

ACTUALIZACIÓN SOBRE LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS SALMONELOSIS EN AVES

Liliana Revollo, DVM, MSc., PhD.

En las últimas décadas, el control de la Salmonelosis en las aves y en los porcinos se ha convertido en una de las principales preocupaciones tanto de la industria como de los gobiernos. Así, muchos programas nacionales han sido creados e implementados, con el objetivo de controlar y prevenir la ocurrencia de la enfermedad. La *Salmonella* constituye un género bacteriano difundido mundialmente y con importancia también predominante en la Salud Pública. En aves, existen básicamente dos tipos de infecciones por *Salmonella*, sistémica o entérica (Figura 1) y sus diferencias se muestran en el Cuadro 1. Infecciones sistémicas producidas por *Salmonella* Pullorum y *Salmonella* Gallinarum han resurgido y continúan representando un serio problema en la industria avícola de la región, ya que las enfermedades clínicas y mortalidad que puede producir grandes perjuicios a la industria avícola. Por otro lado, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Kentucky y otras, son especies paratíficas que producen una infección de tipo entérica, que pueden afectar cualquier especie animal y pueden convivir en un único animal. Este grupo es capaz de colonizar el tracto gastrointestinal de diferentes especies. En las aves persisten en el intestino, sin signos clínicos, invaden la corriente sanguínea, y llegan a diferentes órganos internos, favoreciendo la contaminación de carcasas y huevos.

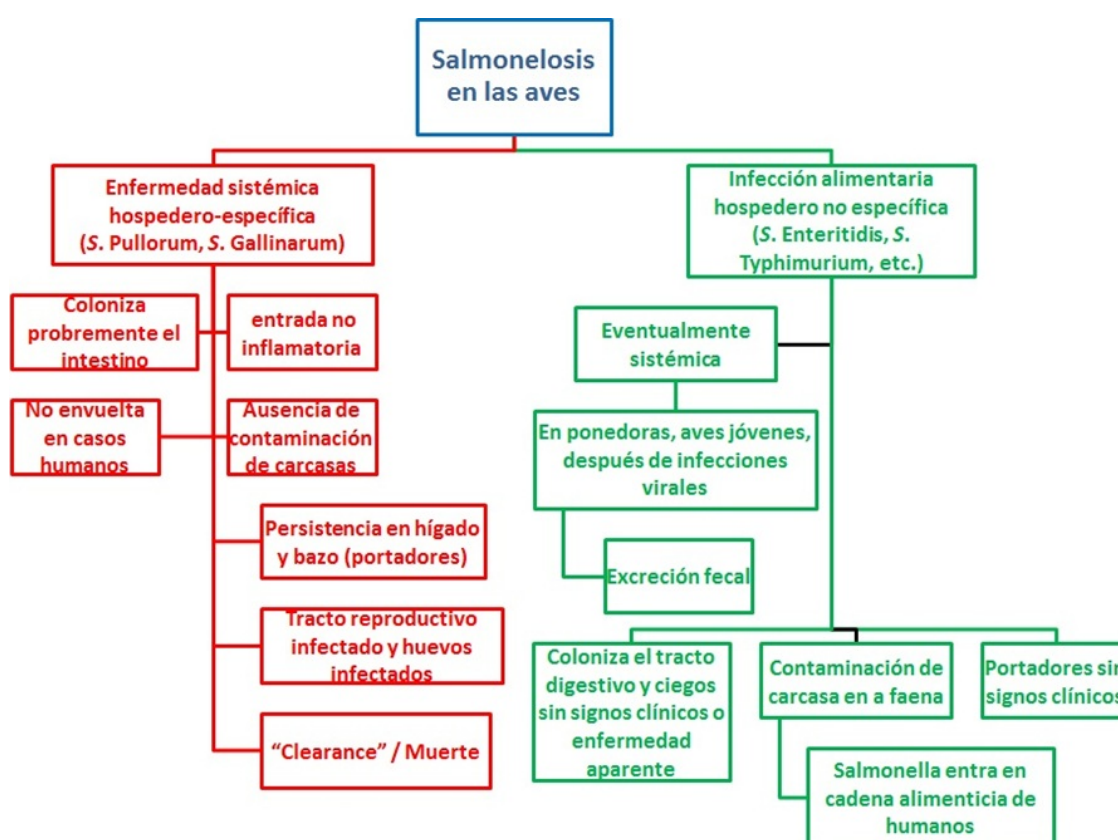


Figura 1.- Salmonelosis en las aves

Cuadro 1.- Diferencias entre la infección sistémica (hospedero-específica) y la infección por salmonelas paratíficas

Salmonelosis sistémica hospedero-específica (SG y SP)	Salmonelosis de origen paratífica (SE, ST y otras)
FASE 1 Invasión no inflamatoria	FASE 1 Invasión inflamatoria
FASE 2 Coloniza pobremente el tracto intestinal, y se establece la infección sistémica	FASE 2 Coloniza el tracto intestinal y ciegos, y los órganos internos
FASE 3 a) eliminación del agente, control de la replicación por la inmunidad innata, eliminación del agente respuesta Th1 dependiente. b) muerte del hospedero, falla en el control de la replicación. c) estado de portador, control de la replicación, eliminación parcial del agente.	FASE 3 a) Eliminación del agente, control de la replicación por la inmunidad innata, eliminación del agente respuesta Th1 dependiente. b) Estado de portador, control de la replicación, eliminación parcial del agente. c) Eventualmente altas mortalidades pueden observarse en pollitos durante la primera semana de vida, resultado de la transmisión vertical.

Adaptado de Chappell et al., 2009

La erradicación: una estrategia no realista y tampoco viable

La realidad de la región, no permite implementar un programa de erradicación en el sentido estricto de la palabra, a excepción de los criterios establecidos para comercio internacional por la OIE; porque es un criterio no realista e inviable.

En este sentido ya comentaba el Dr. Horacio Terzolo del INTA Argentina, que “procesos de erradicación de *Salmonella* no son factibles”, basado en las características del agente, su persistencia en el ambiente y en el hospedero, y la existencia de más de una serovariedad cuando se hace referencia a salmonelas paratíficas en las granjas. Al mismo tiempo, el Dr. Terzolo comentó que “procesos de erradicación necesitan tener soporte del gobierno”, especialmente porque antes de establecerse cualquier acción dirigida a la erradicación, se deben calcular los costos que eso implica: “costos de la eliminación de aves, eliminación de cama, capacidad instalada para que esto pueda llevarse a cabo sin mayores riesgos de diseminación, costos de reposición, aspectos relacionados a las descontaminación de las instalaciones para evitar la reinfección, y los costos indirectos relacionados al entrenamiento y educación”. En la región no hay programas de compensación para el sector avícola, no hay apoyo gubernamental para los costos que implica el proceso de erradicación, por lo cual la alternativa de erradicación debería ser re-evaluada por los servicios oficiales, especialmente para

lotes de aves donde los productos no son destinados al comercio internacional, lo que estaría en la línea de las recomendaciones de la OIE.

En opinión de la Dra. Pulido-Landinez de la Universidad de Mississippi, la “realidad en América Latina es que la posibilidad de despoblar totalmente las granjas afectadas de *Salmonella* Gallinarum es bastante lejana y el sacrificio de aves positivas se ve como económicamente inviable”.

En el Brasil la Dra. Soares del Instituto Biológico de Bastos en São Paulo, indica que “para los lotes de gallinas de postura la mejor indicación es el control de la infección, una vez que la erradicación de *Salmonella* de lotes de aves de producción de huevos y de su ambiente, no es una opción realista, debido a la alta tasa de contaminación y costos asociados a esta acción, que no poder ser aplicado en la mayoría de regiones de nuestro país”.

En consecuencia, y concordando con la realidad actual relativa a *Salmonella* (Tifosis o Pulorosis) en la región, la erradicación no es una alternativa viable; por lo que existe la imperiosa necesidad de desarrollar nuevos enfoques, para que en lotes diagnosticados como negativos se evite el ingreso del agente (prevención); y en granjas con historia de presencia del agente establecer estrategias y actividades para reducir el desafío en el ambiente, aumentar la resistencia de las aves y evitar la diseminación (control).

Identificación de los factores de riesgo y persistencia

La comunicación y sensibilización de los empresarios y técnicos, debe centrarse en la necesidad real del control del agente, indicando que para el éxito de un programa de control lo más importante es: la identificación de los factores de riesgo y persistencia. Estos factores pueden ser relativos al comportamiento del mercado, las aves al manejo realizado y a las instalaciones. Es necesario además de identificarlos, listarlos en orden de importancia para cada empresa y establecer estrategias y actividades, esto es, intentar disminuir el riesgo que ese factor identificado causa; de tal manera de evitar la enfermedad y la presencia de la bacteria en más de un ciclo productivo y prevenir la diseminación, siendo este aspecto mucho más sensible e indispensable especialmente en granjas multi-edades, practica común en postura comercial.

Los profesionales concuerda en que, es indispensable, la preparación de un plan de acción contra la tifosis aviar y otras salmonelas también, donde la identificación de los factores de riesgo y persistencia de *Salmonella* en las granjas. Es un consenso que, las estrategias de los programa de prevención y control deben ser completas y de tipo integral, quiere decir, incluir el análisis de todos los factores de riesgo determinantes en las salmonelosis aviares: a) la bacteria, b) el hospedero, y c) el medio ambiente, así como sus interacciones, algunas de las cuales se muestran en la Figura 2.

