

MICROBIOLOGÍA, PATOGÉNESIS, EPIDEMIOLOGÍA, CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES PRODUCIDAS POR *Salmonella*

Miguel Parra, Johny Durango, Salim Máttar*.

Corporación Universitaria del Sinú (CUS), Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina, Montería; Universidad de Córdoba. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montería (Córdoba) Colombia. *Correspondencia: mattarsalim@hotmail.com

Salmonella, en el ámbito mundial, está asociada con mucha frecuencia a las enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos. Se ha estimado que en Asia, África y Latinoamérica, dependiendo de factores socioeconómicos y nutricionales, la probabilidad de que un niño muera por enfermedad diarreica antes de los 7 años pueda llegar al 50% (Mead 1999). Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal están consideradas como una de las enfermedades más frecuentes en Colombia.

Los microorganismos del género *Salmonella* son bacilos, Gram negativos, anaerobios facultativos, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. Su tamaño oscila de 0,3 a 1 μm x 1,0 a 6,0 μm . Son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *S. gallinarum* y *S. pullorum* (Linder 1995).

Poseen un metabolismo oxidativo y fermentativo. Producen ácido y a menudo gas durante la fermentación de la glucosa u otros hidratos de Carbono, son catalasa positivos (salvo raras excepciones) y oxidasa negativos. Se multiplican bien en medios ordinarios. Las colonias son al cabo de 18 a 24 horas de 2 a 3 μm de diámetro salvo algunos serotipos que producen colonias enanas (Linder 1995). Entre otras características bioquímicas se cuentan reducción de nitratos a nitritos, utilizan citrato como única fuente de Carbono, producen H_2S , son ureasas negativos, no des-aminan Fenilalanina, y son tetrionato reductasas (Linder 1995).

Para que su crecimiento sea óptimo, *Salmonella* necesita de un pH entre 6,6 y 8,2, las temperaturas más bajas a las que se ha señalado su existencia de crecimiento son de 5,3 a 6,2 grados centígrados, son incapaces de tolerar elevadas concentraciones de sal. *Salmonella* es destruida a las temperaturas de pasteurización de la leche (Linder 1995).

Estos microorganismos que se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en el tracto gastrointestinal de los mamíferos domésticos y salvajes, los reptiles, las aves y los insectos. Se trata de comensales eficaces y también patógenos que producen un espectro de enfermedades en el hombre y los animales. Algunos serotipos de *Salmonella*, tales como *S. typhi*, *S. paratyphi* y *S. sendai*, están muy adaptados a su huésped y no tienen otros huéspedes naturales conocidos.

Clasificación taxonómica

Salmonella pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Los miembros de esta familia, son bacilos Gram negativos de 2 a 3 x 0.4 a 0.6 micras de tamaño. Con excepción de los serotipos *gallinarum* y *pullorum* los demás serotipos son móviles por medio de flagelos peritricos (Popoff 1992).

Antes de 1983 se aceptaba taxonómicamente la existencia de múltiples especies de *Salmonella*. En la actualidad el género *Salmonella* consta de sólo dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*; la primera está dividida a su vez en seis subespecies: *S. enterica* subespecie *enterica*, *S. enterica* subespecie *salamae*, *S. enterica* subespecie *arizonae*, *S. enterica* subespecie *diarizonae*, *S. enterica* subespecie

houtebae y *S. enterica* subespecie indica (Popoff y Le Minor 1992).

Salmonella spp es el grupo más complejo de todas las enterobacterias con más de dos mil cuatrocientos serotipos descritos en el esquema Kauffman White, determinados por la composición de los antígenos somáticos (O), flagelares (H), o de superficie Vi(k). *S. enterica* subespecie *enterica* comprende el 99% de los serotipos aislados de muestras clínicas (Popoff y Le Minor 1992).

Estructura antigénica

Básicamente la estructura antigénica de *Salmonella* es similar a la de otras enterobacterias, con dos clases de antígenos principales presentes; antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares). En algunas cepas se encuentra un tercer tipo como antígeno de superficie, siendo análogo funcionalmente a los antígenos K de otros géneros; ya que anteriormente se pensó, que se relacionaba con la virulencia, éste antígeno se denominó antígeno VI.

Antígenos O

Son los antígenos de la pared bacteriana, de naturaleza polisacárida. Existen numerosos antígenos O, a pesar de ello son los factores O principales, los que sirven para caracterizar los diferentes tipos antigénicos, (Por ejemplo O4: grupo B, O9: grupo D).

Antígenos H

Son antígenos constituidos por una proteína, la flagelina, cuya composición en aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado. Depende de dos genes estructurales, que corresponden a la fase 1 y a la fase 2. La mayoría de las cepas del género *Salmonella* pueden expresar las dos especificidades de su antígeno H (difásicos), sin embargo, existen algunas que pueden expresar solamente una sola, ya sea la uno ó la dos. (monofásicas).

Antígenos k

El único de este tipo que se conoce en *Salmonella* es el existente en *S. typhi*, *S. paratyphi c* y *S. dublin*. La presencia de este antígeno hace imposible la aglutinación de sueros anti O. La expresión de este factor depende de al menos dos genes (ViA + ViB);

Deben existir ambos en la bacteria para que dicha expresión tenga lugar (Linder 1995).

Epidemiología de Salmonelosis no tifoideas

La salmonelosis es causada por una gran cantidad de especies de *Salmonella*. Se caracteriza por uno o más de tres signos (septicemias, enteritis aguda que puede convertirse en crónica). La enfermedad es vista en todos los animales y ocurre a nivel mundial. Los animales son a la vez importantes como reservorios de la infección humana, la cual es adquirida por vía oral al ingerir bebidas y comidas contaminadas, especialmente aves y huevos.

Cualquier alimento susceptible de contaminación de origen fecal puede transmitir la infección, la dosis infectiva suele ser muy elevada y depende de la virulencia de la cepa. Por esto, en la mayoría de los casos es necesario un periodo de multiplicación en el alimento antes de su consumo para alcanzar la dosis infectiva, lo que ocurre cuando se mantiene el alimento durante cierto tiempo a temperatura ambiente ó en condiciones de escasa refrigeración (Elley 1994).

Otro factor importante para la contaminación del alimento es la exposición a cierto tipo de vectores como la mosca doméstica . Lo cual fue comprobado por Olsen en un estudio en el cual analizó especies de moscas domésticas recolectadas en granjas de gallinas de postura que habían sido relacionadas con brotes de *S. enteritidis* en la ciudad de Washington. Olsen recolectó las moscas en caldos nutritivos, y encontró en un muestreo de 15 caldos de moscas domésticas, 2 caldos positivos a *Salmonella enteritidis* y otros tres caldos positivos a los serotipos Infantis y Heidelberg (Olsen 2000).

Por otra parte, se produce también contaminación fecal-oral de persona a persona y han ocurrido brotes de salmonelosis en centros de salud por la falta de atención al lavado de las manos. En contraste con el alto riesgo de *Salmonella* no tifoidea por los trabajadores de asistencia de salud y las personas que manipulan alimentos, la transmisión de neonatos y lactantes a través de madres y otros miembros de la familia (Ovalle 1999).

