo humano. Con la finalidad de probar la eficiencia de los medios en estudio se procedió a realizar modificaciones en el esquema de procedimientos que consistieron en el uso de más de un medio de enriquecimiento incluyendo el CT con solución de yodo 2% + verde brillante al 1% y CS F. Igualmente se utilizaron como medios selectivos XLD, SSA, VB, BSA combinados con ambos medios de enriquecimiento antes mencionados.

Las Pruebas Bioquímicas Preliminares y Confirmativas se realizaron utilizando la metodología descrita por Bailey [1].

Pruebas serológicas

Las salmonelas fueron serotipificadas de acuerdo a su antígeno somático (O), y antígeno flagelar (H). La fórmula antigénica de los serotipos de salmonela están enumerados en el esquema de clasificación de Kauffman-White y son expresados de la siguiente manera: antígeno O, antígeno Vi (cuando está presente), antígeno H (en fase 1) y antígeno H (en fase 2 cuando está presente) [12].

La determinación de los antígenos "O" y flagelar "H" fueron realizadas utilizando la técnica descrita por Edwards y Edwing [9].

Análisis estadístico

El diseño correspondió a un arreglo factorial 2 x 4 [31], donde las diferentes combinaciones entre medios de cultivos de enriquecimiento y selectivos arrojaron 8 observaciones por cada muestra en estudio obteniéndose un total de 728 observaciones.

La variable respuesta fue el número de observaciones positivas por muestra (n= 15), durante un período de 5 semanas y una sexta semana (n=16) para un total de 91 muestras. Los datos fueron analizados con un modelo lineal que incluyó los efectos de semana, medio de enriquecimiento y medio de cultivo selectivo y la interacción entre éstos dos últimos; sobre las proporciones de ocurrencias de casos positivos al menos al antisuero polivalente de salmonela, para las 8 combinaciones resultantes de los 2 niveles de enriquecimientos y los 4 niveles de medios selectivos.

Debido a que esta variable sigue una distribución binomial, para el análisis se realizó una transformación arcoseno sobre los porcentajes con la finalidad de corregir una posible heterogeneidad de la varianza, lo cual compromete la validez de los supuestos básicos del análisis de la varianza de tal manera que con esta transformación se rompe la posible relación entre μ y σ^2 .

Escrito en forma explícita el modelo es el siguiente:

$$Y_{ijk} = S_i + E_j + M_k + EM_{jk} + E_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} = Porcentaje de casos serológicamente positivos (al menos a alguno de los sueros probados)

S_i = Efecto de la i ésima semana ($i = 1, \dots, 5$)

E_j = Efecto del j ésimo medio de enriquecimiento ($j = 1, \dots, 2$)

M_k = Efecto del k ésimo medio selectivo ($k = 1, \dots, 4$)

EM_{jk} = Efecto de la interacción entre el k ésimo medio selectivo y diferencial y el j ésimo medio de enriquecimiento

E_{ijk} = Efecto de los factores no controlados en el experimento sobre la unidad experimental sujeta al k ésimo medio selectivo y diferencial, al j ésimo medio de enriquecimiento y medida en la i ésima semana.

La prueba de χ^2 se utilizó para demostrar la significancia de la diferencia encontrada entre los aislamientos en cada una de las plantas procesadoras.

Dichos análisis fueron realizados utilizando el PGL del paquete estadístico SAS 8,1 [32].

Las comparaciones entre proporciones de ocurrencia de casos positivos para los efectos significativos, fueron determinados mediante pruebas de t .

RESULTADOS

Para un total de 91 muestras procesadas, 26 de ellas resultaron positivas a la bioquímica para salmonela (28,57%) y 65 casos negativos (71,43%). De los 26 aislamientos bioquímicamente positivos, 21 de ellos fueron confirmados por serología de salmonela, lo cual representó un 23,08%, TABLA I.

Del total de aislamientos, 4 se identificaron como *S. enteritidis* y 4 como *S. typhimurium*, TABLA II.