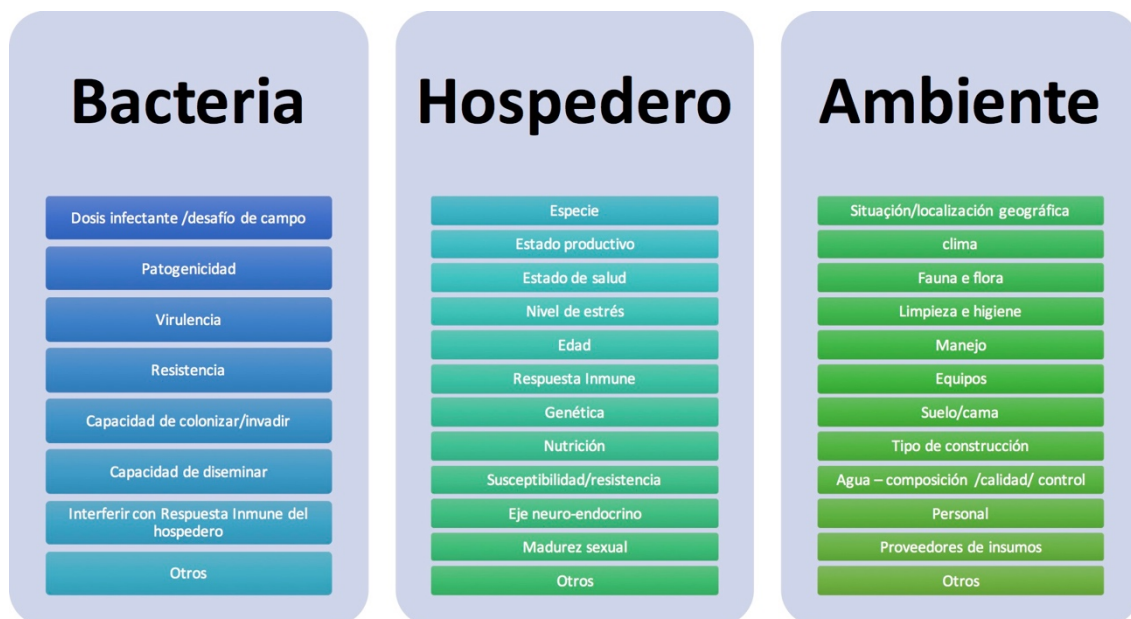


Figura 2: Factores de riesgo - salmonelosis aviarias

La dificultad y complejidad de la prevención y control, está en los innúmeros factores que deben ser controlados y de los factores identificados en cada una de las granjas como de riesgo antes del alojamiento de las aves. Un cuestionario básico que puede ser utilizado en una primera evaluación, para intentar identificar los factores de riesgo y persistencia en la granja se describe al final de esta presentación. Cada granja deberá completar este cuestionario de acuerdo a sus procedimientos y actividades particulares, relacionados a su rutina diaria. El objetivo de colocar un cuestionario, es facilitar la identificación de los puntos débiles de la granja, que permitirán identificar posteriormente a los factores de riesgo y persistencia; de tal manera de establecer un plan de acción con estrategias y actividades para minimizar estos riesgos identificados.

Prevención y control: dos conceptos necesarios en programas contra *Salmonella*

Prevención: medida o disposición que se toma de manera anticipada para evitar que suceda el ingreso del agente, o impedir, interrumpir o anular la evolución de una enfermedad.

Control: medida, disposición posterior al brote o presencia del agente o enfermedad, para reducir o minimizar la presencia del agente o enfermedad en las aves y el ambiente.

Los programas de prevención y control, debe estar basados en: a) la identificación de los factores de riesgo y persistencia de cada granja en particular y, b) el uso de las herramientas disponibles de manera adecuada, para garantizar la bioseguridad, las buenas prácticas de manejo, limpieza e higiene, el monitoreo, muestreo y diagnóstico correcto y el uso correcto de productos de uso veterinario.

En una buena parte de granjas los procedimientos que se deben realizar en relación al ambiente (Figura 2) donde las aves son criadas, son obvios y rutinarios, sin embargo,

los últimos años muestran el descuido de algunos puntos clave por el resurgimiento de la tifosis aviar y la circulación de este agente en diferentes regiones de las Américas. Esto deja algunas interrogantes sobre el manejo y aplicación integral de las medidas de bioseguridad, y algunos de estos procedimientos obvios, fueron olvidados o simplemente dejados de lado, o se aplican sin la debida rigurosidad y se olvidó verificar su cumplimiento; sin evaluar los riesgos y las consecuencias que esto podría ocasionar. Al mismo tiempo, la mayoría de alternativas que hoy se realizan están dirigidas para la prevención/control de *Salmonella* en el hospedero, y están agrupadas – una buena parte de ellas- en productos para la nutrición, o equilibrio del estado de salud (intestinal especialmente) e la respuesta inmune.

¿Por qué razones los antimicrobianos (antibióticos) NO DEBEN USARSE en infecciones por *Salmonella* en aves?

La terapia antimicrobiana es utilizada erróneamente en las granjas como una alternativa para reducir la mortalidad producida por *Salmonella* Gallinarum o *Salmonella* Pullorum, u otras salmonelas paratíficas especialmente en aves jóvenes, pero NO para evitar LA INFECCIÓN.

Las razones por la que los antibióticos NO DEBEN USARSE son las siguientes:

- a) Su utilización no tiene una justificación técnica coherente,
- b) No elimina la infección en el lote,
- c) La bacteria se perpetua en la granja, generándose los “portadores” –fuentes permanentes de contaminación durante el ciclo productivo- con lo cual se tendrá brotes cíclicos y periódicos de la enfermedad,
- d) Los antibióticos acaban con la flora intestinal dejando el intestino expuesto con mayor riesgo a agentes patógenos,
- e) Interferencia con el diagnóstico microbiológico reduciendo la sensibilidad de los programas de monitoreo,
- f) Aparición de cepas multiresistentes,
- g) Aparición de cepas con comportamiento diferente que los clásicos,

ALTERNATIVAS PARA REDUCIR EL DESAFÍO EN EL AMBIENTE

Acidificantes en los alimentos

Son principios activos biodegradables muy utilizados en la crianza de aves, aunque su eficacia es variable. La acidificación de los alimentos utilizando una mezcla apropiada permite reducir la carga de *Salmonella* de las raciones, es decir ejercen una actividad antimicrobiana en el alimento/raciones antes de que sea proporcionado a las aves.

Limpieza: una actividad obligatoria y permanente

La limpieza es la remoción física o mecánica de materiales como el polvo, material orgánico, restos de cama, biofilmes y otros que puedan haber quedado luego de la remoción de los animales de la granja. Este es un procedimiento indispensable a ser realizado antes de la desinfección. Una buena limpieza puede remover hasta un 80% de agentes.

La limpieza es un procedimiento que debe ser realizado en dos fases (Cuadro 2):

- a) La limpieza en seco: usando una escoba, una pala, un equipo de aire comprimido u otros, destinados a remover el polvo, tierra y material orgánico seco. Esta metodología no debe ser aplicada cuando los agentes se transmiten por la vía aerógena.
- b) La limpieza húmeda, usando un detergente y agua, en esta fase debe refregarse con una escobilla de tal manera de remover los biofilmes donde la *Salmonella* puede permanecer por largos periodo de tiempo.

Existen algunas guías de limpieza focalizadas en *Salmonella*, que no son más que una guía de eventos cronológicos y que se describen a continuación:

- Remoción de la cama, alimento y desechos. Remoción del alimento de los silos y comederos.
- Reparación necesaria de instalaciones o equipos.
- Equipos que deban ser retirados del galpón deben ser previamente lavados con agua y detergente.
- Retiro del polvo utilizando un aspirador industrial que minimice la disponibilidad de bacterias en los aerosoles que se forman durante el proceso de limpieza. Es una actividad que es altamente recomendada, aunque raramente utilizada.
- Uso de insecticidas / rodenticidas.
- Luego de la limpieza en seco, las instalaciones deben ser mojadas con agua conteniendo detergente.
- Lavado en alta presión son altamente recomendables, y preferencialmente con agua entre 40°C a 60°C.
- Utilizar un detergente alcalino o utilizando un acidificante. Es necesario recordar que los detergentes ácidos son eficaces en la remoción de biofilmes.
- Lavar el techo del galpón antes de lavar el piso.
- Lavar los sistemas de ventilación por fuera del galpón.
- Lavar el galpón hasta que no se observen residuos de materia orgánica.

Cuadro 2. Criterios importantes en la implementación de un programa de limpieza

Limpieza obligatoria	Criterios
Limpieza en seco	Elección del método de limpieza manual, con escobas, palas y otros equipos.
	Elección del método de limpieza mecánico con aspirador industrial.
Limpieza húmeda	Lavado simple con agua potable
	Lavado con agua bajo presión
	Lavado simple con agua y detergente alcalino – ácido
	Lavado con agua bajo presión y detergente alcalino – ácido.

Para realizar la limpieza del sistema de agua, se debe lavar con detergentes especiales que eliminen hongos, acumulación de minerales que se adhieren a los tanques y a las tuberías que transportan el agua. Para los sistemas de agua se recomienda:

- a) Aplicar un detergente ácido y dejarlo actuar durante 12 a 24 horas.
- b) Enjuagar el sistema de agua por aproximadamente cinco minutos con agua potable.
- c) Aplicar un desinfectante y dejarlo actuar por 6 a 8 horas. Enjuagar como indicado en el literal anterior.

Desinfectantes y desinfección

Son sustancias capaces de impedir, eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos. La OIE define desinfección a la aplicación, después de la limpieza, de procedimientos dirigidos a destruir agentes infecciosos y parasitarios incluidos aquellos que producen zoonosis, en vehículos y diferentes objetos, los cuales pueden haber sido directa o indirectamente contaminados. Los productos utilizados en este proceso son conocidos como desinfectantes.