La contaminación de los alimentos es en general paucimicrobiana y crea un riesgo potencial. Los errores cometidos en la cadena alimentaria y sobre todo en el momento de la preparación de las comidas,

transforman el riesgo potencial en una verdadera multiplicación bacteriana (Linder 1995).

Epidemiología de las salmonelosis aviarias.

Debido a que muchos animales de granja portan *S. enteritidis* en sus tractos intestinales, los subproductos de matadero son altamente contaminados. En contraste se ha demostrado que *Salmonella* puede sobrevivir por hasta 16 meses a 25°C en este tipo de alimentos. Se calcula que entre el 1 y 5 % de los suplementos para animales producidos, y el 31% de los animales para producirlos pueden estar contaminados con *Salmonella ssp* (Maciorowski 2000). Los productos avícolas son una fuente común de infección ya que la avicultura actualmente requiere de una gran cantidad de subproductos de granjas y matadero para la formulación de una dieta alta en proteínas para las aves (Maciorowski 2000).

Por otra parte, Behnke, et al (2000), realizaron un estudio con el propósito de medir diferentes parámetros que afectan la contaminación de los concentrados animales por parte de *Salmonella spp.* Entre los hallazgos encontrados se observó que a temperaturas de peletización de hasta 70°C aún podía hallarse una baja positividad a *Salmonella*. Además se observó que a una temperatura de 85°C por 20 segundos con 15% de humedad se aseguraba la destrucción de un 90,06% de *Salmonella*, y que su total destrucción se observaba a una temperatura de 90°C por 40 segundos a una humedad del 15%. También se determinó la incidencia de *Salmonella* en distintos lugares del procesamiento del concentrado animal, encontrándose el grado de incidencia más alto en la proteína animal y las mezcladoras (64-67%), y el grado de incidencia más bajo en los granos de gramíneas, los subproductos y el dado de peletización (4%) (Behnke 2000).

En otro estudio realizado se analizaron 8 suplementos para aves, confirmando a 5 (63%) como positivos a *Salmonella spp.* Lo que demuestra el gran riesgo a que se exponen las granjas avícolas (Maciorowski 2000).

La bacteria contamina los cadáveres después del sacrificio y contamina la superficie de los huevos. Recientemente fue descubierto que los pollos pueden transmitir *S. enteritidis* vía transovárica hacia los huevos (Salyer 2002).

Mientras que el uso de fagotipos (PT) no sirve como señal de virulencia, sí sirve para las investigaciones epidemiológicas. El PT4 es el tipo de *S. enteritidis* más comúnmente asociado con los brotes en España, Inglaterra, y otros países. Los PT8 y 13 han sido los más comunes en Estados Unidos (McIlroy 1997).

Estudios han demostrado que se puede infectar el interior del huevo, probablemente como resultado de la contaminación de la membrana vitelina durante la ovulación. *S. enteritidis* se multiplica rápidamente dentro del huevo a temperaturas superiores a los 10°C (McIlroy 1997).

En un estudio se determinó la invasión de los tejidos del aparato reproductor por *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, se observó que ambos serotipos pueden tener igual potencial para colonizar los tejidos del aparato reproductivo, y los huevos en formación en el oviducto antes de la postura, pero de los huevos pos-postura solo se aisló *S. Enteritidis*, sugiriendo una inhibición en el crecimiento de *S. Typhimurium* antes de la postura, y tomándolo a *S. Typhimurium* como infectante de los huevos solo cuando estos presentan contaminación externa con materias fecales (Keller 1997). De 378.000 huevos evaluados en un periodo de dos años, 191 estaban contaminados con *S. Enteritidis*, mientras que *S. Typhimurium* sólo fue aislada de uno, posiblemente por contaminación fecal de éste (Keller 1997).

En otros estudios realizados en Argentina se examinaron 800 huevos, entre los cuales solo se aisló *Salmonella* en una yema de ellos, la cual correspondió a la serovariedad *S. Gallinarum* (Franseschi 1996). En el mismo experimento se tomaron 8.000 huevos recién puestos con el fin de aislar microorganismos de sus cáscaras, siendo negativo el total de las muestras, y concluyéndose que la contaminación muy probablemente ocurre a partir de diversas fuentes como maples sucios, roedores, insectos, etc.; comprobándose esto en cien maples reutilizados en la recolección de huevos, de los cuales 50 salieron positivos a *S. enteritidis* (Franseschi 1996).

En otro estudio realizado en Hiroshima Japón, se mantuvieron mediante vigilancia epidemiológica tres granjas de ponedoras, debido a una posible epidemia causada por el consumo de huevos de estas granjas. Se estudiaron factores como la posible transmisión vertical, analizando embriones muertos y yemas de huevos residuales. Se mantuvo el monitoreo durante

un período de varios años, dando resultados claramente negativos y atribuyéndose la contaminación a transmisión horizontal (Yamane 2000).

En un pequeño estudio realizado en Argentina en el año 2000 los investigadores trataron de demostrar la presencia de *Salmonella* spp en 44 muestras de huevos frescos y 24 muestras de mayonesa de fabricación casera (realizada con huevos frescos), no encontrándose en ninguna de las muestras la presencia del patógeno (Amer 2000).

Como otro aporte, en el seguimiento de una epidemia presentada en Madrid en 1998, Se analizaron 1524 huevos provenientes de una central clasificadora involucrada en la infección. Dando como resultado el hallazgo de 4 muestras positivas (0,26%). En dos de ellas se identificó el serotipo *S. Typhimurium*, y en las otras dos el serotipo *S. Enteritidis*. Tres de estas se aislaron de la cascara de los huevos y una de ellas en la yema. Correspondiendo estos serotipos con los aislados de las personas infectadas, y por lo tanto determinándose a los huevos como fuente de infección (Arnedo 1995).

Por otra parte, Rodríguez, et al (1997) realizaron un trabajo de investigación para la determinación de *Salmonella* en 600 huevos provenientes de tres empresas distribuidoras de la ciudad de Monterrey (México), las cuales representan el 90% del mercado en esta ciudad. Como resultado del estudio, se aisló *Salmonella* spp de solo el 1,3% de la muestra (Rodríguez 1997).

Se dice que probablemente la clara de huevo impide la multiplicación de *Salmonella*, actuando como bacteriostático hasta los 15 días pos-postura y bactericida hasta los siete días (Franceschi 1996). Entre otros factores se citan en la clara la presencia de una lisozima que inhibe el crecimiento bacteriano, además de los bajos niveles de hierro libre encontrados en la clara, insuficientes para el metabolismo y crecimiento de organismos como *Salmonella*, demostrándose así que parte de la contaminación de los huevos es debida al manejo dado a estos después de la postura, y no por ser infectados a través del animal (Franceschi 1996).