No se aislaron salmonelas inmóviles, descartándose la presencia de *S. pullorum* y *S. gallinarum*.

Del total de las 728 observaciones producto de las combinaciones de medios de enriquecimiento y medios de cultivo selectivos, 35 resultaron positivas a la bioquímica para salmonela, sin embargo sólo 30 de ellas fueron confirmadas por la serología como microorganismos de este género, TABLA II.

Así mismo se muestra en la misma TABLA, que la distribución de las observaciones positivas bioquímicamente para salmonela fue de la siguiente manera: *S. enteritidis*, 7 cepas de 35 en total con un porcentaje de aislamiento de 20%, *S. typhimurium* en 6 observaciones de 35, con un 17,14%. Además se lograron agrupar 13 salmonelas en el grupo C2, representando un 37,14%, mientras que 4 aislamientos reaccionaron con el antisuero polivalente de salmonela, (11,43%) y 5 observaciones resultaron negativas a la serología, con proporción de (14,29%).

En 3 muestras, equivalentes cada una a diferentes canales de aves, se aislaron más de un serotipo de salmonela por muestra. Las combinaciones observadas fueron: grupo C2 con grupo B (*S. typhimurium*), grupo C2 con grupo D (*S. enteritidis*) y grupo C2 con *Salmonella spp*, TABLA II.

TABLA I
NÚMERO Y PORCENTAJES DE POSITIVOS Y NEGATIVOS AL AISLAMIENTO DE SALMONELA PARA MUESTRAS DE CANALES DE POLLOS DE ENGORDE (N = 91)

Muestras	Resultados Bioquímica	%	Resultados Serología	%
Positivas	26	28,57	21	23,08
Negativas	65	71,43	70	76,92
Total	91	100	91	100

TABLA II
**RESULTADOS SEROLÓGICOS PARA LOS AISLAMIENTOS DE LAS CEPAS BIOQUÍMICAMENTE
 COMPATIBLES CON SALMONELA**

N° Obs.	N° Muestra	Med. Enriquecimiento	Med. Selectivo	Bioquímica	Serología	
					Serogrupo	Serotipo
1	1	CT	BSA	Compatible	B	<i>S. tiphymurium</i>
2	2	CT	XLD	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
3	3	CS	SSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
4	3	CT	BSA	Compatible	B	<i>S. tiphymurium</i>
5	3	CT	XLD	Compatible	B	<i>S. tiphymurium</i>
6	3	CT	SSA	Compatible	B	<i>S. tiphymurium</i>
7	5	CT	XLD	Compatible	Poli	<i>Salmonella spp</i>
8	6	CT	BSA	Compatible	N	NEGATIVO
9	7	CT	XLD	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
10	7	CT	BSA	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
11	7	CT	SSA	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
12	7	CS	SSA	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
13	8	CT	XLD	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
14	11	CT	BSA	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
15	11	CT	XLD	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
16	13	CS	SSA	Compatible	N	NEGATIVO
17	15	CT	SSA	Compatible	Poli	<i>Salmonella spp</i>
18	15	CT	BSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
19	16	CT	SSA	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
20	27	CT	BSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
21	32	CT	BSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
22	34	CT	BSA	Compatible	Poli	<i>Salmonella spp</i>
23	37	CT	XLD	Compatible	D	<i>S. enteritidis</i>
24	40	CT	BSA	Compatible	Poli	<i>Salmonella spp</i>
25	48	CT	BSA	Compatible	N	NEGATIVO
26	50	CT	BSA	Compatible	N	NEGATIVO
27	52	CT	XLD	Compatible	N	NEGATIVO
28	55	CT	VB	Compatible	B	<i>S. tiphymurium</i>
29	68	CT	XLD	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
30	72	CT	SSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
31	72	CT	XLD	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
32	75	CT	XLD	Compatible	B	<i>S. tiphymurium</i>
33	78	CT	BSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
34	84	CT	BSA	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>
35	86	CT	XLD	Compatible	C2	<i>Salmonella spp</i>

CT: Caldo tetrionato. CS: Caldo selenito. BSA: Bismuto Sulfito Agar. XLD: Xilosa Desoxicolato Agar. SSA: *Salmonella Shigella* Agar. VB: Verde Brillante. Las letras B, C y D se refieren al serogrupo mientras que la abreviatura "Poli" se refiere a que fue [+] al antisuero polivalente. Tono de colores diferentes denotan protocolos diferentes.