No existe un acuerdo de lo que significa desinfección, además de la reducción de microorganismos; sin embargo este criterio no necesariamente está de acuerdo con la eficacia del desinfectante que requiere la reducción de por lo menos 5 logaritmos en el número de unidades formadoras de colonia en la mayoría de las pruebas. No obstante este requerimiento, en el mundo solamente cinco países exigen pruebas de eficacia oficiales para desinfectantes: Francia, Reino Unido, Estados Unidos, Alemania y los Países Bajos (Holanda), y no existe aún una armonización en los grupos de países para este grupo de productos.

Estos compuestos deben ser utilizados para que su eficacia sea óptima en la dilución recomendada, luego de la remoción de la materia orgánica, limpieza y lavado adecuado de las instalaciones. Algunos estudios han demostrado la eficacia de productos a base de formaldehído y cloro asociado a fenol en la eliminación de *Salmonella* Enteritidis. Compuestos mixtos de amonio cuaternario, glutaraldehído y formaldehído han demostrado una significativa eficacia en la eliminación de *Salmonella* cuando se compararon con compuestos conteniendo peróxido de hidrógeno o ácido peracético. Compuestos de clorocresol proporcionan rangos más altos de eficacia en la eliminación de *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium en superficies secas y húmedas, mientras que desinfectantes conteniendo formaldehído como ingrediente principal tuvieron eficacia en superficies secas. Desinfectantes individuales basados en amonio cuaternario, peróxido de hidrógeno y compuestos yodados tienen una mínima eficacia cuando se trata de *Salmonella*. Desinfectantes conteniendo glutaraldehído y cloruro de benzalconio como ingredientes activos ganaron popularidad en estos últimos años. Algunos años atrás, desinfectantes oxidantes de combinaciones de ácidos peracético y peróxido de hidrógeno fueron utilizados con bastante éxito, porque supuestamente eran menos perjudiciales para las personas y los animales.

Los procedimientos de desinfección dependen de varios factores previos, entre ellos los más importantes: a) la calidad de la limpieza, b) la dureza del agua, c) la calidad y conveniencia del desinfectante, d) la correcta dilución y aplicación del desinfectante.

Los procedimientos de desinfección tienen poco o ningún material escrito disponible, y la mayoría de experimentos son empíricos. Es difícil hacer un monitoreo de una limpieza eficaz, probablemente el criterio más importante es la ausencia de materia orgánica, aunque este es siempre un criterio subjetivo. Un parámetro utilizado es la reducción del conteo bacteriano. En instalaciones avícolas, muchas veces después de la limpieza hay un aumento del conteo de *Salmonella* y coliformes, probablemente originario de aerosoles procedentes del lavado o de la activación de bacterias en el polvo cuando fue humedecido.

Cuadro 3: criterios y recomendaciones de desinfección

Criterios	Recomendación
Elección del método de desinfección	Aspersión gota gruesa
Elección del desinfectante	Basado en eficacia, seguridad y precio
Método de aplicación del desinfectante	Dilución adecuada, volumen de aplicación, tiempo de contacto, modo de aplicación, termonebulización, otros.

El Cuadro 4 muestra las propiedades, las áreas donde pueden ser utilizados, y la eficacia en algunas condiciones, de los diferentes grupos de desinfectantes:

Cuadro 4.- Grupos de desinfectantes, propiedades y utilización

Propiedades	Cloro	Iodo	Fenol	Amonio cuaternario	Formaldehído
Bactericida	+	+	+	+	+
Bacteriostático	-	-	+	+	+
Fungicida	-	+	+	±	+
Viricida	±	+	+	±	+
Área de utilización					
Equipos Incubadora	+	+	+	+	±
Equipos sistema agua	+	+	-	+	-
Personal	+	+	-	+	-
Lavado de huevos	+	-	-	+	+
Piso	-	-	+	+	+
Cuartos/depósitos	±	+	±	+	+
Eficacia					
Con materia orgánica	Reducida	Reducida	Eficaz	Inactivado	Reducida
Con aguas duras	Eficaz	?	Eficaz	Inactivado	Reducida
Con detergentes	Inactivado	Eficaz	Eficaz	Inactivado	Reducida

+ Propiedad positiva, - Propiedad negativa, ±Acción limitada

Plagas y plaguicidas - insecticidas

Las plagas afectan la producción avícola pueden ser categorizadas en a) ectoparásitos y b) plagas de instalaciones. El primer grupo incluyen ácaros , piojos, pulgas y garrapatas, y el segundo está constituidos por moscas, colepteros y roedores (entre otros, como muestra el cuadro 5.

Cuadro 5.- Principales plagas que afectan la industria avícola moderna

Plaga	Tipo	Nombree científico	Hospedero(s)
Ectoparásitos	Garrapatas	<i>Argas persicus</i>	Gallina, pavos, palomas, patos y gansos.
	Ácaros	<i>Dermanyssus gallinae</i> <i>Ornithonyssus sylviarum</i> <i>Ornithonyssus bursa</i>	Gallinas, pavos, palomas, aptos y aves de vida libre.
	Piojos masticadores o malófagos	<i>Menacanthus spp.</i> <i>Menopon gallinae</i> <i>Goniocotes gallinae</i> <i>Gonioides dissimilis</i> <i>Gonioides gigas</i> <i>Gonioides gallinae</i> <i>Lipeurus caponis</i>	Gallina y pavos.
Plagas de instalaciones	Moscas sinantrópicas	<i>Musca domestica</i> <i>Stomoxys calcitrans</i> <i>Chrysomya putoria</i> <i>Muscina stabulans</i> <i>Fannia spp.</i>	Medioambiente
	Coleópteros	<i>Alphitobius diaperinus</i>	Medioambiente
	Roedores	<i>Rattus ratus</i> <i>Rattus norvegicus</i>	Medioambiente

Basicamente los pasos más importante en el establecimiento de un programa Integrado de Control de Plagas son los siguiente: a) identificación de la plaga, b) biología y comportamiento en el habita, c) monitoreo regular de los galpones y del medio ambiente interno y externo. Después de esta evaluación es posible utilizara uno de los métodos de control de plagas categorizados en el siguiente cuadro.

Cuadro 6.- Métodos de control de plagas en la producción avícola moderna

Método	Descripción
Control básico	Bioseguridad
	Manejo de desechos sólidos
	Manejo de equipos
	Manejo del galpón
	Manejo de la cama
	Descarte de aves muertas
	Compost

Método	Descripción
Control biológico	Enemigos naturales Parásitos de las plagas que atacan el estado de pupa
Control Químico	Control de artrópodos y roedores. Control de moscas

ALTERNATIVAS PARA REDUCIR EL DESAFIO EN EL HOSPEDERO

Acidificantes exógenos para administrar oralmente en las aves

En el mercado existen diferentes mezclas de ácidos orgánicos micro-encapsulados con ácidos grasos vegetales, que se cree facilitan la liberación gradual y controlada en el tracto gastrointestinal de las aves. Algunos estudios han relatado el efecto benéfico colocando estos productos como una alternativa eficaz a los mejoradores del desempeño (antiguamente denominados promotores del crecimiento).

La capacidad acidificante de un ácido depende principalmente de su constante de disociación, que debe ser reducida, pero también de otros factores en la ración y en el medio ambiente intestinal. Importante mencionar que los ácidos utilizados son orgánicos, ya que los inorgánicos no pasan a través de las membranas celulares, lo que restringe su actividad antimicrobiana. Ello actúan mediante dos mecanismos: la reducción del pH y la actividad antibacteriana

Abióticos (o sustancias abióticas)

Algunas sustancias purificadas, como los betaglucanos, han sido definidas como sustancias abióticas, las cuales adicionados en el alimento pueden regular o influenciar la respuesta inmune innata, contra algunos patógenos como *Salmonella*. El primer reporte de la actividad de estas sustancias en aves fue en 1989, y muchos trabajos en diferentes especies confirman su eficacia. Estas sustancias son derivadas de la pared celular de algunos cereales (ej. avena), hongos y levaduras, y potencializan la inmunidad en el tracto digestivo. Algunas de las fuentes de betaglucanos se muestran en el Cuadro 7. Recientemente, fue demostrada su eficacia en la prevención de colonización de órganos por *Salmonella* Enteritidis en aves, con lo cual podrán constituirse en una alternativa eficaz al manejo tradicional para el control de *Salmonella* y otras enfermedades causadas por bacterias entéricas.

Cuadro 7.- Algunas fuentes de betaglucanos

Nombre	Fuente
Curdlan	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Laminaran	<i>Laminaria SP.</i>
Pachynamaran	<i>Poria cocos</i>
Lentinan	<i>Lentinus edodes</i>
Glucano HÁ (Pleuran)	<i>Pleurotus ostreatus</i>
Schizophyllan	<i>Schizophyllum commune</i>
SSG (Sclerotinan)	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>

Scleroglucano	<i>Sclerotium gluconicum, Sclerotium rolfsii</i>
Grifolano	<i>Grifola frondosa</i>
T-4-N, T-5-N	<i>Dictyophora indusiata</i>
Glucano de levaduras	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Adaptado de: NOVAK, M.; VETVICKA, V. 2008. β -glucans, history, and the present: Immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *J. Immunotoxicol.* 5:47-57.

Bacteriófagos

Los bacteriófagos tienen la ventaja de ser naturales, no tóxicos para las poblaciones microbianas de los animales y el hombre, y relativamente baratos. La utilización de preparados mixtos han sido probados con éxito variable, en algunos casos mostrando reducción en los niveles de contaminación en las aves y en el medio ambiente; en otros casos mostrando eficacia en aves desafiadas con cepas de *Salmonella*, o en aves contacto. Los datos publicados de esta nueva herramienta de control muestran buenos resultados por periodos cortos, con fagos administrados como aditivos por la vía oral para un amplio espectro de salmonelas paratíficas, e inclusive para *Salmonella Gallinarum*. Aunque existen diferentes resultados, se ha sugerido que el tratamiento frecuente con bacteriófagos, deberían ser realizados antes de la colonización intestinal por *Salmonella* para lograr una reducción en el tiempo, no obstante, el uso paralelo a la infección experimental o posterior también ha demostrado alguna eficacia en estudios controlados. Por lo tanto, teniendo en cuenta los bacteriófagos como una partícula inerte, pueden constituirse en una excelente alternativa para la prevención y control de *Salmonella* en las aves, sin embargo, hay algunos desafíos para su utilización comercialmente:

- seleccionar, caracterizar y evaluar apropiadamente los bacteriófagos, de tal manera de evitar la resistencia de las cepas de *Salmonella*;
- incrementar el tiempo de eliminación de los bacteriófagos en el intestino, con la finalidad de reducir al mínimo el número de dosis;
- demostrar su estabilidad en el pH del tracto digestivo y a la temperatura interna de las aves;
- productos conteniendo preparados mistos para una amplia gama de salmonelas de las aves.