El instituto de estudios del huevo concluyó en uno de sus estudios que sólo un pequeño número de gallinas están infectadas en un momento preciso, e incluso una gallina infectada puede poner muchos

huevos sanos y sólo ocasionalmente algunos infectados. La resistencia de los pollos a enfermedades intestinales y a la colonización del intestino aumenta con la edad, debido al desarrollo rápido de microflora intestinal que resulta del contacto con animales adultos o camas viejas. Los pollos de engorde criados sobre camas reutilizadas parecen ser menos susceptibles a la colonización por *Salmonella* que los criados sobre camas nuevas (Jones 1991).

Las temperaturas altas y el "stress" social pueden también reducir la resistencia a la colonización por *Salmonella* (Jones 1991). Esto se demostró en un estudio hecho en Indiana en el que se midió la inflamación intestinal aguda causada por *S. enteritidis* en aves que se encontraban en muda forzada y aves no mudadas, resultando significativamente mayor la inflamación de ciego y colon de las gallinas infectadas y mudadas que las infectadas no mudadas (Macri 1996). Se ha comprobado que el uso de ciertos antibióticos también influyen en el aumento de susceptibilidad de los pollitos a *Salmonella* (Jones 1991). Por otra parte el padecimiento de ciertas enfermedades como micoplasmosis, y bronquitis infecciosa, reducen la resistencia a contaminación por *Salmonella* (Jones 1991).

Con respecto a la contaminación cárnica de los asaderos, el USDA (United States Department of Agriculture) llevo a cabo una muestra microbiológica de pollos enteros procesados en plantas en todo Estados Unidos. El 80% de 1297 pollos examinados se halló libre de *Salmonella*, el 20% restante fue positivo. De estos positivos más del 87% resultó al menos con 0,3 bacterias por ml de fluido. Un 96,5% de los pollos positivos presentaron 3 células bacterianas por ml de fluido. Estos resultados reflejan un declive continuo en la incidencia y niveles de *Salmonella* en canales de pollos sin cocer en los Estados Unidos (Beard 1997).

Se corrobora la anotación anterior por el estudio de Olsen quien observo que dos de los serotipos mas comúnmente aislados en los Estados Unidos en aves (*S. Kentucky*, *S. Heidelberg*), han mostrado una significante baja en el número de aislamientos humanos. A pesar de haber aumentado el consumo de pollo en el periodo de estudio (Olsen 2000).

En nuestro país se han realizado estudios por parte del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y la corporación colombiana de investigación

agropecuaria (Corpoica), que ubican a la *Salmonella* como agente infeccioso importante, ratificándolo como un problema mundial (Hidalgo 1999).

En Colombia se asume una alta morbilidad, especialmente en animales jóvenes y recientes brotes en aves tanto reproductoras como comerciales que han colocado de manifiesto la magnitud del problema sanitario a nivel nacional. La salmonelosis aviar es una de las enfermedades que mayor impacto causa en la industria avícola del país, no sólo por las pérdidas económicas que produce sino también por la gravedad clínica de la enfermedad; igualmente en salud humana, es considerada una de las más serias zoonosis (Hidalgo 1999).

En diferentes investigaciones realizadas en la Universidad Javeriana de Bogotá se ha demostrado la presencia de *Salmonella enterica* en aves de diferentes zonas del país, destacándose la serovariedad *S. Enteritidis* como la más predominante (Hidalgo 1999; Jiménez 2000; Méndez 1999; Vásquez 1999).

Intoxicaciones alimentarias por *Salmonella*

La salmonelosis es ocasionada por la ingestión de carne infectada, pollo, leche cruda, huevos, productos que contienen huevo, repollo y otros alimentos de los que se sospeche. Otra fuente común de esta enfermedad son las mascotas reptiles infectadas, como por ejemplo las tortugas; e inclusive el agua para beber contaminada. Mientras que uno de los tipos de bacteria *Salmonella* de los miles existentes ocasiona fiebre tifoidea, la mayoría de ellos ocasionan fiebre, calambres abdominales y diarrea (Gast 1998).

Una de las fuentes de infección que se desarrolla con más rapidez proviene de los huevos contaminados con *Salmonella*. Un ave de aspecto sano transmite la infección a sus huevos antes de que se forme la cáscara. En el noreste de los Estados Unidos, uno de cada 10.000 huevos puede estar contaminado. Esta situación es menos común en otros estados. Afortunadamente, las instituciones estatales y la industria de los huevos están trabajando para identificar las aves infectadas y separarlas de la provisión de huevos (Gast 1998).

En la Costa Atlántica nuestro grupo ha realizado varios estudios sobre alimentos en los que se encontró que de 636 muestras de alimentos analizados se

aislaron 47 *Salmonella* spp, lo cual equivale al 7,4% de las muestras analizadas; los alimentos contaminados con el microorganismo fueron: carne de res (40%), chorizo (25%), queso (13%), cerdo (13%), pollo (4.2%) y arepa de huevo (4.2%); el 66% correspondieron a alimentos crudos y el 34% cocidos (Durango et al 2002).

Otros hallazgos como el realizado en el Laboratorio Nacional de Referencia de *Salmonella* y *Shigella* de España (Boletín epidemiológico Español), mostró que el mayor número de cepas se aisló de alimentos de productos cárnicos como embutidos, carne molida, pollo y en general carnes procesadas y manipuladas en exceso. Con respecto a la distribución de los serotipos, el predominio en España fue de *Enteritidis*, *Typhimurium*, *Hadar* y *Virchow* (Boletín epidemiológico Español).

La salmonelosis es la primera causa de intoxicación alimentaria en el Reino Unido, seguida de *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Es tan predominante que se diagnosticó en un 92,7% de los casos de intoxicación alimentaria registrados en el Reino Unido en 1988 (Eley 1994).

Además ocupa también el primer lugar en intoxicaciones alimentarias en los Estados Unidos. Se reporta que causa aproximadamente 1,4 millones de enfermedades al año y 600 muertes entre estas. Entre 1987 y 1997 un total de 441.863 aislamientos humanos fueron reportados por el National *Salmonella* surveillance system. Liderando estos aislamientos los serotipos *Typhimurium*, *Enteritidis*, *Heidelberg*, *Newport*, y *Hadar*. Se noto también en los últimos años un incremento en el número de casos debido al serotipo *Marina*, asociado con reptiles. Este incremento debido al auge que tomaron los reptiles como mascotas en este país (Olsen 2000).

En el Nordeste de este país se viene observando desde finales de 1986, un aumento significativo del número de casos de infección por *S. enteritidis*. Muchos de estos brotes asociados con el consumo de huevos crudos, ya que aproximadamente uno de cada diez mil huevos pueden estar internamente contaminados. En otras partes de los Estados Unidos la contaminación por huevos es poco común (National Center For Infectious diseases 1997). Junto con el incremento de casos de *S. enteritidis* se ha venido observando un declive en los aislamientos de *Salmonella* serotipos *hadar* y *heidelberg* (National

Center For Infectious Diseases 1997). En las partes afectadas de los Estados Unidos, se estima que uno de cada cincuenta consumidores está expuesto a la contaminación por un huevo contaminado por año (National Center For Infectious Diseases 1997).