De 45 muestras tomadas de la planta A, 14 resultaron positivas por serología a salmonela, lo cual representó un 31,1%, mientras que en la planta B, de un total de 46 muestras procesadas, 7 resultaron positivas serológicamente a ésta, representando un 15,22%. Esta diferencia no fue significativa ($P \leq 0,5$), TABLA III.

La TABLA IV muestra una diferencia significativa ($P \leq 0,001$) entre las proporciones de aislamientos con los medios CS y CT. El CT resultó con mayor tasa de positividad en relación al CS, con una proporción de 0,08 para el primero y 0,01 para el segundo.

El mayor porcentaje de positividad para el medio de enriquecimiento CT, se mantuvo con cualquiera de los medios selectivos utilizados en este estudio a excepción de la combina-

TABLA III
NÚMERO Y PORCENTAJES DE POSITIVOS Y NEGATIVOS AL AISLAMIENTO DE SALMONELA PARA MUESTRAS Y PLANTAS PROCESADORAS EN CANALES DE POLLOS DE ENGORDE

Plantas Muestras	A	B	Total
Negativas	31 (68,89%)	39(84,8%)	70 (76,2%)
Positivas	14 (31,11%)	7 (15,2%)	21 (23,8%)
Total	45	46	91

TABLA IV
PROPORCIONES AJUSTADAS Y ERROR TÍPICO PARA POSITIVIDAD EN EL AISLAMIENTO DE SALMONELA SEGÚN MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO

Enriquecimiento	Aislamientos	Proporción	Error Típico
CS	2	0,01 a	0,01
CT	28	0,08 b	0,01

Proporciones marcadas con letras distintas son estadísticamente diferentes ($P \leq 0,001$).

TABLA V
PROPORCIONES AJUSTADAS Y ERROR TÍPICO PARA EL EFECTO DE LA INTERACCIÓN ENTRE MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO Y SELECTIVOS EN EL AISLAMIENTO DE SALMONELA EN POLLOS DE ENGORDE

Enriquecimiento	Sel. y Díf.	Aislamientos	Proporción	E. Típico
CS	BSA	0	0,00	0,03
CS	SSA	2	0,02	0,03
CS	VB	0	0,00	0,03
CS	XLD	0	0,00	0,03
CT	BSA	11	0,12	0,03
CT	SSA	5	0,06	0,03
CT	VB	1	0,01	0,03
CT	XLD	11	0,12	0,03

ción CS-SSA, la cual resultó mejor que la combinación CT-VB, TABLA V. La misma TABLA muestra que no hubo diferencia significativa para las interacciones entre medios de enriquecimiento y medios selectivos, sin embargo, las proporciones de positividad para el CS con cualquier combinación oscilaron entre 0 y 2%, en tanto que para las combinaciones con CT, el rango de éstas estuvo entre 1 y 12%. Los mayores casos de ocurrencia de positividad se encontraron para las combinaciones de medios de enriquecimiento y medios selectivos CT-BSA y CT-XLD con 11 aislamientos en cada una de ellas, lo cual representó una proporción de 0,12. La combinación de los medios CT-SSA obtuvo 5 aislamientos para una proporción de 0,06. Las combinaciones CS-SSA y CT-VB, mostraron 2 y 1 aislamientos, para proporciones de 0,02 y 0,01 respectivamente. No se obtuvieron observaciones positivas para las combinaciones CS-BSA, CS-VB y CS-XLD, TABLA V.