Enzimas

Algunas publicaciones y evidencias científicas han demostrado que la acción de enzimas exógenas resultan en la reducción de bacterias zoonóticas como *Campylobacter jejuni* y *Salmonella* Enteritidis, en el ciego de pollos de carne alimentados con raciones basadas en trigo o maíz. El tipo de ingrediente del alimento y el nivel de desafío patogénico influyen en el efecto de las enzimas en los cambios de la población microbiana del intestino. Los datos científicos indican que la suplementación exógena con enzimas, a través de su efecto en el microambiente intestinal por la mejora de la digestibilidad de la dieta, ofrece una útil alternativa en las prácticas de manejo empleadas para reducir la presencia de patógenos intestinales.

La eficacia de las enzimas sigue dependiendo de una serie de factores:

- El suplemento enzimático debe contener el espectro adecuado de enzimas para neutralizar los efectos anti-nutritivos del sustrato específico.

- El suplemento debe contener el nivel de actividad enzimática adecuada.
- Diferentes variedades de cereales o cosechas contienen diferentes niveles de polisacáridos no amiláceos. Por esto la respuesta a un tratamiento con enzimas varía dentro de un mismo cereal. Los resultados varían con el nivel de cereal y el tipo de grasa adicionada.
- No deben ser inactivados por el procesado de la ración, por el pH intestinal o por las enzimas pancreáticas.

Se deberá diseñar enzimas para inducir efectos específicos en la microflora intestinal. Como ejemplo, los AGV resultantes de la hidrólisis de los arabinoxilanos favorecen el crecimiento de bifidobacterias y otras especies, con lo que se reduce el porcentaje relativo de *Campylobacter* y *Clostridium*. Varios ensayos han demostrado que las xilanasas reducen la población intestinal de *Clostridium perfringens* y de coliformes, enterococos y bacterias en general. Algunos investigadores encontraron que la adición de xilanasas por sí sola fue tan eficaz como la avilamicina para mejorar los índices productivos y reducir la población de bacterias coliformes; lo mismo al combinar estos enzimas con oligosacáridos o la combinación de ácidos orgánicos con productos de levaduras o con oligosacáridos. También se han encontrado efectos sinérgicos entre xilanasas, ácidos orgánicos, productos de la pared celular de levaduras, y aceites esenciales, con efecto en la reducción de la transmisión horizontal de *Salmonella*.

Exclusión competitiva

Volterra en 1928, fue el primero a sugerir que la co-existencia de dos o más especies está limitada, y que la localización en un mismo espacio es imposible. La exclusión competitiva (EC), concepto descrito por la primera vez por Nurmi y Rantala en 1973, después de un brote de *Salmonella infantis* en Finlandia. El concepto, implica la prevención de entrada de un agente dentro de un ambiente pre-colonizado. De esta manera la microflora tipo adulto es administrada en aves de un día, con lo cual los pollitos aceleran el proceso de maduración de la microflora y aumenta su resistencia a la colonización por patógenos intestinales. Los mecanismos del efecto protector no han sido dilucidados completamente, pero el más aceptado es que la microflora nativa ejerce una exclusión competitiva, disminuyendo las bacterias contaminantes en el tracto intestinal de las aves.

Este método es reconocido como la colonización precoz del intestino, donde los microorganismos son excluidos debido a la competencia ejercida por la microflora pre-instalada. El concepto puede ser resumido de la siguiente manera: a) aves de un día se infectan con una única célula de *Salmonella*; b) aves adultas son resistentes a la infección por la existencia de la microflora nativa del intestino; c) la introducción de la microflora de un ave adulta en un ave de un día acelera el proceso de maduración de la microflora y aumenta la resistencia de los pollitos a la colonización.

El control de enteropatógenos puede ser: a) químico: existen grupos bacterianos que a través de una red de fimbrias bloquean los locales de adhesión de algunos patógenos entéricos, y otras tienen la capacidad de disminuir el pH por la producción de ácidos orgánicos inhibiendo los patógenos entéricos; b) biológico: debido a los diferentes géneros bacterianos presentes en la EC, que colonizan y se desarrollan, se producen un ambiente de exclusión casi permanente, que confiere a la mucosa una identidad

estructural a la composición bacteriana; c) físico: los productos de exclusión competitiva crean un sistema de integridad espacial, que impide que los patógenos intestinales encuentren un lugar para establecerse; d) bioquímicos: muchos microorganismos producen sustancias inhibitoras que permiten mantener un grupo de bacterias en un determinado lugar espacial e nutricional, en el ambiente intestinal.

Fitobióticos

Fitobióticos es un término utilizado para describir los derivados naturales de plantas conteniendo compuestos bioactivos que afectan positivamente el crecimiento y la salud de los animales, es frecuentemente aplicado a aceites esenciales, botánicos, extractos de plantas y oleoresinas. Algunos fitobióticos son conocidos por su actividad antimicrobiana, y algunos nutricionistas han recomendado su utilización como una alternativa al uso de antimicrobianos. Su efecto es mediado indirectamente por metabolitos generados en la microflora que usa compuesto bioactivos. La actividad de estos compuestos se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*, con una reducción significativa de *Salmonella*, algunos de ellos se detallan en el Cuadro 8.

Cuadro 8.- Algunas plantas con componentes bioactivos eficaces contra *Salmonella*

Aceite esencial derivado de la planta	Nombre comum	Bacteria
<i>Allium sativum</i>	Ajo	<i>Salmonella</i> Enteritidis
<i>Mentha piperita</i>	Yerba buena	<i>Salmonella</i> Enteritidis y <i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Origanum vulgare</i>	Orégano	<i>Salmonella</i> Enteritidis y <i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Pinus silvestris</i>	Pino silvestre	<i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero	<i>Salmonella</i> Enteritidis y <i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Salvia officinalis</i>	Salvia	<i>Salmonella</i> Enteritidis y <i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomillo	<i>Salmonella</i> Enteritidis y <i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Vetiveria zizanioides</i>	Vetiver	<i>Salmonella</i> Typhimurium

Otros efectos de estos productos están siendo evaluados, especialmente su potencial inmunomodulador, su efecto en la salud intestinal, en la estimulación de las secreciones endógenas y en la regulación de las poblaciones microbianas del tracto digestivo.

Prebióticos

Un prebiótico, es un ingrediente alimenticio no digestible que tiene efectos benéficos en el hospedero por la estimulación selectiva del crecimiento o de la actividad de una bacteria o un limitado número de ellas. El concepto fue introducido en 1995 por Gibson y Roberfroid. Para que un ingrediente sea considerado como prebiótico tienen que cumplir con los siguientes criterios: a) no debe ser hidrolizado en la primera parte

del tracto gastrointestinal; b) ser un sustrato selectivo para una o un limitado número de bacterias; y c) como consecuencia de la alteración de la microflora, ser capaz de tornar el medio ambiente más saludable. La importancia de uso de estas sustancias radica en su viabilidad, ya que toleran las variaciones del ecosistema gastrointestinal. Los más estudiados son los fructo-oligosacáridos (FOS), los manano-oligosacáridos (MOS) y los xilo-oligosacáridos (XOS). Los oligosacáridos pueden ser de origen natural, pero en su mayoría se obtienen por síntesis o hidrólisis enzimática. Los FOS se obtienen industrialmente a partir de la sacarosa o por hidrólisis de fructanos de mayor tamaño como la inulina; los XOS, por hidrólisis enzimática de xilanos, y los MOS principalmente a partir de la pared celular de levaduras, aunque también los hay de otros orígenes. Básicamente, estos productos no digestibles son el sustrato para la microflora beneficiosa en el intestino, bloquean las bacterias patógenas impidiendo su adherencia a la superficie de las células epiteliales intestinales (CEI), estimulan algunas comunidades de microorganismos beneficiosos y pueden modular la respuesta inmune. Algunos estudios han demostrado su eficacia en la mejora de la habilidad para eliminar *Salmonella*, sustentado en la actividad en algunos componentes del sistema inmune innato en las aves, sin embargo utilización en la dieta para reducir o eliminar la colonización por *Salmonella* y en consecuencia prevenir la contaminación de los productos avícolas debe ser validado a través de estudios de campo.

Probióticos

El término probiótico fue introducido por Lilly y Stilwell en 1965. La definición más utilizada es la de Fuller (1989) que conceptúa los probióticos como aquellos microorganismos que adicionados en el alimento afectan beneficiosamente el equilibrio del ecosistema intestinal, contribuyendo con la protección contra infecciones gastrointestinales y enfermedades inflamatorias del intestino. Los géneros *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium* y especialmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* están presentes en mezclas de cultivos definidos. Entre los mecanismos de acción descritos para estas sustancias están:

- a) producción de sustancias antimicrobianas (bacteriocinas y ácidos grasos volátiles que suprimen las poblaciones o especies patógenas;
- b) estímulo inmune de células residentes, especialmente de células presentadoras de antígenos ;
- c) exclusión competitiva, asociada a la competencia por lugares de adhesión en la mucosa;
- d) competencia de nutrientes; y,
- e) protección de las vellosidades y superficies absorbentes contra toxinas irritantes producidas por microorganismos patógenos, permitiendo la regeneración de la mucosa lesionada.