Con respecto a Colombia entre Noviembre de 1996 y Diciembre de 1997 se han enviado al laboratorio nacional de referencia 68 cepas de *Salmonella* spp; provenientes de casos de gastroenteritis aislados de coprocultivos, los cuales se remitieron desde distintas regiones así: Amazonas 1, Antioquia 15, Caldas 4, Huila 2, Risaralda 1, Santander 16, Santafé de Bogotá 26 y Tolima 3. Los serotipos encontrados fueron: *S. Enteritidis* 44 muestras (64,4 %), *S. Typhimurium* 20 muestras (29,4 %), y *Salmonella* grupo E1 en 4 muestras (5,9 %) (Ministerio de Salud 1997).

En un trabajo de tesis realizado en Bogotá en la Universidad Javeriana entre los meses de Julio y Noviembre de 1998 en el cuál se analizaron distintos tipos de alimentos, se hallaron 19 muestras positivas de *Salmonella* de un total de 250 analizadas (7,6%), con mayor aislamiento en los productos alimenticios a base de pollo. Se observó entre los serotipos más frecuentemente aislados: *S. enterica* subespecie *Enterica* grupo C1(78,95%) seguido de *S. enterica* subespecie *Enterica* grupo E 1,2,3 (15,5%) y de *S. enterica* subespecie *Enterica* grupo C2 (5,2%) (Ovalle,1999). Hidalgo en 1999 realizó un estudio en Bogotá con el ICA y la Universidad Javeriana, en el cual se analizaron un total de 410 muestras, 260 pertenecientes a humanos y 150 pertenecientes a aves. Se observó como resultado a 25 muestras humanas (9,6%) y 36 aviares (24%) identificadas como *Salmonella enterica*. De las cepas humanas aisladas por Hidalgo 3 se clasificaron como serovariedad *enteritidis*, 2 fueron clasificadas como serovariedad *typhimurium*, igual número fueron determinadas como serovariedad *typhi*, una perteneció a las variedades *seremban* y un total de 17 muestras fueron no tipificables. Con respecto a las muestras aviares la investigación reportó 18 muestras correspondientes a la serovariedad *enteritidis*, 3 muestras se determinaron como serovariedad *gallinarum*, 3 muestras fueron clasificadas como serovariedad *typhimurium*, y 12 muestras se determinaron como no tipificables. En este mismo estudio se demostró genéticamente la co-circulación de clones de *Salmonella enterica* en toda Colombia. Así como también una clara interrelación genética entre las cepas aisladas de humanos y las aisladas en aves (Hidalgo 1999).

En otro estudio realizado en Bogotá en el año 2000, se analizaron 9 cepas de *Salmonella enterica* aisladas de humanos e igual número aisladas de aves. Este estudio determinó a la serovariedad *enteritidis* como la más predominante (67%), tanto en las muestras humanas como las aviares, también fueron aisladas otras serovariedades como *typhi* (11%), *typhimurium* (11%), *seremban* (5%) y *gallinarum* (5%). Esta investigación a su vez demostró genéticamente la presencia de una co-circulación de cepas entre aves y humanos (Jiménez 2000).

El control de *Salmonella* en la cadena alimentaria es un asunto complicado debido a las interrelaciones existentes entre la contaminación medioambiental, los animales de abasto y el hombre. La tendencia es creciente en infecciones en humanos y los recientes brotes de origen alimentario originados por *S. enteritidis* en huevos subrayan la necesidad de una redoblada vigilancia en todos los aspectos de la producción de alimentos, reflejada en la instauración de controles concertados entre el gobierno y la industria (Linder 1995). Esto explica la necesidad de un gran celo y cuidado en el diseño de las medidas proyectadas para controlar la diseminación de los microorganismos causantes de las intoxicaciones alimentarias. Los diferentes aspectos del control microbiológico de la producción de alimentos, incluyendo un sistema de seguridad denominado análisis de riesgo: Control de puntos críticos (HCCP), el cual es un modo de controlar la manufactura y la manipulación de los alimentos, y cubre: el diseño del producto, el proceso de diseño y las prácticas de operación. El análisis de riesgo supone la identificación de los factores que pueden tener un efecto dramático en la seguridad del alimento. Una vez que estos factores han sido identificados se pueden introducir varios puntos críticos de control durante el procesado, para facilitar la monitorización y así prevenir y reducir el riesgo en los consumidores (Linder 1995).

Infección, patogénesis y factores de virulencia de *Salmonella*.

Salmonella es un grupo de bacterias que ocasiona enfermedad severa pero casi nunca la muerte, presenta diferencias en cuanto a la especificidad del hospedero; mientras algunos serovars no tienen una estricta adaptación a un huésped, siendo capaces de producir enfermedades con diversas características en distintas especies animales y en el hombre, otros

serovars si son específicos, como *S. Gallinarum* para las aves o *S. Typhi* en el caso del hombre.

La salmonelosis humana puede clasificarse en dos grandes grupos, por un lado, las debidas a serotipos estrictamente humanos, que causan habitualmente síndromes tifoídicos con presencia de bacterias en la sangre, y las debidas a serotipos ubicuos, que provocan diarrea, vómitos y fiebre. La duración y entidad de esta enfermedad es variable, dependiendo del estado general del huésped, pudiendo ocasionalmente causar enfermedades generalizadas.

Inicialmente se creía que la infección por *Salmonella* empezaba con la unión de la bacteria al ileon y luego penetraba el intestino a través de la célula M, sin embargo la historia es un poco más compleja. Primero la infección se produce en el intestino delgado y en parte del colon, especialmente la región cercana al recto, según las últimas observaciones hechas en humanos y monos Rhesus. En estudios con monos Rhesus, todo parece indicar que la entrada del microorganismo se asocia más con las microvelocidades de los enterocitos que con las células M, además la bacteria se puede encontrar en los enterocitos varios días después de la infección. Este hecho demora la entrada de la bacteria al torrente sanguíneo, permitiendo la acción de los macrófagos activados para eliminar la bacteria (Salyers 2002). Los sistema de secreción tipo III, son un grupo de organelos especializados de los gérmenes gram negativos, cuya finalidad es la de introducir al citosol de las células eucariotas proteínas efectoras que desequilibran la función celular (Hueck 1998).

Salmonella es la única especie que se conoce tiene dos sistemas de secreción tipo III, codificados por dos islas de patogenicidad distintas SPI-1 y SPI-2. Cada uno de los sistemas parece jugar papeles diferentes pero importantes en la patogénesis de la Bacteria, SPI-1 esta implicado en la penetración inicial de la bacteria, mientras que SPI-2 es importante para los siguientes estadios de la infección (Hueck 1998).

Las islas de patogenicidad poseen una variedad de genes encargados de la invasión de *Salmonella*, es así como SPI-1, codifican un sistema de secreción tipo III, además de las proteínas que son inyectadas a través del mismo. Los genes *inv*, *spa*, *prg* y *org* se encargan de formar las proteínas constituyentes del sistema de secreción, mientras que los genes *sptP*, que codifica para una tirosin-fosfatasa junto con *SipA* y *SipE*, son encargados del re-arreglo de los

filamentos de actina. Los genes que contiene SPI-2, están envueltos en la fase sistémica de la enfermedad. SPI-3 produce un transportador de alta afinidad de Mg, importante en la supervivencia bacteriana dentro del fagosoma. Existen dos islas de patogenicidad más que son SPI-4 y SPI-5, pero poco se conoce acerca de ellas (Salyers 2002).