Analizando separadamente los medios de cultivos selectivos, se puede observar, que el mayor porcentaje de positividad resultó ser para los medios BSA y XLD con 11 aislamientos cada uno lo cual representó una proporción de 0,06, seguido del medio SSA con 7 aislamientos para una proporción de 0,04 y por último el VB con 1 aislamiento (proporción de 0,01). Sin embargo, no existió diferencia estadística para estos resultados, TABLA VI.

Los aislamientos observados durante la primera semana de la toma de la muestra, resultaron significativamente diferentes ($P \leq 0,05$), con proporción de 0,13, en comparación con las observaciones positivas obtenidas en las cinco semanas subsiguientes, TABLA VII.

DISCUSIÓN

Un 23,08% de las canales de aves evaluadas, resultaron positivas al aislamiento de salmonelas, todas ellas paratifoideas. Se confirma la importancia de estas canales como vehículo de infección para el humano. Varios autores extranjeros han reportado igualmente aislamientos de salmonelas pa-

TABLA VI
PROPORCIONES AJUSTADAS Y ERROR TÍPICO PARA
POSITIVIDAD EN EL AISLAMIENTO DE SALMONELA
PARA MEDIOS SELECTIVOS

Medio Selectivo	Aislamientos	Proporción	Error Típico
BSA	11	0,06	0,0378
SSA	7	0,04	0,0378
VB	1	0,01	0,0378
XLD	11	0,06	0,0378

TABLA VII
PROPORCIONES AJUSTADAS Y ERROR TÍPICO PARA
EL EFECTO DE SEMANA DE MUESTREO EN EL
AISLAMIENTO DE SALMONELA EN CANALES
DE POLLOS DE ENGORDE

Semana	Aislamientos	Proporción	Error Típico
1	16	0,13 a	0,02
2	2	0,02 b	0,02
3	4	0,03 b	0,02
4	1	0,01 b	0,02
5	4	0,03 b	0,02
6	3	0,02 b	0,02

Proporciones marcadas con letras distintas son estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

ratifoideas a nivel mundial [5, 7, 14, 18, 24, 27, 28, 29, 30], con un rango de aislamiento para sus resultados que osciló entre 18 y 41%.

Así mismo, estudios realizados en el centro y occidente de Venezuela, reportan diferentes resultados de aislamientos de microorganismos del género *Salmonella* en canales de aves que señalan desde un solo aislamiento en 128 canales de aves [33], 32,5% de canales muestreadas [16]; hasta un total de 41 casos positivos de 45 canales estudiadas para un porcentaje de 91% [26]. Estos resultados indican la reducción del problema a través del tiempo en Venezuela, sin embargo el 23,08% de aislamientos reportados en la presente investigación, no mejora la situación planteada por Valera y col. [33].

No se aislaron las salmonelas responsables de la pulorosis y tifoidea aviar (*S. pullorum* y *S. gallinarum*), en ninguna de las plantas procesadoras evaluadas. Las mismas no han sido reportadas durante los últimos años en Venezuela, lo cual podría explicar estos resultados. Mendoza [20], aplicando técnicas de aislamientos de *salmonella* en reproductoras, a nivel central en Venezuela, tampoco reportó la presencia de estas dos especies patógenas.

Esta situación puede tener su explicación debido a que existe un Programa Nacional contra la Salmonelosis, del Ministerio de Agricultura y Cría, actualmente Ministerio de Pro-

ducción y Comercio en Venezuela y su resolución oficial del mismo año [21, 22], en el cual se contempla el control y erradicación de la pulorosis y tifoidea aviar. Las integraciones avícolas están aplicando el mencionado programa de control, concientes de que la presencia de estas salmonelas en granjas representaría grandes pérdidas económicas para las empresas.

Los aislamientos de *salmonellas* en canales de aves en la planta A duplicaron los de la planta B. La diferencia observada en la frecuencia de aparición de la salmonela entre los mataderos A y B pudieran deberse a la ubicación de las mismas, puesto que una se encuentra en el norte y la otra en el sur del estado Zulia respectivamente y por ende atienden grupos de granjas diferentes, siendo notoriamente mayor el número de granjas en el norte. Resulta probable que tal diferencia se deba a la cantidad de granjas presentes en cada zona y al tipo de manejo en cada una. Sin embargo esta diferencia no fue significativa.