La utilización de probióticos como mejoradores de desempeño está aumentando, con resultados positivos en la mejora de la ganancia de peso y en la conversión alimenticia. Han sido utilizados diferentes microorganismos, varias especies de *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum* y otras. En las ponedoras ha sido demostrado el aumento de la resistencia a enfermedades y el efecto positivo sobre la producción de huevos.

Los probióticos presentan efectos beneficiosos, y especialmente son utilizados en la prevención de colonización por *Salmonella*. Algunas de las bacterias probióticas más utilizadas en aves se muestran en el Cuadro 9. Su actividad está sustentada en varios mecanismos, entre los cuales vale la pena destacar los siguientes:

- a) Favorecen el crecimiento de bacterias de la microflora normal del intestino, manteniendo el equilibrio del medio; influenciando positivamente en la microflora intestinal;
- b) Interfieren con las bacterias patógenas, previniendo la adherencia y colonización del tracto intestinal; por lo tanto hay una prevención de infecciones intestinales;
- c) Estimulan la producción de IgA secretora en el intestino, que previene la colonización de bacterias patógenas; como consecuencia hay un estímulo de la inmunidad local en la mucosa digestiva;
- d) Reducen las reacciones inflamatorias;
- e) Regulan la motilidad intestinal a través del balance entre solutos y líquidos dentro del intestino, favoreciendo la absorción de nutrientes.

Cuadro 9.- Microorganismos con actividad probiótica

Microorganismo	Tipo de ave
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>	Pollos de carne y ponedoras
<i>Bacillus subtilis</i>	Pollos y pavos de carne
<i>Enterococcus faecium</i>	Pollos de carne
<i>Lactobacillus casei</i>	Pollos de carne
<i>Pediococcus acidilacti</i>	Pollos de carne
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pollos y pavos de carne

Simbióticos o eubióticos

Probióticos y prebióticos presentes simultáneamente en un producto es llamado de simbiótico o eubiótico, y que pueden estar direccionados a diferentes regiones del tracto intestinal. La palabra recuerda a sinergismo, y debe ser utilizada para productos en los cuales el compuesto prebiótico favorece selectivamente el probiótico contenido en la fórmula. Por lo tanto, se favorece la sobrevivencia del probiótico contenido en la fórmula porque el prebiótico es su substrato específico, por ejemplo un producto conteniendo oligofructosa y un probiótico conteniendo bifidobacterias atiende completamente a la definición. La interacción entre probiótico y prebiótico in vivo puede ser favorecida por una adaptación del probióticos al sustrato prebiótico, en la prevención de colonización por *Salmonella* en las aves.

ALTERNATIVAS PARA AUMENTAR LA RESISTENCIA EN EL HOSPEDERO

Acidificantes endógenos - producidos en las aves

Tienen efecto sobre la bacteria y el hospedero. Estudios recientes indican que se puede estimular la producción “in situ” de ácidos orgánicos en el ciego de las aves. Onrust y colaboradores (2015) indican que estimulando la colonización y crecimiento de

bacterias productoras de butirato se puede optimizar la salud intestinal. Para estimular la producción de butirato se incluyen:

- a) El uso de sustratos prebióticos que son quebrados por las bacterias en moléculas pequeñas las cuales son utilizadas por las productoras de butirato, un concepto llamado “alimentación cruzada”;
- b) Xilooligosacáridos (XOS) son compuestos que pueden ser convertidos a lactato, el cual es metabolizado a butirato,
- c) Bacterias productoras de ácido láctico pueden ser suplementadas para apoyar las reacciones de “alimentación cruzada”,
- d) Suplementación directa de *Clostridium* productores de butirato, cepas de los grupos IV XIVa, son futuras herramientas.

El butirato ha sido identificado como una sustancia que:

- induce la expresión de genes de péptidos de defensa del hospedero (HDPs), los HDPs constituyen un gran grupo de antimicrobianos naturales de amplio espectro y una importante primera línea de defensa,
- aumenta la actividad antibacteriana de los monocitos del pollo contra *Salmonella* Enteritidis, con un impacto mínimo en la producción de citoquinas inflamatorias,
- disminuye la expresión de genes en la isla de patogenicidad I, especialmente asociada con la invasión,
- disminuye la invasión de *Salmonella* Enteritidis a las células epiteliales,
- mejora la inmunidad innata del hospedero y la resistencia a enfermedades.

Alimento

Tienen efecto directo en el hospedero y en la capacidad de colonización de la bacteria

La composición del alimento afecta la composición de la microflora de las aves. Por ejemplo, todos los cereales utilizados en la fabricación de raciones tiene diferentes niveles de polisacáridos no amiláceos (PNAs), al propiedad común de estos compuestos es su resistencia a las enzimas digestivas y su tendencia a dejar el medioambiente intestinal más viscoso, esta alta viscosidad ha demostrado relación directa con problemas de salud en las aves, porque el aumento de viscosidad y en consecuencia la disminución del tránsito intestinal, y de la actividad enzimática y digestibilidad de los nutrientes, favorece la colonización bacteriana; es por eso que las técnicas de incorporación de enzimas en las raciones permite su hidrólisis e favorece la salud intestinal de las aves.

La forma física de los cereales utilizados en la formulación de las raciones, puede afectar las características morfológicas y fisiológicas en el tracto intestinal. Alimento muy fino, puede aumentar la presentación de algunas enfermedades si se compara con otros tipos de alimento, como alimento peletizado por ejemplo. Algunos autores han demostrado que la inclusión en la dieta de algunos ingredientes favorecen las poblaciones microbianas benéficas en el intestino de las aves.

Estos sustratos pueden ser proporcionados directamente con el alimento o pueden ser de origen endógeno después de la provisión de cierto tipo de dietas. Diferentes estudios han demostrado que la composición de la microflora afecta la función intestinal, digestión, absorción de nutrientes, así como la disponibilidad de sustratos

que modulan la composición de ciertas comunidades microbianas. Por ejemplo, carbohidratos rápidamente fermentables son hidrolizados por la microbiota en la porción proximal de TGI, mientras que los carbohidratos fermentables lentamente ejercen su acción en las poblaciones del TGI distal. Esta es una línea de investigación con un amplio campo de acción, y sus interacciones con la adición de otros compuestos mencionados a lo largo de esta presentación

Vacunas

Tiene efecto directo sobre la resistencia en el hospedero, y secundario sobre la reducción del desafío en el ambiente.

La vacunación es una herramienta eficaz en la prevención y control de las infecciones por *Salmonella*, que está dirigida básicamente a tres aspectos: a) prevenir o reducir la colonización intestinal; b) prevenir la infección sistémica y; c) reducir la excreción fecal.

La potencial superioridad de las vacunas vivas atenuadas en comparación con productos inactivados ha sido motivo de numerosas investigaciones, con el desarrollo de cepas mutantes de *Salmonella* tanto para uso humano como veterinario. Se ha relatado que la vacunación con vacunas vivas disminuye la excreción de *Salmonella* Enteritidis considerablemente, cuando fueron comparados con grupos vacunados con vacunas inactivadas o sin vacunación, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por varios autores que confirman la eficacia de vacunas vivas en comparación con vacunas inactivadas. Al mismo tiempo, se ha reafirmado la importancia de la inmunidad mediada por células (CMI) en la eliminación de *Salmonella* en aves., lo que ya había sido demostrado en roedores, y que actualmente ha tenido una confirmación en las aves por el grupo de Beal en el Reino Unido, quienes confirman que la eliminación de *Salmonella* Typhimurium es independiente de la función de las células B y que a pesar de que se inducen altos niveles de anticuerpos en las aves, las células B no juegan un papel en la eliminación de una infección primaria y tampoco en la mejora de la respuesta ante un segundo desafío.

Las vacunas vivas contra *Salmonella* confieren mejor protección que vacunas inactivadas, por la estimulación de la inmunidad mediada por células y la inmunidad de las mucosas, adicionalmente al estímulo humoral sistémico que no es muy intenso. El uso de vacunas vivas se ha extendido en las aves, sin embargo, a pesar de la inocuidad demostrada en estos productos debe tenerse cuidado en respetar los periodos de retiro del producto, para asegurar que los productos finales (carne y huevos) no están contaminados con las cepas vacunales ni con residuos de los otros componentes de la vacuna.

Otra cepa atenuada utilizada ampliamente desde la década del 50 es la 9R con estructura rugosa del lipopolisacárido, aunque la naturaleza de su atenuación sea desconocida se utiliza hace más de 50 años con resultados variables. Esta cepa causa una enfermedad sistémica con lesiones en el hígado y bazo, y persistencia por algunas semanas en estos órganos. Por lo tanto, la cepa vacunal produce una forma leve de salmonelosis sistémica, lo que ha permitido que se utilice como modelo biológico para caracterizar la inmunidad en la tifosis aviar. Algunas evidencias científicas basadas en estudios de secuenciamiento del genoma entero, mostraron que los aislamientos de

campo de brotes de tifosis aviar en ponedoras son frecuentemente idénticas a la cepa vacunal 9R, y que las mutaciones en los genes podría explicar los fenotipos más virulentos, o la manifestación diferenciada de la propia cepa bajo condiciones de estrés.

Otras vacunas que eficientes en la protección de *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium son las producidas con cepas mutantes de diferente origen y desarrollo, que han demostrado su eficacia también en ponedoras, reproductoras, pavos y patos. Las cepas de vacunas vivas comercialmente utilizadas para la prevención de la salmonelosis en las aves se describen en el cuadro 8.