La adherencia de la bacteria es un factor muy importante en la patogénesis de la *Salmonella*, y esta se lleva a cabo gracias a que produce varios tipos de adhesinas, entre las que se incluyen, Fimbrias tipo 1, codificadas en el gen *fim*, sin embargo su acción es poco conocida hasta hoy; Fimbrias codificadas en plasmidos, estas se encuentran codificadas por el gen de 90 Kpb *pef*, y se encuentran en el plasmido denominado pSLT, plasmido muy importante pues se encuentra en todas la cepas patógenas de la bacteria, su delección crea mutantes avirulentas. Otros genes productores de fimbrias son *lpf*, que codifica para las fimbrias polares largas, y también están los genes *agf*, que codifican para las fimbrias agregativas delgadas (Salyers 2002).

En el momento de la infección de las células eucariotas, *Salmonella* produce un re-arreglo de actina, que forman unos pseudopodos que engolfan la bacteria, terminando en la internalización de la misma (Salyers 2002).

Por que se presenta la diarrea en humanos es todavía una incógnita, pues no se ha podido identificar una enterotoxina producida por *Salmonella* capaz de generar una diarrea; sin embargo, se han descubierto sistemas de secreción tipo III en *Salmonella*. Estos se encargan de inyectar las proteínas necesarias para producir una diarrea al interferir en la función celular. Como consecuencia de esta irrupción en el metabolismo, las células infectadas producen citoquinas que atraen PMNs, estos liberan bastantes prostaglandinas que tiene acción en el metabolismo de la adenilato ciclasa, incrementando los niveles de AMPc que tiene como consecuencia final, la interrupción de la absorción de Na⁺ y el aumento de la secreción de Cl⁻, lo que lleva a una pérdida de agua por parte de la célula, signos claros de una diarrea (Salyers 2002).

El ADN invertible y el fenómeno de variación de fase, comprenden la inversión de un segmento de DNA de una orientación a la otra. Cuando el segmento esta orientado en una dirección se expresa un gen particular, en tanto que cuando está orientado en la

dirección opuesta, se expresa un gen distinto (Brock 1991). En Salmonella como resultado de la variación de fase, su proteína flagelar puede ser de uno o de dos tipos diferentes (Brock 1991). Cada célula de Salmonella tiene dos genes H1 y H2, que codifican para las dos diferentes proteínas flagelares, pero solo se expresa uno de los dos en un momento dado. Así una célula bacteriana individual fabricará o un flagelo del tipo H1 o un flagelo del tipo H2 (Brock 1991).

Diagnóstico de la Salmonelosis

La diarrea, la fiebre y los calambres estomacales severos son síntomas comunes, en el caso de salmonelosis, estos síntomas se presentan entre 6 a 72 horas después de haberse ingerido algún alimento contaminado con la bacteria. La enfermedad dura de 5 a 7 días y la mayoría de las personas afectadas no necesitan tratamiento, sólo con el tiempo se mejoran.

El aislamiento de Salmonella se realiza por el método convencional de la Food and Drug Administration (Mumma 2002). Básicamente, se pesan 25 g de cada muestra de alimento y se inoculan en 225 ml de los medios de pre-enriquecimiento, agua peptonada y caldo infusión cerebro corazón, los cuales se incuban a 37°C durante 24 horas; a partir de estos, se inocula 1ml de cada muestra en 9 ml de caldo Rappaport y Tetrionato, posteriormente se subcultivan en agar XLT4 (Difco Detroit, MI USA); SMID (Biomeriux, Marcy L'étoile, France); SS; Hektoen, XLD y bismuto sulfito, se incuban a 37°C por 24 horas, las colonias sospechosas de Salmonella se identifican con pruebas bioquímicas convencionales y se confirman con antiseros polivalentes y monovalentes para Salmonella, (Difco, Detroit, Michigan, USA). La identificación serológica se realiza utilizando el esquema de Kauffman- White (Who 2002).

ENFERMEDAD EN EL HOMBRE

Salmonella es un grupo de bacterias que ocasiona enfermedad severa pero casi nunca la muerte, presenta diferencias en cuanto a la especificidad del hospedero; mientras algunos serovars no tienen una estricta adaptación a un huésped, siendo capaces de producir enfermedades con diversas características en distintas especies animales y en el hombre, otros serovars sí son específicos, como S. Gallinarum para

las aves o S. Typhi en el caso del hombre. Se requiere un inóculo de 10^6-8 bacterias de Salmonella spp para el desarrollo de la enfermedad sintomática, la enfermedad ocurre cuando el organismo encuentra las condiciones apropiadas para multiplicarse, tales como alimentos contaminados o refrigerados inadecuadamente (Mead 1999).

La gastroenteritis inducida por Salmonella es indistinguible de la debida a muchos otros patógenos. Los síntomas aparecen de seis a veinticuatro horas después de la ingestión del alimento o agua contaminados y su evolución es de una semana. Se caracteriza por náusea y vómito con cese de estos en unas pocas horas, seguidos por cólico abdominal y diarrea. que puede llegar a ser sanguinolenta y varía en volumen e intensidad, suele contener leucocitos PMN (Salyers 2002). La enfermedad se presenta en niños más comúnmente y con síntomas más severos. La enfermedad también puede iniciar una forma sistémica, la cual se ve más comúnmente en niños y personas con compromiso inmune, en esta forma de la enfermedad puede haber mortalidad (Salyers 2002). Después de que los síntomas cesan, la persona infectada puede excretar la bacteria por un período de tres meses. En un pequeño número de casos (1-3%), una persona infectada puede continuar eliminando la bacteria por más de un año (Salyers 2002).

Las infecciones abdominales por Salmonella pueden ocurrir en cualquier sitio pero lo típico es que afecten el tracto hepatobiliar y el bazo. Muchos de los pacientes con infecciones de las vías biliares tienen anomalías anatómicas subyacentes, entre ellas cálculos biliares, cirrosis y colangitis crónica (Mandell 1997).

Aproximadamente el 0,9% de todos los casos de meningitis piógena se deben a Salmonella. La mayoría de los casos ocurren en neonatos o niños, bien por brotes en salas de recién nacidos o transmitidos por madres con gastroenteritis periparto (Mandell 1997). Casi todos los casos de osteomielitis por Salmonella se observan en niños y son de origen hematogénico (Mandell 1997). La mayoría de los casos de artritis séptica ocurren en niños, individuos inmunosuprimidos o pacientes con drepanocitosis. Solo alrededor del 50% de todos los pacientes tienen antecedentes de una enfermedad diarreica. La articulación más afectada es la rodilla, seguida por la cadera y el hombro (Mandell 1997).