Las diferencias observadas en el aislamiento de salmonelas paratifoideas, utilizando diferentes medios de cultivo de enriquecimiento y selectivos, han sido previamente reportadas por investigadores en otras partes del mundo [6, 28]. Estos autores, utilizando métodos de detección molecular para la *Salmonella*, demostraron que el medio de cultivo CT resultó mejor que el medio CS, corroborado a nivel nacional por Infante y col. [16], lo cual apoya los resultados obtenidos en la presente investigación, donde el medio CT superó en ocho veces la capacidad de aislamiento en comparación con el medio CS, para la detección de *Salmonella*; resultando éste diferente estadísticamente. Estudios de aislamientos de salmonela realizados en diferentes muestras de alimentos, comparando similarmente los medios CT y CS, no encontraron ninguna diferencia significativa entre estos [18].

No se observaron diferencias significativas entre aislamientos producto de la combinación de los medios de enriquecimiento (CT y CS) con los medios selectivos (XLD, SSA, BSA y VB), sin embargo, se observó una diferencia numérica importante a favor de las combinaciones que involucran al medio CT, especialmente CT-BSA y CT-XLD, las cuales incrementaron sustancialmente el número de aislamientos con respecto al resto de las combinaciones. Carli, y col. [5], reportaron mayores porcentajes de aislamientos (18%) de salmonela con la combinación CT-XLT4. En esta oportunidad no se consideraron las combinaciones CT-XLD y CT-BSA. De igual manera el medio selectivo XLD combinado con Manitol Lisina Cristal Violeta Verde Brillante (MLCVVB), fue sugerido por otros investigadores como responsable de mayores aislamientos [25], sin embargo estos investigadores tampoco consideraron el medio BSA.

Ruiz y col. [27], combinando el medio CS con Verde Brillante más Novobiocina y Glicerol Lactosa (VBNGL), demostraron una mayor positividad en la recuperación de salmonela, a partir de 1000 muestras de rutina recolectadas en humano.

Nascimento y col. [24], utilizando combinaciones de los medios de enriquecimiento CT y CS y medios selectivos como el agar MacConkey (MC), agar Hektoen (HE), agar Rappaport Vasiladis (ARV) con novobiocina, XLD y SSA; en canales de aves, no consiguieron diferencia significativa.

El 19,05% de las salmonelas aisladas de las canales de aves correspondió a *S. enteritidis* y el mismo porcentaje a *S. typhimurium*, resultados que se encuentran muy por debajo de los anteriores reportes, sin embargo en Venezuela, Infante y col. [16] aseveran que el 31,2% de sus aislamientos en canales de aves, correspondieron a *S. enteritidis*, y sólo 6,3% a *S. typhimurium*.

En tres muestras, equivalentes cada una a diferentes canales de aves, se aislaron más de un serotipo de salmonela. Las combinaciones observadas fueron: grupo C2 (no identificada) con grupo B (*S. typhimurium*), grupo C2 (no identificada) con grupo D (*S. enteritidis*) y grupo C2 (no identificada) con *Salmonella spp.* Este resultado es similar al reportado por Infante y col. [16], sin embargo, en su estudio, las combinaciones observadas en canales con más de un serotipo fueron: en una muestra, grupo E1 (*S. anatum*) y grupo C2 (*S. hadar*), mientras que en la otra muestra la combinación resultó, grupo E1 (*S. anatum*), grupo C2 (*S. hadar*) y grupo B (*S. typhimurium*).

Otras investigaciones realizadas por diferentes autores [2, 3, 14, 15, 19], reportaron *S. enteritidis* como el serotipo mayormente encontrado en canales de aves en porcentajes que alcanzó un 66%. Recientemente, Carli y col. [5] reportaron que el 81,5% de los aislamientos en un estudio similar, correspondieron a *S. enteritidis*.