Cuadro 8. Vacunas vivas comercialmente utilizadas en la prevención de la Salmonelosis en las aves

Serotipo de <i>Salmonella</i>	Cepa	Via de administración
Enteritidis	<i>Salmonella</i> Enteritidis cepa mutante metabólica	Oral
	<i>Salmonella</i> Enteritidis cepa 441/014 auxotrófica para adenina e histidina	Oral
Gallinarum	<i>Salmonella</i> Gallinarum cepa 9R	Subcutánea o intramuscular.
Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium cepa mutante genética por delección.	Oral/Spray
	<i>Salmonella</i> Typhimurium mutante metabólica	Oral
	<i>Salmonella</i> Typhimurium mutante aromática	Spray
	<i>Salmonella</i> Typhimurium mutante química	Oral/Spray
	<i>Salmonella</i> Typhimurium fago DT9 auxotrófica para adenina e histidina	Oral

En ponedoras, Bouzoubaa y colaboradores en 2010, demostraron la eficacia de una vacuna viva atenuada de *Salmonella* Enteritidis contra brotes de Tifosis aviar producida por *Salmonella* Gallinarum en ponedoras en Marruecos, e inclusive mostraron la limpieza del organismo de desafío de estas aves que llegó al 89% a las 34 semanas, indicando la posibilidad de un efecto terapéutico de la vacuna para el control de la tifosis aviar.

En pollos parrilleros, los periodos cortos de crianza permiten explotar el efecto de inhibición de la colonización propiciada por las cepas vacunales. La Inhibición de la colonización es un concepto en el cual una cepa viva de *Salmonella* oralmente administrada en pollitos de un día y protege de un subsecuente desafío. Para aprovechar este fenómeno en las vacunas vivas para pollos parrilleros, además de estimularse el desarrollo de una verdadera inmunidad a la infección, la administración oral de vacunas de *Salmonella* vivas atenuada a pollitos de un día (en los casos que

esas vacunas son recomendadas en esa edad de vacunación) puede inducir un efecto de inhibición de la colonización contra otras salmonelas en una cuestión de horas. Evidencia de la especificidad de la inhibición entre las cepas de *Salmonella* es proporcionada por los hechos que a) el más profundo nivel de inhibición es producido entre cepas de *Salmonella* isogénicas¹; b) inhibición entre cepas del mismo serovar es mucho más efectivo que entre cepas de diferentes serovares y; c) los efectos inhibitorios no ocurren entre organismos no relacionados (Methner et al., 2004).

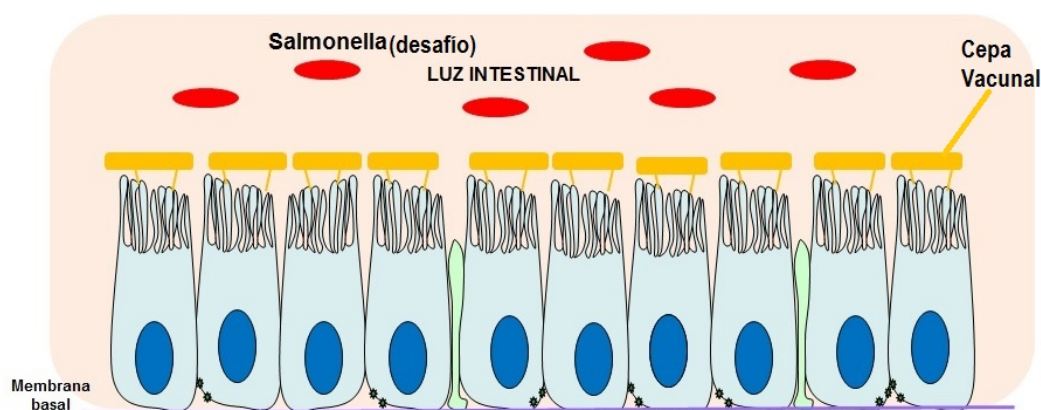


Figura 3.- Efecto de la inhibición de la colonización

El experimento realizado por Methner et al. (2011) probó a los serogrupos pertenecientes a los serogrupo O4 (antiguo grupo B), O9 (antiguo grupo B) O6, O7 y O8 (antiguo grupo C), y O13 (antiguo grupo G), en aves jóvenes. Los resultados del experimento mostraron que el efecto de inhibición de la colonización fue más fuerte entre cepas isogénicas (cepas que pertenecen al mismo clon), y el efecto de inhibición entre cepas de *Salmonella* Enteritidis (SE) fue considerablemente mayor que entre las cepas de *Salmonella* Typhimurium. Casi no se produjo ningún efecto inhibitorio entre la cepa rugosa ST 1464 y ninguna de las cepas de ST fue capaz de reducir el crecimiento intestinal de cepas heterólogas² de SE 147NA. Las cepa de SE fagotipo 4 mostraron una muy elevado inhibición contra cepas no isogénicas y en algunos casos casi completa contra estas cepas. Ninguna de las cepas de SE fue capaz de influenciar la colonización cecal de la cepa heteróloga ST 9098NA.

Un estudio realizado por De Cort et al., (2014) demostró la eficacia de cepas de *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium Δ hilAssrAflG protegiendo contra desafíos contra *Salmonella* Enteritidis y Typhimurium. El cultivo combinado no fue protector contra el desafío con *Salmonella* Paratyphi M varietas Java, indicando mecanismos de protección serotipo-específicos. En el caso de vacunas vivas es conocido que el efecto CI es obtenido en pollitos recién nacidos vacunados al primer día de edad, porque la cepa vacunal coloniza extensiva y rápidamente el intestino (Barrow, 2007) antes que la flora normal intestinal se establezca. El efecto de inhibición de la colonización es más pronunciado entre cepas isogénicas y hay una

¹ Isogénico , prefijo ISO=igualdad de origen común

²Heterólogo: de diferente origen / falta de correspondencia de similitud orgánica de estructuras como resultado de un origen diferente de las partes constituyentes.

mayor inhibición dentro de un serovar que entre serovares (Van Immerseel et al., 2005; Methner et al., 2011; Methner et al., 2004).

La administración de cepas vacunales vivas atenuadas en pollitos de un día proporciona protección contra la infección dentro de horas por el efecto de inhibición de la colonización. No obstante, la medida en la cual la aplicación oral de cepas vacunales de *Salmonella* viva tipo salvaje (de campo) puede inducir un efecto temprano de inhibición de la invasión es desconocido. Methner et al., (2010) examinaron el potencial protector de pre-tratamiento de cepas de *Salmonella* Enteritidis e Infantis para su habilidad de colonizar los ciegos, invadir el hígado, inducir el influjo de granulocitos en la mucosa cecal y, por su capacidad de inhibir la invasión sistémica de cepas de desafío de *Salmonella* homólogas y heterólogas. *Salmonella* Enteritidis induce un influjo fuerte de heterófilos y una inhibición de la invasión completa de organismos de desafío de *Salmonella* homólogos y heterólogos administrados un día después. *Salmonella* Infantis resultó en un bajo influjo de heterófilos en el tejido cecal seguido de una completa inhibición de la colonización del serovar homólogo³ Infantis.

Literatura consultada

1. Allen, J.S.; Dougan, G.; Strugnell, R.A. 2000. Kinetics of the mucosal antibody secreting cell response and evidence of specific lymphocyte migration to the lung after oral immunisation with attenuated *S. enterica* var. typhimurium. FEMS Immunol Med Microbiol 27: 275-281.
2. Amerah, A.M.; Mathis, G.; Hofacre, C.L. 2012. Effecto of xylanase and a blend of essential oils on performance and *Salmonella* colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella* Heidelberg. Poult. Sci. 91:943-947.
3. Atterbury, R.J., Van Bergen, M.A.P., Ortiz, F., Lovell, M.A., Harris, J.A., De Boer, A., Wagenaar, J.A., Allen, V.M., Barrow, P.A. 2007. Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broilers chickens. Appl. Environ. Microbiol. 73:4543-4549.
4. Babu, U.; Dalloul, R.A.; Okamura, M.; Lillehoj, H.S.; Xie, H.; Raybourne, R.B. et al. 2004. *Salmonella* enteritidis clearance and immune responses in chickens following *Salmonella* vaccination and challenge. Vet Immunol Immunopathol 101:251-257.
5. Babu, U.S.; Sommers, K.; Harrison, L.M.; Balan, K.V. 2012. Effects of fructooligosaccharide-inulin on *Salmonella*-killing and inflammatory gene expression in chickens macrophages. Vet. Immunol. Immunopathol. 149:92-96.
6. Bajpai, V.K.; Baek K.H.; Kang, S.C. 2012. Control of *Salmonella* in food by using essential oils: a review. Food Res. Int. 45:722-734.
7. Barbezange, C.; Ermel, G.; Ragimbeau, C.; Humbert, F.; Salvat, G. 2000. Some safety aspects of *Salmonella* vaccines for poultry: in vivo study of genetic stability of three *Salmonella* typhimurium live vaccine. FEMS Microbiol Lett 192:101-106.

³ Homólogo: una grado de similitud, como una posición o estructura, y que puede indicar un origen común / un estado de similitud en estructura o posición anatómica pero no necesariamente función entre diferentes organismos indicando un ancestro común u origen de evolución.