El estado de portador crónico se refiere a la persistencia de *Salmonella* en las heces u orina por períodos mayores de un año; se ha encontrado un pequeño porcentaje de pacientes con salmonelosis no tifoidea que desarrollan un estado de portador crónico, existiendo una mayor incidencia de este estado en mujeres e individuos con anomalías biliares, en particular cálculos (Mandell 1997).

TIPOS DE SALMONELOSIS AVIAR

Pullorosis

La pullorosis es una salmonelosis específica de las aves. Hace 20 años esta enfermedad se encontraba muy extendida y causaba mucha mortalidad. Afecta fundamentalmente a gallinas, pavos y en menor grado a palomos. La infección en mamíferos es rara (Aiello 1998).

Etiología y contagio: El agente causal de la pullorosis es *Salmonella pullorum*, la cual es inmóvil. La transmisión es comúnmente directa a través del huevo, pero además ocurre por contacto directo e indirecto. En la transmisión vertical, a diferencia de otras *Salmonella* que contaminan el huevo al ser puesto, en este caso la infección ya se encuentra en el interior antes de la puesta. Los embriones suelen morir durante la incubación, aunque pueden nacer y morir durante los primeros días y hasta la segunda o tercera semana de edad. La infección por contacto directo, se da por el contacto con heces de animales infectados. La infección puede también ser transmitida por intermediarios, el calzado y la ropa pueden ser vehículos de contagio al transmitir la infección de un sitio a otro (Aiello 1998).

Sintomatología: El periodo de incubación es de dos a cinco días, las aves afectadas se agrupan cerca a fuentes de calor, muestran debilidad general y anorexia (Aiello 1998). Los excrementos aparecen blancos y fluidos, estos pueden secarse en los plumones que rodean la cloaca y obstruirla, produciendo una hinchazón en el vientre. Los sobrevivientes quedan como portadores asintomáticos con localización de la infección en el ovario (Aiello 1998; Pascual 1999). Las lesiones en aves jóvenes incluyen, necrosis focal de hígado y bazo, nódulos caseosos en pulmones y corazón. Ocasionalmente se encuentra sinovitis. Los portadores adultos usualmente presentan pericarditis,

peritonitis, y atrofia ovárica, sin embargo, algunas veces no se observan lesiones (Aiello 1998; Pascual 1999).

Tifoidea aviar

Su agente causal es *S. gallinarum*, es muy similar a *S. pullorum*, y muchas veces son consideradas como una sola (Aiello 1998). La infección es rara en USA y Canadá, pero común en otros países. *S. gallinarum* es transmitida vía huevo y produce lesiones similares a las producidas por *S. pullorum*, pero tiene mayor tendencia a afectar animales adultos. Sin embargo, la mortalidad es alta en todas las edades (Aiello 1998).

Las aves adultas pueden mostrarse deshidratadas y con síntomas inflamatorios. Frecuentemente presentan un hígado de coloración biliosa, con o sin focos necróticos, bazo y riñones hiperplásicos, anemia y enteritis (Aiello 1998).

Existe una vacuna hecha a partir de una cepa de *S. gallinarum* (9 R) usada para el control de la mortalidad. Se administra a las nueve semanas de edad, después de haber ocurrido la exposición natural (Aiello 1998).

Infección paracolónica

La infección paracolónica es una infección, la cual puede mostrar curso agudo o crónico, y es transmitida vía huevo (Aiello 1998). Es común en pavos por cualquiera de los serotipos de *S. Arizonae*. Han sido identificados más de cien serotipos en aves, mamíferos y reptiles. Los serotipos 18:Z34, Z32 son los más frecuentemente aislados en pavos. Los reptiles capturados en la vecindad de criaderos de pavos están frecuentemente infectados y son considerados reservorios de la infección. La infección clínica en mamíferos y otras aves es rara (Aiello 1998).

La enfermedad no presenta muchos signos ni lesiones características. La mortalidad ocurre usualmente entre las semanas tres y cuatro de vida. Algunas parvadas pueden estar considerablemente infectadas sin desarrollar mortalidad apreciable (Aiello 1998). En algunos animales se presenta opacidad ocular y ceguera, puede presentarse incoordinación debido al paso de la infección al cerebro. El hígado puede encontrarse hiperplásico. Algunas aves desarrollan peritonitis, salpingitis, o infecciones ováricas

localizadas, pero es más común la infección intestinal (Aiello 1998).

Infecciones paratifoideas

Las infecciones paratifoideas pueden ser causadas por cualquiera de las especies de *Salmonella* no adaptadas a las aves (Aiello 1998). La enfermedad es conocida también como mal de ala. Se presenta en pollos recién nacidos y en aves con inmunosupresión, pero es rara en gallinas sanas de 3 a 4 semanas de edad (Aiello 1998).

Su etiología es causada por un gran número de bacterias -más de 100 especies y 1200 serotipos- pertenecientes al género *Salmonella*; *S. Typhimurium* es la causa más común, seguida por *S. Enteritidis* y *S. Heidelberg*, la prevalencia de otras especies varía de acuerdo con la localización geográfica. Por ejemplo, *S. enteritidis* fagotipo 4, es la más comúnmente aislada en Europa, mientras que los fagotipos 8 y 13 son los más comunes en USA (Opitz 1992). En estudios realizados en granjas productoras en USA, se aislaron un total de seis serotipos diferentes, de los cuales los más comunes fueron *S. Heidelberg* y *S. Kentucky* (Byrd 1996).

La transmisión puede darse por diferentes vías. Estudios han demostrado que se puede infectar el interior del huevo, probablemente como contaminación de la membrana vitelina durante la ovulación. También se puede penetrar la cáscara durante la puesta. *S. enteritidis* se multiplica rápidamente dentro del huevo a temperaturas más altas de 10°C. Los pichones que se desarrollan de estos huevos sufrirán la enfermedad de forma aguda muriendo posiblemente antes de los quince días de edad (Opitz 1992).

La transmisión vertical y la infección a temprana edad pueden resultar en una infección que dura la vida de la parvada, como resultado de la colonización del intestino, y la constante eliminación de *Salmonella* por vía fecal (Opitz 1992). También existe el contagio vía fecal oral, por excrementos de aves infectadas y portadoras. Otras vías habituales de contagio son los alimentos, el agua de bebida y el aire. Así mismo pueden actuar como transmisores otros animales como pájaros, roedores e incluso el hombre (Pascual 1999).

Los brotes se presentan en pollos de 7 a 21 días de edad, con la tasa de mortalidad más alta entre los 7

y 10 días de edad. La mortalidad depende de la virulencia del patógeno, se presenta anorexia, debilidad, deshidratación, emaciación, cojera y dificultades para volar: debido a artritis ocasional, trastornos nerviosos que puedan provocar excitación y miedo, pueden presentarse problemas de equilibrio, diarrea acuosa o mucosa de color variable, disminución de la postura e incubación (Aiello 1998; Pascual 1999). En el animal adulto, la infección es generalmente subclínica, pero se puede potenciar en casos de stress, como la muda forzada, olas de calor, u otras infecciones; la mayoría de las veces quedan como portadores sanos (Aiello 1998; Pascual 1999).