El resto de las salmonelas aisladas en el presente estudio correspondió a salmonelas del grupo C2 y otras bioquímicamente compatibles al género, fueron identificadas con el antisuero polivalente de salmonela sin llegar a especificar el serotipo. Según Edwards y Edwing [9], existen cepas rugosas auto aglutinables, antígenos Vi (antígenos capsulares que no permiten que los antígenos somáticos queden expuestos para ser reconocidos y reaccionar con los anticuerpos), y géneros como el *Citrobacter* y *Proteus*, que dan reacciones cruzadas para el antisuero polivalente utilizado.

Aun cuando la diferencia observada en los aislamientos entre las dos plantas procesadoras de aves no fue significativa, la planta A, ubicada en el norte del estado Zulia, duplicó el número de casos positivos con respecto a la planta B, ubicada en el sur del Estado. Por otra parte, las muestras positivas tomadas la primera semana del ensayo, el mismo día, a la misma hora y en el mismo punto del proceso de matanza, resultaron estadísticamente diferentes TABLA VII en comparación con el resto de las tomas efectuadas de las semanas subsiguientes. Si tomamos en cuenta que la planta beneficiadora A atiende zonas de mayor concentración avícola que la planta procesadora B y las aves beneficiadas de la primera semana de ensayo provienen de un grupo de granjas diferentes; se

puede inferir que la infección proviene preferiblemente de las granjas y no de las plantas procesadoras. Sin embargo en plantas procesadoras del estado Zulia se demostró la posibilidad de contaminación cruzada en el proceso de matanza [33]. Queda abierta la posibilidad de que las canales de aves que resultaron positivas mediante las pruebas bioquímicas y serológicas, pudieron ser contaminadas en el mismo proceso de matanza. Debe recordarse que varias de las canales que resultaron positivas al aislamiento de salmonela, lo fueron a varios serotipos, evidencia que enfoca hacia ésta última posibilidad. Además, resalta el hecho de que el proceso de matanza, por sus características, tenga que ver con la calidad bacteriológica de las aves beneficiadas y que el hombre pueda en el mismo proceso contaminarlas.

CONCLUSIONES

1. El medio de enriquecimiento CT resultó superior en el aislamiento de *Salmonella spp.* en comparación con el medio CS.
2. Las mejores combinaciones de medios de enriquecimiento con medios selectivos resultaron: CT-BSA y CT-XLD.
3. Serológicamente se detectaron, exclusivamente, salmonelas paratifoideas, específicamente *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, igualmente se detectaron salmonelas del grupo C2 y el resto fueron identificados como *Salmonella spp* usando el antisuero polivalente.
4. Desde el punto de vista epidemiológico, el número e identificación de los aislamientos por semanas y planta procesadora, permite inferir que la contaminación proviene, preferiblemente de las granjas y no de las plantas procesadoras.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios epidemiológicos para determinar la verdadera procedencia de los focos de infección de Salmonelas paratifoideas aisladas de las canales de aves en el estado Zulia.

Los organismos gubernamentales competentes, universidades e institutos de investigación deben realizar un monitoreo constante en las plantas procesadoras de aves, para determinar la magnitud, frecuencia y distribución de los microorganismos del grupo *Salmonella* en canales de aves en el estado Zulia; como fuente de contaminación permanente para el humano. Así mismo, descartar la posibilidad de aislamiento de las salmonelas inmóviles que son objeto de erradicación en Venezuela. Mejorar las medidas sanitarias, tanto en los planteles avícolas como en plantas procesadoras de aves como un factor importante para el control a favor de la eliminación de la

salmonela en canales de aves y por ende, poder ofrecer un producto de mayor calidad para el consumidor.