8. Bardina, C., Spricigo, D.A., Cortés, P., Llagostera, M. 2012. Significance of the bacteriophage treatment schedule in reducing *Salmonella* colonization of poultry. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:6600-6607.
9. Barrow, P.A. 2007. *Salmonella* infections: immune and non-immune protection with vaccines. *Avian Pathol* 36: 1-13.
10. Barrow, P.A.; Huggins, M.B.; Lovell, M.A.; Simpson, J.M. 1987. Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in chickens *Res Vet Sci* 42:194-199.
11. Barrow, P.A.; Simpson, J.M.; Lovell, M.A. 1988. Intestinal colonization in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes: microbial characteristics associated with faecal excretion. *Avian Pathol* 17:571-588.
12. Beal, R.K.; Powers, C.; Davison, T.F.; Barrow, P.A.; Smith, A.L. 2006. Clearance of enteric *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens is independent of B-cell function. *Infect Immun* 74:1442-1444.
13. Bienenstock, J.; Rudzik, O.; Clancy, R.L.; Perey, D.Y. 1974. Bronchial lymphoid tissue. *Adv Exp Med Biol* 45:47-56.
14. Blanc-Potard, A.B.; Solomon, F.; Kayser, J.; Groisman, E.A. 1999. The SPI-3 pathogenicity of *Salmonella enterica*. *J Bacteriol* 181:998-1004.
15. Boyaka, P.N.; Tafaro, A.; Fischer, R.; Fujihashi, K.; Jirillo, E.; McGhee, J.R. 2003. Therapeutic manipulation of the immune system: enhancement of innate and adaptative mucosal immunity. *Curr Pharm Des* 9:1965-1972.
16. Brawn L.C.; Hayward, R.D.; Koronakis, V. 2007. *Salmonella* SPI-I effector sipA persists after entry and cooperates with a SPI-2 effector to regulate phagosome maturation and intracellular replication. *Cell Host Microbe* 1:63-75.
17. Chappell, L.; Kaiser, P.; Barrow, P.; Jones, M.A.; Johnston, C.; Wigley, P. 2009. The immunobiology of avian systemic salmonellosis. *Vet Immunol Immunopathol* 128:53-59.
18. Chen, L.M.; Kaniga, K.; Galán, J.E. 1996. *Salmonella* spp. Are cytotoxic for cultured macrophages. *Mol Microbiol* 21:1101-1115.
19. Collins, F.M. 1974. Vaccines and cell-mediated immunity. *Bacteriol Rev* 38:371-402.
20. Cotter, P.A.; DiRita, V.J. 2000. Bacterial virulence gene regulation: an evolutionary perspective. *Ann Rev Microbiol* 54:519-565.
21. Dieye, Y.; Ameiss, K.; Mellata, M.; Curtiss III, R. 2009. The *Salmonella* pathogenicity island (SPI) I contributes more than SPI2 to the colonization of the chicken by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *BMC Microbiol* doi:10.1186/1471-2180-9-3.
22. Erf, G.F. 2004. Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science* 83:580-590.
23. Ernst, R.K.; Guina, T.; Miller, S.I. 1999. How intracellular bacteria survive: surface modifications that promote resistance to host innate immune response. *J Infect Dis* 179 Suppl 2: S326-330.
24. Fukutome, K.; Watarai, S.; Mukamoto, M.; Kodama H. 2001. Intestinal mucosal immune response in chickens following intraocular immunization with liposome-associated *Salmonella enterica* serovar enteritidis antigen. *Dev Comp Immunol* 25: 475-484.
25. Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365-378.

26. Galan, J.E. 1996. Molecular genetic bases of *Salmonella* entry into host cells. *Mol Microbiol* 20: 263-271.
27. Galan, J.E. 2001. *Salmonella* interactions with host cells: type III secretion at work. *Ann Rev Cell Dev Biol* 17:53-86.
28. Gantois, I.; Ducatelle, R.; Timbermont, L.; Boyen, F.; Bohez, L.; Haesebrouck, F. et al. 2006. Oral immunization of laying hens with the live vaccine strains of TAD salmonella vac E and TAD salmonella vac T reduces internal egg contamination with *Salmonella* Enteritidis. *Vaccine* 24:6250-6255.
29. Garcia-del Portillo, F. 2001. *Salmonella* intracellular proliferation: where. When and how? *Microbes Infect* 3:1305-1311.
30. Gast RK. Paratyphoid infections. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editors. *Diseases of Poultry*. Iowa: Iowa State Press; 2003. p. 583-613.
31. Gast, R.K.; Stone, H.D.; Holt, P.S. 1993. Evaluation of the efficacy of oil-emulsion bacterins for reducing fecal shedding of *Salmonella* Enteritidis by laying hens. *Avian Dis* 37:1085-1091.
32. Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125:1401-1412.
33. Gosney, D.I.; Knoechel, D.G.; Finlay, B.B. 1999. Enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella* and *Shigella*: Master of host cell cytoskeletal exploitation. *Emerg Infect Dis* 5:216-223.
34. Grimont, P.A.D.; Weill, F.X. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars 9th Edition, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur (https://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/salmoms/WKLM_En.pdf)
35. Harrison, J.A.; Villareal-Ramos, B.; Mastroeni, P.; DeMarco de Hormaeche, R.; Hormaeche, C.E. 1997. Correlates of protection induced by live Aro-*Salmonella* typhimurium vaccines in the murine typhoid model. *Immunol* 90:618-625.
36. Hassan, J.O.; Curtiss III, R. 1990. Control of colonization by virulent *Salmonella* typhimurium by oral immunization of chickens with avirulent delta cya delta crop S. typhimurium. *Res Microbiol* 141:839-850.
37. Hensel, M. 2000. *Salmonella* pathogenicity island 2. *Mol Microbiol* 36: 1015-1023.
38. Hersh, D.; Monanck, D.M.; Smith, M.R.; Ghori, N.; Falkow, S.; Zychlinsky, A. 1999. The *Salmonella* invasion SipB induces macrophages apoptosis by binding to caspase-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 96:2396-2401.
39. Hong S.S., Joeng, J., Lee, J., Kim, S., Min, W.G., Myung, H. 2013. Therapeutic effects of bacteriophages against *Salmonella* Gallinarum infection in chickens. *J. Microbial. Biotechnol.* Doi10.4014/jmb.1304.04067.
40. Husband, A.J. 2002. Mucosal memory: maintenance and recruitment. *Vet Immunol Immunopathol* 87:131-136.
41. Jensen, V.B.; Harty, J.T.; Jones, B. 1998. Interactions of the invasive pathogens *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Shigella flexneri* with M cells and murine Peyer's patches. *Infect Immun* 66:3758-3766.
42. Jepson, M.A.; Clark, M.A. 1998. Studying M cells and their role in infection. *Trends in Microbiol* 6:359-365.
43. Jepson, M.A.; Clark, M.A. 2001. The role of M cells in *Salmonella* infection. *Microbes Infect* 3:1183-1190.

44. Jin, G.; Hruby, M. 2003. The effect of enzymes on *Campylobacter* and *Salmonella* in broilers. Proc. Aust. Poult. Sci. Sym.
45. Kantele, A.; Arvilommi, H.; Kantele, J.M.; Rintala, L.; Makela, P.H. 1991. Comparison of the human immune response to live oral, killed oral or killed parenteral *Salmonella typhi* TY21A vaccines. Microbiol Pathog 10:117-126.
46. Karasova, D.; Sebkova, A.; Vrbas, V.; Havlickova, H.; Sisak, F.; Rychlik, I. 2009. Comparative analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis mutants with a vaccine potential. Vaccine 27:5265-5270.
47. Kerneis, S.; Bogdanova, A.; Kraehenbuhl, J.P.; Pringault, E. 1997. Conversion by Peyer's patch lymphocytes of human enterocytes into M cells that transport bacteria. Science 277:949-952.
48. Khan, M.I.; Fadl, A.A.; Venkitanarayanan, K.S. 2003. Reducing colonization of *Salmonella* Enteritidis in chicken by targeting outer membrane proteins. J Appl Microbiol 95:142-145.
49. Kwon, H.J.; Cho, S.H. Pathogenicity of SG9R, a rough vaccine strain against fowl typhoid. 2011. Vaccine 29:1311-1318.
50. Linn, T.H.; Kim, M.S., Lee, D.H., Lee, Y.N., Park, J.K., Youn H.N., Lee, H.J., Yang, S.Y., Cho, Y.W., Lee J.B., Park, S.Y., Choi, I.S., Song, C.S. 2012. Use of bacteriophage for biological control of *Salmonella* Enteritidis infection in chicken. Res. Vet. Sci. 93:1173-1178.
51. Lynne, A.M.; Dorsey, L.L., David, D.E.; Foley, S.L. 2009. Characterisation of antibiotic resistance in host-adapted *Salmonella enterica*. Int J Antimicrob Agents 34:169-172.
52. Mastroeni, P.; Chabalgoity, J.A.; Dunstan, S.J.; Maskell, D.J.; Dougan, G. 2001. *Salmonella*: immune responses and vaccines. Vet J 161:132-164.
53. Mastroeni, P.; Ménager, N. 2003. Development of acquired immunity to *Salmonella*. J Med Microbiol 52:453-459.
54. Mead, G.C. (2000). Review: Prospects for 'competitive exclusion' treatment to control salmonellae and other foodborne pathogens in poultry. Veterinary Journal 159, 111-123.
55. Meenakshi, M.; Bakshi, C.S.; Butchaiah, G.; Bansal, M.P.; Siddiqui, M.Z.; Singh, V.P. 1999. Adjuvanted outer membrane protein vaccine protects poultry against infection with *Salmonella enteritidis*. Vet Res Commun 23: 81-90.
56. Mestecky, J.; Abraham, R.; Ogra, P.L. 1994. Common mucosal immune system and strategies for the development of vaccines effective at the mucosal surfaces. In: Ogra, P.L., Mestecky, J., Lamm, M.E., Strober, W.; McGhee, J.R.; Biennestock, J. (Eds.). Handbook of Mucosal Immunity. Academic Press, San Diego, CA, USA, 357-372.
57. Monack, D.M.; Hersh, D.; Ghori, N.; Bouley, D.; Zychlinsky, A.; Falkow, S. 2000. *Salmonella* exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine thypoid model. J Exp Med 192:249-258.
58. Moyron-Quiroz, J.E.; Rangel-Moreno, J.; Hartson, L.; Kusser, K.; Tighe, M.P.; Klonowski, K.D. et al. 2006. Persistence and responsiveness of immunologic memory in the absence of secondary lymphoid organs. Immunity 25:643-654.
59. Mukhopadhyay, S.; Ramaswamy, R. 2012. Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: a review. Food Res. Int. 45:666-677.