Frecuentemente no se observan lesiones, pero puede presentarse artritis en alas y patas, retención del saco vitelino, focos necróticos en hígado, bazo, pulmones, se presenta exudado caseoso en los ciegos en casos crónicos. Las aves adultas solo muestran enteritis y diarrea (Aiello 1998; Pascual 1999).

El tratamiento de las parvadas infectadas generalmente se realiza usando enrofloxacin durante diez días, seguido de dos aplicaciones de un producto de exclusión competitiva a las 24 y 72 horas postratamiento. Se puede utilizar también furaltadona o furazolidona en el agua de bebida. La furazolidona al 0,04% por diez días es efectivo para reducir la mortalidad en pollos, si el tratamiento se inicia lo suficientemente temprano en el lote (Aiello 1998). Se han descrito recientemente nuevos tratamientos, debido a la gran importancia que se le ha dado a la salmonelosis como fuente de zoonosis en USA. Uno de ellos el producto denominado "PREEMPT". En pruebas realizadas en los Estados Unidos con 80,000 pollos, este producto redujo la *Salmonella* de cerca de un 7% en los pollos sin tratamiento hasta 0% en los que sí fueron tratados. Este producto es un probiótico que suprime la propagación de *Salmonella* en los intestinos de los pollos al someterla a una mezcla de 29 bacterias vivas, no peligrosas que se encuentran presentes de manera natural en los pollos adultos saludables (Salomón 2000).

Tratamiento y prevención

El control de *Salmonella* en la cadena alimentaria es un asunto complicado, debido a las interrelaciones existentes entre la contaminación medioambiental, los animales de abasto y el hombre (Eley 1994). La tendencia creciente de infección en humanos y los recientes brotes de origen alimentario originados por *Salmonella enteritidis* en huevos, subrayan la

necesidad de una mayor vigilancia en todos los aspectos de la producción de alimentos reflejada en la instauración de controles concertados entre gobierno e industria (Eley 1994).

Existen numerosos modos de controlar el acceso y diseminación de la Salmonella en los animales. Estos incluyen la regulación de la importación de animales vivos o ya sacrificados, el empleo de ganado y piensos exentos de Salmonella y unas buenas prácticas de manejo en las exportaciones de ponedoras (Eley 1994). La educación de los consumidores y manipuladores de alimentos en el manejo y cocinados seguros de carnes, huevos y otros ingredientes crudos potencialmente peligrosos es de gran importancia. El conocimiento de las técnicas básicas de elaboración de alimentos, tales como la adecuada refrigeración y el cocinado completo de los alimentos, debería extenderse a todos los niveles. Las infecciones por Salmonella se desencadenan frecuentemente tras el consumo de ciertos alimentos crudos o no cocidos en los que las bacterias están a menudo naturalmente presentes. Una cocción adecuada por lo común elimina el riesgo de infección. Debe recalcar que los métodos apropiados de cocinado han de ser acompañados de una sólida higiene en la cocina, que prevenga la contaminación cruzada desde los alimentos crudos hacia los ya cocinados, que constituye otra fuente importante de infecciones (Eley 1994).

La radiación ionizante ha sido aprobada como método de conservación de alimentos en varios países, sin embargo ciertos alimentos, sobre todo los ricos en grasas, no se prestan a estos tratamientos, además se teme que la radiación ionizante induzca al formación en los alimentos de radicales libres de efectos posiblemente perjudiciales (Eley 1994).

Por otra parte en todo brote epidemiológico presentado, es recomendable llevar a cabo una exhaustiva investigación epidemiológica en la cual se tengan en cuenta aspectos como la búsqueda de una fuente común de infección, la realización de encuestas a los afectados y manipuladores de alimentos, el cierre del local de donde se sospecha provino el alimento contaminado y de los proveedores del mismo. Así mismo la realización de análisis de laboratorio a los alimentos implicados en el brote, incluyendo a su vez cultivos de materia fecal y sangre de los afectados y manipuladores del alimento, así como también estudios serológicos en estos mismos (Guido 2000).

El control efectivo de Salmonella exige la declaración oficial rápida y eficaz de brotes, tanto a nivel nacional como internacional. Esta información es mas necesaria actualmente por el creciente movimiento de alimentos, de piensos y de materias primas para piensos en el comercio internacional, así como de personas entre unos y otros países (Eley 1994).

Finalmente, para prevenir la mayoría de casos de infección por Salmonella se recomienda:

- Ingerir la leche y sus derivados sólo si están pasteurizados.
- Cocer los alimentos muy bien antes de ingerirlos.
- Lavarse bien las manos después de usar el baño o de manipular mascotas, especialmente si son reptiles.

Los huevos, al igual que otros alimentos, se consideran seguros siempre y cuando se manipulen de una manera adecuada y se consuman bien cocidos. La ingestión de huevos con yemas líquidas representan un riesgo mayor que la ingestión de un huevo bien cocido. Los huevos sucios o agrietados se deben arrojar a la basura. Los huevos no se deben conservar en ambientes cálidos durante más de 2 horas. Igualmente se recomienda evitar la ingestión de huevos crudos en helados de preparación casera, en ponches y en alimentos como el aderezo para la ensalada Cesar o la salsa holandesa.

Con respecto al tratamiento, las infecciones por Salmonella no tifoidea son auto-limitantes, la terapia antibiótica no es apropiada en los casos no complicados de gastroenteritis. Cuando la enfermedad se complica y se torna sistémica se recomienda el uso de antibióticos que se concentren en el sistema linfático, como el cloramfenicol y la ampicilina. Para el tratamiento de portadores crónicos se emplean antibióticos que se concentran y eliminan por las bilis como la ampicilina o amoxicilina (Salyers 2002).

En las infecciones producidas por Salmonella typhi, el tratamiento antimicrobiano si es una buena elección. Para iniciar un tratamiento antimicrobiano exitoso es importante tener en cuenta el estado intracelular de la bacteria, por lo tanto la primera línea de tratamiento debe ser ampicilina o cloramfenicol. Pero el uso descontrolado ha

presionado selectivamente a *Salmonella* y los brotes producidos por cepas resistentes ya están haciendo estragos. Aislamientos hechos en Africa, demostraron un alto índice de multi-resistencia a antibióticos de primera línea de tratamiento en Ghana, principalmente debido a plásmidos conjugativos (Mills-Robertson 2002).

Este hecho ha motivado el estudio de otros antibióticos que reemplacen a los de primera línea y se ha comprobado recientemente que, cefotaxime y la ceftriaxona han tenido buenos resultados (Ekinci 2002).

Sin embargo, el uso indiscriminado de los antibióticos en la medicina humana y veterinaria, han favorecido el desarrollo de las cepas resistentes a los tratamientos

antimicrobianos. Un estudio reciente realizado en EE.UU demostró el hallazgo de genes de resistencia codificados dentro de plásmidos conjugativos en cepas multi-resistentes aisladas de cerdos de diferentes granjas que han favorecido la dispersión de la multiresistencia y ha dificultado el tratamiento antimicrobiano (Gebreyes 2002).