AGRADECIMIENTO

El grupo de investigadores desea expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia, por el aporte financiero brindado a esta investigación. Así mismo, al personal que labora en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias-LUZ, y a quienes de alguna manera aportaron su apoyo para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BAILEY, S., **Diagnóstico Bacteriológico**. 6ta. ed. Editorial Médica Panamericana. México. 670 pp. 1983.
- [2] BAUMGARTNER, A.; HEIMANN, P.; SCHMID, H.; LINIGER, M.; SIMMEN, A. *Salmonella* Contamination of Poultry Carcasses and Human Salmonellosis. **Archiv-fur- Lebensmittelhygiene**. 43 (6): 123-124. 1992.
- [3] BERNARDO, F.M.A.; MACHADO, J.C.C. Prevalence of *Salmonella* in Broiler Carcasses in Portugal; Epidemiological Implications for Man. **Rev. Portuguesa de Cien. Vet.** 84 (489): 31- 45. 1989.
- [4] CALNEK, B. **Enfermedades de la Aves**. 1 era Ed. en Español Traducida de la 9na Edición en Inglés. Editorial Manual Moderno. México. 1147 pp. 1995.
- [5] CARLI, K. T.; EYIGOR, A.; CARNER, V. Prevalence of *Salmonella* Serovars in Chickens in Turkey. **J. of Food Protec.** 64 (11): 1832-1835. 2000a.
- [6] CARLI, K. T.; UNAL, C.; CARNER, V.; EYIGOR, A. Detection of *Salmonella* in Chicken Feces by a Combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR, and Gel Electrophoresis. **J. of Clin. Microb.** 39 (5): 1871-1876. 2001b.
- [7] CARRAMINANA, J.J.; HERRERA, A.; AGUSTIN, A.; YANGELA, J.; BLANCO, D.; ROTA, C. Incidence of *Salmonella* on Broiler Carcasse and Livers in a Poultry Slaughterhouse- Impact of Processing Procedures on the Contamination. **Microbiology-Aliments, Nutrition**. 12 (1): 75-85. 1994.
- [8] COVENIN. **Normas para Determinación de Salmonella**. 1291. Venezuela. 1988.
- [9] EDWARDS, P.; EDWING, W.H., **Identification of Enterobacteriaceae**. 3rd Ed. 146-224 pp. 1972.
- [10] EUR, J. Evaluation Of Methods For Isolation of *Salmonella* Species Using Modified Semisolid Rappaport- Vasiliadis Medium and *Salmonella* Shigella Agar. **Clin. Microbiol. Dis.** 17 (11): 791-3. 1998.
- [11] EYIGOR, A.; CARLI, K.; UNAAL, C. Implementation of Real- Time PCR to Tetrathionate Broth Enrichment Step of *Salmonella* Detection in Poultry. **Ltt Appl Microb.** 34 (1): 37-41. 2002.
- [12] FARMER, J., Enterobactereacea Introduction and Identification, Sociedad Americana de Microbiología **J. de Bacterial**. 442- 471. 2000.
- [13] FRANCISCO, D.; BRICEÑO, A. **Censo Nacional Avícola**. Federación Nacional de Avicultura. 12 pp. 1994.
- [14] FUZIHARA, T.; FERNANDES, S.; FRANCO, B. Prevalence and Dissemination of *Salmonella* Serotypes along the Slaughtering Process in Brazilian Small poultry Slaughterhouses. **J. of Food Protect.** 63 (12): 1749-1753pp. 2000.
- [15] HUMPREY, T.J.; MEAD, G. C.; ROWE, B. Poultry Meat as A Source of Human Salmonellosis In England And Wales. **Epidemiol and Infect.** 100 (2): 175- 184. 1988.
- [16] INFANTE, D.; NOGUERA, C.; LEON, J.; CATARI, M.; HERRERA, A. J.; VALDILLO, P. Aislamiento de *Salmonella* en Canales de Pollos. **Vet Trop.** (19): 91-99. 1994.
- [17] JORDAN, F.; PATTISON, M. **Enfermedades de las Aves**. 3^{era} Edición. Editorial Manual Moderno. Mexico. 522 pp. 1998.
- [18] JUNE, G.; SHERROD, P.; HAMMACK, T.; AMAGUANA, R.; ANDREWS, W. Relative Effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate Broth, and Rappaport Vasiliadis Medium for the Recovery of *Salmonella* from Raw Flesh an Other Highly Contaminated Foods: Procol-labory Study. **J. of AOAC Internat.** 78 (2): 375-380. 1995.
- [19] MACHADO, J.; BERNARDO, F. Prevalence of *Salmonella* in Chicken Carcasses in Portugal. **J. of Applied Bacter.** 69 (4): 477-480. 1990.
- [20] MENDOZA, L. **Salmonelosis Aviar en Granjas Avícolas de Reproductoras Ubicadas en el Estado Carabobo**. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias (Tesis de Grado) 86 pp. 1996.
- [21] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA, REPÚBLICA DE VENEZUELA, Resolución Oficial del Programa Nacional Contra la Salmonelosis Aviar. Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria- SASA, N° DM/96, 1995a.
- [22] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA, REPÚBLICA DE VENEZUELA, Manual de Procedimientos del Programa Nacional Contra La Salmonelosis Aviar. Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria- SASA, N° DM/96, 1995b.
- [23] MORALES, D.; FUENMAYOR, E.; COLINA, J.; SÁNCHEZ, A.; ARIAS, L. **Diagnóstico Agroecológico de la Región Zuliana**. Fondo Nacional de Investigaciones