60. Nurmi, E.; Rantala, M. 1973. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature* 241: 210-211.
61. Pabst, O.; Herbrand, H.; Bernhardt, G.; Forster, R. 2004. Elucidating the functional anatomy of secondary lymphoid organs. *Curr. Op. Immunol.* 16:394-399.
62. Patterson, J.A. and Burkholder, K.M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science* 82 (4), 627-631.
63. Philpott, D.J.; Girardin, S.E.; Sansonetti, P. 2001. Innate immune response of epithelial cells following infection with bacterial pathogens. *Curr Op Immunol* 13:410-416.
64. Rabsch, W.; Tschape, H.; Baumler, A.J. 2001. Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. *Microbes Infect* 3:237-247.
65. Rescigno M.; Rotta, G.; Valzasina, B.; Ricciard-Castagnoli, P. 2001. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology* 204: 572-581.
66. Sadeyen, J.R.; Troterau, J.; Velge, P.; Marly, J.; Beaumont, C., Barrow, P.A. et al. 2004. *Salmonella* carrier state in chicken: Comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. *Microbes Infect* 6:1278-1286.
67. Salazar-Gonzales, R.; Niess, J.; Zammit, D.; Ravindran, R.; Srinivasan, A.; Maxwell, J. et al 2006. CCR-Mediated dendritic cell activation of pathogen-specific T cells in Peyer patches. *Immunity* 24: 623-632.
68. Silva, E.N.; Snoeyenbos, G.H.; Weinack, O.M.; Smyser, C.F. 1981. Studies on the use of 9R strain of *Salmonella gallinarum* as a vaccine in the chickens. *Avian Dis* 25:38-52.
69. Smith, A.D.; Beal, R. 2008. The avian enteric immune system in health and disease. In: *Avian Immunology*, F. Davison; B. Kaspers, and K. Schat Eds. 1st. Edition. Elsevier. p.243-271.
70. Smith, H.W. 1956. The use of live vaccines in experimental *Salmonella gallinarum* infection in chickens with observations on their interference effect. *J Hyg (London)* 54:419-432.
71. Smith, H.W.; Tucker, J.F. 1980. Further observations on the effect of feeding diets containing avoparcin, bacitracin, and sodium arsenilate on the colonization of the alimentary tract of poultry by salmonella organisms. *J Hyg (London)* 84: 137-150.
72. Steele-Mortimer, O.; Brumell, J.H.; Knodler, L.A.; Meresse, S.; Lopez, A.; Finlay, B.B. 2002. The invasion-associated type III secretion system of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is necessary for intracellular proliferation and vacuole biogenesis in epithelial cells. *Cell Microbiol* 73:3219-3227.
73. Stocker, B.A. 1988. Auxotrophic *Salmonella typhi* as live vaccine. *Vaccine* 6: 141-145.
74. Thatte, J.; Rath, S.; Bal, V. 1983. Immunization with live versus killed *Salmonella typhimurium* leads to the generation of an IFN- γ -dominant versus and IL-4 dominant immune response. *Int Immunol* 5:1431-1436.
75. Toyota-Hanatani, Y.; Kyoumoto, Y.; Baba, E.; Ekawa, T.; Ohta, H.; Tani, H. et al 2009. Importance of subunit vaccines antigen of major FliC antigenic site of *Salmonella* Enteritidis II: a challenge trial. *Vaccine* 27:1680-1684.
76. Valdivia, R.H.; Falkow, S. 1997. Fluorescence –based isolation of bacterial genes expressed within host cells. *Science* 277:2007-2011.

77. Van Ginkel, F.W.; Nguyen, H.H.; McGhee, J.R. 2000. Vaccines for mucosal immunity to combat emerging infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 6:123-132.
78. Van Immerseel, F.; Methner, U.; Rychlik, I.; Nagy, B.; Velge, P.; Martin, G. et al. 2005. Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiol Infect* 133:959-978.
79. Van Immerseel, F.; Studholme, D.J.; Eeckhaut, V.; Heyndrickx, M.; Dewulf, J.; dewale, I.; Van Hoorebeke, S.; haesebrouck, F.; Van Meirhaeghe, H.; Ducatelle, R.; Paszkiewicz, K.; Titball, R.W. 2013. *Salmonella Gallinarum* field isolates from laying hens are related to the vaccine strain SG9R. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.08.033>.
80. VanCott, J.L.; Staat, H.F.; Pascual, D.W.; Roberts, M.; Chatfield, S.N.; Yamamoto, M. et al. 1996. Regulation of mucosal and systemic antibody responses by T helper cell subsets, macrophages, and derived cytokines following oral immunization with live recombinant *Salmonella*. *J Immunol* 156:1504-1514.
81. Vasquez-Torres, A.; Jones-Carson, J.; Baumler, A.J.; Falkow, S.; Valdivia, R.; Brown, W. et al. 1999. Extraintestinal dissemination of *Salmonella* by CD18-expressing phagocytes. *Nature* 401:804-808.
82. Volterra, V. 1928. Variations and fluctuations of the number of individuals in animal species living together. *Journal du Conseil*, Vol. III, pp. 1-51.
83. Waterman, S.R.; Holden, D.W. 2003. Functions and effectors of *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system. *Cell Microbiol* 5: 501-511.
84. Weinberger, M.; Andorn, N.; Agmon, V.; Cohen, D.; Shohat, T.; Pitlik, S.D. 2004. Blood invasiveness of *Salmonella enterica* as a function of age and serotype. *Epidemiol Infect* 132:1023-1028.
85. Wigley, P.; Berchieri Jr., A.; Page, K.L.; Smith, A.L.; Barrow, P.A. 2001. *Salmonella enterica* serovar Pullorum persists in splenic macrophages and in the reproductive tract during persistent, disease-free carriage in chickens. *Infect Immun* 69:7873-7879.
86. Wigley, P.; Hulme, S.; Power, C.; Beal, R.; Smith, A.; Barrow, P. 2005. Oral infection with the *Salmonella enterica* serovar Gallinarum 9R attenuated live vaccine as a model to characterize immunity to fowl typhoid in the chicken. *BMC Vet Res* doi:10.1186/1746-6148-1-2.
87. Wigley, P.; Jones, M.A.; Barrow, P.A. 2002. *Salmonella enterica* serovar Pullorum requires the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system for virulence and carriage in the chicken. *Avian Pathol* 31:501-506.
88. Xu, T.; Maloy, S.; McGuire, K.L. 2009. Macrophages influence *Salmonella* host-specific in vivo. *Microb Pathog* 47:212-222.
89. Yang, y.; Iji, P.A.; Choct, M. 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *Worlds Poult. Sci.* 65:97-114.

Cuestionario básico de evaluación para determinación de los factores de riesgo

Preguntas básicas	SI	NO	Comentario
La granja/empresa ya tuvo brotes de <i>Salmonella</i> Gallinarum/Pullorum/ otras?			Historia y medidas tomadas
La granja/empresa tiene datos de la historia de los lotes (sanitario y de producción)			Evaluación y verificación de documentación existente
¿La granja está protegida por barreras naturales o físicas?			Verificación
¿Existe cerca perimetral?			Verificación
¿La granja está lejos de riachuelos /lagos?			Distancia
¿La granja está lejos de caminos principales?			¿Cuál es la distancia?
¿Presencia de árboles frutales?			
¿Existen áreas limpias en la granja?			¿Cuáles son?
¿Existe un programa de limpieza, desinfección y vacío sanitario en la granja?			Evaluación de la documentación y procedimientos
¿Se realiza limpieza y desinfección de la tubulación o equipos destinados a la provisión de agua?			Indicar frecuencia y productos utilizados
¿Las aves de un día son diagnosticadas para <i>Salmonella</i> antes de alojarlas en la granja?			Indicar la frecuencia
Se realiza el análisis de la calidad microbiológica /físico-química del agua?			¿Después de la limpieza y desinfección?
El alojamiento/instalación, fajas de transporte de huevos, cama etc., son monitoreados para <i>Salmonella</i> ?			Indicar la frecuencia
Son removidas aves muertas o enfermas?			La frecuencia de remoción es un dato importante
En las aves con sospecha de salmonelosis se realiza necropsia y se envía muestras para diagnóstico microbiológico?			
La densidad de las aves es apropiada conforme los criterios de bienestar animal?			Número de aves por m2/densidad
El retiro de la cama y aves se realiza estrictamente por el área sucia?			
Existe un procedimiento de retiro de la cama para compost?			
Existe una distancia apropiada entre			¿Cuál es la distancia? O no

núcleos de diferentes edades?			hay distancia mínima entre núcleos o galpones
Existe una distancia apropiada con otros establecimientos?			
Existe un control de entrada de personas y visitas?			Libro de registro de visitas
Las personas, visitas, equipos y otros que entran en la granja pasan por proceso de desinfección/descontaminación?			¿Cuáles son los procedimientos y sistemas de verificación?
El personal que trabaja en la granja tiene aves de cualquier especie ornamental o doméstica en casa?			¿Cómo se verifica?
La entrada principal de granjas y oficina administrativo están adecuadamente localizados?			Planos con localización
Existe un programa de control de roedores?			Programa y medios de verificación
Existe un programa de control de insectos?			Programa y medios de verificación
Se utiliza antimicrobianos en brotes de Salmonella ¿para evitar la mortalidad?			¿Cuáles son los antimicrobianos permitidos / dosis /frecuencia de uso
Existe un programa de vacunación de rutina contra Salmonella en la granja?			¿Cuál vacuna e que programa se utiliza?
¿Se utiliza vacunas en brote?			¿Cuál vacuna es utilizada/dosis/frecuencia?