En humanos también se ha comprobado la presencia de genes de resistencia. En Rumania, se encontraron cepas de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium y Heilderberg que presentaban genes de espectro extendido a cefalosporinas (Miriago 2002).

La Salmonelosis es un problema serio de salud pública por lo que requiere mayor atención de parte de las autoridades sanitarias de Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aiello S, Amstutz H. The Merck Veterinary Manual. 8ª edition: Merck and CO. 1998.
2. Amer L, Von Spetch M. Incidencia de *Salmonella* en huevos de gallina y mayonesa artesanal. Rev Ciencia Tecnol. 1999; 2:43-49
3. Arnedo A, Bellido J. Brotes epidémicos de salmonelosis por consumo de huevos. Enfermedades infecciosas, Microbiología clínica. 1998; 16:408-12.
4. Beard Ch. Panorama de la *Salmonella* en los Estados Unidos. Ind Avícola. 1997; 26:50-53
5. Benhe K, Procesamiento de productos balanceados de origen animal. Departamento de ciencias e industrias de los granos. Universidad Estatal de Kansas, Kansas; USA. 2000.
6. Boletín Epidemiológico de España. Infecciones por *Salmonella* notificadas al sistema de información microbiológica. 2001; 9:(49).
7. Brock T, Madigan M. Microbiología. Sexta edición. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. Naucalpan De Juarez. Mexico; 1991; p 287-290,
8. Durango J, Arrieta G, Máttar S. Epidemiología de *Salmonella* spp aislada de alimentos en la costa Atlántica. Biomédica enviado 2002
9. Ekinci B, Coban Y, Birinci A, Durupinar A, Erturc M. In vitro effects of cephalexin and ceftriaxone on *Salmonella typhi* within human monocyte-derived macrophages. Clin Microbiol Infect. 2002; 8:810-13.
10. Eley A. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Editorial Acribia, Zaragoza (España). 1994; 17:1-17.
11. Fransechi M, Barrios H. *Salmonella*: separando el mito de la realidad. Ind Avícola. 1996.
12. Gast R, Porter R, Holt S. Applying tests for specific yolk antibodies to predict contamination by salmonella enteritidis in eggs from experimentally infected laying hens. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. 1998: 12-18.
13. Gebreyes W, Altier C. Molecular characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolates from swine. J Clin Microbiol. 2002; 40:2813-22.
14. Guido, G. Brote de origen alimentario causado por *Salmonella enteritidis* en la ciudad de Buenos Aires. 2000. <http://www.medvet.com.ar/trabajos/brote/htm>, www.medvet.com.ar/trabajos/brote/htm

15. Hidalgo M. Análisis molecular por ribotipificación de *Salmonella* spp aisladas de aves y humanos. Tesis de Maestría. Universidad Javeriana. Bogotá, 1999.
16. Hueck C. Type III secretion system in bacterial pathogens of animal and plants. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62:379-433.
17. Instituto nacional de salud. Prueba de idoneidad en bacteriología clínica. Bogota. 1997; 12-13.
18. Jiménez C, Mayorga R. Serotipificación y caracterización molecular de cepas de *Salmonella* spp aisladas de humanos y aves en diversas regiones de Colombia. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, 2000.
19. Jones F. Controlando la *Salmonella* durante el crecimiento. *Ind Avícola.* 1991.
20. Keller L, Benson Ch, et al. Invasion of chicken reproductive tissues and forming eggs is not unique to *Salmonella* Enteritidis *Avian Dis* 1997; 40:535-539.
21. Linder, E. Toxicología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza España. 1995; p53-65.
22. Maciorouski K, Pillai S, Ricke S. Efficacy of a commercial polymerase chain reaction-based assay for detection of *Salmonella* spp in animal feeds. *J Apply Microbiol.* 2000; 710-718.
23. Macri P, Porter R, Et al. The effects of induced molting on the severity of acute intestinal inflammation caused by *Salmonella* enteritidis. *Avian Dis.* 1997; 117-24.
24. Mandell, G; et al. Enfermedades infecciosas. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1997; p 2254-2272.
25. McIlroy G, Thompson J. Control de la *Salmonella* en Europa. *Ind Avícola.* 1997; 22-25.
26. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig L, Bresee J, Shapiro C, Griffin P, Tauxe R. Food-Related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999; 5:607-25.
27. Mendez I, Analisis Molecular de *Salmonella* enterica aisladas de humanos, aves y alimentos: en busca de una relación epidemiológica. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 1999.
28. Mills-Robertson, Addy M, Mensah P, Grupper S. Molecular characterization of antibiotic resistance in clinical *Salmonella typhi* isolated in Ghana. *FEMS Microbiol Lett.* 2002; 215:249-53.
29. Miriago V, Filip R, Comon G, Tzovelek L. Expanded-Spectrum cephalosporin-Resistant *Salmonella* strains in Romania. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:4334-36.
30. Mumma GA, Griffin PM, Meltzer MI, Braden CR, Tauxe RV. Evidence of Effectiveness of Egg Quality Assurance Programs, Mandatory Refrigeration, and Traceback Investigations To Mitigate Egg-Associated *Salmonella* enteritidis Infections in the United States. International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, 2002
31. Olsen A, Hammark T. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica*; and the dumpfly, *Hidrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera muscidae) at caged layer houses. *J Food Prot* 2000; 70:958-960.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
32. Optiz H, Singer J, et al. Epidemiología de la salmonela en ponedoras. *Ind Avícola.* 1992; 16-18.
33. Ovalle, Y; Reyes, Y. Aislamiento y serotipificación de *Salmonella* spp a partir de alimentos obtenidos en diferentes zonas de Santafé de Bogotá, D.C. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana, 1999.
34. Pascual. Salmonelosis y pullorosis. 1988. <http://www.labalcaza.com/salmonelosis.htm>.
35. Popoff M, Le Minor L. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. Institute Pasteur. Dr. Roux. París, Francia, 1992.
36. Rodriguez A, Hernandez L. *Salmonella* spp: en huevo comercial de dos empresas que surten el área metropolitana de Monterrey. *NL* 1997.

37. Salyers A, Whitt D. Bacterial Patogénesis: a molecular approach. ASM press, Washinton. second edition 2002; p 681-695.
38. Salomon A. Investigadores de USDA crean nuevo producto que reduce la salmonela en los pollos. Washinton D.C. USA. 1999. www.usda.gov/news/releases/spanish/8073html.
39. Vasquez E. Caracterización genotípica de Salmonella spp aislada de humanos y aves a través del elemento de inserción IS200. Tesis de Maestría. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 1999.
40. WHO Global Salm-Surv South America Working Group, WHO Global Salm-Surv. A WHO Global Salm-Surv Retrospective Study Examining Salmonella Serotypes in South America, 2000: Dominance of Salmonella Serotype enteritidis. International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, 2002.
41. Yamane Y, Leonard J, et al. A case study of Salmonella enteritidis origin at three egg-laying farms and its control with an S. Enteritidis Bacterin Avian Dis. 2000; 45:519-516.