- Agropecuarias. Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Región Zuliana. Serie C NE 1-05. 29 pp. 1982.
- [24] NASCIMENTO, M.; BERCHIERI, A.; BARBOZA, M.; ZANCAN, F.; ALMEIDA, W. Comparison of Different Enrichment Broth and Plating Media Used to Isolate *Salmonella* from Carcasses and poultry Feces Simples. **Rev. Brasil de Cien. Avícola.** 2 (1): 85,91. 2000.
- [25] NYE, K.; FALLON, D.; FRODSHAN, D.; GEE, B.; GRAHAN, C.; HOWE, S.; MESSER, S.; TURNER, T.; WARREN, R. An Evaluation of the Performance of XLD, DCA, MLCB, and ABC Agar as Direct Plating Media for the Isolation of *Salmonella entérica* from Feces. Public Health Laboratory Service; **Clin. Pat.** 55 (4): 286-8. 2002.
- [26] RENGEL, A.; MENDOZA, S. Isolation of *Salmonella* from Raw Chicken in Venezuela. **J. of Food Protec.** 47 (3): 213-216. 1984.
- [27] RUIZ, J.; NUÑEZ, M.; DIAZ, J.; LORENTE, I.; PÉREZ, J.; GOMEZ, J. Comparison of Five Plating Media for Isolation of *Salmonella* Species from human Stools. **J. of Clin. Microb.** 34 (3): 686-688. 1996.
- [28] SCHRANK, I. S.; MORES, M; COSTA, J.; FRAZZON, A.; SONCINI, R.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.; SILVA, S. Influence o Enrichment media and Application of PCR Based Method to Detect *Salmonella* in Poultry Industry Products an Clinical Samples. **Vet. Microb.** 1 (82): 45-53. 2001.
- [29] SHARIF, L.; AVDUL, T.; SEDIK, M. F. Prevalence of *Salmonella* in Broiler Ceca and Carcasses in Northern Jordan. **Assiut Vet. Med. J.** 35 (69): 76-81. 1996.
- [30] SHARMA, D.; JOHI, D. Comparative Efficacy of Selenite Cystine Broth for Isolation of *Salmonella*. **J. of Res. Puntaj Agric Univ.** 29 (2): 263-265. 1993.
- [31] SNEDECOR, W., COCHRAN, W., **Métodos Estadísticos.** 10ª Ed. Compañía Editorial Continental, S. A. México. 703 pp. 1984.
- [32] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). User Guide SAS © Statistics Institute INC. USA. Version 2,02. 1986.
- [33] VALERA, M.; HUERTA, N.; FERRER, O. Evaluación Microbiológica de los Puntos Críticos en la Cadena de procesamiento de una Planta Beneficiadora de Pollos del estado Zulia. **Rev Cient - FCV-LUZ.** V(10): 405-409. 2000.